



**ANALITIKAI MÓDSZERFEJLESZTÉS GEOLÓGIAI ÉS BIOLÓGIAI  
MINTÁK PÁSZTÁZÓ ELVŰ LÉZER ABLÁCIÓS  
SPEKTROSKÓPIAI VIZSGÁLATÁHOZ**

PhD értekezés

**Janovszky Patrick Martin**

Témavezető: Prof. Dr. Galbács Gábor

Környezettudományi Doktori Iskola

Kémiai Intézet, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék SZTE TTIK

Szeged

2023

# TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE .....	4
1. BEVEZETÉS .....	6
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS .....	8
2.1. A lézer indukált plazma spektroszkópia alapjai.....	8
2.2. A LIBS mérőműszerek részegységei .....	13
2.2.1. A lézer fényforrások .....	14
2.2.2. Az ablációs kamra.....	15
2.2.3. A spektrométer.....	16
2.3. Az optikai elrendezés .....	19
2.4. A LIBS analitikai teljesítőképessége .....	21
2.5. A LIBS spektroszkópia során esetlegesen fellépő zavaró hatások.....	23
2.6. Az analitikai teljesítmény javítására szolgáló módszerek.....	24
2.6.1. Kalibrációs technikák .....	24
2.6.2. Nanorészecskékkel jelerősített LIBS .....	25
2.6.3. Adatfeldolgozási technikák.....	28
2.6.3.1. Jelnormalizációs eljárások .....	28
2.6.3.2. Kemometriai osztályozó technikák .....	28
2.7. Néhány jellemző analitikai alkalmazási terület.....	31
2.7.1. Geológiai és környezeti eredetű minták vizsgálata.....	31
2.7.2. Biológiai, élettudományi és gyógyszerminták vizsgálata .....	34
2.7.4. Örökségvédelmi és nemzetbiztonsági mintatípusok vizsgálata.....	38
2.7.5. Ipari alkalmazások .....	40
2.8. Lézer ablációs mintabevitelű induktív csatolású plazma tömegspektrometria .....	42
2.8.1. Működési elv és analitikai teljesítőképesség .....	42
2.8.2. Zavaró hatások és kalibráció.....	45
2.8.3. Alkalmazások .....	46
2.8.3.1. Nukleáris minták vizsgálata .....	46
2.8.3.2. Geológiai vonatkozású alkalmazások.....	47
3. CÉLKITŰZÉS.....	49
4. KÍSÉRLETI RÉSZ.....	50
4.1. Geológiai minták vizsgálata .....	50
4.1.1. A vizsgált kőzetminták és előkészítésük .....	50
4.1.2. A felhasznált műszerek és adatkiértékelési eljárások .....	51
4.1.3. Kőzetminták elemösszetételének vizsgálata .....	54

4.1.4. Ásványzemcsék osztályozása.....	58
4.1.5. Kőzetek kormeghatározása.....	64
4.2. Biológiai minták vizsgálata.....	67
4.2.1. Felhasznált eszközök és műszerek.....	67
4.2.2. Mintaelőkészítés .....	70
4.2.3. Biológiai minták LIBS elemterképezésével kapcsolatos kihívások .....	73
4.2.4. Tengeri élőlények kvalitatív diszkriminancia analízise .....	77
4.2.5. Sertés szövettípusok kvantitatív LIBS elemterképezése.....	82
4.2.6. Növények által felvett nyomelemek és nanorészecskék eloszlásának LIBS vizsgálata	89
4.3. A LIBS módszer teljesítőképességének javítása nanorészecskékkel .....	97
4.3.1. Felhasznált anyagok és módszerek.....	98
4.3.2. Folyadékminták kvantitatív mérése .....	100
4.3.3. Elemeloszlás térképek javítása .....	103
5. ÖSSZEFOGLALÁS.....	105
6. SUMMARY .....	107
7. IRODALOMJEGYZÉK.....	109
8. PUBLIKÁCIÓS LISTA .....	120
8.1. Az értekezés alapjául szolgáló referált folyóirat közlemények.....	120
8.2. További referált folyóirat közlemények, könyvfejezetek.....	121
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	122

## RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ANN:	mesterséges neurális hálók (Artificial Neural Networks)
CCD:	töltés-csatolt eszköz (Charge-Coupled Device)
CF-LIBS:	kalibrációmentes LIBS (Calibration-Free LIBS)
CMOS:	komplementer fém-oxid félvezető (Complementary Metal-Oxide Semiconductor)
CT:	osztályozási fa (Classification Tree)
CCSWA:	közös összetevők és fajsúlyok elemzése (Common Components and Specific Weights Analysis, Com-Dim)
DA:	diszkriminancia analízis (Discriminant Analysis)
DFA:	diszkrimináns függvényelemzés (Discriminant Function Analysis)
DPSS:	diódapumpált szilárdtest (Diode-pumped Solid State)
ICA:	független komponens analízis (Independent Components Analysis)
ICCD:	intenzifikált töltés-csatolt eszköz (Intensified Charge-Coupled Device)
ICP:	induktív csatolású plazma (Inductively Coupled Plasma)
ICP-MS:	induktív csatolású plazma tömegspektrometria (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)
ICP-OES:	induktív csatolású plazma optikai emissziós spektrometria (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry)
IR:	infravörös (Infrared)
LA-ICP-MS:	lézerablációs mintabevitelű induktív csatolású plazma tömegspektrometria (Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)
LDA:	lineáris diszkriminancia analízis (Linear Discriminant Analysis)
LED:	világító dióda (Light Emitting Diode)
LIBS:	lézer indukált letörési spektroszkópia (Laser Induced Breakdown Spectroscopy)
LIPS:	lézer indukált plazma spektroszkópia (Laser Induced Plasma Spectroscopy)
LSP:	lokalizált felületi plazmon (Localised Surface Plasmon)
MCP:	mikrocsatornás lemez (Microchannel Plate)
Nd:YAG:	neodímiummal dópolt gránátszerű ittrium-alumínium-oxid kristály (Neodymium Doped Yttrium Aluminium Garnet)
NEFS:	nanorészecskékkel erősített fluoreszcencia spektroszkópia (Nanoparticle-Enhanced Fluorescence Spectroscopy)
NELIBS:	nanorészecskékkel erősített lézer indukált plazma spektroszkópia (Nanoparticle-Enhanced Laser Induced Plasma Spectroscopy)
NIR:	közeli infravörös (Near Infrared)
NIST ASD:	Nemzeti Szabványügyi és Technológiai Intézet atomspektrum adatbázisa (National Institute of Standards and Technology Atomic Spectra Database)

NMF:	nemnegatív mátrix faktorizálás (Nonnegative Matrix Factorization)
OOB:	csoporton kívüli (Out-Of-Bag)
PC:	főkomponens (Principal Component)
PCA:	főkomponens analízis (Principal Component Analysis)
PLS:	parciális legkisebb négyzetek (Partial Least Squares)
PLS-DA:	parciális legkisebb négyzetek diszkriminancia analízis (Partial Least Squares Discriminant Analysis)
QDA:	négyzetes differencia analízis (Quadratic Discriminant Analysis)
RF:	véletlen erdő (Random Forest)
RSD:	relatív szórás (Relative Standard Deviation)
SERS:	felületerősített Raman spektroszkópia (Surface-Enhanced Raman Spectroscopy)
SP-LIBS:	egyimpulzusú lézer indukált plazma spektroszkópia (Single Pulse- Laser Induced Plasma Spectroscopy)
SPR:	felületi plazmon rezonancia (Surface Plasmon Resonance)
SVM:	tartóvektorgép (Support Vector Machine)
UV:	ultraibolya (Ultraviolet)
UV-Vis:	ultraibolya-látható (Ultraviolet-Visible)

## 1. BEVEZETÉS

A lézer indukált plazma spektroszkópia (laser-induced breakdown spectroscopy, LIBS) mérés technika alapját leíró „laser spark” jelenségtől a ma ismert és egyre elterjedtebben alkalmazott LIBS spektroszkópiáig az elektronika, számítástechnika, valamint a korszerű lézertényforrások megjelenésén keresztül vezetett az út. A technikai fejlődés hatására a LIBS napjainkra egy megbízható nyomelemanalitikai eljárássá nőtte ki magát, mely azonban még számos olyan analitikai, technikai kihívást hordoz, amelyek megoldása tovább szélesítheti ezen viszonylag fiatal és igen innovatív mérés technika alkalmazhatóságának határait.

A LIBS térnyerésének számos oka van. Ezek között szerepel a minta előkészítés egyszerűsége, terepi hordozható műszerekkel akár közvetlen, *in situ* mérések is kivitelezhetők. Segítségével szilárd, folyadék, illetve gáz/aeroszol minták nagy térbeli felbontású analízisére is megvalósítható. Lehetőséget biztosít a periódusos rendszer szinte valamennyi elemének nyomelemanalitikai kimutatási határok mellett történő mérésére, több nagyságrendnyi széles dinamikus tartománnyal. A technika mikrodestruktív, néhány mikrométer nagyságú foltmérettel is történhet a mérés, így a LIBS alkalmas értékes műkincsek, régészeti leletek vagy rendkívül kis méretű minták, bűnügyi bizonyítékok analízisére is.

A rokon, lézer ablációs elvű, de kizárólag laboratóriumi nagyműszeres mérés technika az LA-ICP-MS (lézer ablációs mintabevitelű induktív csatolású plazma tömegspektrometria), amelyben egyesül a LIBS kapcsán tapasztalt egyszerű minta előkészítés lehetősége, valamint az ICP-MS kiváló ultranyomelem- és izotópanalitikai képessége. Az így keletkezett kombináció segítségével szilárd minták közvetlen, minta előkészítés nélküli izotópösszetétel, izotópeloszlás vizsgálatai hajthatók végre. A mérés technika lehetőséget biztosít a nehezebb fémek vizsgálatára, így elmondható, hogy a LIBS, valamint az LA-ICP-MS mérések kiválóan kiegészítik egymást.

Geológiai minták LIBS elem térképezése, valamint LA-ICP-MS izotópösszetétel és izotóparányon nyugvó geokronológiai kormeghatározása olyan feladatok, melyek számos kérdést vetnek fel. Megjelennek a kalibrálásra használható standardok esetén a mátrixazonos kalibráló minták beszerzésével kapcsolatos nehézségek, az elterjedt üveg standardok, mint alternatív multielemes minták alkalmazhatóságának lehetőségei, illetve ezen standardok használatakor a különböző pl. kráterterefogatos korrekciós eljárások vizsgálata. A LIBS mérések segítségével az ásványszemcsékbe zárt nyomnyi

nyersanyagok gazdaságos kinyerhetősége jól vizsgálható, a folyamat kemometriai kiértékeléssel kombinálva akár automatizálható is lehet.

Biológiai mintákkal kapcsolatos LIBS és LA-ICP-MS mérések eredményeiről beszámoló tanulmányok jobbra kvalitatív adatokat mutatnak be, ennek oka, hogy az olyan analitikai kihívások, mint a pontról-pontra mátrixazonos kalibrációval végzett koncentráció eloszlás térképek kidolgozása igen összetett feladat. A biológiai eredetű minták fizikai sajátágaiknál fogva kényesek, kezelésük alapos körütekintést igényel. Az orvosdiagnosztikai, biológiai alkalmazások számos esetben konkrét koncentráció eloszlás eredményeket várnak, kellő megbízhatóságú, mátrixazonos kalibráción nyugvó eredményekkel. Ez a feladat a tudományos közösséget számos megválaszolendő kérdés elé állítja.

A LIBS elemeloszlás térképek érzékenységének javítására, a minél jobb és részletgazdagabb megjelenítés érdekében célszerű jelerősítő technikákat bevetni. Az NELIBS vagyis a nanorészecske erősített LIBS, melynek alapja, hogy a minta felszínét egyenletes fém nanorészecske monoréteggel vonják be már lokális mérések során bizonyította jelnövelő hatását, viszont elemeloszlás térképek esetén történő alkalmazásának eljárás módja, még kidolgozásra szorul, valamint a segítségével nyerhető jelerősítés mértéke szintén kérdéses.

A LIBS térképezések eredményeként szerzett nagymennyiségű adat kiértékelése, kategorizálása, mintatípus szerinti csoportosítása a modern, nagy hatékonyságú, robosztus kemometriai eljárások nélkül kivitelezhetetlen. A különböző kemometriai megközelítések közül az aktuális célnak megfelelő legalkalmasabb eljárás megválasztása, annak betanítása, optimalása szintén nem triviális feladat.

Egyetemünkön, a Galbács Gábor egyetemi tanár vezette, több mint két évtizede működő „*Lézer és plazmaspektroszkópai kutatócsoportban*” intenzív kutatások folynak a LIBS és az ICP-MS mérés technikák analitikai teljesítménynövelésével, a mérés technikák alkalmazhatósági körének bővítésével kapcsolatban.

## 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 2.1. A lézer indukált plazma spektroszkópia alapjai

A Laser Induced Breakdown Spectroscopy, mely magyarul lézer indukált letörési plazma spektroszkópia, rövidített formájában leggyakrabban LIBS, vagy esetenként LIPS, egy mára elterjedten használt atomemissziós spektromteriai módszer, különböző halmazállapotú minták elemi összetételek meghatározására [1]. A LIBS elődjének tekinthető „laser spark” néven illetett jelenséget már a hatvanas évek elején lejegyezte Cross és Brench [2], viszont azt csak a technológia fejlődését követően az elektronika, számítástechnika fellendülése, a gyors CCD detektorok, valamint a korszerűbb lézertényforrások térnyerését követően kezdték alkalmazni analitikai célokra. Elsőként egy 1981-es közleményben hivatkoztak az akkor még új jelenségre LIBS néven [3].

A módszer működési elve az, hogy nagy energiájú és impulzusüzemű (nanoszekundum, vagy annál rövidebb impulzushosszúságú) lézer fényét a minta felületére – gázminta esetén annak belsejébe – fókuszálva olyan nagy teljesítménysűrűséget hoznak létre ( $10^6$ - $10^{12}$  W/cm<sup>2</sup>), amely elegendő ahhoz, hogy a minta a fókuszfoltban pillanatszerűen elpárologjon, a keletkező fragmentumokból/gőzökből pedig rövid élettartamú, magas hőmérsékletű (néhány tíz  $\mu$ s és több tízezer Kelvin) mikroplazma alakuljon ki. A folyamatot a mikroplazma szikraszerű fényjelensége és atmoszférikus körülmények között éles csattanó hang kíséri, amelyet az elpárologtatott mintaalkotók gőzeinek gyors kiterjedése miatt fellépő adiabatikus lökeshullám okoz. A keletkező igen rövid élettartamú, időben változó hőmérsékletű és összetételű, sugárforrásként jelentkező mikroplazma megfigyeléséhez a lézerrel időben legalább a  $\mu$ s törtrészének megfelelő pontossággal szinkronizált működésű, nagyfelbontású spektrométerre van szükség, amely egyszerre képes rögzíteni a teljes UV és/vagy látható spektrumtartományt.

A LIBS folyamat egy viszonylag komplex jelenség, melynek részlépéseit a 1. ábra szemlélteti. Miután a lézerimpulzus a mintafelszínre eléri, az az első lépésben jelentős mértékben felmelegszik, majd lokálisan lebomlik és elpárolog. Utóbbi folyamatot nevezik ablációnak.

Impulzus üzemű lézertényforrások alkalmazása esetén az energiasűrűség (fluencia, J/cm<sup>2</sup>) és a teljesítménysűrűség (irradiancia, W/cm<sup>2</sup>) között az impulzushossz jelenti a kapcsolatot, melynek ideje akár piko- illetve femtoszekundum hosszúságú is lehet. A lézeres abláció folyamata az alábbi három küszöbértékkel jellemezhető adekvát módon,



mindegyik a mintafelszínnel kölcsönhatásba lépő lézerimpulzus energiasűrűsége alapján definiálható [4]:

1. „*damage threshold*”, azaz károkozási küszöbérték: ahhoz szükséges, hogy a mintafelületen mikroszkóppal megfigyelhető változást hozzunk létre. Ilyenkor a mintafelület megolvad, megsérül, de anyageltávozás nem történik;
2. „*ablation threshold*”, azaz ablációs küszöbérték, amelynél már anyageltávozás, vagyis abláció is bekövetkezik;
3. „*breakdown threshold*”, azaz a plazmaképződési (letörési) küszöbérték. Ez már kellően nagy a gőzfázis optikai lebontásához, atomizálásához, ionizálásához és a letörési plazma keltéséhez is.

A minta fizikai és kémiai tulajdonságai nagymértékben befolyásolják az ablációs (plazmaképződési) folyamatokat, továbbá a lézernyaláb paraméterei és a mintát körülvevő gázatmoszféra anyagi minősége, illetve nyomása szintén befolyásoló tényező az ablációra nézve. Ezen folyamatokat összetettségük és bonyolultságuk okán analitikai orientációjú jelen munkámban csak röviden tárgyalom.

A vizsgálni kívánt minta olyan fizikai tulajdonságai, mint a reflexióképesség, sűrűség, forráspont és hővezetőképesség nagyban megszabja az abszorbeált lézerfény mennyiségét. Az atomemissziós spektroszkópia, így a LIBS számára is, a minél magasabb hőmérsékletű plazma kialakulása a kedvező, ami a mintának a lézer hullámhosszán mutatott fényabszorpciós képességével áll szoros összefüggésben. Jellemzően minél nagyobb az abszorpció mértéke, annál magasabb hőmérsékletű plazma keletkezik.

Az abláció során különböző folyamatok játszódnak le az alkalmazott lézer impulzus hosszának és a terjesztémsűrűségnek megfelelően. Termikus folyamatok dominálnak nanoszekundumos (ns) impulzushossz és kb.  $0,1 \text{ GW/cm}^2$  irradianciát nem meghaladó körülmények esetén. Ilyenkor a szilárd minta felszínének hőmérséklete megemelkedik és az alábbi fázisváltozások játszódnak le: szilárdból folyékony, folyékonyból gőz és gőzből plazma képződik. Ezzel szemben, ha az irradiancia meghaladja a kb.  $0,1 \text{ GW/cm}^2$  értéket, akkor a nem termikus jellegű, igen gyors anyagkilökődés válik meghatározóvá. Ebben az esetben a lejátszódó folyamatot a nagymértékű lokális ionizáció miatt fellépő elektrosztatikus taszítás mozgatja, ezért ezt Coulomb robbanásnak is szokták nevezni, ami leginkább a fs impulzushosszú lézerekkel keltett plazma esetén figyelhető meg [5]. A nagyon rövid (ps, fs) impulzushosszak

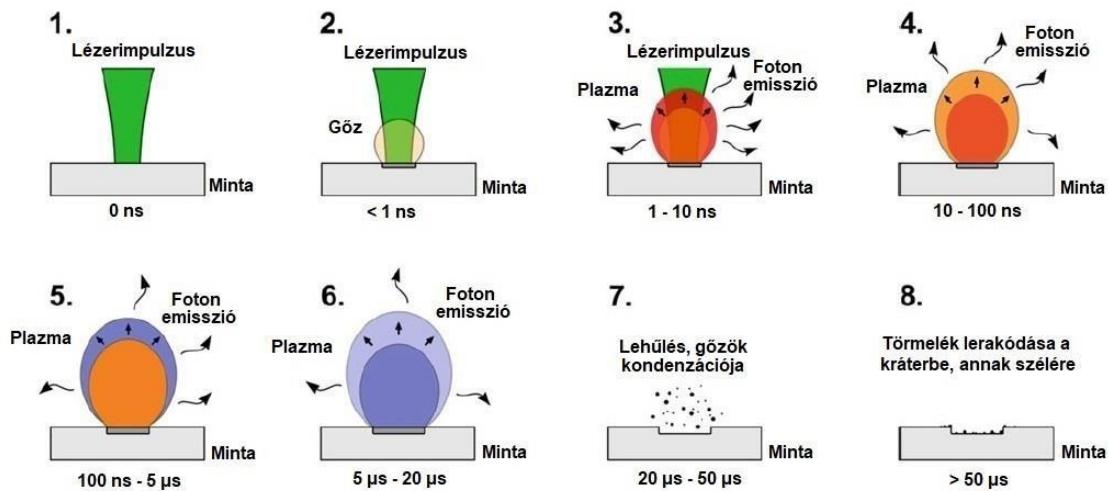
alkalmazása során előtérbe kerülő, nem termikus folyamatok hatásának egyik előnye az, hogy az ablációt követően egy jól definiált, nagyon éles peremű és lerakódásoktól mentes ablációs kráter marad vissza a minta felszínén [6, 7, 8], mivel a lézer impulzusok hőhatása csekély.

Megfigyelték, hogy a rövidebb, döntően ultraibolya hullámhosszon emittáló lézerforrások alkalmazása kedvezőbb. Ezekon a hullámhosszakon a minta nagyobb mértékben abszorbeálja a lézerimpulzusokat, továbbá a rövidebb hullámhosszakon keltett fény kisebb foltba fókuszálható, így nagyobb irradiancia hozható létre. Az UV fényforrások alkalmazása azért is előnyös, mert a kémiai kötések fotolitikus hasítására nagyobb fotonenergia áll rendelkezésre. A (közeli) infravörös tartományban üzemelő lézerek esetén fellép az ún. „plasma shielding” (önárnyékolás) jelensége. A plazma egy kritikus sűrűség felett annyira elnyeli a lézer fényét, hogy az impulzus hátsó szakasza már el sem éri a mintafelszínt, hanem annak energiája a plazma hevítésére fordítódik. Ez az effektus a hullámhossz köbének inverzével arányos, ezért a NIR vagy IR lézereknél elég jelentős jelnövelő hatással bír. Ultragyors impulzusok (ps, fs) esetén azonban ez az erősítő hatás már nem mutatkozik meg olyan markánsan [9, 10]. Összességében elmondható, hogy alkalmasan megválasztva mind az ultrarövid, mind a nanoszekundumos impulzusok és az UV, valamint NIR/IR hullámhosszakkal üzemelő lézerek egyaránt lehetőséget adnak LIBS mérések kivitelezésére.

Az analitikai teljesítmény növelése érdekében jellemzően érdemes törekedni arra, hogy az időegység alatt ablált anyagmennyiség (ablációs ráta) minél nagyobb legyen, mivel így növelhető a plazmába kerülő minta tömegárama, ami döntő hatással van az atomemissziós jel nagyságára. Egy másik, szintén fontos tényező a plazma hőmérséklete. A vizsgálatok során alkalmazott kísérleti paraméterek különböző hatást gyakorolnak e két tényezőre. Az ablációs kamrában uralkodó gáz nyomásának enyhe csökkentése az ablációs rátát növeli. A csökkentett nyomáson létrejövő ablációs anyagfelhő fokozottan expandál, vagyis a sűrűsége csökken, ami rontja a „plasma shielding” hatását, ezáltal a plazma hőmérséklete és ezzel együtt az atomemissziós jel is csökken.

A fluencia hatása az ablációs rátára önmagában nem értékelhető, az csak az impulzus hosszával és a teljesítménysűrűséggel együtt vizsgálható. Az ablációs ráta a fluencia függvényében egy adott értékig nagyjából lineárisan nő, majd megtörik és (közel) telítésbe hajlik, aminek legfőbb oka éppen a „plasma shielding” [11].

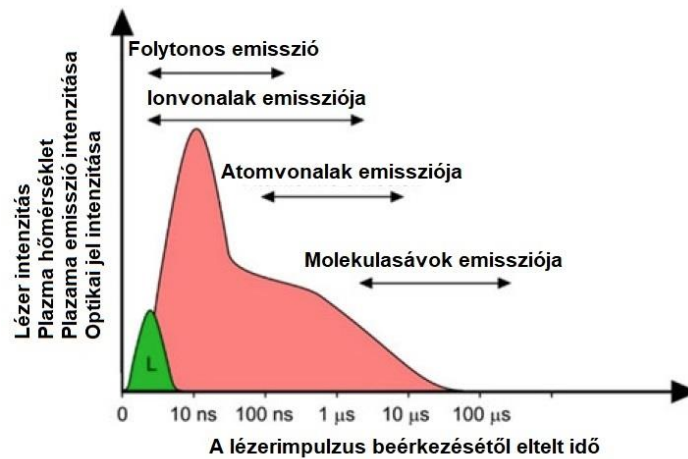
Az 1. ábra egyetlen lézer impulzussal keltett plazma és az eltávolított mintamennyiség életútját szemlélteti vázlatosan.



1. ábra: A lézerrel keltett plazma kialakulása közben és a plazma megszűnését követően lejátszódó folyamatok [12].

A mintafelszín – lézerrel való besugárzásakor – először abszorbeálja a fényt, ami gyors párolgást idéz elő. Ez gőzfelhőt („ablation plume”-ot) hoz létre, amely a beérkező lézerimpulzus késői szakaszában közölt energia elnyelése során gyorsan tovább melegszik és kitágul, munkát végez a környező gázon. Az anyagcsóva tovább melegszik, kialakul a mikroplazma, ami tovább expandál és elkezd fényt emittálni. A következő szakaszban, miután a lézerimpulzus végét ért, azaz további energia betáplálás már nincs, a plazma expandál, ami erőteljes lehűlést okoz. A folyamat végén a plazmát alkotó atomok, valamint a lehűléskor az atomok rekombinációval keletkező molekulák kondenzálódnak és nano- vagy mikrorészecskék formájában lerakódnak a keletkezett kráter körül [13].

A keltett plazma tulajdonságai az idő előre haladtával igen gyorsan változnak. Ezt szemlélteti a 2. ábra. A levegőn keltett plazma a korai szakaszban nagyjából 20000 K hőmérsékletű, elektronsűrűsége  $10^{19} \text{ cm}^{-3}$  körüli, míg a fejlődése későbbi, elnyújtottabb szakaszában ezek az értékek 5000-6000 K és  $10^{17} \text{ cm}^{-3}$  nagyságrend körül alakulnak.



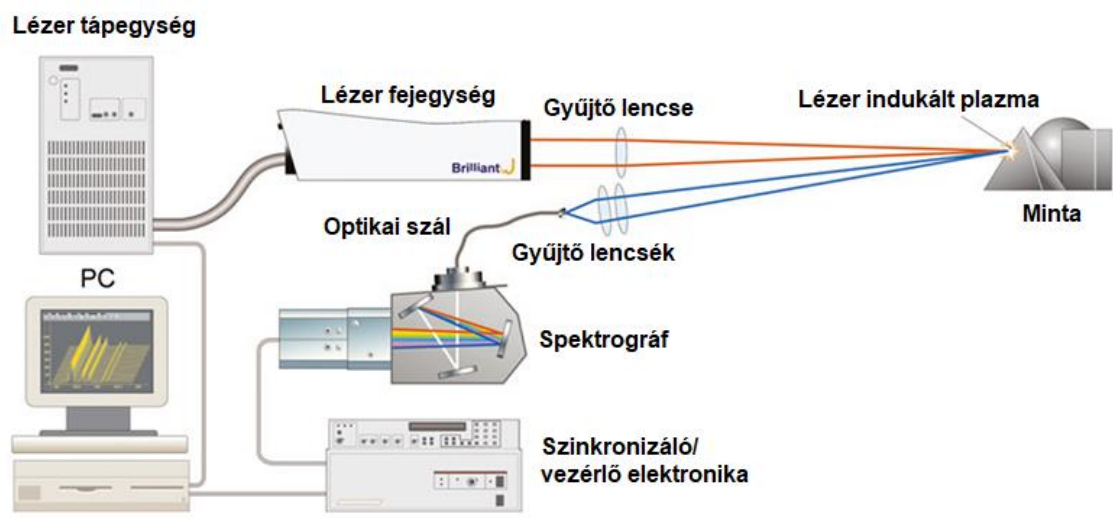
2. ábra: Nanoszekundumos impulzussal keltett plazma időbeli fejlődésének sematikus ábrája (L: lézerimpulzus beérkezése) [12].

Az atmoszférikus nyomáson, nanoszekundumos lézerrel keltett plazma emissziós spektruma a hőmérsékletével együtt az időben igen gyorsan változik. A plazmaképződés kezdeti, körülbelül 200 ns-ig terjedő szakaszában az ionizációfok magas. Ekkor az akár több tízezer Kelvin hőmérsékletű forró plazmában a szabad elektronok és az elemi ionok vannak többségben, továbbá folytonos háttérsugárzás figyelhető meg a szabad elektronok okozta fékezési sugárzás és az elektron-ion rekombináció miatt. Az ekkor felvett spektrum ionvonalakban gazdag és az alapvonal megemelkedett szintet mutat. A korai szakaszban felvett spektrumokban – a jelentős elektronsűrűség okozta külső elektromos tér hatására fellépő, úgynevezett Stark effektus miatt – a vonalak kiszélesednek, lényegében azért, mert az átlagos képességű spektrométerek nem képesek az elektromos erőterben felhasadt spektrumvonalak finomszerkezetét felbontani. Az idő előrehaladtával a plazma hőmérséklete rohamosan csökken, a folytonos háttér emissziós intenzitása szintén csökken és az atomvonalak kezdenek dominálni az emissziós spektrumban. A hőmérséklet csökkenésével természetesen a vonalintenzitás is folyamatosan csökken. A kísérletek során fontos az optimális, kb. 1-3  $\mu\text{s}$  késleltetéssel megkezdni az emissziós spektrumok rögzítését, hiszen ilyenkor juthatunk a legnagyobb eséllyel a fékezési sugárzástól nagymértékben mentes és intenzív atomvonalakban gazdag spektrumokhoz [14]. További késleltetés hatására a spektrumban a molekulasávok válnak dominánssá a plazma lehűlése és a folytonos rekombináció miatt. A sávok intenzitása a hőmérsékletcsökkenés hatására egyre kisebb lesz, míg végül az emisszió megszűnik.

A plazma méretét és alakját befolyásolja a környező gázatmoszféra nyomása, összetétele, sűrűsége, hővezetőképessége és fajhője is. A levegő, argon, hélium, nitrogén és az oxigén azok a leggyakrabban alkalmazott gázközégek, melyekben a plazma képződését tanulmányozták. Inert gázok felhasználása során előnyös jelenség, hogy puffergázként is viselkednek, vagyis megakadályozzák a szabad atomok gyors oxidációját. Argon atmoszféra alkalmazásának két nagy előnye van: az egyik az argon alacsony hővezetőképességéhez köthető, hiszen ennek köszönhetően a plazma hosszabb emissziós időtartammal bír és egyben magasabb hőmérsékletű is. A másik előny pedig az, hogy az argon atomok gyakori ütközéses újragéjesztődésre képesek, amely jelenség tovább erősíti az analitikai jelet. A másik, gyakran alkalmazott gázközeg a hélium, aminek hővezetőképessége és ionizációs potenciálja magas és emiatt kevésbé érzékeny a nyomás és a lézer energiájának változására. Az emissziós spektrumok felvétele során hélium atmoszférával érhető el a legalacsonyabb háttérintenzitás, de ezzel együtt a csúcsintenzitások is kismértékben csökkennek a gázatmoszférához köthető nagy hővezetőképesség miatt fellépő alacsonyabb plazmahőmérséklet következtében [15, 16]. A LIBS kísérletek döntő többségét praktikus okokból légköri nyomáson és levegőn hajtják végre.

## ***2.2. A LIBS mérőműszerek részegységei***

Értekezésem fókuszának megfelelően az alábbiakban összefoglalt technikai követelmények elsősorban az elemeloszlás térképezési célokra alkalmas LIBS berendezések részegységeit tárgyalják, de a leírt elvek a legtöbbször általánosan is érvényesek. Az elemtérképezési célokra alkalmas LIBS készülékek laboratóriumi nagyműszerek, bennük a lézer fényforrásnak, az optikai rendszernek, az ablációs kamrának és a detektornak különösen nagy pontossággal, a másodperc tört részének megfelelően összehangoltan kell dolgoznia, hogy megfelelő feltételeket biztosítson a nagy felbontású, nagy érzékenységgű LIBS elemeloszlás térképezési feladatok megvalósításához. Az alábbi 3. ábra egy LIBS készülék sematikus felépítését mutatja.



3. ábra: Egy LIBS mérőkészülék sematikus felépítése [21].

**2.2.1. A lézer fényforrások**

Lehetőleg olyan lézerfényforrást kell alkalmazni, ami a vizsgálni kívánt minta által jól abszorbeálható hullámhosszon képes lézerimpulzusokat kibocsátani, továbbá szükséges, hogy a letörési küszöbértéket meghaladó teljesítménysűrűséget is biztosítsuk. A legtöbb szilárd anyag esetében ehhez elegendő néhány  $\text{GW}/\text{cm}^2$  nagyságrendű besugárzás, ami már elérhető 10-100 mJ energiájú, 5-10 ns impulzushosszal és pár száz mikrométeres fókuszfolttal dolgozó lézer rendszerekkel. Jelenleg a LIBS mérésekre legelterjedtebben alkalmazott lézerfényforrások továbbra is a szilárdtest lézerek, ezen belül is a Nd:YAG típusúak, amelyek aktív közege egy  $\text{Nd}^{3+}$  ionokkal dópolt, gránát szerkezetű kristály ( $\text{Nd}:\text{Y}_3\text{Al}_2(\text{AlO}_4)_3$ ; ittrium-alumínium gránát). Ez a szintetikusan növesztett kristály kedvező optikai, termikus és mechanikai tulajdonságainak köszönhetően alkalmas szobahőmérsékleten működő, jó nyalábjellemzőkkel bíró, nagyteljesítményű, akár folytonosan, akár impulzus üzemben működő lézerek kialakítására.

A lézerforrások fontos jellemzője, hogy fundamentálisan 1064 nm hullámhosszon emittálnak, de ez nemlineáris optikai folyamatok kihasználásával (frekvencia többszörözéssel) módosítható és így előállíthatók 532, 266 vagy 213 nm hullámhosszak is. Figyelembe kell venni azt, hogy a belépő (fundamentális) hullámhosszon produkált impulzusenergiához képest 50-90% energiaveszteség lép fel a folyamat kis hatékonysága miatt. Léteznek alternatív lézerfényforrások is, melyek közvetlenül képesek UV tartományban sugározni. Ilyenek pl. az excimer gázlézerek, amelyek a gázelegy összetételétől függően képesek 157 nm-től ( $\text{F}_2$  gázzal) akár 351 nm hullámhosszig ( $\text{XeF}$

közeggel) emittálni, természetesen diszkrét hullámhosszakon. Praktikus okok miatt (korrozív, veszélyes gázok, gyakori újratöltés, stb.) kevésbé terjedtek el.

Az impulzushossz csökkentésére egyik legelterjedtebb megoldás a Q-kapcsolók alkalmazása. Működésük alapja, hogy a rezonátorban egy olyan optikai elemet helyeznek el, ami pl. a sugárzást abszorbeálja (vagy eltéríti) a lézer hullámhosszán, ezzel késleltetve az emissziót, addig, amíg a populáció inverzió egy bizonyos szintet el nem ér. Amint ezt a szintet eléri, eltávolítják, vagy a sugárzás számára átjárhatóvá teszik az optikai elemet, így egy rövid idejű és nagy csúcsteljesítményű lézerimpulzus állítható elő. Optoelektronikai rendszerű (aktív) és egyszerű festékcélás/kristályos (passzív) Q-kapcsolók is léteznek [17]. A laboratóriumi Q-kapcsolt lézerek nagyon rövid időtartamú fényimpulzusokat bocsátanak ki, amelyek csúcsteljesítménye igen nagy (GW, MW), a LIBS méréseknél pedig éppen erre van szükség. Megfelelő optikai pumpáló fényforrással (pl. dióda lézerekkel) akár kHz nagyságrendű impulzus ismétlési frekvencia is elérhető, ami az elemeloszlási térképek készítésénél kiemelt jelentőségű. Érdeemes belegondolni, hogy pl. egy 1 cm<sup>2</sup> nagyságú terület térképezése 10 μm foltméretet alkalmazva, átlapoló foltok nélkül, egymillió lépést igényel és ugyanennyi spektrum rögzítéséhez vezet. Ez a konvencionális, 10-20 Hz ismétlési frekvenciával végrehajtva 13-27 óra mérési időt is eredményezhet. Olyan minták vizsgálata esetén, melyek összetétele az idő függvényében változhat, pl. biológiai minták, ez igen fontos tényezővé válik. Ma már egyre elterjedtebbek a Q-kapcsolt, diódapumpált, szilárdtest lézerek (DPSS), illetve a szállézerek is a LIBS mérések kivitelezésére. Ezek a lézer rendszerek kiváló nyalábjellemzőkkel bírnak, hosszú élettartamúak és stabilabb működésűek a hagyományos villanólámpával pumpált szilárdtest lézerekhez képest. A felsorolt előnyös tulajdonságok pedig jobb térbeli felbontáshoz, gyorsabb adatrögzítéshez és pontosabb mérési eredményekhez vezetnek [18].

### **2.2.2. Az ablációs kamra**

A hagyományos LIBS mérések során ablációs kamra ritkán (csak pl. veszélyes minták mérésekor) kerül alkalmazásra, viszont térképezési feladatok kivitelezése során elengedhetetlen fontosságú tartozék. Használata ugyan bizonyos mértékben limitálja a vizsgálható minták méretét és alakját, de alkalmazása lehetőséget ad, hogy a mérések különböző gázatmoszférában, illetve akár csökkentett nyomáson is végrehajthatók legyenek. Kutatások szerint a csökkentett nyomású (kb. 10 torr) Ar atmoszférában történő mérések alkalmával kaphatók az elérhető legnagyobb spektrális jelintenzitások [19],

továbbá He hozzáadása az ablációs kamrában uralkodó atmoszférához csökkenti a keletkező törmelék mennyiségét. Az olyan nehezen gerjeszthető nemfémek, mint pl. a S és F mérése során a He atmoszféra alkalmazása szintén előnyös. Hosszú LIBS térképezési feladatoknál technikai szempontból is érdemes folytonosan kis sebességgel áramló gázt alkalmazni. Az egymást követő ablációk miatt egyre több törmelék keletkezik, ami a vizsgált minta felszínére lerakódik és térképezéskor a soron következő mérési lokációból származó jel intenzitását megváltoztathatja. Az előbbieken túlmenően a mintatartó kamra ablakán is keletkezhet anyaglerakódás az ablációs törmelékekből, ami csökkenti a spektrális adatgyűjtés hatásosságát. Ezek a lerakódások folyamatosan csökkentik az ablak transzmisszióját, vagyis az idő múlásával egyre kisebb jelintenzitások kerülnek detektálásra és a mintafelszínre elérő lézerpulzus fluenciája szintén csökken.

A mintatartó kamra egy másik igen fontos szerepe az elemeloszlás térképezési feladatok során a minta pozícionálása. Erre a feladatra számítógéppel vezérelt, a lézerpulzusokkal precíziósan szinkronizált, két- vagy háromtengelyes, motorizált, a mintatartót nagysebességgel mozgó berendezéssel szerelik fel az ablációs kamrát. A minta felületének dőlésszögére is nagy figyelmet kell fordítani, mert ha a minta felszíne mozgatáskor kikerül a lézernyaláb fókuszfoltjából, akkor a jelintenzitás lecsökken [20].

Az elemeloszlási térképezési feladatok a korábban részletezett paramétereket figyelembe véve sok esetben igen hosszú időintervallumot ölelnek fel. Ez komoly problémát jelent olyan minták vizsgálata során, melyek kényesek a hőmérsékletváltozásra, felmelegedésre. A kiolvadás, párolgás sok esetben anyagvesztéshez, fázisváltáshoz, vagy biológiai eredetű minták esetén bomláshoz vezethet, ami a vizsgálni kívánt minta összetételének módosulását vonja maga után. Az ilyen problémák kiküszöbölésére léteznek termoelektromosan hőstabilizált mintakamrák.

### **2.2.3. A spektrométer**

Egy másik fontos egység a lézerrel a  $\mu\text{s}$  törtrészének megfelelően szinkronizált működésű, érzékeny és nagyfelbontású spektrométer, mely a plazma emissziójának megfigyelését végzi. Egy spektrométer legfontosabb paraméterei a következők: a spektrális érzékenység, az ezzel összefüggésben lévő integrációs idő, a széles dinamikus tartomány, a felbontóképesség, valamint az általa lefedni képes hullámhossztartomány. A LIBS készülékekbe szerelt spektrométerek két jellemzőben térnek el markánsan az egyéb atomspektroszkópiai módszerekben használt spektrométerektől. Egyrészt működésük nagy



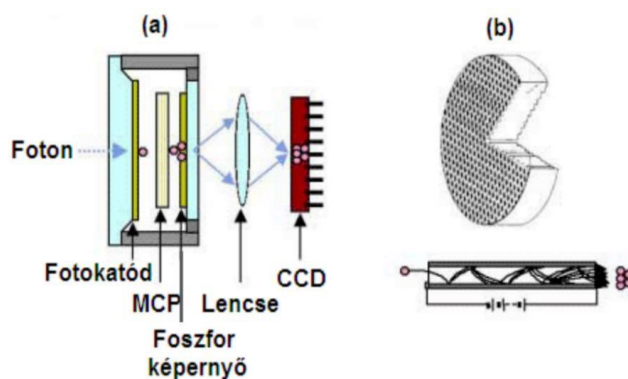
időbeli pontossággal szinkronizált a plazmakeltéshez kibocsátott lézerpulzussal. Másrészt a széles tartományú emissziós spektrum megfigyelése kizárólag szimultán módszerrel történhet, mivel a mikroplazma igen rövid élettartamú, így pásztázó rendszerű spektrométerekkel nem lehetséges a 200-1000 nm hullámhossztartományban megfigyelhető teljes spektrumot rögzíteni [22]. LIBS mérésekre tehát  $\mu\text{s}$  integrációs idővel üzemelő, külső szinkronizációs jelekkel indítható, nagy érzékenységű, és a vonalgazdag atomemissziós spektrumok miatt nagyfelbontású (0,1 nm vagy kisebb), a spektrumot mozgó alkatrészek nélkül rögzítő spektrométerek alkalmasak leginkább. A felsoroltaknak megfelelően a LIBS berendezésekben a két legelterjedtebb spektrométer típus a Czerny-Turner és az Echelle rendszerű spektrométer.

Felbontás tekintetében az Echelle elrendezésű spektrométerek, amelyek nevüket a benne elhelyezett extra diszperziós elemről, az echelette rácsról kapták, lényegesen jobban teljesítenek. Az ilyen spektrométerekben egy speciális beesési szöggel rendelkező reflexiós rács helyezkedik el, amelyet magas interferencia rendekben használnak. A térben egymás mellett elhelyezkedő rendek szeparációját egy másik, az Echelle-rácsra merőlegesen elhelyezett diszperziós elem végzi, ami általában prizma. Alkalmazásával egy két dimenzióban szétterített spektrum állítható elő, amit egy kétdimenziós CCD detektorra vetítünk. A rendszer előnye a nagy felbontás, amely azonban hullámhosszfüggő. Hátránya, hogy a nagy felbontás és a magas optikai rendek miatt az egyes detektor pixelekre, melyek száma a mátrixos elrendezés végett akár  $2048 \times 2048$  db is lehet, kevesebb foton vetül, így az érzékenység sokkal kisebb (10-100-szoros csökkenés), mint a soros elrendezésű CCD spektrométereknél [5].

A spektrométerekben leggyakrabban lineárisan, egymás mögé kapcsolt CCD (charge-coupled device) detektorokat alkalmaznak. Ezek az eszközök fényérzékeny félvezetők köré épülnek, melyek a rájuk eső fényt meghatározott ideig gyűjtik és az integrációs idő leteltét követően az egyes pixelekre beesett fotonok hatására keltett és ott tárolt töltések mennyiségét egy szekvenciális elektronikai rendszer segítségével kiolvassák. Több ilyen pixel egymás után való elhelyezésével és azok egy transzmissziós réteggel (ahol az elektronok képesek haladni az egyes pixelek közt) való összekötésével lineáris CCD detektorok készíthetők. Ezek működésének alapja, hogy a megvilágítás hatására keletkező töltéshordozók (elektronok) a feszültség alatt lévő elektródánál csapdázódnak, melyek a szomszédos elektródák közt, azok feszültségét változtatva folyamatosan léptethetők pixelről pixelre. A legvégső elektródánál történik a kiolvasás. A pixelről

pixelre tovább léptetett elektronok sorozata adja azt a jelsorozatot, amiből lehetséges visszakövetkeztetni az egyes pixelekre beérkezett jelekre. Az ilyen kialakítású spektrométerek jó jel/zaj viszony mellett, 0,01-1 ms integrációs idővel képesek dolgozni, ami az alkalmazások szempontjából sok esetben kielégítő, viszont fundamentális kísérletek, illetve LIBS térképezési feladatok során ennél jobb kondíciókra, gyorsabb működésre, azaz rövidebb integrációs időre és időben pontosabb szinkronizálásra is szükség lehet.

LIBS műszerekben gyakran alkalmaznak ICCD (intenzifikált CCD) detektort, mely annyiban különbözik a CCD detektortól, hogy található benne egy mikrocsatornás lemez (microchannel plate, MCP) valamint egy foszforenyő is. A mikrocsatornás lemezt úgy kell elképzelni, mint egy nagyszámú furatot tartalmazó lemezt, mely furatok belső falát a fotoelektron-sokszorozók diódáinak bevonataként használt, kis kilépési munkájú anyaggal borítják. A fotonok az MCP furataiban elektronokat keltenek, sokszorozódnak, és a foszforenyőbe történő becsapódás során lokalizált fénykibocsátást hoznak létre, amit a CCD detektálni képes. Az eszköz fényerősítésének mértéke a lemez két oldala közti potenciálkülönbség változtatásával gyorsan és széles tartományban szabályozható. Ezen detektorokkal akár nanoszekundumos időfelbontás is elérhető, valamint igen érzékenyek, így teljesítményük sok tekintetben túlmutat a hagyományos CCD detektorok teljesítményén [22]. A következő 4. ábrán egy ICCD detektor felépítése és az MCP keresztmetszeti képe látható.



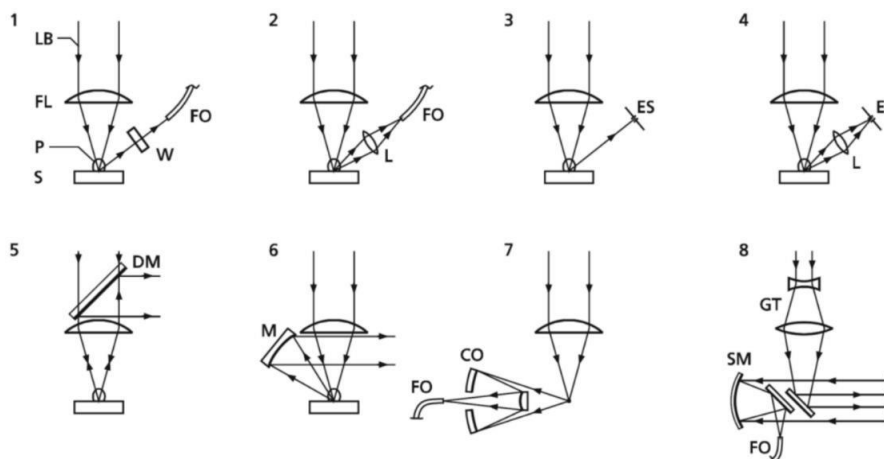
4. ábra: a) az ICCD felépítése, b) az MCP keresztmetszeti képe [23].

A kiolvasási sebesség növelése érdekében fejlesztik a CMOS (complementary metal-oxide semiconductor array) típusú detektorokat. Ezek az eszközök gyors elektronikával rendelkeznek, mely lehetővé teszi a Gpixel/s kiolvasási sebességet és tartósan akár kHz-nél nagyobb adatgyűjtési frekvenciával is képesek üzemelni,

megapixeles felbontás mellett. Jelenleg az ilyen CMOS rendszerrel szerelt spektrométerek már kereskedelmi forgalomban elérhetőek, viszont magas áruk, illetve a CCD-khez képest kissé rosszabb érzékenyséjük miatt jelenleg még nem jutottak jelentősebb szerephez [24, 25].

### 2.3. Az optikai elrendezés

A lézernyaláb mintafelszínre történő megfelelő fókuszálása, valamint a plazmafelhő optikai emissziós megfigyelésének precíziós kivitelezése elengedhetetlen fontosságú a kellő érzékenységgel történő mérésekhez. A laboratóriumi LIBS berendezések esetén az optikai elrendezés szabadon megválasztható, alakítható, az aktuális kísérlet céljainak megfelelően. Ezzel szemben a kereskedelmi forgalomban kapható, elsősorban ipari vagy gyakorlati problémák megoldására tervezett és optimalizált LIBS spektrométerek rugalmassága és variálhatósága az elrendezés tekintetében kisebb. Az alábbi 5. ábra szemlélteti az optikai elrendezések leggyakoribb típusait.



5. ábra: Különböző optikai elrendezések sematikus ábrája. LB: lézernyaláb, FL: fókuszáló lencse, P: plazma, S: minta, W: ablak, FO: száloptika, L: lencse, ES: belépő rész, DM: dikroikus tükör, M: tükör, CO: Cassegrain optika, GT: Galilei teleszkóp, SM: szférikus tükör [24].

A minta felszínére érkező lézernyalábot az esetek túlnyomó részében egyszerű gyűjtőlencsével, vagy bizonyos esetekben bonyolultabb lencserendszerrel oldják meg. A legfontosabb optikai követelmény ezen lencsékkel szemben, hogy maximális transzmisszióval bírjanak az adott lézerimpulzus hullámhosszán. Az optimális fényáteresztés érdekében a látható és infravörös tartományban sugárzó lézerek esetén boroszilikát lencsék, míg a 340 nm alatti tartományban kvarc anyagú lencsét célszerű alkalmazni. A lencse transzmissziós tartományán túl fontos paraméter a lencse fókusztávolsága is. A lézerfény mintafelszínre történő fókuszálására legtöbb esetben rövid,

fókusz-távolságú lencsákat használnak, hiszen ilyenkor a térben felbontott méréseknek kedvező, erősen lokalizált plazma keletkezik [25, 26]. Bonyolultabb lencserendszerekre akkor van szükség, amikor mérés közben állítani kell a fókusz-távolságon. Erre példa a gyártási, ipari folyamatokban történő LIBS méréseken alapuló minőségellenőrzési gyakorlat, melynél a minta és a lencse közötti távolság nagymértékben változhat az egyenetlen felületű tárgyak vizsgálatakor. A feladat megoldásához többlencsés fókuszálórendszert kell kiépíteni és a lencsék mozgatásával lehet megoldani a fókusz-távolság változtatását. Távoli mérésekre optimált rendszerek esetén, mikor a lencse nem helyezhető a minta közvetlen közelségébe, vagy a minta felszíni egyenetlenségei igen nagymértékűek, hosszú fókusz-távolságú lencsákat érdemes alkalmazni [27].

A mintafelszínre elérő lézernyaláb átmérőjének szabályozása végett, a szofisztikáltabb fókuszáló optikai rendszerrel ellátott LIBS készülékekbe még egy nyalábtágító optikai elemet is beépítenek a fókuszáló rendszer elé, ugyanis az a lézernyaláb, amely teljes mértékben kitölti a fókuszáló optikát, könnyebben fókuszálható kisebb foltméretre. Ez az elrendezés egyben csökkenti az optikai elemekre nehezedő teljesítménysűrűség okozta stresszhatást is, ugyanis a nagyobb nyalábatmérő kisebb felületi teljesítménysűrűséget eredményez, ami megnöveli az optikai elemek élettartamát.

Leggyakrabban a mintafelszínre merőlegesen érkeztetik a lézernyalábot [28]. Kivételt képeznek a folyadékok mérésére alkalmas LIBS berendezések, ahol gyakran  $75^\circ$  szögben történik a besugárzás, azért, hogy a beeső lézerimpulzus okozta folyadék kicsapódás elkerülje az optikát [29]. Általános elrendezésben az optikai elemek épségének védelmében minimálisan 20 mm fókusz-távolságot (munkatávolság, lencse-minta távolság) alkalmaznak, amivel elkerülhető, hogy a lézerimpulzus hatására a minta felszínéből kilökődő és megolvadó anyagmaradványok, olvadékcseppek elérjék az optikai rendszer elemeit. A könnyebb mintapozícionálás és az egyszerűbb dokumentálhatóság érdekében célszerű a LIBS rendszereket optikai mikroszkóp köré építeni, hiszen így nem csak könnyebb a minta felszínének megfigyelése, valamint a lézernyaláb fókuszálása, hanem nyomon követhető a minta felszíni deformitásának mértéke is a mérések során azonos időben [30].

A keletkezett plazma optikai emissziós megfigyeléséhez szintén szükséges egy, az emittált fényt gyűjtésére alkalmas rendszer, mely többségében tükrökből és lencsékből épül fel, de léteznek olyan elrendezések is, melyek közvetlenül a spektrométer belépő részén keresztül gyűjtik a spektrális információt. Fontos, hogy a lencsék transzmissziója nagy

legyen és az összes fényt továbbítsák a spektrométerbe, valamint a kromatikus aberráció (a lencsék fókusz távolságának hullámhosszfüggéséből adódó leképezési hibája) minimális legyen. A probléma reflexiók – homorú/parabolikus tükrökkel szerelt – fénygyűjtő rendszerrel vagy akromatikus lencsékkel kiküszöbölhető, bár utóbbiak leginkább a látható tartományba eső hullámhosszak torzításmentes leképezésére alkalmasak, az atomspektroszkópiai mérések számára értékes, 200-300 nm hullámhosszúságú fényére nem. A parabolikus lencsék fókusz távolsága hullámhossztól független, így azok univerzálisan alkalmazhatók.

Geometriai elrendezés tekintetében a fénygyűjtő rendszer tengelyirányban, illetve oldalirányban egyaránt elhelyezkedhet. Az előbbi elrendezés esetén a megfigyelés a beérkező lézernyaláb irányában történik, ami mélységi elemzések során sokkal előnyösebb, hiszen a tárgy távolság hatása a spektrális intenzitásokra sokkal kisebb, valamint a berendezés maga is sokkal kompaktabb, hiszen a fókuszáló és a megfigyelő rendszer optikai elemei azonosak, viszont az önabszorpcióra való hajlama nagyobb az oldalirányú megfigyelést alkalmazó rendszerekhez képest. Az oldalirányú megfigyelési elrendezéssel épített rendszerek esetén a megfigyelést a lézernyaláb tengelyétől eltérő, leggyakrabban maximálisan kb.  $45^\circ$  szögben szokták végrehajtani. Ezen rendszerek a plazmahőmérséklet változása okozta jelingadozásnak erősebben kitettek, viszont nagyobb tervezési rugalmasságot biztosítanak.

A száloptikák alkalmazásával flexibilisebb optikai rendszer alakítható ki, ahol a lézernyaláb forrás, valamint a spektrométer jóval távolabb is elhelyezhető a mintától, így különleges, szűk helyeken vagy veszélyes körülmények közt is kivitelezhetők a mérések. Utóbbiakra példák az oceanográfiai vagy az atomenergetikai szektorban használt LIBS készülékek, melyek optikai szárendszer segítségével továbbítják a plazmakeltéshez szükséges lézernyalábot, valamint a plazma optikai emissziós színeképét is. A száloptikás és a klasszikus lencserendszeres készülékek analitikai teljesítőképessége nem különbözik érdemben egymástól [31].

#### ***2.4. A LIBS analitikai teljesítőképessége***

A LIBS technika a rokon analitikai atomspektroszkópiai technikákhoz képest számos olyan előnnyel bír, mely különlegessé teszi azt. Segítségével a periódusos rendszer legtöbb eleme vizsgálható, köztük a könnyű elemek is. Nem okoz gondot a minta halmazállapota: szilárd, folyadék vagy gáz fázisú minták egyaránt vizsgálhatók vele. Kontaktus nélküli módszerről

lévén szó, a mérések akár több tíz méter távolságból is elvégezhetők, így nehezen hozzáférhető helyeken, illetve veszélyes minták vizsgálatakor is biztonságosan lehet méréseket végezni. Mikrodestruktív eljárás, a mintán mikrométer nagyságrendű átmérővel bíró ablációs kráter marad vissza, ami szabad szemmel alig kivehető, így kényes és nagyértékű minták vizsgálatára is sok esetben alkalmas a LIBS. Az esetek többségében mintaelőkészítés sem szükséges, így az ebből fakadó problémák kiküszöbölhetők, ami anyag- és vegyszertakarékossá is teszi a mérés technikát. LIBS módszerrel *in situ* mérések is végezhetők és hordozható kivitelben szintén rendelkezésre állnak kompakt készülékek. Zárt mintakamrák használatával – biztosítva a személyzet egészségét és sértetlenségét – veszélyes (pl. robbanó, radioaktív vagy toxikus) anyagok mérése szintén lehetséges. A kísérletek atmoszférikus körülmények közt, levegőn is kivitelezhetők, nincs szükség nagyvákuumra. Az anyagtranszporttal kapcsolatos zavaró hatások sem jelentkezik, ami a rokon LA-ICP-MS esetén problémát okozhat. A LIBS igazi multielemes technika, egy mérés során az ablált mintamennyiség minden komponense egyszerre gerjesztődik, és a teljes UV-Vis spektrum egyidejűleg detektálásra kerül.

A LIBS mérés technika kimutatási határa pár tíz ppm nagyságrendben mozog [32]. Természetesen ez függ a minta halmazállapotától, a készülék paramétereitől és a mérni kívánt elemtől is. Ezek az adatok az oldatos mintabevitelű rendszerekhez képest, mint például az ICP-MS, ahol ppt nagyságrendű kimutatási határok az általánosak, kissé magasnak tűnhetnek, de kiemelendő, hogy LIBS esetén nem történik olyan mintaelőkészítési lépés, ami híguláshoz vezetne. Gyakorlatilag a tipikusan  $\mu\text{g}$  nagyságrendű mintaigény figyelembevételével az abszolút kimutatási határ pg nagyságrendű, amely érték speciális megoldásokkal akár több nagyságrenddel csökkenthető. Három-öt koncentráció nagyságrendű dinamikus tartománya lehetővé teszi a széleskörű alkalmazást. Két- illetve háromdimenziós elemeloszlás térképek készítése is lehetséges.

Az analitikai jel ismételhetősége közepesnek mondható, 10-20% RSD néhány ismételt mérésre nézve, ami két fő okra vezethető vissza. Az egyik az impulzusüzemű lézerek pár % impulzusenergia szórással való működése. A másik ok a legtöbb vizsgált anyag mikroheterogenitása [33]. Természetesen nagyszámú különböző lokációkban végzett párhuzamos méréssel ez utóbbi probléma megoldható, akár több száz vagy ezer spektrum felvétele is lehetséges, mely nagy ismétlési frekvencia mellett maximum néhány

percet vesz igénybe. Az impulzusenergia szórásának hatása jelnormalizációs eljárásokkal vagy egyes technikai megoldásokkal orvosolható.

### **2.5. A LIBS spektroszkópia során esetlegesen fellépő zavaró hatások**

A mátrixhatás, vagyis az általunk vizsgált minta komponenseinek, és a minta fizikai és kémiai jellemzőinek hatása a LIBS vizsgálatok során erősen megmutatkozik.

A fizikai mátrixhatás, a minta valamely fizikai paraméterével (pl. optikai tulajdonságai, keménysége, hővezetőképessége, párolgáshője, stb.) kapcsolatos. Azonos lézerparaméterek mellett különböző mintákon különböző ablációs rátát lehet elérni. Az ablált anyagmennyiség szoros összefüggésben áll az emissziós spektrumban megjelenő vonalak intenzitásával. Azt is érdemes megjegyezni, hogy az abláció nem feltétlenül sztöchiometrikus összetételben következik be, vagyis az ablált mintarészletben elemi frakcionálódás játszódik le, így a mért koncentráció arányok nem egyeznek a vizsgált minta eredeti koncentráció arányaival. Erre a jelenségre jó példát szolgáltatnak a sárgaréz minták: a kisebb forráspontú cink túl lesz reprezentálva az ablációs csóvában a rézhez képest [34]. Ilyenkor megoldást jelenthet femtoszekundumos lézerek alkalmazása.

Abban az esetben, ha mátrix könnyen ionizálható alkálifémekből tevődik össze, akkor a kevésbé ionizálható elemek ionvonalainak emissziós intenzitása csökken. A folyamatok hatására a plazma elektronkoncentrációja is emelkedik a könnyen ionizálható elem jelenléte miatt. Így elmondható, hogy egy elem azonos koncentrációban, de eltérő kémiai formában való megjelenése eltérő spektrális intenzitással fog jelentkezni [35].

Az összetett, többkomponensű minták vizsgálatakor nem csak a mátrixhatással hanem spektrális zavaró hatásokkal is számolni kell, az egymás közelségében megjelenő spektrumvonalak átlapolódhatnak egymással. A jelenség valószínűségét a Stark és Doppler effektusok tovább növelik. Hatással van még a környező gázatmoszféra nyomása, valamint az atomok és a molekulák ütközésére visszavezethető természetes vonalkiszélesedés is. A mérések többsége különböző megfontolások miatt például jelerősítés céljából argon vagy más inert gázatmoszférában történik, amely szintén hozzájárul a rögzített spektrum jel összetételéhez. Természetesen a gázatmoszférától származó vonalak vákuumban történő mérés esetén nem jelentkeznek. A spektrális zavarások ellen a nagyfelbontású spektrométerek megoldást jelenthetnek.

A LIBS spektrumok szinte minden esetben jelentős spektrális háttérrel bírnak, melyet főképp a lézer indukált plazma folytonos emissziója okoz. Emiatt a kvantitatív meghatározások során első lépésként háttérkorrekciót kell végrehajtani, hogy csak a

koncentrációval arányos nettó intenzitásokat vegyük figyelembe a későbbi számítások során. A háttérkorrekció történhet a teljes spektrumra vagy akár csak arra a vonalra, mely éppen számunkra az érdekes információt hordozza. A háttérkorrekció számítógépes adatkiértékelő programokkal vagy manuálisan is kivitelezhető.

## **2.6. Az analitikai teljesítmény javítására szolgáló módszerek**

### **2.6.1. Kalibrációs technikák**

Az analitikai kémiában a kvantitatív mérések kivitelezésének egyik elengedhetetlen lépése a kalibráció, mely során a műszer által szolgáltatott válaszjel és az analit koncentrációja közötti összefüggés megállapítására kerül sor, egy a vizsgált komponenst ismert koncentrációban tartalmazó standard minta segítségével. Ez a klasszikus oldatmintás analitikai eljárások során könnyen és gyorsan megoldható, kereskedelmi forgalomban számos multieleemes standard kapható, melyekből megfelelő hígítási lépések beillesztését követően alkalmas kalibráló oldatsorozat készíthető. A LIBS leginkább szilárd minták vizsgálatára szolgáló eljárás, ezért az esetükben az ilyen „direkt” kalibrációhoz az előző fejezetben bemutatott zavaró hatások okán célszerű mátrixazonos standardokat használni. Ez azonban nehézkes lehet, hiszen ahány féle mintát vizsgálunk, annyi féle mátrixú standardra lesz szükség. Szerencsére manapság ilyen standardok kereskedelmi forgalomból már egyre inkább beszerezhetők, többségében porított vagy a porból préselt pasztilla, esetleg ömlesztett, nyomelemeket tartalmazó üvegstandardok formájában.

Amennyiben nem áll rendelkezésre mátrixazonos kalibráló standard, akkor megoldást jelenthet a standard addíciós kalibrációs eljárás. A gyakorlatban ez úgy történik, hogy a vizsgálni kívánt porított mintából egy olyan sorozat készül, melynek tagjaihoz az analitot ismert koncentrációban tartalmazó standard oldat egyre növekvő mennyiségben kerül hozzáadásra. A keverékekből – annak homogenizálása és szárítása után – pasztillák készülnek [36].

Kvantitatív LIBS mérések kivitelezése lehetséges ún. calibration-free LIBS, (CF-LIBS) módszerrel, amelyek különböző plazmaparaméterek változása alapján képesek elég jó közelítésű becslést adni a mintában szereplő komponensek koncentrációjára standardok alkalmazása nélkül. A Tognoni és munkatársai által kidolgozott egyik ilyen eljárás alapja, hogy a módszer lokális termodinamikai egyensúlyt és sztöchiometrikus ablációt, valamint optikailag vékony, tehát önabszorpciótól mentes és homogén plazmát feltételez és a Boltzmann grafikonból számolja a plazmában jelen lévő komponensek koncentrációját.



Fontos, hogy legalább két darab zavarmentes spektrumvonal legyen azonosítva minden vizsgált komponensre, ezek spektroszkópiai paramétereinek, tehát energiaszintjeinek, valamint ezek átmeneti valószínűségeinek ismertnek kell lennie ahhoz, hogy a plazmahőmérséklet számítható legyen. A modellt az elmúlt évek alatt többször kiegészítették és finomították és ennek köszönhetően egyre pontosabban alkalmazható koncentráció meghatározásra [37].

Egy szintén jól alkalmazható korrelációs eljárás alapuló kalibrációs megközelítést dolgozott ki kutatócsoportunk korábban. A módszer összehasonlítja a mérendő komponens tisztán tartalmazó kalibrációs minta spektrumát a többi komponenseket változó koncentrációban tartalmazó kalibrációs minta spektrumaival. A kalibrációs görbét a számolt korrelációs tényezőknek a mérendő komponens tömegarányának függvényében való ábrázolásakor kapott, monoton növekvő, egyértékű, korlátos függvény adja. A módszer különlegessége, hogy igen robusztus, nem érzékeny az alapvonal eltolódására, valamint a detektorjel ingadozása sem befolyásolja. Többkomponensű rendszerekben is alkalmazható és a direkt kalibrációt elérő pontosságot képes produkálni [38, 39].

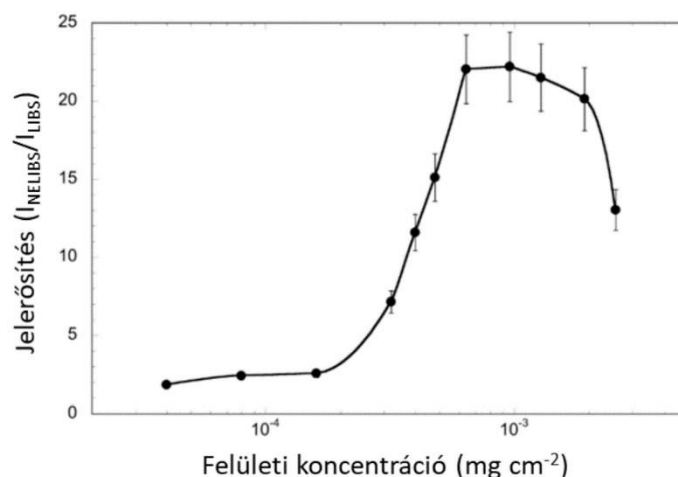
### **2.6.2. Nanorészecskékkel jelerősített LIBS**

Az érzékenység növelésére és/vagy a szelektivitás javítására már hosszú ideje előszeretettel alkalmazzák a fém nanorészecskék plazmonikai tulajdonságait kihasználó módszereket az olyan lézer spektroszkópiai technikák, mint a felületerősített Raman spektroszkópia (SERS) és a nanorészecskékkel erősített fluoreszcencia spektroszkópia (NEFS) [40, 41]. A fém nanorészecskék LIBS teljesítménynövelésre szolgáló alkalmazását az elmúlt években kezdték meg, elsőként De Giacomo kutatócsoportjában. Az általuk kidolgozott módszert el is nevezték nanorészecskékkel jelerősített LIBS (NELIBS) technikának, mellyel egyre több kutató kezdett foglalkozni az elmúlt néhány év alatt, folyamatosan bővítve a hozzá kötődő ismeretanyagot és az alkalmazhatósági kört.

A fémes nanorészecskék esetén a lokalizált plazmon rezonancia jelensége használható ki, mely a részecskék fényel való kölcsönhatása során jön létre. A rácson belüli egyensúlyi elektroneloszlás megváltozását hívjuk plazmonnak, ami tömbi minták esetén csak egy vékony felületi rétegben valósul meg (felületi plazmon rezonancia, SPR), külső elektromágneses tér hatására, kellően vékony minták esetén a jelenség a minta egészére vonatkoztatva lép fel, a vegyérték elektronok polarizációját is előidézve [42, 43].

Lokalizált felületi plazmon (localized surface plasmon, LSP) abban az esetben alakul ki, ha a részecske mérete a gerjesztő foton hullámhosszánál kisebb, ugyanis ilyenkor felületi hullámterjedés nem tud megvalósulni. A nanorészecskék szélén töltések halmozódnak fel, aminek eredményeként a közeli elektromágneses tér térerőssége jelentősen megnő, hiszen a dipólusok gerjesztődnek, mivel az oszcilláció és a külső elektromágneses tér fázisai megegyeznek. Az erősítés a nanorészecskék közvetlen környezetére, illetve magára a részecskére lokalizálódik [44]. A részecskék közti térben, ha a részecskék közel helyezkednek el egymáshoz, a lokalizált felületi plazmonok csatolódnak és egy új lokalizált elektromágneses mező jön létre, mely tovább erősíti az elektromágneses teret [45]. Az előbbieket alapján megállapítható, hogy a minta felszínére felvitt nanorészecskék jelentősen megnövelik a beeső lézerimpulzus hatására keletkező elektromos térerősséget, ami pedig nagymértékben kihat az abláció és a gerjesztés folyamatára. Fém minták vizsgálatakor – fém nanorészecskék alkalmazása esetén – téremisszió során azonnali elektronkilépés valósulhat meg a beérkező lézerimpulzus hatására. Ilyenkor magasabb plazmahőmérséklet és ionizációfok érhető el, mindaddig, amíg a nanorészecskék teljesen el nem ablálódnak. Szigetelő minták esetén ez a jelenség visszafogottabb, téremisszió nem jön létre, viszont a részecskék felületén oszcilláló elektronok erős fűtő hatást tudnak generálni, és a részecskék, valamint a minta optikai letörése, továbbá a minta ablációja is bekövetkezhet kellően nagy impulzusenergia mellett. A folyamat lejátszódásának feltétele, hogy az alkalmazott lézer hullámhossza rezonáljon a részecskék által keltett lokális felületi plazmonnal.

A jelenség működése érdekében a nanorészecske deponálás során bizonyos kritériumoknak meg kell felelni. De Giacomo és Dell'Aglio kísérleteik során titán mintafelszínre vittek fel 20 nm nagyságú ezüst nanorészecskéket különböző koncentrációban tartalmazó szuszpenziót. Az eredmények alapján arra a következtetésre jutottak, hogy a jelerősítés mértéke nagyban függ a felületi koncentrációtól [46]. Az általuk feltárt összefüggésekből származó eredményeket a 6. ábra szemlélteti.



6. ábra: Összefüggés a nanorészecskék felületi koncentrációja, valamint a LIBS jelerősítés mértéke között [47].

Amint az a 6. ábrán is látható, kis felületi koncentráció esetén a jelerősítés nem valósul meg, az egyes részecskék közti távolság túl nagy, az individuális LSP-k nem tudnak egymáshoz csatolódni. A részecskék mérete és a köztük lévő távolság tehát meghatározó fontosságú. Azt is érdemes figyelembe venni, hogy a részecskék közti túlzottan kicsi távolság, vagy az egybefüggő részecskeszőnyeg már a jelerősítés ellen dolgozik. Ennek oka, hogy ilyenkor nanorészecske aggregátumoknak képződhetnek, valamint megjelenik egy, a részecskék közt fellépő alagúteffektus hatására kialakuló elektron delokalizáció is, mely csökkenti a térerősséget. Optimális esetben a technika segítségével nagyjából két nagyságrendnyi LIBS jelerősítést lehet elérni.

Az NELIBS módszert az elmúlt években egyre többen kezdték alkalmazni biológiai minták fluidumok vizsgálatára is. Így tett De Giacomo és Koral, akik nagy fehérjetartalmú folyadékok fémtartalmát vizsgálták kutatásaikban úgy, hogy a mintahordozót előzetesen arany nanorészecskékkel vonták be, majd erre vitték fel a mintát. Módszerük segítségével eredményesen mutatták ki az ólmot 75 ppb mennyiségben [48]. Rusak kutatócsoportjával üveg felületre előzetesen deponált nanorészecske szőnyegre vitt fel folyadék mintát, mely 0,01% mennyiségben tartalmazott rezet és fluórt. Eredményeikben a két vizsgált elemre nézve a spektrumvonalak intenzitása az NELIBS mérések során egy nagyságrendet nőtt, míg a jel/zaj viszony közel három és félszer jobb lett [49].

### **2.6.3. Adatfeldolgozási technikák**

#### **2.6.3.1. Jelnormalizációs eljárások**

A LIBS teljesítőképesség fejlesztésének egyik fő területe az ismételhetőség javítása, mely szoros összefüggésben áll a precizitással. A probléma javítására szolgálnak különböző megfontolásokon alapuló jelnormalizációs technikák. Ilyenkor a vizsgált analit kiválasztott vonalának a teljes spektrum integrált intenzitására vagy egy másik választott referencia jelére való normálásával az analitikai jel fluktuációja hatásosan csökkenthető [50]. Egy másik kevésbé elterjedt, de szintén hatásos megoldás a jelingadozás hatásának csökkentésére az impulzusenergia monitorozása és az azzal történő jelnormalizáció, mivel megfigyelték, hogy a lézerpulzus energiája és a spektrum teljes intenzitása közt szoros összefüggés van [51].

A fémötvözetek vizsgálatokor hatásos lehet egy olyan jelnormalizációs technika, mely lényegében a belső standard módszeréhez hasonlít. Alapja, hogy a minta spektrumában kiválasztásra kerül egy olyan referencia komponens, melynek koncentrációja magas, azaz mennyisége közel állandó, a gerjesztési potenciálja pedig hasonló a vizsgálni kívánt komponens gerjesztési potenciáljához. Ezen túlmenően teljesülnie kell annak is, hogy a referencia komponens normálásra kiválasztott vonalintenzitása és a vizsgált analit vonalintenzitása közt se legyen több nagyságrendbeli különbség. A módszer például acélmintákban az ötvözőelemek meghatározására igen jól használható, a vas egyik spektrális zavaroktól mentes vonalára történő normálással [52].

A LIBS mérések során az ablációt kísérően fellépő akusztikus hanghatást szintén lehetséges jelnormalizációs célokra alkalmazni. A módszer alapját képező megfigyelés lényege, hogy a hanghatás intenzitása jó közelítéssel egyenesen arányos az ablált anyagmennyiséggel, ami összefügg a mintakomponens spektrumvonalának intenzitásával. A referencia jelet ilyenkor egy igen érzékeny, szélessávú mikrofonnal rögzítik [28].

#### **2.6.3.2. Kemometriai osztályozó technikák**

A LIBS mérések során keletkezett, nagy mennyiségű információt tartalmazó adathalmazok rendszerezéséhez, értelmezéséhez a kemometriai és osztályozó eljárások jelentenek megoldást. Segítségükkel a különböző adatmintázatok beazonosíthatók, csoportosíthatók és rendszerezhetők, a köztük fennálló összefüggések is feltárhatók.

Az egyik legegyszerűbb, jól bevált kemometriai eljárás a főkomponens analízis (Principal Component Analysis, PCA), mely az adatredukációs módszerek közé sorolandó.

A modell működése lényegében az adat belső struktúrájának feltárását jelenti, oly módon, hogy az a lehető legnagyobb mértékben magyarázza az adathalmaz szóródását. Abban az esetben, ha egy többváltozós adathalmaz egy több-dimenziós adattérben koordináták halmazaként lett ábrázolva, akkor a főkomponens analízis lényegében egy alacsonyabb dimenziójú képet szolgáltathat a felhasználó számára, abból a nézőpontból tekintve, mely a leginformatívabb módon jellemzi az objektumot (adathalmaz), annak egy levetítése vagy „árnyéka” által. Ilyenkor a transzformált adat dimenzióinak lecsökkentését az első néhány főkomponens felhasználásával végezzük.

A módszer, a sokváltozós adathalmaz — melynek változói kölcsönös kapcsolatban állnak egymással — dimenzióit lecsökkenti úgy, hogy közben a jelen lévő varianciát a lehető legjobban megtartja. A technika alapját a főkomponensek alkotják, ezek ortogonális (merőleges) transzformáció segítségével keletkeznek az adathalmaz lehetségesen korreláltatható változóiból úgy, hogy a transzformációval belőlük a lineárisan korrelálatlan változók értékészletét alakítjuk ki, vagyis a főkomponenseket, melyek száma az eredeti változók számával megegyezik, vagy annál kisebb. Az első főkomponens írja le a variancia legnagyobb részét, majd sorban minden további komponens hozzájárulása egyre kisebb [53].

A diszkriminancia analízis (Discriminant Analysis, DA) során a minták közti különbségek felkutatása a cél. Az eljárás a megfigyeléseket egy olyan diszkrimináló térbe viszi át a mintatérből, ahol a mintacsoportok lehető legjobban elkülönülnek egymástól. Ezt követően azokat a változókat kutatjuk fel, amelyek legjobban definiálják az elkülönülést. A szeparáló eljárások működési mechanizmusának alapfeltevése, hogy az azonos osztályba tartozó mintatípusok viszonylag közel foglalnak helyet egymáshoz, míg a különböző osztályokba tartozó elemek egymástól távol, jól elkülönülve helyezkednek el a térben. A szeparáló eljárások azokat a hiperfelületeket keresik, melyek ezen osztályokat egyértelműen elkülönítik [54]. Korrelációs mátrixok segítségével írható le a különböző osztályok viszonya, és annál jobb a diszkriminancia eredménye, minél nagyobb a teljes korrelációs mátrixon belül az osztályok közötti korrelációs mátrix aránya. Amennyiben az egyes osztályok korrelációs struktúrája megegyezik, vagy csak minimális eltérést mutat, akkor lineáris diszkriminanciáról (LDA) beszélünk. Ha nem ez az eset áll fenn, akkor kvadratikus diszkriminancia (QDA) elemzést végzünk [55].

Az előbbieken említett lineáris diszkriminancia elemzést (Linear Discriminant Analysis, LDA) egyike a leggyakrabban alkalmazott mintafelismerő és gépi tanulásban

használt eljárásoknak. Dimenziócsökkentő technika, mely során az eredeti változókból kanonikus változókat generálunk. A különböző minták egyes csoportjai köré ellipszoidok, illetve hiperellipszoidok írhatók, melyek jól definiálják a minta egyes mérésekből származó elemeinek azonos csoportba való tartozását, vagyis az azok által elfoglalt térrészt. A diszkrimináló függvény egy egyenesnek, több dimenzióban egy hipersíknak tekinthető, mely az ellipszoidok metszéspontjában húzódik. LDA esetén a csoportok változószáma azonos,  $n$  darab csoport esetén a generált kanonikus változók száma  $n-1$  [56].

Egy viszonylag új, de egyre inkább elterjedten alkalmazásra kerülő technika a mesterséges neurális hálók módszere (Artificial Neural Networks, ANN). Ahogyan az a nevéből is adódik, a módszert a biológiai idegrendszerek működése inspirálta, és kezdetben ezek működésének szimulálására alkalmazták. Alapja az emberi agy működésének sémájára hasonlít, mivel az ANN is úgy tanul, mint mi emberek, vagyis az ugyanazon impulzusok által kiváltott ismétlődő stimulációk hatására az egyes neuronok közti szinaptikus kapcsolat erőssége változik. Az ANN rendszerét is az emberi agy mintájára csomópontok (neuronok) és irányított kapcsolatok (szinapszisok) összekapcsolt sokasága alkotja. Az algoritmus működésének célja a  $w$  súlyok megtalálása, melyek minimalizálják a négyzetes hiba teljes összegét. A modell optimális működése érdekében elengedhetetlen az adott problémához megfelelő méretű hálózati topográfia kiválasztása, ellenkező esetben az algoritmus hatalmas kifejezőerejű hipotézistere miatt a modell túlillesztheti a vizsgált problémát. A redundáns információk kis súllyal kerülnek tanulásra, így ezek kiszűrhetővé válnak. Mivel a módszer érzékeny a zajra, ezért az adatok előkezelése ajánlott, validációs halmaz alkalmazásával. Az ANN rendszerek hajlamosak csak lokálisan optimális megoldást találni, hiszen mohó stratégiát alkalmaznak a hipotézistér felkutatásakor. A tanulási fázis igen hosszadalmas lehet, a rejtett csomópontok miatt. Ha a modell már működőképes, akkor a teszt esetek gyorsan osztályozhatók [57].

Az egyik legújabb és igen ígéretesnek mutakozó osztályozó eljárás a tartóvektorgép (Support Vector Machine, SVM). A módszer a statisztikai tanulás elméletéből indul ki és igen eredményesen szerepel számos gyakorlati alkalmazás terén. Sokdimenziós adatokkal jól képes bánni, elkerülve a dimenzióprobléma okozta nehézségeket. Nevének eredete onnan származik, hogy döntéseinek határát a tanulóesetek egy részhalmazának segítségével reprezentálja, ezek a tartóvektorok. Az SVM esetén a tanulási folyamat konvex optimalizálási problémaként is megfogalmazható, mely során a célfüggvény globális minimumának meghatározására hatékony algoritmusok állnak

rendelkezésre. A döntési határ szabályozásával az SVM kapacitásszabályozást végez. A technika alkalmazható kategorikus adatokra, abban az esetben, ha minden attribútumhoz fiktív változót vezetünk be [57].

## **2.7. Néhány jellemző analitikai alkalmazási terület**

A következő alfejezetekben bemutatom a LIBS mérés technika, néhány jellemző, különböző tudományterületeken átívelő alkalmazásait, kitérve a változatos mintatípusok vizsgálata során felmerülő analitikai kihívásokra, azok megoldási lehetőségeire.

### **2.7.1. Geológiai és környezeti eredetű minták vizsgálata**

Az elmúlt negyven évben számos geológiai témájú LIBS közlemény jelent meg. Ezekben foglalkoztak többek között ásványok, kőzetek, üledékek és talajok, valamint folyadékok és aeroszolok vizsgálatával is, nem csak laboratóriumi, hanem terepi, *in situ* körülmények között is. A különböző geológiai minták méréséből származó eredményekre alapozva klimatológiai következtetések vonhatók le.

Paleoklimatológiai kutatások kapcsán Ma kutatócsoportjával cseppkő mintákat vizsgált. LIBS elemeloszlás térképeket készítettek számos elemre (Ca, Na, Mg, Al, Si, K, Fe és Sr) mely fő, mellék és nyomelemként játszanak szerepet a cseppkövek képződése során. Beépülésük (különösen a nyomelemeké), az évmilliók alatt az adott környezeti körülményeknek megfelelően változva történik. A kutatók ezen mérési eredmények birtokában képesek voltak a cseppkő különböző ásványi összetételű fázisainak elkülönítésére is [58]. Magyarországon elsőként Galbács és kutatócsoportja vizsgálta cseppkövek elemeloszlását LIBS mérésekkel. A Baradla-barlangból származó cseppkőminták fő- (Ca, Mg, C, O), és mellék komponenseinek (Al, Si, Fe, Mn) hosszmeteszeti eloszlását nézték. A kiértékelés során egy új jelkorrekciós eljárást, a teljes integrált spektrális háttér módszerét alkalmazták, így javítva a LIBS analitikai teljesítőképességét. Kutatásuk eredményeként a vizsgált elemek kémiai előfordulásának formáját is képesek voltak meghatározni [59].

A paleontológiai vizsgálatok gyakori tárgya a különböző tengeri vagy szárazföldi puhatestűek (csigák, kagylók) meszes váza. Hausmann munkatársaival három különböző fajhoz tartozó tengeri csiga vázáinak maradványait vizsgálta egy általuk fejlesztett térképezésre optimalizált LIBS rendszerrel. Az *in situ* mérések során a minták Mg II 279,55/Ca II 315,89 nm intenzitás arány alakulását követték nyomon egy olyan

automatizált LIBS rendszer segítségével, mely több mint 20000 adatpont rögzítésére volt képes óránként, közel 90 µm térbeli felbontással. Munkájuk megmutatta, hogy a LIBS egy gyors és költséghatékony megoldás lehet meszes vázú tengeri élőlények vizsgálatára [60].

A technológiai ipar számára elengedhetetlen fontossággal bíró nyersanyagokról, az azokkal kapcsolatos beszerzési, gazdálkodási politikáról 2008-tól kezdve bizonyos időközönként az Európai Bizottság folyamatosan aktualizálja az úgynevezett Critical Raw Materials adatbázist [61]. Ebben a listában a nélkülözhetetlen nyersanyagok (többek közt a ritkaföldfémek, arany, ezüst, vas, kőszén vagy fa) rangsorolódnak, aszerint, hogy a kérdéses anyagnak mekkora a gazdasági jelentősége, illetve, hogy miként alakul az ellátás folytonossága. A listán szereplő, főleg a technológiai ipar számára jelentős anyag ára – a nagy keresletnek köszönhetően – az elmúlt években meredeken emelkedni kezdett, ezért a kutatók új alternatív források felderítésébe kezdtek. Az elmúlt évtizedekben számos kutató végzett LIBS méréseket vasérc mintákon, a hasznosanyag meghatározás, illetve a bennük szereplő szennyezők felkutatása célján. A kísérletekben leggyakrabban monitorozott elemek között szerepelt a Si, Ca, Mg, Al, Ti, C, valamint kézenfekvően a Fe [62-65].

LIBS spektrumok alapján a különböző ásványfajok is megkülönböztethetők egymástól szofisztikáltabb osztályozó algoritmusok segítségével, melyek a mintára jellemző teljes LIBS spektrumot veszik alapul. Erre ad példát McMillan, aki munkatársaival 52 különböző ásványfaj LIBS spektrumait rögzítette és ezen ásványfajok spektrális sajátosságaira alapozva dolgozott ki olyan osztályozó eljárást, mely sikerrel csoportosította a vizsgált szilikát és karbonát ásványokat [66]. Gottfried és munkatársaival szintén vizsgálta számos mintatípus közöttük különféle karbonát és fluorit ásványok, karbonátos és szilikátos kőzetek, megkülönböztethetőségének lehetőségét. A LIBS spektrumok osztályozása PCA és PLS-DA kemometriai eljárások segítségével történt több mint 95%-os pontossággal [67]. Gottfried munkatársaival három különböző LIBS készülék analitikai teljesítőképességét tesztelték komplex geológiai eredetű mintákon. Kísérleteik során egy kereskedelmi forgalomban kapható, egyimpulzusos LIBS készüléket, egy 25 m távolságból üzemeltett, hordozható LIBS műszert, valamint egy kétimpulzusos laboratóriumi LIBS eszköz analitikai teljesítőképességét hasonlították össze. A rendszerek közös sajátossága volt, hogy mindhárom 1064 nm hullámhosszúságú lézertimpulzusokkal operált. Azt találták, hogy LIBS készülék technikai paraméterei befolyásolják a detektálható emissziós spektrumban megjelenő vonalak relatív intenzitását, illetve azok mennyiségét. A két impulzussal üzemelő LIBS által szolgáltatott spektrumok



vonalgazdagabbnak bizonyultak, de ez az osztályozást nem befolyásolta jelentősen. Összességében mindhárom készülék ugyanazon elemek jelenlétét mutatta ki [67]. ANN segítségével végzett geológiai minták LIBS spektrumai alapján osztályozást Koujelev. Első kísérleti körökben, amikor a vizsgált anyagok referenciakészlete öt anyagtípust tartalmazott, a besorolás pontossága minden mintatípusra 100% volt. Ezt követte egy második körös vizsgálat, itt már 19 különböző csoportba tartozó referencia mintát vettek alapul. Ebben az esetben a helyes csoportba sorolás mértéke kissé visszaesett, 78 és 96% közé, de még ez is igen jó eredménynek tekinthető [68, 69]. McMillan munkatársaival 52 db karbonátos és szilikátos ásvány mintát, valamint az igen összetett kémiai szerkezettel bíró berill ( $\text{Be}_3\text{Al}_2\text{Si}_6\text{O}_{18}$ ) drágakő 96 db, 16 különböző országból beszerzett képviselőjét vizsgálta. Kutatásukban vizsgálták, hogy az egyes minták milyen a származás helyéhez köthető kémiai sajátosságokkal bírnak és hogy ez milyen mértékben mutatkozik meg a LIBS spektrumokban [70].

A LIBS mérés technika nem csak a szárazföldön vagy az óceánok mélyén, hanem a világűrben is képes helytállni, az ott uralkodó szélsőséges és rideg körülmények mellett is. Az elmúlt évtizedben számos misszió indult a Marsra, melyek a bolygó geológiai, hidrológiai tulajdonságainak feltérképezését célozták meg. Ezen küldetések alkalmával az űrszondák méréseket hajtanak végre, vagy kőzeteket, talajmintákat gyűjtenek és azokat visszajuttatják a Földre, hogy itt analizálják őket. Sallé munkatársaival, a Mars felszínének tanulmányozására épített ki egy olyan LIBS rendszert, mely *in situ* mérések elvégzésére alkalmas. A munkájuk két fő vezérelv mentén haladt. Egyik a rendszer távoli mérésekre történő felkészítése a másik pedig a megfelelő kalibráló technika kidolgozása volt. Ez utóbbi a kvantitatív mérések érdekében elengedhetetlen. A módszerük sikerét mutatja, hogy a tesztmintaként alkalmazott bazalt és alumínium minták fő alkotó elemei még több mint tíz méter távolságból is jól detektálhatók voltak. Alumínium ötvözetekben előforduló nyomnyi szennyező elemekre (pl. Si, Mg, Cr) még kalibrációs görbéket is felvettek a kifejlesztett műszerrel. Ezek a görbék lefutásukat tekintve jó egyezést mutattak a laboratóriumi nagyműszeres LIBS készülékkel felvett spektrumok alapján készült kalibrációs görbékkel [71]. Szintén a Mars felszínének vizsgálatát célozta meg a 2012-ben a bolygón landolt űrszonda, mely egy LIBS berendezést is tartalmazott, és amely a felszínt alkotó kőzetek és törmelékek/üledékek elemzését végezte. A távoli mérések révén többek között kvantitatív elemösszetétel meghatározást is végeztek. A víz nyomait és értékes

nyersanyagokat keresve többek közt a H, Li, Be, Rb, Sr, illetve Ba detektálására is alkalmazták a LIBS-et [72].

Laseu kutatócsoportjával a Hold felszínét borító, főleg a mállási-aprózódási folyamatok következtében képződő porhanyós, igen komplex összetételű kőzetréteget (regolit) vizsgálta *in situ* LIBS mérésekkel, 1,5 méteres távolságból. A kísérletek célja itt is az életet adó víz nyomának kutatása, valamint a kőzetréteg összetételének meghatározása volt. A LIBS módszer nagy érzékenységének köszönhetően a fő alkotó elemekre tömegszázalék alatti kimutatási határokat kaptak. Ezen elemösszetétel analízisek alapján a kutatók képesek voltak a regolit forrásául szolgáló anyaközetek meghatározására, melyek vasban gazdag bazaltok, illetve a földpátoknak bizonyultak. Az eredmények alapján arra jutottak a kutatók, hogy a Hold felszínét borító regolit igen erős H jelet produkál, számítások szerint akár 25% vizet is tartalmazhat jég formájában. Az azonosított bazaltos kőzetek egy százalékban szintén vizet tartalmaznak. Ezek a kutatások rámutatnak arra, hogy egyszer, ha a technológiai fejlettségünk kellő szintre ér, a Hold akár újabb életteret is adhat az emberiségnek [73].

### **2.7.2. Biológiai, élettudományi és gyógyszerinták vizsgálata**

Az elmúlt két évtized során a LIBS alkalmazása egyre inkább elterjedt a növénybiológiában is. A LIBS elemtérképek lehetőséget biztosítanak a mikro (Fe, Cu, Mn, Zn, B, Mo, Cl, Ni) és makro (C, H, O, N, P, K, Ca, Mg, S) nyomelemek eloszlásának vizsgálatára, pár tíz mikrométer felbontással. Ezen nyomelemek mennyiségének változása utalhat a növény növekedése közben ért stressz hatásokra (pl. huzat, elégtelen napfény, alul- vagy túltrágyázás, nehézfém mérgezés). A növényfejlődés nyomonkövetése, a szükséges tápanyagbevitel ellenőrzése volt az elsődleges célja a növényi mintákon végzett korai LIBS kísérleteknek [74]. Napjainkra a kutatások hangsúlya áthelyeződött az antropogén tevékenységből keletkező és óhatatlanul a környezetbe kikerülő, a növényekbe esetlegesen beépülő, bennük felhalmozódó nehézfémek, fém nanorészecskék növényen belüli feldúsulási helyeinek felkutatására. Krajcarová munkatársaival gyökérszövetek ezüst nanorészecske ( $21,7 \pm 2,3$  nm átmérő) felvételét vizsgálták 40  $\mu$ m vastagságú lóbab (*Vicia faba*) modellnövény vékony metszetekben. A kísérletek eredményei azt mutatták, hogy az ezüst nanorészecskék a gyökérszelvények legkülső rétegeiben halmozódnak fel, közel a rizodermiszhez. Ebből azt a következtetést vonták le, hogy ezen nanorészecskék felvételi és beépülési aránya viszonylag alacsony, de továbbra is kockázatot jelent az élő

szervezetek számára, így további kutatásokat irányoztak elő [75]. A kvantum pöttyök (quantum dot) technikai alkalmazása is egyre elterjedtebb, így környezetre gyakorolt hatásuk szintén egyre nagyobb mértékű. Ezek gyakran CdTe összetételű, nagyon kisméretű nanorészecskék, amelyeket például a síkképernyős monitorok, illetve televíziókészülékek előállításakor alkalmaznak. Kétféle „quantum dot” beépülését és transzlokációját követte nyomon Modlitbová munkatársaival. A fehér mustár (*Sinapis alba*) növényeket 72 órán keresztül nevelték CdTe nanorészecske tartalmú szuszpenzióban. A méréseket két különböző LIBS beállítással futtatták le, egyrészt egy kis felbontású (100 µm lépésközzel felvett) gyors, tájékozódó, a teljes növényre elvégzett elemeloszlás térképezés történt, ezt követően pedig az ebből szerzett adatok alapján készült, az egyes növényi szervekre összpontosító, nagyfelbontású (25 µm lépésközzel felvett) térkép is. Az eredmények a korábbi tapasztalatokkal összhangban azt mutatták, hogy leginkább a növény gyökérzetében dúsultak fel a nanorészecskék [76].

Modlitbová egy másik tanulmányában nehézfém szennyezést imitálva, különböző koncentrációjú CdCl<sub>2</sub> oldatban 168 órán keresztül nevelt békalencse (*Lemna minor*) mintákat vizsgált. A LIBS mérések során 200 µm térbeli felbontású elem térképek készültek a teljes növényről. A kísérletek eredményei alapján azt a következtetést vonták le, hogy a Cd koncentráció nem befolyásolja a mintában való térbeli eloszlást, vagyis kis Cd koncentrációk esetén is ugyanolyan eloszlási séma volt megfigyelhető, mint a magasabb Cd tartalmú mintákban. A beépült Cd mennyisége viszont függött a növekedés során a mintához adott CdCl<sub>2</sub> koncentrációjától [77]. Egy másik csoport Li szennyezés beépülését és a már a növénybe bekerült Li vándorlását vizsgálta. Kutatásukban nagylevelű kőtiszafa (*Podocarpus macrophyllus*) modellnövényt neveltek LiCl tartalmú oldatban 8-48 órás intervallumokban és LIBS segítségével követték nyomon az elemeloszlás alakulását. A kutatás eredményei azt mutatták, hogy a Li nem csak felszívódik, hanem az tovább is vándorol a növény erezetén keresztül egészen a levelekig. Érdekes, hogy amint megszüntették a károsanyag felvételének lehetőségét, a levelek Li tartalma elkezdett csökkenni [78].

Az egészséges és a patológiás szövetek az elemösszetételük alapján megkülönböztethetőek, így a rosszindulatú daganatok előrejelzése, fejlődésük követése LIBS mérésekkel kivitelezhető. MottoRos kutatócsoportjával, hosszú évek óta kutatja a LIBS mérés technika alkalmazhatóságát biológiai szöveteken. Vizsgálták többek közt egerek veséjét [79], egerek daganatos sejtburjánzásait [80], illetve egészséges és tumoros

elváltozásban szenvedő emberi bőr szövetet is [81]. Limbeck munkatársaival kiterjedt kutatást végzett emberi eredetű tüdődaganatos szövetek LIBS és LA-ICP-MS vizsgálata kapcsán [82]. Kísérleteikben a tandem LIBS berendezés előnyét kihasználva, a C, Zn, Pt nyomon követésére LA-ICP-MS, míg a Na, K, Mg, Ca elemek térképezésére LIBS üzemmódban dolgoztak. El-Hussein munkatársaival emberi emlőrák és végbélrák jelenlétének kimutatására és a daganatos sejtburjánzás karakterizálására dolgozott ki LIBS alapú diagnosztikai eljárást. Munkájukban emlőrákos szövetből 41 db minta, végbélrákos szövetből 32 db minta került LIBS mérésre. A minták mindegyikét előrehaladottabb, kettes és hármas stádiumú páciensektől vették. A kísérletek során megfigyelték, hogy a daganatos szövetekben a Mg szint kisebb mértékű növekedést, míg a Ca jelentősebb mértékű felúsulást produkált, így a kutatók a LIBS módszert alkalmasnak ítélték tumor diagnosztikai célokra [83]. Az emlőrák LIBS alapú felismerésére Immam és munkatársai szintén végeztek kísérleteket. Munkájukban 30 db mellrákos szövetmintát vizsgáltak. Megállapították, hogy az egészséges és a daganatos szövetek elemi összetétele eltérő. A tapasztaltak alapján a későbbiekben lehetőség nyílik arra, hogy kemometriai eljárásokkal automatizáltan megkülönböztetők legyenek az egészséges és patológiás szövetek, így meggyorsítva a diagnózis felállítását és az érintett terület minél pontosabb határolását [84]. Sun munkatársaival az emberi bőr cinktartalmát vizsgálta. Az olyan fémek, mint a Mg, Zn, Ca és Fe, fontos szerepet játszanak a bőr sejt-biológiájában, tehát úgynevezett biomarkereknek tekinthetők. Munkájukban ezen elemek spektrumvonalai alapján következtetéseket tudtak levonni a mintákat szolgáltató páciensek bőrének egészségügyi állapotáról [85].

A LIBS mérésekkel nem csak lágú, hanem a keményebb szövettípusok is vizsgálhatók. Leggyakrabban fog, köröm, illetve csont minták kerülnek LIBS elemzésre. Az elemeloszlás eredmények utalhatnak a páciens egészségügyi állapotára, régészeti maradványok vizsgálata esetén pedig archeológiai, paleoklimatológiai következtetések is levonhatók. Abdel-Salam kísérleteiben a Ca II 373,69/Ca I 428,9 nm és a Mg II 280,26/Mg I 285,22 nm spektrumvonalak intenzitásarányain alapulva osztályozták az ókori egyiptomiaktól származó fogzománc mintákat. Munkájukban nanoszekundumos, valamint a pikoszekundumos lézimpulzusok segítségével is figyelték a fent említett elemek arányát [86]. Alvira munkatársaival módszert dolgozott ki olyan fogminták vizsgálatára, melyek a neolitikumból, a középkorból, valamint az újkorból származó emberi maradványokból lettek mintázva. A LIBS mérések során a fogak Sr és Mg

szintjének alakulását nézték. Lokális méréseken túl kétdimenziós felületi elemeloszlás térképeket is készítettek. Az eredményekből a népcsoportok táplálkozási szokásaival, illetve az évezredek során tett vándorlásukkal kapcsolatban jutottak információhoz [87]. A manapság népbetegségnek számító magas vérnyomás, pajzsmirigy túlműködés szintén kimutatható és diagnosztizálható LIBS mérések segítségével. Hosseinimakarem csapatával diszkrimináns függvényelemzést (DFA) végzett a donoroktól vett tisztított körömdarabok LIBS spektrumain. A magas vérnyomás, valamint a pajzsmirigy túlműködés betegségektől szenvedő betegek mintáiban emelkedett K és Na szintet tapasztaltak. A kérdéses elemek főként a körömben koncentráálódtak, így a test többi részén hiány léphetett fel belőlük, aminek eredményeként a fent említett betegségek kialakultak. A kutatók sikeresen megkülönböztették egymástól az eltérő nemű és korcsoportú egyének mintáit is azok körmének LIBS spektrumai alapján [88].

LIBS mérésekkel szilárd gyógyszerformák is jól vizsgálhatók. Tabletták bevonatának rétegvastagság mérését végezte el Mowery kutatócsoportja. Az általuk kidolgozott technika lényege, hogy figyelték a Ca jelintenzitás alakulást, ezzel indikálva a bevonat vastagságát. Elsőként a bevonatból származó, nagy intenzitású Si, Ti és Mg jeleket detektálták és ahogyan egyre jobban haladtak lefelé, az egy pontban, transzláció nélkül végzett lézer ablációs mérésekkel, úgy egyre inkább csökkent ezen elemek jelintenzitása és fokozatosan kezdett nőni a spektrumban a Ca intenzitása. Az egyes lézerimpulzusok behatolási mélységét profilometriás mérésekkel határozták meg, így végeredményben kiszámítható volt a bevonat rétegvastagsága. Az eljárás gyorsaságát mutatja, hogy 15 perc alatt végeztek 10 db tabletták mérésével [89]. Hasonló LIBS alapú rétegvastagság mérést végzett Dubey is, akik kísérleti elrendezésüket az íves felületű tabletták mérésére optimálták úgy, hogy a lencse-minta távolságot a mérés során pontról pontra mindig korrigálták, hogy a mintafelszín a fókuszban maradjon [90].

St-Onge munkatársaival a magnézium-sztearát mennyiségének eloszlását hasonlította össze két különböző gyógyszer formulálási technikát alkalmazó sorozat között. Az egyik a hengerrel tömörítés, a másik pedig a közvetlen préselés volt. Méréseikben belső standard alkalmazása mellett képesek voltak a vizsgált hatóanyag koncentrációjának 0,5% pontossággal történő meghatározására. Számításaik alapjául a 517,27 és 518,36 nm hullámhosszúságú Mg vonalak intenzitásai szolgáltak. A kísérletek során 10-10 tablettát vizsgáltak nyolc gyártási sorozatból. Követték az egyes sorozatok közti eltéréseket, a sorozatokon belüli minták közti eltéréseket, valamint az egy tablettán belül megfigyelhető

heterogenitásokat is. Ezek alapján a tablettán belüli, tabletták közötti és a gyártási sorozatok közötti magnézium-sztearát koncentrációk eltéréseinek szórása rendre 13,8%, 5,4% és 7,4% értékűnek adódott. Különbségek észleltek az egyes gyártástechnikákkal készült tabletták magnézium-sztearát mélységi profileloszlásában is. A LIBS mérések gyorsaságát jelzi, hogy percenként tudtak új tablettát mérésébe kezdeni [91]. Arantes de Carvalho munkatársaival multivitamin- és nyomelemtartalmú étrendkiegészítő tablettákat vizsgáltak. Kutatásukban hét különböző, kereskedelmi forgalomban kapható Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P és Zn elemeket tartalmazó minta elemeloszlás homogenitását nézték. Validálásként, a mintákat mikrohullámú feltárást követően ICP-OES mérésekkel is analizálták. A két mérés technika eredményeiből számolt koncentrációk eltérése az egyes elemekre nézve 2 és 16% között mozgott, ami jó egyezésnek tekinthető [92].

#### **2.7.4. Örökségvédelmi és nemzetbiztonsági mintatípusok vizsgálata**

A történelmi, régészeti vagy művészettörténeti jelentőséggel bíró tárgyak vizsgálata mindig nagy körültekintést és precizitást igényel. Sokszor csak egyetlen alkalom adódik a mérésre, ráadásul csak igen kis mintamennyiség áll rendelkezésre. Az ilyen esetekben törekedni kell arra, hogy nem, vagy csak minimálisan destruktív, lehetőleg kontaktus nélkül üzemelő mérőberendezést használjon a kutató. A LIBS felveszi a versenyt analitikai teljesítőképesség szempontjából az olyan, a műkincsvizsgálat terén klasszikusan alkalmazott analitikai technikákkal, mint az ICP-AES, ICP-MS, XRF, SEM, XRD és GC-MS. A pigmentek elemösszetétele alapján információk nyerhetők a lelet elkészítésekor jellemző technikai fejlettségre, a készítés helyére, körülményeire. Ezen információk kombinációja az eredetmeghatározás is lehetséges. Az egyik első, ilyen irányú LIBS alkalmazás egyikét Melessanaki és munkatársai végezték, akik *in situ* elemzéseket hajtottak végre egy XII - XIII. századi kódexen. A kutatók méréseiket egy arany festékkel körvonalazott iniciálé betűjén végezték el. A betű kifestéséhez használt arany színű festék a kódexben több helyen is előfordult. Méréseik során sikerrel azonosították a kódexben szereplő összes pigmentet, köztük a döntő fontosságú, korra jellemző ólom-sárga pigmentet is, melyet jellemzően az 1300-as évek környékén alkalmazták a kor művészei [93].

Guirado kutatócsoportjával víz alatti mérésekhez fejlesztett ki egy különleges LIBS rendszert. A technika lényege, hogy a lézerpulzusokat optikai szálon keresztül juttatják a mélybe, ahová egy másik csövön keresztül puffergázt is szállítanak, így a plazmakeltés és

a LIBS mérés valójában nem egy folyadék-szilárd határfelületen, hanem a már jól bevált gáz-szilárd határfelületen valósul meg. A kidolgozott méréstechnikájukat sikerrel vetették be egy 50 m mélyen nyugvó hajóroncs analízise során [94, 95]. Fortes munkatársaival 37 db bronzkori, illetve vaskori fémtárgyat vizsgált. LIBS méréseik során arra jutottak, hogy a minták As tartalma jól korrelál azok korával. Munkájuk során kalibrációt dolgoztak ki Fe, Cu, As, valamint Pb elemekre. Kísérleteik eredményei szoros összhangban voltak a régészeti szakértő által végzett kormeghatározással [96].

Különleges bánásmód illeti a nemzetbiztonsági, bűnügyi tárgyú mintákat is. Ebbe a körbe nagyon sokféle típusú minta tartozik: lehet szó veszélyes baktériumokról, vírusokról, lőporról vagy a bűntett helyén vett ujjlenyomatokról, esetleg emberi vagy állati eredetű maradványokról, üvegszilánkokról vagy akár okiratokról, és persze bármi olyan anyagról, ami összefüggésbe hozható egy adott bűncselekménnyel. Bizonyos esetekben a minták LIBS spektrumainak kiértékelése spektrum adatbázisokban már korábban rögzített minták spektrumaival való összehasonlítás révén történik. Martinez munkatársaival LIBS méréseket végzett három igen veszélyes, emberi megbetegedéseket okozó baktériumon, amelyek a *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* és *Salmonella typhimurium* voltak. Munkájukban ezen minták kemometriai technikákkal történő megkülönböztetését, osztályozását hajtották végre. Három különböző megközelítést, nehezítést is kidolgoztak annak vizsgálatára, hogy az összeállított osztályozó modell képes-e a minták helyes beazonosítására. Az alábbi nehezítéseket eszközölték kifejlesztett modelljük tesztelésére: különböző baktériumok együtt nevelt keverékei; egyetlen baktérium tenyészet; illetve ismeretlen minták. A szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy a LIBS elég érzékeny és a kidolgozott eljárásuk elég robusztus ahhoz, hogy helyt álljon még abban az esetben is, ha csak egyetlen spektrum kerül rögzítésre a mintákból [97].

El-Deftar kutatásában 14 db laminált (többrétegű) és 6 db nem laminált síküveg mintát vizsgált, melyek valós bűnügyi helyszínekről kerültek a laboratóriumba. Munkájukban LIBS analitikai teljesítőképességét a klasszikusan a bűnügyi szakértői anyagvizsgálat területén alkalmazott LA-ICP-MS,  $\mu$ XRF és SEM-EDX teljesítményével hasonlította össze. A minták megkülönböztetésének pontossága azok LIBS spektrumai alapján 97% volt, amely további egy százalékkal nőtt abban az esetben, ha az egyes mintákat definiáló adatkészlet kiegészült azok törésmutató értékeivel [98]. Az ujjlenyomatok LIBS térképezése kapcsán végzett kutatásokat Taschuk munkatársaival, femtoszekundumos lézerimpulzusok alkalmazása mellett. A kutatók az emberi bőrön

megtalálható olajok és zsírok Na tartalmát kihasználva figyelték a Na vonalak megjelenést, így különböztették meg a háttérként alkalmazott Si lemez spektrumától az ujjlenyomathoz tartozó spektrumokat [99]. Hilario munkatársaival kézzel írott dokumentumok LIBS vizsgálatát végezte. Arra voltak kíváncsiak, hogy a különböző golyóstollak által a papíron hagyott festékanyag („tintanyom”) megkülönböztethető-e egymástól a LIBS spektrumokban megjelenő rézvonalak alapján. A kutatók összesen 17 különböző toll által hagyott festéknyomot elemeztek. A kiértékelése során főkomponens analízist alkalmaztak a minták osztályozására és kategorizálására. A LIBS kísérletek mellett a tinták mikrohullámú feltárását követő ICP-OES analízisét is elvégezték [100].

### **2.7.5. Ipari alkalmazások**

Az egyik legelső ipari alkalmazási terület, ahol bevetették a LIBS mérés technikát, az acélipar volt. Sok esetben az ipari minták összetételével kapcsolatban a hatóságok, audit rendszerek nem igényelnek pontos számadatot, a megfelelőséghez mindössze elég azt tudni, hogy a vizsgált komponensek mennyisége egy küszöbérték alatt vagy felett van-e a termékben. Fémipari alkalmazásokban nem csak a végtermék vizsgálata, hanem a megmunkálás folyamatának követése is lehetséges LIBS segítségével. A módszer olvadékok vizsgálatára is alkalmas, kellően biztos távolságból. További előny, hogy a korábban készült és a tárolás során esetlegesen oxidálódó minták elemzése szintén lehetséges, hiszen a lézerfény segítségével tisztító abláció is végezhető, így a felületi lerakódások eltávolíthatók a mintáról az analízis megkezdése előtt.

Balzer munkatársaival galvanizált acéllemezeken a bevonat rétegvastagságának változását, valamint az alumínium mélységi profiljának elemzését LIBS mérésekkel követte nyomon horganyzott acéllemez mintákon. Kísérleteikben ipari körülményeket szimulálva dolgoztak, a minták mozgatása a lézerfény alatt olyan sebességgel történt, mint ahogyan az egy valós termelőüzemben történne. Munkájukban bizonyították, hogy a LIBS megállja helyét a nehézipari környezetben, sőt egy plusz előnnyel is bír a korábban bevált röntgenfluoreszcenciás vizsgálatokkal szemben, ugyanis az olyan könnyű elemek analízisére is lehetőséget biztosít, mint az alumínium [101, 102]. Gruber munkatársaival a folyékony acél *in situ* és gyors analízisét hajtotta végre másfél méter távolságból. A technika gyorsaságát mutatja, hogy az általuk mért elemek (Cr, Cu, Mn, Ni) koncentrációját hét másodperc alatt képesek voltak meghatározni [103]. Az acéliparon túl más fémipari területek is érdeklődnek a LIBS mérés technika iránt. Ilyen például az



alumíniumipar [104, 105]. A rézipar számára szintén értékes információt szolgáltathatnak a LIBS mérések, számos kutatás zajlik rézoldatok mérésével kapcsolatban, minőségellenőrzés, folyamat követés céljából [106, 107].

Napjainkra a környezettudatos magatartás és a költséghatékony gazdálkodás egyre nagyobb hangsúlyt kap az iparban. Az újrahasznosítás, újrafeldolgozás szempontjából fontos kutatásokat végeztek LIBS kísérletekre alapozva Noharet és munkatársai a svéd Cobolt AB céggel együttműködve. Közös fejlesztésük eredménye egy olyan LIBS rendszer, mely képes a különböző eredetű alumínium hulladékok szortírozására, azok LIBS spektrális jellemzői alapján. A terepi méréseket egy általuk fejlesztett kompakt, nagy ismétlési frekvenciával működő LIBS rendszerrel végezték. A minták megfigyelési távolsága az ipari alkalmazhatóság szempontjából praktikusán 50 cm-nek lett választva. Az *on-line* felvett spektrumok alapján sikeresen osztályozták az egyes mintatípusokat [108].

Az energetikai szektor számára szintén értékes információk nyerhetők LIBS mérésekkel. Hartford munkatársaival a kőszén elemi összetételét vizsgálta, mivel annak fűtőértéke nagyban függ az elemösszetételétől. A kutatók kifejlesztettek egy olyan mérés technikát, amely a kőszén égésének folyamatát annak nyomnyi Na, K és S tartalmának meghatározása révén követi nyomon [109]. A laboratóriumi kísérleteken túl természetesen itt is erős törekvések mutatkoznak olyan rendszerek kiépítésére, melyek *on-line* módon, a futószalagon folyamatosan érkező minták mérését is képesek végrehajtani. Ezen rendszerek esetén az egyik legnagyobb és igen kritikus kihívás az, hogy a különböző méretű és alakú minták felszínére vetülő lézernyalábot hogyan tudják mindvégig mintáról mintára fókuszban tartani. A probléma megoldására Redoglio és munkatársai dolgoztak ki egy ígéretes megoldást. Kísérleteikben a kőszén salakanyag tartalmának meghatározását végezték LIBS mérésekkel szintén *on-line* módon, úgy, hogy egy több mint 10 cm mélységélességű LIBS rendszert építettek ki [110]. A rendszer a teszteléseket és optimalizálásokat követően sikerrel üzembe is lett helyezve valós ipari környezetben [111].

Az elmúlt évek alatt a kutatók számos, a nukleáris energetikai szektorból származó mintát is vizsgáltak [112]. Lang munkatársaival sugárszennyezett acél mintákon végzett méréseket. Kísérleteikben összesen több mint 300 ilyen veszélyes hulladéknak számító acéldarab elemzését végezték LIBS segítségével. Kutatásukban a  $^{90}\text{Sr}$  és  $^{137}\text{Cs}$  radioaktív  $\beta$  bomló izotópok acélba való bejutási mélységét vizsgálták. Kísérleteik eredményét ködkisülési atomemissziós spektroszkópiai mérésekkel is alátámasztották [113].

Khalil munkatársaival LIBS mérések segítségével kávébab mintákat vizsgált, keresve a minőségügyi előírásoknak nem megfelelő szemeket. Kutatásukban a kávébabokban előforduló toxikus fémek mennyiségét mérték kétimpulzusos LIBS készülékkel [114]. A kávéiparban a hamisítás, megtévesztés egyre inkább jelen van. Gyakori jelenség, hogy a nemesített *Coffea arabica* őrleményhez tömegnövelés célján búza, kukorica vagy csicszeriborsó őrleményt kevernek. Bár ezzel egészségügyi kockázatot nem okoznak, a vásárlót azonban jelentős anyagi kár éri. Ezen csalás kimutatására dolgozott ki LIBS spektrumokon alapuló PCA és PLS kemometriai eljárásokkal dolgozó, osztályozási, rendszert Sezer kutatócsoportjával [115]. A kávé túlmenően még számos élelmiszeripari termék minőségének ellenőrzésére vetették be a LIBS mérés technikát, ilyen például a tejpor [116], a gabonapehely [117], a tea [118] és a méz [119]. Ezen kutatások mindegyike minőségbiztosítási indíttatásból kezdődött, vagy az eredeti termék nyomnyi károsanyag tartalmának kivizsgálására vagy pedig a hamisított termékek kiszűrésére.

## **2.8. Lézer ablációs mintabeviteli indukció csatolású plazma tömegspektrometria**

### **2.8.1. Működési elv és analitikai teljesítőképesség**

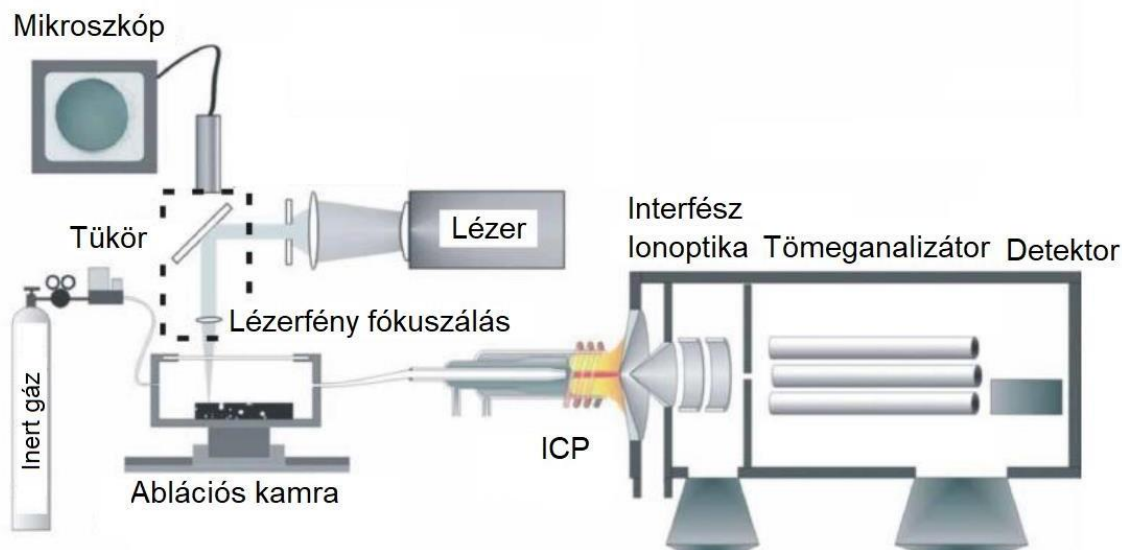
A lézer ablációs mintabeviteli indukció csatolású plazma tömegspektrometria (LA-ICP-MS) a klasszikus folyadék mintabeviteli ICP-MS rendszerekkel szemben egy olyan változat, ahol a mintabevitel lézer ablációval történik, így lehetőség nyílik szilárd minták közvetlen, feltárás nélkül történő izotóparány mérésére és izotópeloszlás térképezésére. A technika egyik fontos eleme a lézer ablációs mintabeviteli egység, mely az alábbiakban részletezett kritériumoknak kell, hogy megfeleljen. Az ablációs kamra felépítése a LIBS műszerek azonos egységéhez hasonló. Mivel a legtöbb anyag jól abszorbeál az ultraibolya tartományban, ezért a mintabevitel során itt is érdemes UV lézereket alkalmazni.

Jellemzően elegendő néhány mJ, esetleg  $\mu\text{J}$ , impulzusenergia az LA-ICP-MS mérésekhez, hiszen csak a minta roncsolásához szükséges energiát kell közölnünk, nem cél, hogy plazmakeltés történjen. Az ablációs kamra méretének ideális megválasztása kulcsfontosságú. Egy nagyobb térfogatú kamra esetén hígulás és memóriahatás is felléphet. Az optimális gázáramlási beállítások és az áramvonalas kamrabelső kialakítás ellenére a mintából ablált anyagmennyiség jelentős része nem jut el az ICP plazmába, hanem már az ablációs kráter szélén lerakódik. Számolni kell azzal is, hogy az anyagtranszport során elem, illetve izotóp frakcionálódás is lejátszódhat, ilyenkor az eltávolított anyag összetétele nem lesz azonos a vizsgált minta összetételével [120].

A mintából ablált, többnyire 10-100 nm nagyságú szemcséket tartalmazó aeroszolok, és gázok ICP-MS felé történő továbbítása jól kontrollált áramlási sebességű, folytonos áramlású inert (többnyire Ar vagy He) gázzal történik. Az esetek többségében flexibilis műanyag csöveken keresztül valósul meg mindez. A vivőgáz áramlási profilját érdemes laminárisnak választani, mivel ez esetben a minta az ablációs kamrából nagyobb hatásfokkal tud az ICP-MS felé tovább haladni, ugyanis az kevésbé ül meg a mintatartó sarkaiban, ott nem rakódik le. A megfelelő csőátmérő kiválasztása szintén fontos. A nagyobb átmérőjű vezetékben a gázáram úgy továbbítja a mintát, hogy az kevésbé érintkezik a cső falával, így az kisebb eséllyel rakódik le, ezzel csökkentve az anyagvesztést. A kisebb átmérővel bíró csövek esetén viszont a vivőgáz lineáris áramlási sebessége nagyobb, így a minta gyorsabban jut a plazmába, ezzel csökken a plazmabeli tartózkodási idő [121].

Az ablált mintamennyiség a műszerbe lépve az induktív csatolású plazma 6500-7500 K hőmérsékletének köszönhetően teljes mértékben deszolvatálódik, elpárolog, majd atomizálódik és ionizálódik. Az ionokból és gázból álló nyaláb elsőként a mintázó kónuszon (sampler) keresztül halad át, és lép be a kb. mbar nyomású expanziós kamrába, ahol gyorsan kitágul, és szuperszonikus részecske sugarat képez. A részecskesugár központi részét a fölöző kónusz (skimmer) segítségével mintázzák. A megmintázott részecske nyalábból a semleges részecskéket a vákuumszivattyú eltávolítja. Az ionok az ionoptikára jutnak, amely taszító (pozitív) potenciálú elektródjainak feladata a nyalábot egy szűk keresztmetszetű ionnyalábbá fókuszálni. A következő egység a tömeganalizátor, amelynek többféle, eltérő működési elv szerint dolgozó típusa is használatban van (pl. kvadrupólus, repülési idő, kettős szektorú). Az itt uralkodó  $10^{-6}$  mbar nyomást egy második, turbomolekuláris vákuumszivattyú segítségével tudjuk elérni. A tömeganalizátorból kilépő pozitív töltésű ionok az elektronsokszorozó detektorba jutnak [122, 123].

A 7. ábra egy tipikus LA-ICP-MS analitikai rendszer sematikus felépítését mutatja be. Szilárd minták ablációs mintabevitelének egyik nagy előnye, hogy a mérések „száraz” körülmények közt valósulnak meg, így a plazma gerjesztési, illetve ionizációs hőmérséklete magasabb, mint egy oldatminta porlasztása során keletkező nedves plazmánál. A magasabb hőmérsékletnek köszönhetően javul a gerjesztődés és az ionizáció mértéke, ami érzékenyebb analízist eredményez.



7. ábra: LA-ICP-MS elvi vázlatja kvadrupólus tömeganalizátorral bíró ICP-MS készülékkel [123].

Az ICP-MS, illetve az LA-ICP-MS analitikai teljesítőképességének különbségei azt mutatják, hogy az LA-ICP-MS-sel végzett analízis esetén általában két nagyságrenddel jobb az abszolút anyagmennyiségben kifejezett kimutatási határ, mint a folyadékporlasztással történő mintabevitelrel végzett méréseknél. A relatív kimutatási határok (koncentrációban kifejezve) a folyadékporlasztásos mintabevitelrel történő analíziseknél alacsonyabbak, mivel a nedves mintabevitelnél az időegység alatt plazmába jutó analit mennyisége nagyobb. Pneumatikus porlasztók segítségével például 1 mL/perc felszívási sebesség és 2%-os hatékonyság mellett nagyjából 20 mg anyag jut percenként az ICP plazmába, míg lézeres abláció során az impulzusonként ablált mintamennyiség 1 ng - 1 µg közötti. A tipikus kimutatási határ lézeres ablációval történő mintabevitel esetén µg/g, illetve ng/g mennyiségek, míg folyadékbeporlasztással pg/g nagyságrendű.

A mérés technikával lehetőségünk nyílik akár pár µm nagyságú laterális és mélységi felbontással kivitelezett izotópeloszlás térképek készítésére is, mely feladat klasszikus ICP-MS mérésekkel kivitelezhetetlen, hiszen ezek mindegyike csak „bulk” összetételt képes mérni. A lézeres abláció további előnye, hogy a minta előkészítés minimális, sok esetben nem is szükséges, elegendő csak a „méretre szabása” a szilárd mintának, hogy az bele illeszkedjen a mintatartó kamrába [124-126].

### 2.8.2. Zavaró hatások és kalibráció

ICP-MS mérések során fellépő spektrálisan zavaró interferencia származhat a plazmát tápláló Ar gázból, a levegőből (O, N, C, H), valamint a fluidum minták fő közegét alkotó vízből (H, O) keletkező ionokból, molekulaionoktól. A feltáráshoz használt savak elemi összetétele jelentősen megemelheti a minta Cl, S, P, N izotópjainak koncentrációját, továbbá növelheti a zavaró molekulaionok képződésének valószínűségét is. Zavaró ionok származhatnak egy másik elem valamely izotópjától vagy annak  $M^{2+}$ ,  $MO^+$ ,  $MOH^+$  esetleg  $ArM^+$  összetételű ionjaitól is, melyek akkor szólnak bele igazán az analízis eredményébe, ha a minta valamely főbb komponenséből formálódnak. Kettős töltésű ion csak néhány elem, pl. Ce, La, Sr, Th, Ba esetén képződhet 1%-nál nagyobb arányban. Ezek a zavarások főleg az ultranyomelemanalízis során kritikusak, ugyanis ilyenkor a mérendő komponensek koncentrációja a ppb-ppt tartományba esik, miközben a zavaró ionok forrása főkomponensként nagyságrendekkel nagyobb mennyiségben fordul elő. A spektrális zavarások csökkentésére matematikai jelkorrekciós megoldásokat és technikai, ütközési és reakció cellás elrendezéseket egyaránt kidolgoztak, melyeket a korszerű műszerek kombináltan alkalmaznak [127].

A lézer ablációs és klasszikus oldatos mintabevitelű ICP-MS mérések során egyaránt igaz, hogy a detektált jel intenzitása arányos a vizsgált mintakomponens koncentrációjával. Mint minden kvantitatív mérésnél, így itt is elengedhetetlen a mátrixazonos kalibráció a kellő megbízhatóságú koncentrációadatok eléréséhez. Oldatminták analízise során akár nyolc nagyságrendet átölelő, lineáris kalibráció is elérhető, ehhez viszont az kell, hogy a hígított minta és az alkalmazott standard oldat viszkozitása, felületi feszültsége közel azonos legyen, így biztosítva az azonos mennyiségek plazmába jutását a mintából és a standardból egyaránt. Az érzékenység, illetve a jel folyamatos csökkenését okozhatja például, ha töményebb sóoldatok (pl. g/L vagyis 0,1 m/v% nagyságrend) analízisekor a pneumatikus porlasztó vagy az interfész kónuszának furata leszűkül a rajta kiváló só miatt. A mátrixhatás csökkentésére többek közt alkalmazható a minta nagymértékű hígítása, valamint a belső referencia izotóp módszerének alkalmazása. Ez utóbbi megoldás lényege, hogy a mérendő komponens jelét viszonyítjuk egy olyan, komponens (izotóp) jeléhez, mely a mintában alapállapotban nem fordul elő, hanem azt a mintaelőkészítés során miadtuk hozzá állandó koncentrációban. Az analit és a referencia izotóp jeleinek aránya nagymértékben stabil marad, még akkor is, ha az érzékenység a minta mátrixa miatt megváltozik. Fontos, hogy a belső vonatkoztató elem

tömegszáma és ionizációs potenciálja nagyban hasonlatos legyen a vizsgálni kívánt eleméhez. A  ${}^6\text{Li}$ ,  ${}^{45}\text{Sr}$ ,  ${}^{115}\text{In}$ ,  ${}^{209}\text{Bi}$  használata a könnyebb, közepesen nehéz és nehéz elemek mérésekor, erre a célra igen elterjedt [128].

Amíg a folyadékminták kalibrálására szánt multielemes ICP-MS standardok beszerzése manapság már nem jelent nagy nehézséget, addig ez a szilárd minták esetén nem jelenthető ki, holott a mátrixhatás esetükben szintén befolyással van az analitikai jelre. Szilárd minták esetén a standard mátrixának jelentős mértékben azonosnak kell lennie a minta mátrixával. Fontos, hogy a mátrixok fizikai tulajdonságai, többek közt szilárdság, lézerefény abszorpciós készség tekintetében egyaránt hasonlóak legyenek. Ennek fényében szilárd minták méréséhez szükséges standardok kereskedelemről történő beszerzése vagy saját készítése (tablettázással, tiszta vegyületek olvasztásával és préssel, folyadékok szűrőpapírra szárításával [129]) sokszor kihívást jelent. A nem teljesen azonos, de közel hasonló mátrixú standardokkal történő kalibrálások során fellépő különbségek az adatkiértékelés fázisában pl. a jel kráterterefogattal történő normalálásával vagy belső standard segítségével is korrigálhatók. Átlagos összetétel (bulk) mérése során a belső standard alkalmazása igen előnyös, ekkor általában a standardot már a mintaelőkészítés során hozzákeverik ismert mennyiségben a mintához. A belső standard használatától eltekinthetünk, abban az esetben, ha csak minimális eltérés van a minta, illetve a kalibráló standard mátrixa közt. Lineáris kalibráció az U [130], Au [131], Ag és üveg [132] minták esetén belső standard alkalmazása nélkül is lehetséges.

### **2.8.3. Alkalmazások**

#### **2.8.3.1. Nukleáris minták vizsgálata**

Az LA-ICP-MS mérések lehetőséget biztosítanak a radioaktív urán minták biztonságos vizsgálatára bonyolult mintaelőkészítés és a mintával való közvetlen kontaktusba kerülés nélkül is. Ezt bizonyították kísérleteikben azok a kutatók, akik például erősen dúsitott urán minták U izotóp eloszlását vizsgálták. A mérések során enyhén defókuszált lézernyalábot alkalmaztak, amely folytonos üzemben, kis energiasűrűséggel ablálta a mintát, így érve el a legjobb jelstabilitást. Kísérletek során az  ${}^{235}\text{U}/{}^{238}\text{U}$  izotóparány 1,12% precizitással volt mérhető [133]. LA-ICP-MS mérések segítségével sugárszennyezett minták vizsgálata is megvalósítható. Az egyik, a témában megjelent publikáció öt olyan fémdarab vizsgálatáról számol be, melyek uránnal való szennyeződése feltételezhető volt, így a kutatók a bennük esetlegesen fellelhető  ${}^{234}\text{U}$ ,  ${}^{235}\text{U}$ ,  ${}^{236}\text{U}$  és  ${}^{238}\text{U}$  izotópok mérését végezték el. A pontos urán

koncentráció meghatározása végett uránizotópokra bizonylatolt referencia minták tablettá formájában kerültek analízisre. A mérések során vonal menti pásztázással dolgoztak, egyenletes sebességű és folytonos áramlású He segítségével szállítva az ablált anyagot az ICP-MS készülékbe. A vonal menti pásztázás lehetővé tette, hogy felfedezzék a mintában az uránizotópok heterogén eloszlását. A kutatók kiemelték, hogy ezt más, a nukleáris iparban használt mérési technikával, mint például a  $\gamma$ -spektrometriával nem tudták volna megvalósítani. A közölt eredmények alapján a mintákban kb. 0,05–0,11 tömegszázalék között változott az  $^{236}\text{U}$  mennyisége [134].

Az urán izotóparányok mérésén kívül a plutónium izotópok mérésére szintén kiválóan alkalmas módszernek bizonyult az LA-ICP-MS technika. Az oroszországi kutatók nukleáris fűtőanyagok  $^{240}\text{Pu}/^{239}\text{Pu}$  izotóparányát vizsgálták LA-ICP-MS mérésekkel. Eredményeik alapján képesek voltak a katonai és hadászati céllal dúsított plutónium, illetve az energetikai iparban civil felhasználásra alkalmazott plutónium minták megkülönböztetésére [135]. A nukleáris iparban használt szélsőséges körülményeknek ellenálló és a sugárbiztonsági szabályozásoknak megfelelő anyagok alkalmazása kulcsfontosságú a reaktorok hosszútávú biztonságos és hatékony üzemeltetés végett. Kutatók LiF-NaF sókeverék és a reaktorok hűtőkörének építéséhez használt új szerkezetű anyagok (tisztá nikkell, nikkell alapú ötvözet, valamint nikkell bevonatú vas) közti interakciót vizsgálták. A közel 700 °C hőmérsékleten a hőcserélő elemek megolvadnak és mikrostrukturális szerkezeti változások léphetnek fel az olvadék, illetve az azzal közvetlen kontaktusban lévő szerkezeti elemek közt. Az LA-ICP-MS mérések során izotóptérképezéssel követték nyomon a határfelületeken jelentkező anyagátadást, a fellépő változásokat. Az eredmények alapján megállapítható, hogy a három különböző összetételű szerkezeti elem közül a tisztá nikkell bizonyult a legellenállóbbnak [136].

### ***2.8.3.2. Geológiai vonatkozású alkalmazások***

Geológiai minták korának meghatározása Pb/U izotóp arányon alapulva LA-ICP-MS mérésekkel igen elterjedt. A módszer lényege, hogy az  $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ ,  $^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}$  vagy az  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  izotópok arányát vizsgáljuk a mérések során. A radioaktív bomlási sorokban az idő múlásával az U mennyisége folyamatosan csökken, míg az Pb mennyisége ezzel arányosan nő. Bizonyos geokronológiai indikátorként viselkedő ásvány szemcsék ezen mérésekre ideálisak, az U kizárólag a keletkezés időpillanatában épülhetett be rácsszerkezetükbe. Ilyen tulajdonsággal bír például a cirkon ( $\text{ZrSiO}_4$ ) és a monacit (teoretikus képlet:  $[(\text{Ce}, \text{La}, \text{Th})\text{PO}_4]$ , lantanoidákat tartalmazó foszfátásvány). A fellépő

frakcionálódás miatt a tanulmányok többsége leginkább a  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  arányok méréséről számol be és csak nagyon kis hányaduk foglalkozik a  $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$  izotóparányok vizsgálatával, holott a fiatalabb (600 millió év) cirkon minták kizárólag a  $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$  izotóparány vizsgálatával korolhatóak kellő bizonyossággal [137-139]. Geokronológiai indikátorként szolgálhat még a rutil ( $\text{TiO}_2$ ), mely szintén alkalmas Pb/U izotóparányokon nyugvó geokronológiai mérésekre. A kutatók *in situ* kísérleteikben vizsgálták ezen ásványfaj példányait, rutil standardokkal együtt. A kidolgozott metodika egyik különlegessége a 193 nm hullámhosszon sugárzó excimer lézerefényforrást használó mintabeviteli egység volt [140]. Az U izotóparányok mérése segítségével nem csak geokronológiai következtetések vonhatók le, hanem a szemcsenövekedés, formálódás is modellezhetővé válik, így képet kapva a vizsgált minta kialakulásának, fejlődésének folyamatáról. A kutatók 31 db cirkon szemcsét mértek meg LA-ICP-MS segítségével. Kísérletsorozatukban Ausztráliából származó minták mellett három darab bizonylatolt referencia mintát is vizsgáltak. Méréseikben az  $^{238}\text{U}/^{235}\text{U}$  izotóp arányokat követték,  $\pm 0,04 - \pm 0,25\%$ -es precizitással, ami kimagaslónak tekinthető [141]. Geológiai minták LA-ICP-MS alapú izotóp összetétel vizsgálatából nyert eredmények révén következtetéseket lehet levonni a vizsgált szemcsék, kristályok növekedési iránya, fejlődési folyamatára vonatkozóan. A témában megjelent publikációkban eredményeket közöltek már többek közt kalcit, cirkon, olivin, plagioklász, földpát, titanit, apatit, amfibol és gránát minták *in situ* analíziséről is. Ezen eredmények világosabb képet adnak a szemcsék keletkezésének körülményeiről [142, 143, 144]. Az ásványszemcsékben rejlő fluidum zárványok izotóp összetétele is vizsgálható LA-ICP-MS-sel. Ezek a leginkább mikroszkopikus méretű zárványok, melyek anyagtartama tipikusan nagyjából  $10^{-11}$ - $10^{-9}$  g, közvetlen bizonyítékkal szolgálnak az évmilliók alatt a Föld belső rétegeiben, folyadékok révén megvalósult jelentős anyagáramlásra. A folyamatok megértéséhez ismernünk kell a minták pontos izotóp-, illetve elemösszetételét. A zárványok sokszor heterogén összetételűek, gyakori, hogy több fázis van jelen egymás közelében. Szerencsére az LA-ICP-MS segítségével megvan az akár pár mikrométeres foltméretből történő mintavétel lehetősége, így a módszer ideálisnak tekinthető ezen komplex rendszerek nagy precizitású mérésére [137, 145].



### 3. CÉLKITŰZÉS

Célul tűztük ki olyan új, nagyobb részben LIBS, kisebb részben LA-ICP-MS alapú módszerek fejlesztését, amelyek alkalmazása geokémiai, illetve biológiai eredetű szilárd minták vizsgálata során nagyobb analitikai teljesítőképességet tesznek lehetővé. Ezen fejlesztések során főként arra törekedtünk, hogy javítsuk a mérések érzékenységét, a kvantitatív adatok pontosságát, segítsük a mérések automatizálását és térbeli felbontású kémiai információk kinyerését. Jelentős figyelmet kívántunk szentelni az adatkiértékelési megoldások kombinálására, amely révén javíthatóak lehetnek a kvalitatív diszkriminációs képességek. Munkám számára az alábbi három fő kutatási irányt határoztuk meg:

1. Geológiai eredetű minták LIBS, valamint LA-ICP-MS vizsgálata, elem-, illetve izotópeloszlás térképezési feladatok végrehajtása, szemcsetípus lokalizálás és geokronológiai meghatározások célján. Célul tűztük ki a lehetséges kalibrációs megoldások tanulmányozását, a minták kvalitatív diszkriminancia analízisét, valamint a technológiai ipar számára hasznos nyomelemek mennyiségének meghatározását.
2. Biológiai minták kapcsán terveztük LIBS mérésekkel vizsgálni állati, illetve növényi eredetű szövetek nyomelemeloszlását kvalitatív és kvantitatív elem térképezésekkel. Vizsgálva a fellépő mátrixhatást, a különböző kalibrációs technikák alkalmazhatóságát, valamint a kemometriai osztályozáson alapuló pixelről-pixelre történő, mátrixazonos kalibrálás lehetőségét.
3. A harmadik fő irányként a LIBS mérés technika nanorészecskék segítségével történő analitikai teljesítménynövelését tűztük ki. Fejlett nanorészecske felviteli eljárásokat terveztünk kidolgozni az NELIBS mérésekhez, amelyek akár elem térképezések során is alkalmazhatók.

## **4. KÍSÉRLETI RÉSZ**

### **4.1. Geológiai minták vizsgálata**

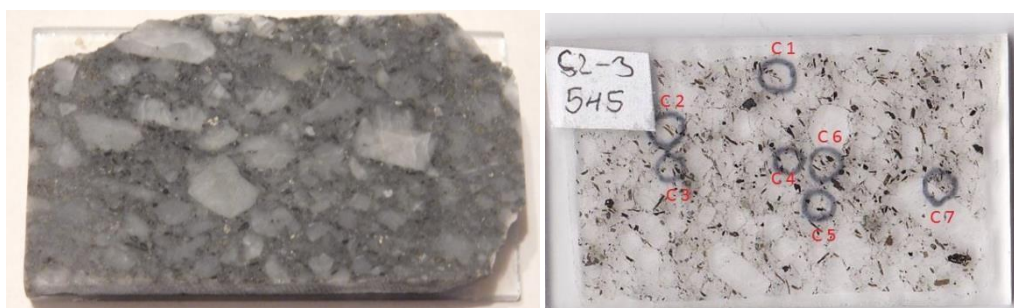
Gránit kőzetminták vizsgálatakor célul tűztük ki a kapcsolódó analitikai kihívások tanulmányozását olyan eljárások kidolgozásán keresztül, amelyekkel lehetséges egyes, a technológiai ipar számára fontos elemek (pl. Li és Be) kvantitatív meghatározása és eloszlásának vizsgálata. Szintén foglalkoztunk olyan kemometriai osztályozó eljárások kidolgozásával, amelyek nagy pontossággal képesek lehetnek a különféle ásványszemcsék azonosítására, kizárólag azok LIBS spektrumai alapján. Ezen kívül az LA-ICP-MS technika segítségével célunk volt geokronológiai méréseket is végrehajtani cirkon tartalmú kőzeteken, a kérdéses szemcsék elemeloszlás térkép alapján történő beazonosíthatóságát vizsgálva, ezzel is megkönnyítve a cirkon szemcsék lokalizálását.

#### **4.1.1. A vizsgált kőzetminták és előkészítésük**

Az egyik vizsgált kőzettípus a Keleti-Mecsekhez tartozó Mórággyi-rög (Geresdi-dombság) fő tömegéből származó, monzonit zárványokkal és leukokrata telérkőzetekkel tarkított monzogranit („Mórággyi gránit formáció”) [158]. Erre a későbbiekben mórággyi gránitként hivatkozok. A választásunk azért esett a mórággyi gránitra, mert abban számos gyakori kőzetalkotó, így a földpát, a kvarc, a biotit és az amfibol is megtalálható. Kísérleteinkben három kőzetmintát vizsgáltunk, amelyeket M1, M2 és M3 jelzéssel láttunk el. A délkelet-magyarországi régióban húzódó battonyai masszívumból származó, kilenc darab fúrómag mintarészlet szintén mérésre került. Az ezen mintát alkotó kőzet S-típusú szienogranitnak tekinthető. A Battonya–Pusztaföldvári gerincen történt fúrásokból kiválasztott minták S1–S9 jelzéssel lettek ellátva, melyek jól reprezentálják a lényeges makroszkopikus különbségeket a mintavételi területekre jellemző formációknak megfelelően. Ezek az évmilliók során bekövetkező geológiai módosulások szintje szerint lettek sorba rendezve, így az S1 minta a legkevésbé szenvedett átalakulást és módosulást, míg az S9 minta egy olyan granitoid, mely a leginkább módosult granitoid csoportot volt hivatott reprezentálni [146]. A kormeghatározási kísérletek során vizsgált, cirkon ásványszemcséket tartalmazó minták a „Szalatnaki agyagpala formáció” alapszelvényének részét képezik és a Szalatnak-3 fúrásból származnak. A képződményt a fúrási dokumentáció alapján szienit porfirként (szubvulkáni, porfíros szövetű szienit) azonosították alkáliföldpát (szanidin) + plagioklász + biotit + kvarc összetétellel, és később „Szalatnaki szienitporfir formáció” néven különítették el [147-149].

A fent említett kőzetmintákon túl kalibrálásra, valamint a fellépő mátrixhatások tanulmányozására alkalmaztuk a NIST 610, 612 és 614 típusú üveg standardokat is. Vizsgáltunk egy biotit (Biotite Mica-Fe, a francia SaintSylvestre masszívumból, a Centre de Recherches Pétrographiques et Géochimiques (CRPG) intézet jóvoltából) illetve egy földpát (JF-1 1985 Ohira földpát Nagiso-machi, Nagano prefektúra, Japán, a Geological Survey of Japan (GSJ)) standardot is.

A mintakészítési procedúra mind a LIBS, mind a LA-ICP-MS mérésekhez az alábbiak szerint zajlott. A geológus szakemberek a kőzetet gyémánt vágótárcsával darabolták, majd a mintát nyomelemanalitikai tisztaságú epoxi műgyantával itatták át, és vákuum impregnálták. 24 óra száradási idő letelte után az impregnált kőzetmintán gyémánt vágótárcsával friss vágási felszín hoztak létre, melyet különböző szemcseméretű gyémánt csiszolóporok segítségével políroztak a kellően egyenletes és sima mintafelszín elérése érdekében. A kontrollként használt optikai transzmissziós fénymikroszkópos ásványhatározáshoz szükséges 30 µm vastagságú petrográfiai vékony metszetek az előzőekben bemutatott lépések során kialakított kőzetestekről kerültek leválasztásra és epoxi műgyanta segítségével lettek rögzítve mikroszkóp tárgylemezre a könnyebb kezelhetőség érdekében.



8. ábra: Egy „tömbi” csiszolat kőzetminta (balra) a lézer ablációs mérésekhez, illetve petrográfiai vékonycsiszolat (metszet) az optikai mikroszkópos mérésekhez előkészítve.

#### **4.1.2. A felhasznált műszerek és adatkiértékelési eljárások**

A kísérleti munkám során a lokális szemcsetípus azonosítása, valamint az elemeloszlás térképezési feladatok végrehajtásakor egy az Applied Spectra Inc. által gyártott J-200 tandem LA-LIBS mérőműszert használtam. Az alábbi 1. táblázat mutatja be a készülék legfontosabb tulajdonságait.

<b>A lézerefény hullámhossza</b>	266 nm
<b>A fókuszolt átmérője</b>	5 – 250 $\mu\text{m}$
<b>Energia sűrűség a fókuszoltban</b>	$>20 \text{ J/cm}^2$
<b>A lézerimpulzusok energiája</b>	1-20 mJ
<b>A mintatartó pásztázási tartománya</b>	100 mm x 100 mm x 26 mm
<b>Minta vizualizáció</b>	Egy nagy látószögű és egy nagy nagyítású CMOS kamera 5 megapixel felbontással
<b>Detektor</b>	6 csatornás, CCD alapú szélessávú spektrométer
<b>Spektrométer felbontása</b>	0,07 nm
<b>Hullámhossz tartomány</b>	190-1040 nm
<b>Integrációs idő</b>	1,05 ms
<b>Késleltetési idő</b>	50 ns – 1 ms, 25 ns lépésközzel
<b>A minta megvilágítása</b>	Választható koaxiális vagy transzmissziós LED fényforrással
<b>Gázáram vezérlés</b>	3 csatornás tömegáramszabályzóval

1. táblázat: Az ASI J-200 tandem LA/LIBS készülék paraméterei.

A mérések során a lézerimpulzusok energiáját 17 mJ körüli értéknek választottuk, korábbi kísérleti tapasztalatainknak megfelelően. Az ablációs lézer fókuszolt átmérőjét a térképezési, illetve a lokális mintavizsgálati kísérletek alkalmával 40  $\mu\text{m}$  nagyságúnak állítottuk be, mivel így egyszerre több lokációból is képesek voltunk spektrumot rögzíteni a mindössze néhány négyzetmilliméter területű szemcséken belül. A spektrális adatgyűjtés integrációs idejét 1,05 ms, míg a spektrális adatgyűjtés késleltetési idejét 0,5  $\mu\text{s}$  értékre állítottuk. A lokális összetétel vizsgálatokor a mérések 10 Hz ismétlési frekvenciával történtek. A minta translációja nélküli, tehát egyazon lokációból detektált spektrumok száma szintén tíz volt. A tíz spektrumból a legelső a kiértékeléskor nem lett figyelembe véve, mivel azt „tisztító lövésként” alkalmaztuk. Inert gázatmoszféraként 1 L/min áramlási sebességű Ar gáz lett a mintakamrába vezetve, tekintettel arra, hogy jelerősítő hatású, továbbá a kráterek szélére esetlegesen lerakódó ablációs törmelékek elhordásában is segít. A LIBS mérések nagy gyakorlati előnye, hogy a teljes emissziós spektrum rögzítésre kerül,

minden mérési pontban, ami későbbiekben a kiértékelés során bármely tetszőleges elem analizisét lehetővé teszi.

Az izotópeloszlási, valamint geokronológiai vizsgálatok LA-ICP-MS mérésekkel történtek. Kísérleteinkben a szilárd mintákból közvetlenül, feltárás nélkül, történő mintabevitelhez, az Electro Scientific Industries Inc., illetve a New Wave Research Inc. által közösen kifejlesztett, ESI NWR 213 típusú lézer ablációs egységet használtuk. Ez a rendszer 1-20 Hz ismétlési frekvenciával képes lézerimpulzusokat kibocsátani, 5-250  $\mu\text{m}$  foltméretbe fókuszálva, így akár több mint  $25 \text{ J/cm}^2$  energiasűrűség is elérhető a mintafelszínén. Ehhez a mintabeviteli lézeregységhez egy Agilent 8800 QQQ ICP-MS készülék lett csatlakoztatva. Különleges hármas kvadrupólus (QQQ) elrendezésének köszönhetően a zavaró molekulaionok jelentős részétől mentes analitikai jelet kaphatunk. Az LA-ICP-MS mérés technika segítségével három fontos és egymásra épülő feladatot hajtottunk végre, amelyek más és más ablációs körülményt kívántak. Ezen feladatok végrehajtásakor használt kísérleti paraméterek az alábbi, 2. táblázatban kerültek összegzésre.

	<b>Kisfelbontású elemeloszlás térképek</b>	<b>Nagyfelbontású elemeloszlás térképek</b>	<b>Geokronológiai mérések</b>
<b>Ismétlési frekvencia</b>	2 Hz	2 Hz	10 Hz
<b>Energiasűrűség</b>	15 $\text{J/cm}^2$	20 $\text{J/cm}^2$	10 $\text{J/cm}^2$
<b>Foltméret</b>	50 $\mu\text{m}$	5 $\mu\text{m}$	40 $\mu\text{m}$
<b>A minta translációs sebessége</b>	100 $\mu\text{m/s}$	10 $\mu\text{m/s}$	lokális mérés
<b>Pásztázott terület</b>	2000 $\mu\text{m}$ x 1500 $\mu\text{m}$	300 $\mu\text{m}$ x 250 $\mu\text{m}$	-
<b>A mérés nettó időtartama</b>	10 perc	120 perc	1 perc
<b>A mért izotópok</b>	$^{90}\text{Zr}$	$^{90}\text{Zr}$ , $^{206}\text{Pb}$ , $^{238}\text{U}$	$^{206}\text{Pb}$ , $^{207}\text{Pb}$ , $^{235}\text{U}$ , $^{238}\text{U}$

2. táblázat: az LA-ICP-MS mérések során alkalmazott beállítások, mérési paraméterek.

A különböző szemcsék ablációs kölcsönhatásainak vizsgálatára kontakt profilometriás méréseket is végeztünk egy Veeco Dektak 8 Advanced Development Profiler készülékkel. A mérések során a profilométer tujének csúcsa 2,5  $\mu\text{m}$  görbületi sugarú volt, a mintafelszín pásztázás 30  $\mu\text{N}$  felületre kifejtett erővel történt. A vízszintes felbontás 0,267  $\mu\text{m}$ , illetve 3,175  $\mu\text{m}$  értékű volt az  $x$  és  $y$  letapogatási irányban. A függőleges felbontás 4 nm volt. Optikai fénymikroszkópos felvételek is készültek a

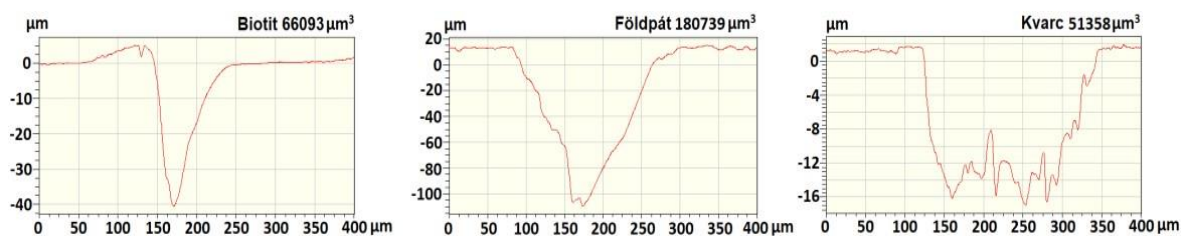
vizsgált mintáinkról egy Olympus DP-73 kamerával felszerelt Olympus BX-43 mikroszkóp segítségével, polarizált és áteső fényben is.

Az adatok kiértékelése minden esetben szoftveresen történt, a spektrumvonalak azonosításához a LIBS műszer beépített szoftverét (Clarity) és a NIST adatbázist használtuk. A kemometriai kiértékelések során az indikatív spektrumvonalak intenzitás küszöbértéke Nelder-Mead szimplex optimalizáló algoritmus segítségével lett meghatározva. Az összetettebb, nagyobb adatmennyiség feldolgozására is képes kemometriai kiértékelések, (RF, LDA), az R programnyelv kemometriai csomagjának segítségével készültek. Az elemeloszlási térképek nagymennyiségű adatainak kezelése, megjelenítése az Epina ImageLab adatkiértékelő szoftverrel lett végrehajtva. Az ásvány szemcsék felületének meghatározására az ImageJ szoftvert használtuk.

#### 4.1.3. Kőzetminták elemösszetételének vizsgálata

Az elemösszetétel vizsgálatok során tanulmányoztuk a mórági gránit mintákat, melyek általános összetétele az alábbiak szerint írható le: kvarc [ $\text{SiO}_2$ ], földpátok [ $\text{NaAlSi}_3\text{O}_8$ ], [ $\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8$ ]; [ $\text{KAlSi}_3\text{O}_8$ ]; biotit [ $\text{K}(\text{Fe}^{2+}/\text{Mg})_2(\text{Al}/\text{Fe}^{3+}/\text{Mg}/\text{Ti})([\text{Si}/\text{Al}/\text{Fe}]_2\text{Si}_2\text{O}_{10})(\text{OH}/\text{F})_2$ ] és amfibol [ $\text{AB}_2\text{X}_5((\text{Si},\text{Al},\text{Ti})_8\text{O}_{22})(\text{OH},\text{F},\text{Cl},\text{O})_2$ ]; ahol A = Na, K, Ca, Pb, B = Li, Na, Mg,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ , Ca és X = Li, Na, Mg,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ , Zn, Co, Ni, Al,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{3+}$ ,  $\text{V}^{3+}$ , Ti, Zr. Amint az a képletekből is látszik, a legegyszerűbb összetételű a kvarc, míg a többi mintatípus összetétele jóval bonyolultabb, mivel kristályrácsukba, vagy annak rácsközi helyeire számos elem beépülhet.

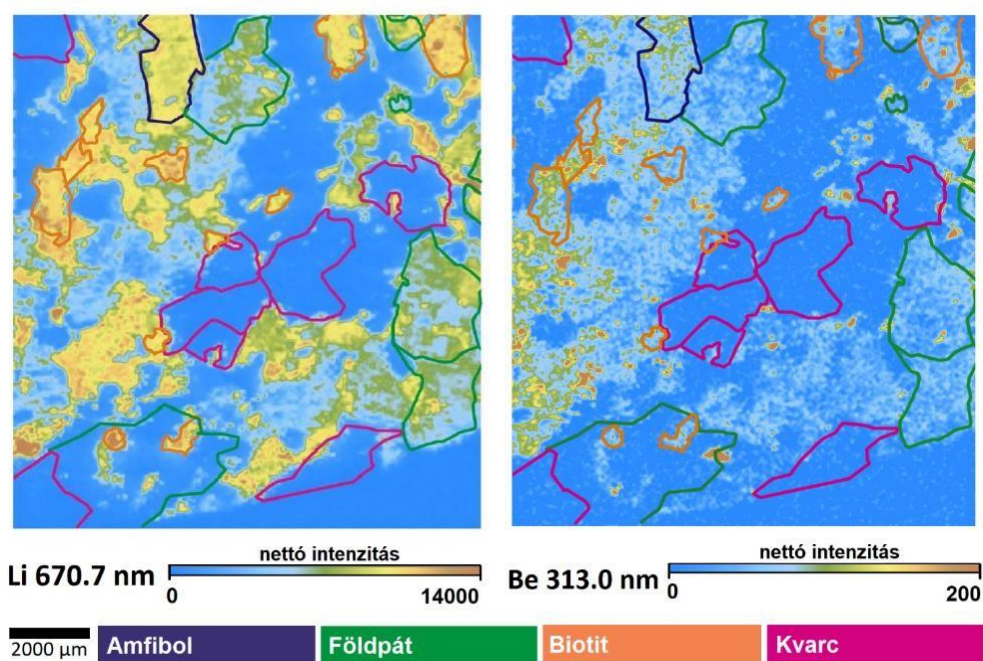
Elsőként az ásványok lézer ablációs viselkedését tanulmányoztuk. Tíz ismételt lézermimpulzussal ablációs krátereket hoztunk létre a szemcséken. Kontakt profilometriával meghatároztuk az egyes kráterek mélységét és kiszámítottuk azok térfogatát (9. ábra).



9. ábra: A vizsgált ásvány szemcsék ablációs krátereinek keresztmetszete tíz ismételt, azonos lézermimpulzust követően. A kráterek számított térfogata a grafikonok jobb felső sarkában látható.

A keresztmetszeti profilok azt mutatták, hogy az egyes lézerpulzusok hatására keletkező átlagos krátermélységek igen eltérőek. A kvarcnál ez  $1,4\ \mu\text{m}$  volt, míg  $4\ \mu\text{m}$  a biotitnál, de a földpát esetében már  $11\ \mu\text{m}$  mélységet mértünk. A tapasztaltak megerősítettek bennünket abban, hogy a pontos kvantitatív mérés csak mátrixazonos kalibrációval vagy kráterterfoggattal történő normalizációt követően végezhető.

A LIBS elem térképezés arra is alkalmas, hogy felderítsük, egyáltalán előfordul-e a kőzetben számottevő mennyiségben a kérdéses elem. Az M1 jelű gránitminta elemeloszlás térképezése során a technológiai ipar számára fontos Be és Li előfordulását vizsgáltuk. A Be II  $313,0\ \text{nm}$ , valamint a Li I  $670,7\ \text{nm}$  hullámhosszakon detektálható jelintenzitások alakulását monitoroztuk. A 10. ábra a két elem eloszlástérképeit mutatja be.



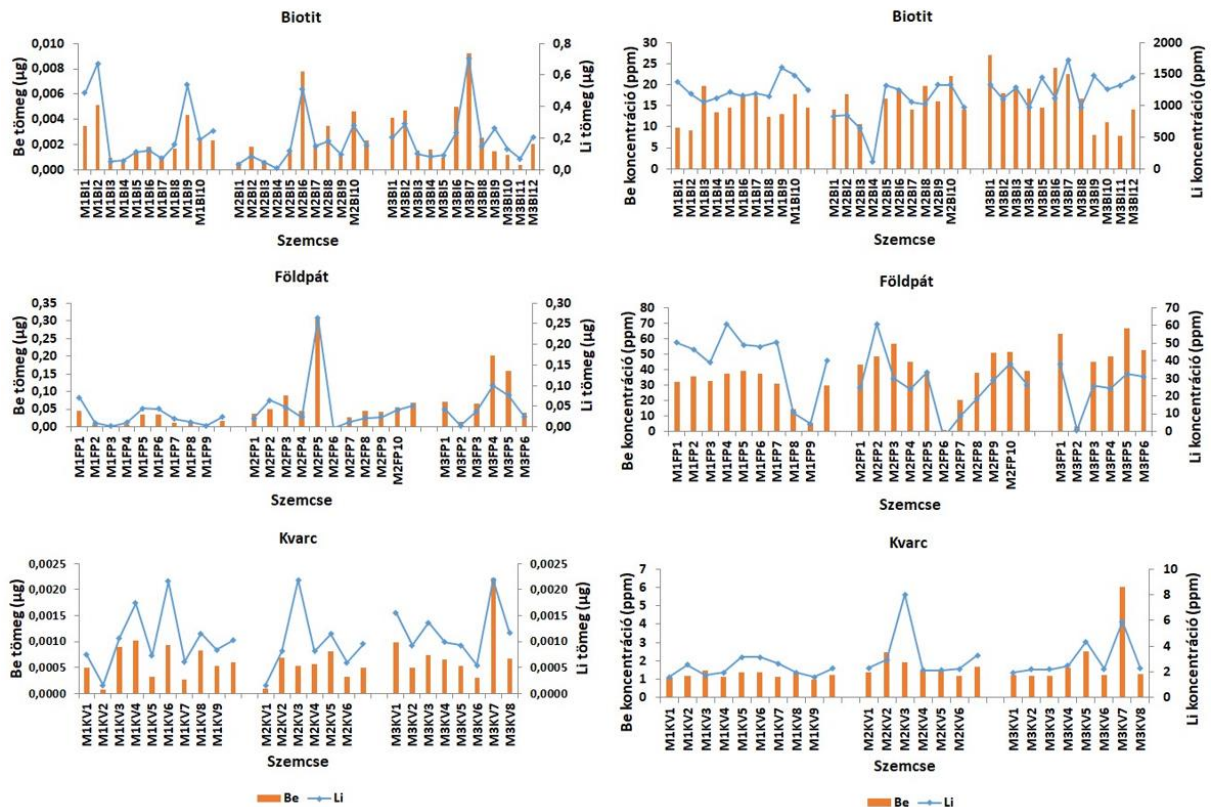
10. ábra: A Li és Be elemek eloszlás térképei egy mórági gránit mintában (M1). A szemcsehatár kontúrok színei az ásványzemcsék típusát jelzik.

Referenciaként egy geológus szakember beazonosította a mórági minták fő kőzetalkotóit (amfibol, biotit, földpát és kvarc) és bejelölte azok helyét a kőzettesten. Ezt követően ezen határvonalak képét rávetítettük az általunk készített elemeloszlás térképekre. Az ábrák alapján megállapítható, hogy a biotit és az amfibol szemcsék lényegesen többet tartalmaznak a vizsgált elemekből (Li, Be), mint a földpát és a kvarc. A magyarázat a szemcsék kristályszerkezetében keresendő. A kvarc összetétele a legegyszerűbb, így a helyettesítő elemek beépülésének lehetősége elég csekély. A biotit és az amfibol jelentős mennyiségű Mg-ot tartalmaz, bennük a  $\text{Mg} \leftrightarrow \text{Li}$  helyettesítés

lehetősége fennáll, mivel a Li ionsugara nagyon közel esik a Mg ionrádiuszához. Mivel a formáció több fázisban metamorfizálódott, többféle epigenetikus hatás is érte az évmilliók során, ezért az ioncsere folyamatnak volt ideje és lehetősége lejátszódni [158]. A fent említettekhez hasonlóan a  $[\text{BeO}_4]^{6-}$  és az  $[\text{AlO}_4]^{5-}$  közel megegyező geokémiai viselkedése miatt a Be is helyettesítheti az Al-ot a szilikát szerkezetben. Az eredmények arra utalnak, hogy a granitoid kőzetekben a Be és a Li potenciális forrásaként főként a biotit és az amfibol szemcséket lehet tekinteni.

A bányászati alkalmazások számára hasznos információ lehet a LIBS elemeloszlás térkép annak becslésére is, hogy mekkora mennyiség található a kérdéses elemekből egy adott kőzettestben. Ennek megállapítására lokális méréseket végeztünk mindhárom, mórági gránit minta esetén. Minden ásványszemcse belsejében 4-5 mérést hajtottunk végre, majd az adatokat átlagoltuk. A pontos koncentráció meghatározás céljából mátrixazonos kalibrációs standardokat alkalmaztunk. A szemcsék metszeti területét az optikai mikroszkópos képek alapján az ImageJ képfeldolgozó program segítségével határoztuk meg. A kalibráció alapján számolt koncentrációkat a szemcsék becsült térfogatából és az adott ásvány átlagos sűrűsége alapján konvertáltuk anyagmennyiségre (tömegre). Mivel a szemcsék „vastagságáról” nem lehetséges információt szerezni transzmissziós mikroszkópos felvételek alapján, ezért a számítások során minden szemcsét hipotetikusán egységesen  $100\ \mu\text{m}$  vastagnak tekintettünk. A számítások eredményeit 11. ábra mutatja be, ásványszemcsékre lebontva.





11. ábra: Mindhárom mórági minta ásványszemcséinek Be (narancs) és Li (kék) tartalma, koncentrációban és tömegben kifejezve.

A kvantitatív eredmények alátámasztják az intenzitás alapú elemterképekről levont következtetéseket, miszerint ahol a Li tartalom magasabb, ott a Be tartalom is magasabb, továbbá az is igaz, hogy a szemcsékben jelenlévő fémtömeg a szemcse méretével arányosan alakul. A Be és a Li mennyisége hasonló nagyságrendű a kvarc és a földpát szemcsékben, viszont a biotit esetén Li-ból közel százszor több van, mint a Be-ből. Nem meglepő módon a kvarc tartalmazza legkevesebbet ezekből a fémekből. Be szempontjából a földpát szemcsék tűnnek a legígéretesebb forrásnak. Figyelembe véve, hogy a Magyar Földtani Intézet adatai szerint [150] a mórági gránit minták átlagos ásványi összetétele a következő: 10% biotit, 70% földpát és 15% kvarc, a fennmaradó mindössze 5% pedig amfibol, kiszámítottuk, hogy egy kilogramm ilyen kőzetből elvileg körülbelül 28 mg Be és 144 mg Li vonható ki.

A fentihez hasonló eljárással meghatároztuk a battonyai gránitból származó kilenc darab (S1-S9) készült vastagesziszolat Li tartalmát is. A csiszolatokban azonosított minden egyes szemcsén öt pontban végeztünk méréseket és minden egyes mérési pontból egymást követően tíz spektrumot detektáltunk. A kvarc, a földpát és a muszkovit minden mintában jelen volt, míg a biotitot csak hat (S1-S6) mintában volt fellelhető. Az egyes fázisokon

mért átlagos értékeket az alábbi 3. táblázat foglalja össze. Ezen eredmények alapján az alábbi sorrend állítható fel a vizsgált ásványfázisok Li tartalmára vonatkozóan: biotit > muszkovit > földpát > kvarc, mely sorrend összhangban van ugyanazon ásványokon más analitikai módszerekkel (pl. feltárást követő elemanalízissel) korábban kapott eredményekkel [151].

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
<b>Kvarc</b>	3	6	49	2	1	1	0.3	4	1
<b>Földpát</b>	88	53	141	17	32	22	32	91	22
<b>Muszkovit</b>	1944	1171	1474	594	715	511	201	174	511
<b>Biotit</b>	3789	2236	2520	1081	467	252	-	-	-

3. táblázat: A battonyai kőzettest kőzetalkotó ásványainak lítiumtartalma LIBS analízis alapján [mg/kg]).

#### **4.1.4. Ásványszemcsék osztályozása**

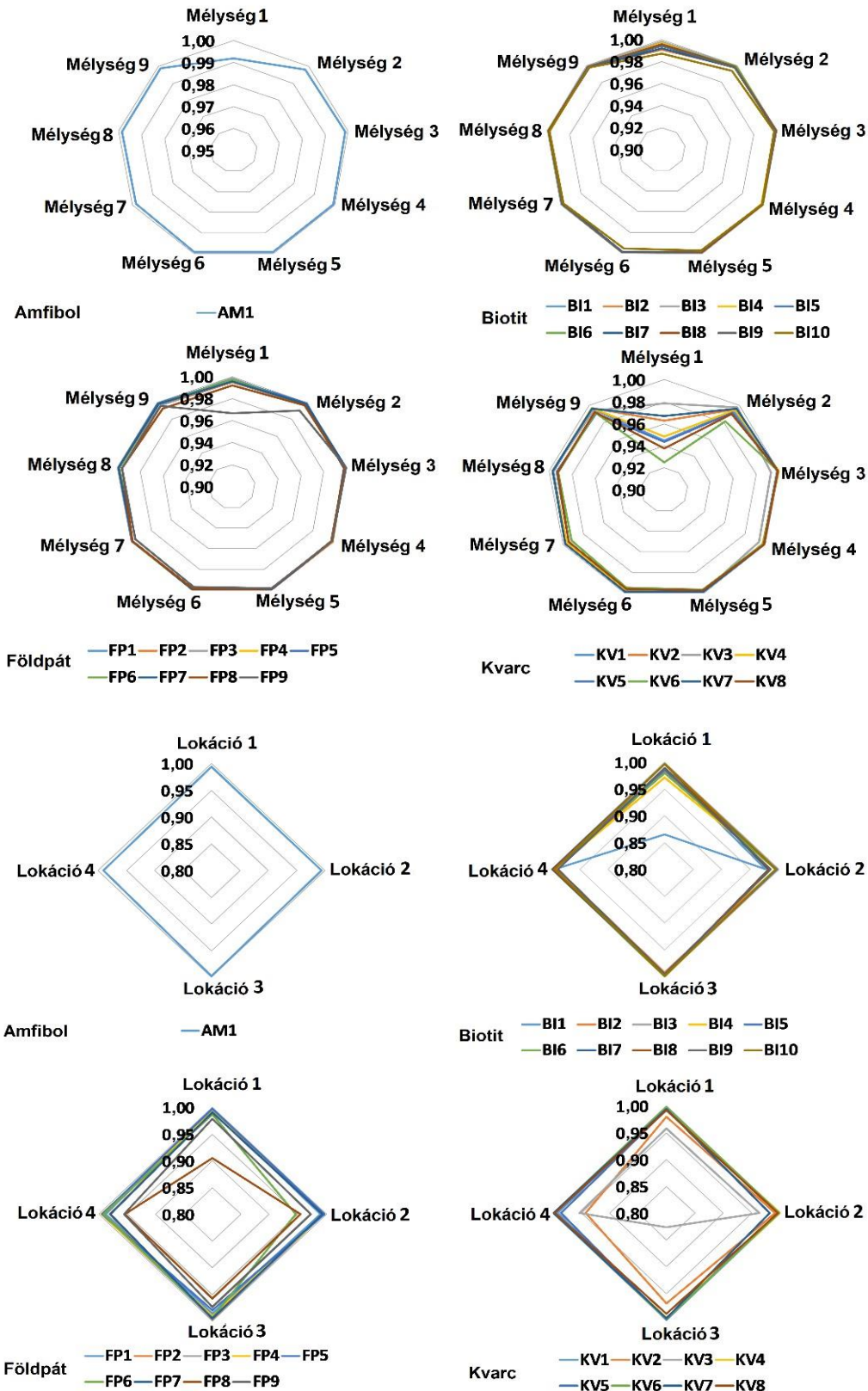
Ahhoz tehát, hogy a geológiai/bányászati alkalmazások számára pontos mennyiségi becslést lehessen adni a mintákból kinyerhető elemek koncentrációjára vonatkozóan, mátrixazonos kalibrációs standardre van szükség. A megfelelő standardokat azonban csak azután tudjuk kiválasztani, hogy meghatároztuk a kérdéses kőzet minőségi ásványos összetételét. Mivel az ásványok meghatározott elemösszetétellel bírnak főbb komponenseik tekintetében, ezért az automatikus azonosításukhoz nagy segítséget jelenthet a LIBS módszer, hiszen ez nagy térbeli felbontással, könnyen és gyorsan tud lokális kvalitatív elemösszetétel információt szolgáltatni.

Itt jegyzem meg, hogy természetesen az előforduló elemek mennyiségi aránya is fontos adat lehet az ásványszemcsék azonosításához, de ezzel egy látszólag rekurzív problémához jutunk: a mennyiségi meghatározáshoz megfelelő minőségű standardra van szükség, és a minőség megállapításához pedig megfelelő standardra. Létezik a problémára megoldás, a kalibrációmentes LIBS megközelítés alkalmazásával, ami plazmadiagnosztikai adatok felhasználásával közvetlenül tud szolgáltatni becsült összetétel adatokat, főkomponensek esetében mindössze pár százalék relatív hibával [152]. Ezek a számítások azonban elég összetettek, így a jelen munka során ebben az irányban nem végeztünk kutatásokat.

Célul tűztük ki, annak vizsgálatát, hogy az egyes ásványszemcsék milyen pontossággal csoportosíthatók LIBS spektrumaik alapján. Mivel gyakori, hogy az

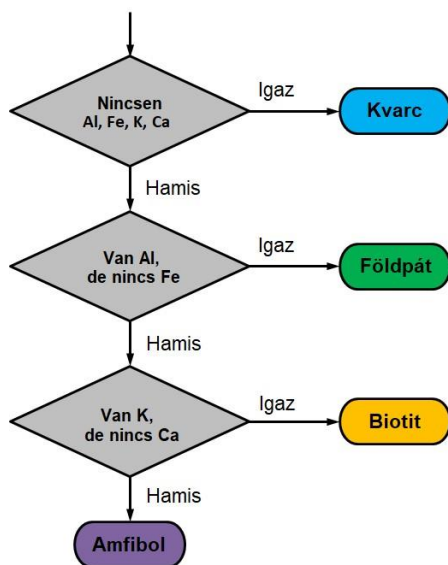
ásványszemcsék zónás szerkezetűek, ami kémiai szempontból az összetétel térbeli változásainak megnyilvánulása (heterogenitás), ezért első lépésként megvizsgáltuk, hogy ez a jelenség mennyire mutatkozik meg a mintákban, hiszen ez alapvetően befolyásolhatja a kvalitatív diszkrimináció sikerét. A jelenség vizsgálatára ismételt LIBS méréseket hajtottunk végre mélység és lokáció szerint. A hasonlóság mértékét lineáris korrelációs függvénnyel jellemeztük. Ennek értéke azonosság esetén egységnyi, és annál kisebb, minél nagyobb a különbség [153, 154]. Az eredményeket az alábbi 12. ábra grafikonjai mutatják be.

A kapott eredmények szerint a spektrumok viszonylag nagyfokú hasonlósága áll fenn. A legtöbb esetben a korrelációs tényező legalább 0,85. Az is megállapítható, hogy az egyes lokációk közti (laterális) variációk vagy heterogenitások lényegesen nagyobbak, mint a mélység szerinti eltérések. Erre a megfigyelésre magyarázatul szolgálhat, hogy az egyes mérési lokációk közötti térbeli távolság lényegesen nagyobbak mondható (kb. 100-500  $\mu\text{m}$ ), mint az egymás után egy pontban tíz ismétléssel végzett ablációval elért krátermélységek. Ez utóbbiak a profilometriás mérési eredmények alapján maximum pár mikrométer mélységűeknek adódtak. A 12. ábra alapján az is látszik, hogy a második lézer impulzussal gyűjtött spektrumok még mindig jelentős eltérést mutattak az azt követő lézerimpulzusok során gyűjtött spektrumokhoz képest. Ennek okán a további kiértékelések során az egy lokációban végzett tíz mérés közül az első kettőt tekintjük tisztító lövésnek. A zónáság jelensége leginkább a kvarc és a földpát szemcséknél mutatkozik meg.



12. ábra: Az egyes ásványzemcsék elemi összetételében detektálható változások az M1 mintában, a különböző helyeken és mélységeken felvett LIBS spektrumok lineáris korrelációs függvényvel történő összehasonlításával értékelve. Az összehasonlítások során referenciaként a nem változó koordináta, mélység vagy hely átlagos spektrumát vettük alapul. A sugárgrafikonok a korrelációs együtthatót mutatják radiális tengelyükön.

A LIBS spektrumokon alapuló azonosítás és csoportosítás célját szem előtt tartva az ásványszemcsék egyik lehetséges osztályozási módszere az ásványra jellemző (indikatív) elemek spektrumvonalainak meghatározásán alapulhat. A vizsgált ásványtípusok elemösszetételét az előző fejezetben bemutattam; ez alapján elvben könnyen kidolgozható egy feltételrendszer (döntési fa, CT), amelyben az egyes elemek (spektrumvonalainak) jelenléte alapján osztályozhatók az ásványok (13. ábra).



13. ábra: A különböző ásványfázisok karakterisztikus elemi komponenseinek jelenlétének ellenőrzésén alapuló egyszerű osztályozási protokoll javaslat.

A négy indikátor elem az Al, Fe, K és Ca, amelyekhez az alábbi hullámhosszak kerültek hozzárendelésre a LIBS spektrumokban: Al I 308,21 nm, Fe I 371,99 nm, Ca II 393,37 nm és K I 769,93 nm. Ezen érzékeny spektrumvonalakra azért esett a választásunk, mert zavarmentesnek tekinthetők, egymással szemben is, illetve a többi olyan elem (Si, Mg, O és Na) vonalával szemben is, melyek nagy mennyiségben fordulnak elő a vizsgált ásványszemcsékben. Ahhoz, hogy egy elem jelenlétét igazoltnak tekinthessük, szükségünk van egy minimális küszöb intenzitás (koncentráció) szint eléréséhez az adott elem esetén a LIBS spektrumban. Ez a küszöbintenzitás érték az adott elem 0,5 m/m% koncentrációban való megjelenéséhez tartozó intenzitás értékhez lett kötve. Az elemekhez tartozó spektrumvonal küszöb intenzitásokat a NIST 61X sorozatú standardekkel felvett kalibrációs görbék alapján becsültük. A lehető legjobb osztályozási pontosság elérése érdekében a küszöbértékként meghatározott intenzitás értékeket a Nelder-Mead szimplex optimalizáló algoritmus segítségével tovább finomítottuk [155]. A négy változó miatt ötpontos kezdeti szimplexet határoztunk meg az enyhén perturbált

intenzitási küszöbértékeket koordinátaként használva. Amikor a szimplex algoritmus befejeződött, az optimalizált intenzitási küszöbértékeket használtuk az M2 és az M3 mintában található ásványszemcsék LIBS adatainak értékeléséhez. Lényegében tehát az algoritmusunkat az M1 mintán tanítottuk be (training) és az M2 és M3 mintákon alkalmaztuk. Egy szemcsét csak akkor tekintettünk pontosan azonosítottnak, ha a szemcsén belüli mérési lokációk többségében helyes volt az azonosítás. Az eredményeket a 4. táblázat első oszlopa foglalja össze, mind a szemcsénkénti, mind pedig a lokációs szerinti csoportosításban. A besorolás nagyon pontos a biotit és a földpát esetében. Kvarcra nézve a pontosság az előző két szemcsétípushoz képest kissé elmarad, de még így is 80% körüli. A jelenség magyarázatára szolgálhat, hogy a kvarc szemcsék az optikai mikroszkópos megfigyelések alapján viszonylag szennyezettek ezekben a mintákban. Az eredmények azt is erősen sugallják, hogy az egyes szemcséken belül több helyen végzett mintavétel robusztusabbá teszi az azonosítást. Mivel amfibolból mindössze egyetlen ásványszemcsét lokalizáltunk (M1 minta), így ezt a típust a kemometriai értékelésekbe nem vontuk be.

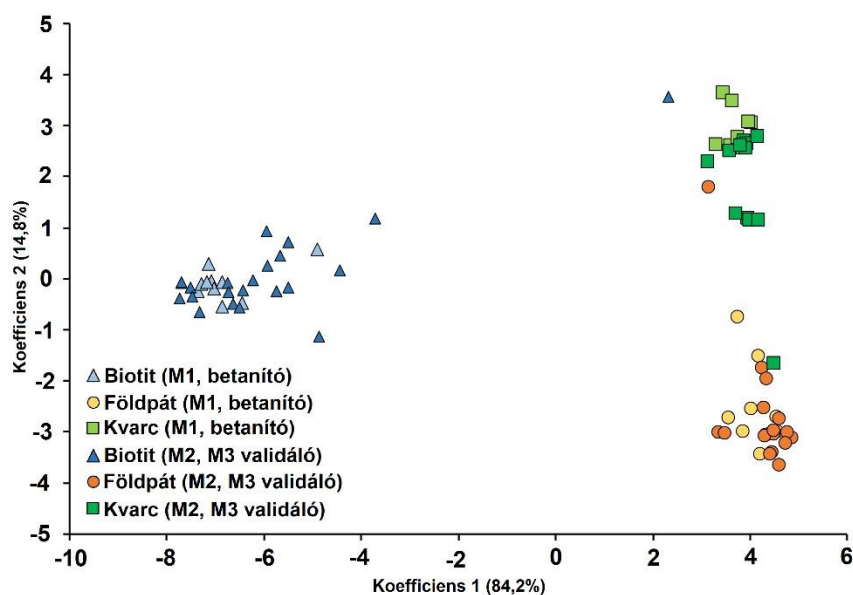
	Indikatív spektrumvonalas osztályozás besorolási pontossága		Random forest besorolási pontossága		Lineáris diszkriminancia analízis besorolási pontossága	
	Mérési lokációra nézve	Szemcsére nézve	Mérési lokációra nézve	Szemcsére nézve	Mérési lokációra nézve	Szemcsére nézve
<b>Biotit</b>	97,6%	100,0%	95,3%	97,0%	95,3%	97,0%
<b>Földpát</b>	95,5%	100,0%	88,4%	92,6%	89,0%	92,6%
<b>Kvarc</b>	80,7%	77,3%	84,3%	95,4%	87,9%	95,4%

4. táblázat: A különböző ásványszemcsék lokáció és szemcse szerinti kemometriai besorolásának eredményei az egyes vizsgált osztályozó technikák szerint.

Következő osztályozási módszerként a random forest (RF) eljárást teszteltük. Az RF módszer az osztályozási fa (CT) eljárás egy továbbfejlesztett, többváltozós verziójának tekinthető, melyet 2001-ben mutatott be elsőként Breiman. Legnagyobb előnye, hogy képes nagyon nagy adathalmazokkal is dolgozni, akár több ezer változóval, és mindezt igen gyorsan. A közelmúltban számos mintatípus (polimerek, kerámiák, vasérc) [156] LIBS spektrumok alapján történő csoportosításakor alkalmazták. Mi itt továbbra is az M1 jelű mintából gyűjtött LIBS adatokat használtuk a módszer betanítására. Első lépésként optimaltunk a fák és a csomópontok számát az out-of-bag error (OOB) figyelésével. Az

optimalizáció alapján az RF osztályozó eljárásunk száz fát és két csomópontot alkalmazott. A módszert az optimált kondíciók mellett a másik két mintán is lefuttattuk. Az RF jó és kiegyensúlyozott eredményeket adott, a besorolás pontossága mindhárom ásványfázis esetében legalább 92,6% volt (4. táblázat). A szemcsék típusa szerinti besorolás továbbra is jobb eredményt hozott, mint az egyes lokációk szerint végzett kategorizálás. A csomópontok megvizsgálása lehetőséget ad a legfontosabb (leggyakoribb) osztályozó paraméterek meghatározására is. Ez az elemzés feltárta, hogy a 274,29 nm, a 400,84 nm, a 345,65 nm és a 326,08 nm hullámhosszakhoz tartozó spektrális jellemzők voltak a legfontosabb osztályozó paraméterek, amelyek az ásványok fő komponensei helyett érdekes módon a Fe, Th és V elemekhez köthetők.

A lineáris diszkriminancia analízis (LDA), más néven diszkrimináns függvényelemzés, széles körben alkalmazott osztályozási technika, mely általában igen jól teljesít LIBS vizsgálatoknak alávetett minták spektrális sajátosságain alapuló csoportosítása során [157]. Jelen kísérleteinkben a tömörítetlen LIBS adathalmazunkon a Bayes-féle LDA módszert teszteltük. Amint az a 4. táblázat harmadik oszlopában látható az LDA teljesítőképessége is jó volt, lokáció szerint több, mint 87%, míg szemcsék szerint több, mint 92% pontosságú besorolást értünk el. A téves azonosítások leginkább a kvarc és földpát szemcsékből származó adatokhoz voltak köthetők. Az LDA csoportosítás eredményét az alábbi 13. ábra szemlélteti grafikusán. Látható, hogy a biotit szemcsék jól elkülönülnek a földpát és a kvarc szemcséktől.



14. ábra: Az ásványszemcsék Bayes-féle LDA osztályozásának eredményét bemutató grafikon („bi-plot”). Az ábrán a világoskék, a világoszöld és a citromsárga jelölők a betanító készlet (M1 minta) elemei alapján kalkulált eredményeket jelenítik meg, a többi jelölő pedig a validáló (M2 és M3) minták eredményeit szemlélteti, az egyes szemcsetípusok szerint.

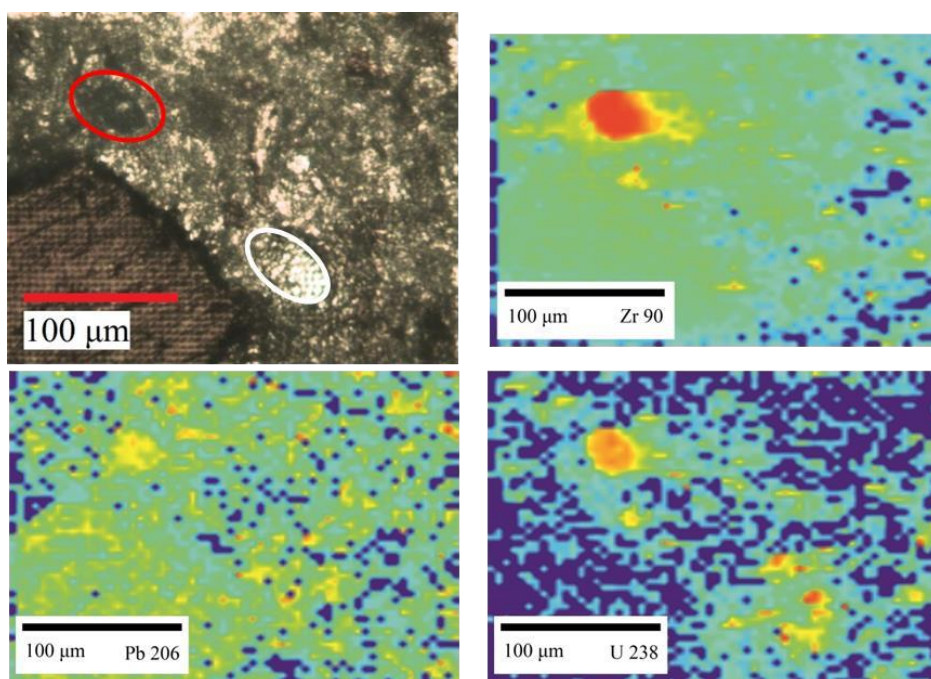
#### 4.1.5. Kőzetek kormeghatározása

Egy geológiai minta korának meghatározása nem csak az adott térség, lelőhely megfelelő földtörténeti korba való besorolását teszi lehetővé, hanem a mért adatok alapján különböző, az adott korszakra jellemző klimatológiai következtetések is levonhatók. Ahhoz, hogy egy geológiai képződmény, kristály vagy kőzetszemcsé alkalmassá váljon kormeghatározásra, olyan kritériumoknak kell megfelelnie, mint a fizikai kémiai változásokkal, a mállással és az erózióval szembeni nagyfokú ellenállóképesség, valamint a jól definiált kristályszerkezet. Ezen követelményeknek eleget tesz a cirkon ( $ZrSiO_4$ ), mely egy rendkívül ellenálló neozilikát. A cirkonban az U, Th és Pb mennyiségi arányát külső tényezők kevéssé befolyásolják, mivel ezen elemek a kőzet képződése során bezáródnak a kristályrácsba és szinte kizárólag a radioaktív bomlások révén alakulnak át, a képződést követő évmilliók alatt. Az említett radioaktív bomlási soroknak megfelelően a  $^{238}U$ -ból végtermékként  $^{206}Pb$ , míg a  $^{235}U$  izotópból  $^{207}Pb$  lesz. Mivel a bomlás során az  $^{235}U$  mennyisége csökken, az  $^{207}Pb$  mennyisége pedig nő, így a  $^{207}Pb/^{235}U$  arány az idő múlásával szintén nő. Ugyanez elmondható a  $^{206}Pb/^{238}U$  arány esetén is, azzal a különbséggel, hogy az utóbbi folyamat lassabb, mivel az  $^{238}U$  felezési ideje (4468 Ma, vagyis 4468 millió év) lényegesen hosszabb, mint az  $^{235}U$  felezési ideje (704 Ma). Mindkét



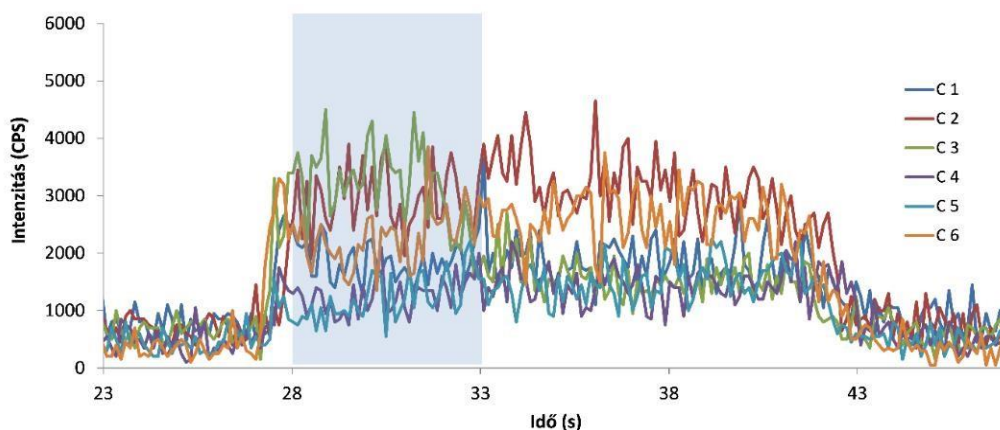
izotóp aránya geokronometrikus indikátorként szolgál, melyek egymástól függetlenül képesek információt adni az ásvány koráról [159].

Az LA-ICP-MS technikával végrehajtott izotópeloszlás vizsgálataim során a korábban a LIBS térképezési feladatoknál már bemutatott módon elsőként kifelbontású  $^{90}\text{Zr}$  izotópeloszlás térképeket vettünk fel, a cirkon szemcsék helyének beazonosítására. Ezt követte egy nagyfelbontású térképezés, mely már egy szűkebb területről, a lokalizált szemcsék közvetlen kis környezetéből lett rögzítve ez látható a 15. ábrán. Így pontosabb képet kaptunk a cirkon szemcsék helyéről, alakjáról és orientációjáról. A nagyfelbontású térképezések során  $5\ \mu\text{m}$  térbeli felbontással végeztük az LA-ICP-MS térképezést.



15. ábra: A nagyfelbontású izotópeloszlás térképezés során vizsgált terület optikai mikroszkópos képe, valamint a mért  $^{90}\text{Zr}$ ,  $^{206}\text{Pb}$ , illetve  $^{238}\text{U}$  izotópok eloszlás térképei. A színek pirostól kékig jelzik az intenzitás csökkenő értékét. Az optikai mikroszkópos képen pirossal bekarikázva egy lokalizált cirkon szemcse képe látható, fehérrel pedig egy olyan cirkon szemcse helye lett jelölve, mely a kifelbontású térképezés során teljes mértékben ablálódott, a nagyfelbontású térképeken mindössze kis mennyiségű visszamaradt Zr és U mennyisége utal rá, hogy jelen volt.

A térképek készítését követően minden szemcséből rögzítettük az Pb és U izotópok jelintenzitásait. A következő 16. ábrán a cirkon szemcsékből rögzített  $^{207}\text{Pb}$  izotóp időfüggő jelprofiljai láthatók. A mérések során rögzített teljes mérési időintervallumon belül kiválasztott, a 16. ábrán világoskék háttérrel jelzett, 28-30 másodpercig tartó időintervallumban (hasznos mérési tartomány) detektált jelek viszonylag stabilak, kiugrások nem figyelhetők meg.



16. ábra: A  $^{207}\text{Pb}$  izotóp időfüggő jelprofiljainak alakulása a mintában lokalizált cirkon szemcsékben. Az ábrán kék háttérrel jelölve az az időintervallum, mely adatai alapján a számításokat végeztük.

A kormeghatározás során az alábbi egyenletekkel számoltunk [159], ahol  $\lambda$  az adott izotóp bomlási állandója, ami  $^{238}\text{U}$  esetén  $\lambda_{238}=1,55125\cdot 10^{-10}$  év $^{-1}$ , míg a  $^{235}\text{U}$  izotópnál  $\lambda_{235}=9,8485\cdot 10^{-10}$  év $^{-1}$ .

$$\frac{^{206}\text{Pb}}{^{238}\text{U}} = e^{\lambda_{238}\cdot t} - 1 \qquad \frac{^{207}\text{Pb}}{^{235}\text{U}} = e^{\lambda_{235}\cdot t} - 1$$

Az egyenletekbe a kalibrációból számolt izotóp koncentrációkat helyettesítettük be. A kormeghatározás eredményeit az alábbi táblázat foglalja össze.

Minta	$^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}$ izotóparány	$^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}$ kor (millió év)	$^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ izotóparány	$^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ kor (millió év)
C 1	0,3986	340	0,0535	335
C 2	0,3313	290	0,0443	279
C 3	0,3553	308	0,0527	331
C 4	0,3681	318	0,0571	357
C 5	0,3600	312	0,0532	334
C 6	0,3608	312	0,0470	296
<b>Szórás</b>	0,0218	16	0,0047	29

5. táblázat: A cirkon szemcsék Pb/U izotóparányos kormeghatározásának eredményei.

Az egyes cirkon szemcsékből mért adatok alapján számolt korok, illetve izotóparányok közti szórás mértéke viszonylag kicsi, ami egészen jó precizitást jelez. A két eltérő izotóparányon nyugvó kormeghatározás eredményei szintén jó egyezést mutatnak. A kőzet kora az  $^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}$  módszer szerint 314 millió év, míg a  $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$  arányokból számítva 322 millió év. Ezek alapján a kőzetanyag a földtörténeti késői karbon korban

képződött. Méréseink pontosságát igazolja, hogy az általunk számolt eredmények jó egyezést mutatnak a korábban végzett Rb-Sr adatok alapján kalkulált 330-320 millió éves értékekkel [160].

#### ***4.2. Biológiai minták vizsgálata***

A jelen fejezetben tárgyalt kísérleteimben növényi, illetve állati eredetű szövettípusok LIBS analitikájával foglalkoztam, elsősorban nyomelemeloszlás-térképezéssel összefüggésben. Kutatásaink motivációját egyfelől az adta, hogy kidolgozzunk egy olyan kalibrációs technikát, mely lehetőséget ad, az intenzitás alapú térképek kvantitatív elemeloszlás térképekké való konvertálására. Ez azért fontos, mert a térképeken megjelenő koncentrációk ismerete bizonyos területeken, mint amilyenek például az orvosdiagnosztikai alkalmazások, nagy fontossággal bírnak. A másik célunk volt, az olyan kemometriai osztályozó eljárások vizsgálata, amelyek képesek az egyes szövettípusok megkülönböztetésére.

A növénytípusok nyomelemanalízise, illetve elemeloszlás térképezése környezetvédelmi és növénybiológiai célok mentén szintén a kísérleti terveink közt szerepelt. Ezzel kapcsolatban különös figyelmet kívántunk szentelni a különböző fém nanorészecskék viselkedésére, azok bioakkumulációs sajátosságaira, mivel napjainkra a nanorészecskék ipari felhasználása egyre gyakoribb (pl. kozmetikai, ruházati, egészségügyi termékekben), így az ezzel járó környezetterhelés mértéke is egyre nagyobb mértékű, ami kihat a biológiai rendszerek működésére. Fémionok, nyomelemek, tápanyagok eloszlását és felszívódását, a köztük fennálló összefüggéseket szintén vizsgálni terveztük LIBS méréseink során. A kemometriai osztályozó technikák biológiai eredetű mintákon történő alkalmazhatóságának tanulmányozására kísérleteket folytattunk zooplankton mintákon is.

##### ***4.2.1. Felhasznált eszközök és műszerek***

A LIBS méréseinket a geológiai minták vizsgálatáról szóló fejezet elején már bemutatott Applied Spectra J200 Tandem LA/LIBS mérőműszerrel végeztük. A készülék működési paramétereit az alábbiak szerint állítottuk be az optimális mérési kondíciók érdekében.

Mintatípus	Sertés	Zooplanktonok	Növények
Lézer impulzusenergia	~ 17,5 mJ	~ 20,0 mJ	~14-17,5 mJ
Lézer foltméret	60 $\mu\text{m}$	200 $\mu\text{m}$	60, 100 $\mu\text{m}$
A spektrális adatgyűjtés integrációs ideje	1,05 ms	1,05 ms	1,05 ms
A spektrális adatgyűjtés késleltetési ideje	0,5 $\mu\text{s}$	0,5 $\mu\text{s}$	0,5 $\mu\text{s}$
Mintamozgatási sebesség	0,6 mm/s	-	1,0 mm/s
Lézer ismétlési frekvencia	10 Hz	10 Hz	10 Hz
Az analízishez felhasznált lézerimpulzusok száma egy foltban	1	10	1
Ablációs gázáramlás (Ar)	1,0 L/min	-	1,0 L/min

6. táblázat: A biológiai minták LIBS mérései során alkalmazott működési paraméterek.

A beállításokat úgy választottuk meg, hogy azok alapján az eloszlás térképek kellően nagy felbontásúak és így kellően részletesek legyenek, mindez racionális mérési idő alatt úgy, hogy az egymás mellett elhelyezkedő ablációs foltok közt ne legyen átfedés. A térképezési kísérletek során Ar gázáramot alkalmaztunk.

Az állati szövetek validáló méréseit az egyes szövettípusokból standard addícióval készült minták feltárását követően ICP-OES módszerrel végeztük. A validáló mérések egy iCAP 6500 RAD (Thermo Scientific) ICP-OES készülékekkel történtek. Az adatgyűjtés Qtegra (ThermoFisher Scientific, v.2.4) szoftverrel lett kivitelezve. A nagyszámú mintamennyiség hatékony és gyors mérése érdekében ESI SC-2DXS (Elemental Scientific Inc.) automata mintaadagoló berendezést alkalmaztunk. Az ICP-OES készülék további mérési beállításait az alábbi 7. táblázat foglalja össze.

<b>Méréstechnika</b>	<b>ICP-OES</b>
<b>Mintatípus</b>	állati szövetek
<b>Hűtő gázáramlás (Ar)</b>	12,0 L/min
<b>Külső gázáramlás (Ar)</b>	0,8 L/min
<b>Porlasztó gázáramlás (Ar)</b>	0,7 L/min
<b>Integrációs idő</b>	8,0 s
<b>Plazma RF teljesítmény</b>	1000 W

7. táblázat: Az alkalmazott ICP-OES mérési paraméterek az állati szövetminták vizsgálata során.

A zooplankton minták Raman szórási spektrumait egy DXR Raman Microscope (Thermo Scientific, USA) mérőműszerrel vettük fel, melynek beállításai az alábbiak voltak: 780 nm hullámhossz, 1-14 mW lézer teljesítmény, 1-2  $\mu\text{m}$  foltméret, 4  $\text{cm}^{-1}$  spektrális felbontás és 450-3150  $\text{cm}^{-1}$  mérési tartomány. A spektrális adatgyűjtés során a beállított időablak résszélességét minden egyes mintához külön-külön választottuk meg, hogy megfelelő jel-zaj arányt érjünk el, és ezzel egyidejűleg elkerüljük a CCD túlcsoordulását. A felvételi idő fél, illetve öt perc időtartam voltak, továbbá a spektrumokon, a készülék beépített kiértékelő szoftvere segítségével, hatodfokú polinom függvényt használva a fluoreszcenciás háttérrel korrigáltuk. Az azonos elszíneződési szintű részeken (sötét, világos és közepes) legalább három külön pozícióban (foltban) végeztünk méréseket, így nagyjából minden pellet esetén a 18 lokációból gyűjtöttünk adatot (3×3 db Raman és 3×3 db LIBS spektrumot). Ezen minták LIBS mérései során lokációnként 10 ismételt mérést hajtottunk végre egyazon pozícióban a minta translációja nélkül. Itt Ar gázáramot nem használtunk jelnövelésre, törmelékelhordásra, mivel a gyűjtött spektrumok kellően nagy intenzitásúnak bizonyultak. A LIBS spektrumokban az alábbi csúcsintenzitások kerültek monitorozásra az adatkiértékelés alkalmával: Li I 610,3 nm, C I 247,8 nm, Na I 568,3 nm, a Ca II 396,8 nm, valamint egy C<sub>2</sub> molekulásáv 473,6 nm-en. A Raman-spektrumok az átlagolást megelőzően a teljes spektrális intenzitásra normálva lettek. A különböző színmélységű csoportokból rögzített spektrumok minden esetben a csoportoknak megfelelően kezeltük, azok más csoportba tartozó mintákból származó spektrumokkal nem lettek átlagolva.

A szelénnel kezelt növények esetén klasszikus, folyadék mintabevitelű ICP-MS méréseket is végeztünk. Kísérleteinkben mikrohullámú feltáró segítségével (MarsXpress CEM) salétromsavas és hidrogén peroxidos közegben 200 °C hőmérsékleten 1600 W teljesítménnyel 15 percen keresztül kezeltük a mintákat. A feltárt mintákat – ultratiszta vízzel történő hígítását követően – egy Agilent 7700 típusú, októpólus ütközési/reakció cellával ellátott ICP-MS készülékkel mértük meg He ütközőgáz jelenléte mellett az alábbiak szerint: a mintabevitelt 600 µL/perc felszívási sebességgel történt, az RF teljesítmény 1550 W, a plazmagáz áramlási sebesség 15,0 L/perc, a vivőgáz áramlási sebesség 1,05 L/perc, a mintavételi mélység: 10,0 mm volt. A mérések során a <sup>77</sup>Se és a <sup>82</sup>Se izotópok intenzitását monitoroztuk.

#### **4.2.2. Mintaelőkészítés**

Kísérleteinkben hét különböző házisertés (*Sus scrofa domesticus*) szövettípust (máj, agy: szeparáltan szürke- és fehérállomány, vese, szív, tüdő és izom) vizsgáltunk. A kalibrációs standardok készítése során ezen mátrixokból készült pépes, rostszállaktól, ínaktól mentes, homogén anyaghoz öt lépcsőben adagoltunk nyomelemanalitikai tisztaságú reagenseket közvetlenül, feloldás nélkül, ezzel is megtartva az egyes szövettípusok jellemző nedvesség tartalmát az eredeti szinten. Az így készült standard mintákat folyékony nitrogén segítségével lefagyasztottuk. A folyadék mintabevitelű ICP-OES mérések előtt ezen fagyasztott standard minták feltárását ultrahangos kádban végeztük, HNO<sub>3</sub> és H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> keverékét tartalmazó elegyben. A LIBS térképezésekre szánt minták előkészítését a későbbiekben az eredmények közt részletezem.

Kutatásunkban huszonkilenc szárított és pelletizált zooplankton mintát vizsgáltunk, melyek közt nevezetesen 14 db evezőlábú rákféle, kalanoid copepod (*Calanus spp.*) és 11 db Euphausiacea (krill) rákféle (összesen 25 db rákminta), továbbá 2 db nyílféreg minta (*Parasagitta elegans*), valamint 1 db tengeri csiga (*Limacina helicina*), és 1 db vegyes növényevő zooplankton minta volt megtalálható. A tengeri élőlényeket az Orosz Tudományos Akadémia Shirshov Oceanológiai Intézetének kutatóhajóján szolgálatot teljesítő tengerbiológus szakemberek az Északi-sarkvidékről és a Fekete-tengerről gyűjtötték be 2014 – 2017 közötti expedíció során. A minták mérésre történő előkészítése az alábbiakban részletezettek szerint történt. Az élőlényeket ionmentes vízzel leöblítettük, majd 12 órán át 50 °C-on szárítottuk, ezt követően nagyjából 8 mm átmérőjű pelleteket készítettünk belőlük átlagosan 30 bar nyomással. Biológiai minták révén természetesen a

kész pelletek inhomogenitásokat is tartalmaztak, így megkülönböztettük sötét, világos és közepesen elszíneződött területeket a pellet felületén, a későbbiekben ennek megfelelően folytattuk a vizsgálatainkat.

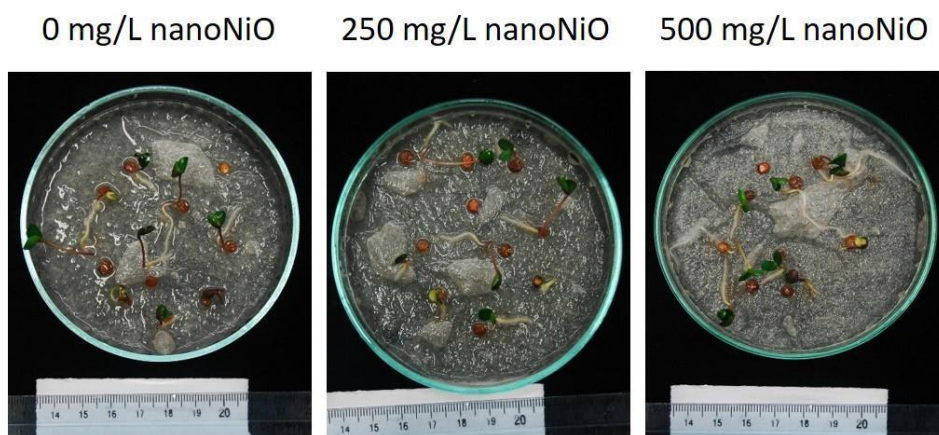
Az ezüst nanorészecskékkel kezelt növényi minták kiválasztása során olyan növényi fajt alkalmaztunk modellnövényként, ami gyorsan nő. A mustármagokat (*Sinapis alba*) Petri csészében desztillált vízzel benedvesített szűrőpapíron csíráztattuk 24 °C fokon, 72 órán keresztül. Ezt követően a kicsírázott növényeket olyan Eppendorf csövekbe helyeztük, melyek biztosították, hogy a növénynek csak a gyökere érintkezzen a 10 µmol/L koncentrációjú ezüst nanorészecske szuszpenzióval. Két expozíciós idővel (48 és 72 óra) dolgoztunk, valamint vizsgáltuk a 10 és 40 nm átmérőjű ezüst nanorészecskék okozta hatást is. A szuszpenziókhöz használt ezüst nanorészecskéket kereskedelmi forgalomból szereztük be.

A Zn, Ni, illetve Se elemekkel kapcsolatos növényi mintákon végzett kísérleteink középpontjában álló növényeket az SZTE-TTIK Biológiai Intézetének, Növénybiológiai Tanszékével együttműködve választottuk ki és neveltük fel. Három Ni hiperakkumuláló ökotípusát (*Olympos*, *Loutra és Ampelico*) vizsgáltuk a görögországi Lesbosz szigetéről származó *Alyssum lesbiacum* ternye fajnak. Ezeken a területeken a talaj Ni tartalma meghaladhatja a háromezer mg/kg koncentrációt, ami kifejezetten magasnak tekintendő [161]. A hiperakkumuláló növények sajátja, hogy nemcsak akklimatizálódnak a helyi talajösszetételhez, hanem a hajtásaikban, leveleikben akár több százszor annyi fémet képesek felhalmozni [162], mint nem akkumuláló társaik. A cinkhiányos állapot növényekre gyakorolt hatásának vizsgálatára modellnövényként repcét (*Brassica napus*) használtunk kísérleteinkben. A Zn az élő szervezetek számára elengedhetetlen fontosságú az optimális fejlődés szempontjából, hiánya befolyásolja a növény szerveinek funkcionalitását [163].

Szelén hiperakkumuláló növényekben a magas szelénkoncentráció az olyan reaktív oxigénfajták felhalmozódását idézi elő, mint például a szuperoxid, a hidrogén-peroxid és a hidroxilgyök, ami oxidatív stresszhez vezet [164]. Ennek következtében a növény fejlődése során felléphet hibás szelenoproteinek szintézise, valamint hormonális és táplálkozási homeosztázis zavarok egyaránt megjelenhetnek [165, 166]. Az *Astragalus* (csüdfű) nemzetségen belül egyaránt megtalálható az olyan nem akkumuláló faj, mint például az *A. cicer* vagy az *A. membranaceus*, valamint a Se hiperakkumuláló tulajdonságot mutató *A. bisulcatus* és az *A. racemosus* [167] is. Kísérleteink fókuszában az *A. bisulcatus*

hiperakkumuláló és az *A. cicer* nem akkumuláló növények Se kezelést követően alakuló mikro (Fe, Mn) és makro (K, Mg) tápanyag felvevő képességét monitoroztuk LIBS elemeloszlás térképek segítségével.

A Ni, Zn, illetve Se kezelésen átesett minták nevelése a növénybiológus kollégák laboratóriumában történt, az általuk kidolgozott és tesztelt eljárásrend szerint, az alábbiakban részletezett módon. A ternye csírákat NiO nanorészecske szuszpenzióban és kontrollként NiCl<sub>2</sub> tartalmú oldatban is neveltük abból a célból, hogy összehasonlítható legyen miként befolyásolja az eltérő kiindulási forma a Ni felszívódást. A szuszpenziók és az oldatok minden esetben két különböző koncentrációban (250 mg/L, illetve 500 mg/L) tartalmazták a fémeket. A magok a sterilizálást követően, 5 mL/Petri csésze nanorészecske szuszpenzióval, valamint 5 mL/Petri csésze NiCl<sub>2</sub> oldattal átitatott szűrőpapírral bélelt Petri csészébe kerültek. A nevelés öt napon keresztül történt kontrollált körülmények közt. A cinktartalom vizsgálatakor mért repce növények csíráztatása az előzőekben bemutatott eljárástól annyiban tért el, hogy itt értelemszerűen cinkhiányos állapot előidézése volt a cél. A növények táptalaja 12,2 µg/L koncentrációban tartalmazott cinket, ami az optimális fejlődéshez szükséges cinkmennyiség harmada, de még elégséges ahhoz, hogy a növény életképes maradjon. A növények a kontrollált körülmények közt három hétig nevelkedtek a táptalajokban. A Se kezelésen átesett minták nevelése során szintén az előzőekben bemutatott protokoll szerint jártunk el, annyi eltéréssel, hogy itt a táptalajhoz 25 µmol/L, illetve 75 µmol/L mennyiségben került Se, Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> só oldott formájában. Az eredmények összehasonlíthatósága érdekében kontroll mintát is előkészítettünk, mely nem részesült Se kezelésben. Az így nevelt minták 14 napot töltöttek fejlődéssel az előre beállított Se koncentrációjú táptalajokban, ellenőrzött körülmények közt [168].



17. ábra: Az *Alyssum lesbiacum* csíranövények fejlődése.



#### **4.2.3. Biológiai minták LIBS elemterképezésével kapcsolatos kihívások**

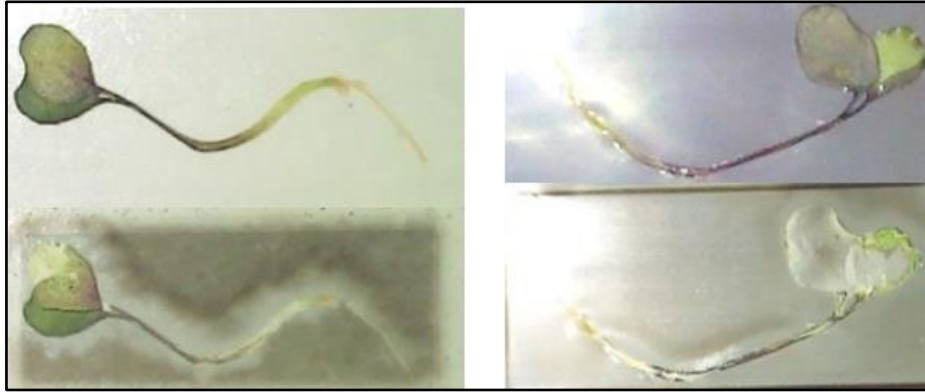
A biológiai minták LIBS elemterképezése kapcsán felmerül a kérdés, hogy a rugalmas, egyenetlen felületű szövetekből hogyan lehet síkszerű mintákat készíteni. Az állati eredetű minták mérése esetén egy további kihívás azok fluidumtartalmának kezelése. Ilyen a vér, mely pl. vasban igen gazdag, ezért érdemes a teljes szervet vérteleníteni, pl. fiziológiás sóoldattal való átmosás révén; ekkor azonban többlet nátrium (és klór) kerül a mintába.

A mintáink síkszerűségére azért van szükség, mert a lézernyaláb szoros fókuszálása miatt a mélységélesség csekély, általában legfeljebb 100 µm nagyságrendű. Az egyik legelterjedtebb megoldás a mikrotommal történő vágás, mely módszerrel akár pár tíz mikrométer vastagságú szövetszeletek is készíthetők. Többféle készüléktípus létezik, némelyik folyadékban vibráció mellett végzi a vágást, míg másik fagyasztott minták metszésére specializált, és létezik olyan is, amely szobahőmérsékleten paraffinba ágyazott minták szeletelésére alkalmas. Kísérleteinkben a sertés agyszövet mintákból 30 µm vastagságú metszeteket készítettünk, közvetlenül az elemterképezéseket megelőzően, kriogenikus vágóberendezéssel. Az agyból eltávolított szöveteket a szeletelést megelőzően folyékony nitrogénben fagyasztottuk és -70 °C hőmérsékleten tároltuk annak érdekében, hogy azok elemösszetétele a tárolás ideje alatt esetlegesen fellépő bomlási folyamatok miatt ne változzon. A konzerválás szempontjából a fagyasztás mellett még a liofilizálás is szóba jöhet. A növényi minták nedvességtartalmát mérés előtt érdemes minimalizálni és egyben azokat síkszerűvé is kell alakítani. Azt a megoldást választottuk, hogy a növényeket öt napon keresztül két szűrőpapír között szárítottuk, nehezekek alatt préselve. A szárított minták elemösszetétel szempontjából egyenértékűnek tekinthetők a friss növényekkel, de természetesen a koncentráció értékek magasabbak a nedves mintákban mérhetőknél. Érdemes kiemelni, hogy a préselés/szárítás folyamatokor használt szűrőpapír helyes megválasztása szintén nagy jelentőséggel bír, hiszen a növények apró gyökérszörei előszeretettel akadnak bele a papír rostjaiba, ami megnehezíti a növények sérülésmentes leválasztását a papírról.

A minták hordozóra való erősítésének kettős szerepe van. Egyik, hogy a sérülékeny biológiai minták rögzített állapotban könnyebben szállíthatók a laboratóriumok közt, illetve egyszerűbben helyezhetők be a LIBS mintatartó kamrába, a másik pedig, hogy a hordozó és a rögzítő anyag önmaga is stabilizálja az amúgy rendkívül törékeny és kényes mintát. A mérések során közölt nagy energia, valamint az alkalmazott gázáram könnyedén

elfújhatja a mintákat, különösen az elemeloszlási térképezéseknél alkalmazott, sorozatos nagyszámú lézerimpulzusok esetében. A hordozó megválasztása, annak anyagi minősége, elemösszetétele analitikai szempontból érzékeny kérdés, ugyanis a mérések során a legtöbb spektrum valójában a hordozótól származik. Érdeemes tehát minél egyszerűbb és jól definiált elemösszetétellel jellemezhető, a mintában vizsgálni kívánt elemeket nem, vagy csak minimális mértékben tartalmazó szubsztrátot választani. A hordozóból származó spektrumok adják majd a háttérjelet, ezért nyomanalitikai tisztaságú, egyszerű, vonalszegény spektrummal bíró anyagokat kell választani ilyen célra. A fenti tapasztalatok és elgondolások alapján az agyszövet vékony metszet mintákat vágást követően, nagy tisztaságú Si lapokra helyeztük, majd a könnyebb kezelés, szállítás végett, azokat kétoldalú habosított ragasztó segítségével mikroszkóp tárgylemezre erősítettük.

A növényi minták esetén vizsgáltuk a kétoldalú habosított ragasztószalagok és az epoxi műgyanta alkalmazhatóságát is. Mintarögzítés szempontjából a lokális mérések során a kétoldalú ragasztószalagok korábbi kísérleteinkben már jól beváltak. A kétoldalú ragasztók előnyös tulajdonsága, hogy a tárgylemezhez tapasztva egy azonnali kellően sík felszínt hoznak létre, melyhez a mintanövények könnyedén rögzíthetők. Mivel a ragasztószalagok teljes felszíne tapad, így az abláció során a növényi mintából visszahulló törmelék nagy valószínűséggel ráragad a szabad tapadó felületekre, így esetlegesen egy későbbi ablációs lokációból történő mérés során a rögzített spektrum nem csak és kizárólag a ragasztóból, hanem a visszahullott törmelék újbóli méréséből is származhat, ami anomáliákkal teli elem térképeket eredményez („csóva” vagy „glória” megjelenése). A kétoldalú habosított ragasztószalagok alkalmazása során azt tapasztaltuk, hogy azok meglehetősen összetett spektrumot produkálnak, melyek gazdag a vizsgálni kívánt elemekben. Így többek közt a Ni, Fe, Cu és a Ca megfelelő bizonyossággal történő térképezése ily módon nem valósítható meg, hiszen ezen elemek esetén a ragasztószalag szolgáltatja magas háttérintenzitás elnyomja a mintából detektálható jelet. További tapasztalat volt az is, hogy a lézerimpulzusok által közölt nagy energiasűrűség hatására a ragasztószalag lokálisan megolvad és enyhén megpörkölődik.



18. ábra: A növényi minták optikai mikroszkópos képei mérés előtt (felső sor) és LIBS mérések után (alsó sor), habosított kétoldalú ragasztóval rögzítve (balra) és epoxi műgyantával rögzítve (jobbra).

Egy másik lehetséges minta rögzítési eljárás az epoxi műgyanta alkalmazása. A kereskedelmi forgalomban kapható, kutatási célokra is alkalmas epoxi műgyantát orvostudományi minták fixálására, azok beágyazására már korábban is sikerrel használták. Ennek további előnye, hogy a habosított kétoldalú ragasztóval szemben nem csak alulról tartja meg a növényt, hanem azt körülfoltyva, oldalirányból is fixálja azt. Az epoxi jobb tartást biztosít, így a minta és a rögzítő gyanta is kevésbé fragmentálódik az abláció során. A műgyanta alkalmazásának nehézsége, hogy azt kellően vízszintes vékony filmszerű rétegben kell felvinni a mikroszkóp tárgylemezre, majd a felvitelt követően egy előszáradási procedúrát érdemes beiktatni, hogy a gyanta kissé megszilárduljon és a felületére ráhelyezett minta ne süllyedjen el, hiszen akkor a műgyanta réteg befedné a mintafelszín is. A procedúra utolsó lépése az epoxira helyezett növényi minta 24 órán keresztül 80 °C hőmérsékleten való szárítása addig, amíg az epoxi teljesen meg nem szilárdul.

Epoxi műgyantába való mintabeágyazás szintén lehetséges, ám ebben az esetben szükség van egy olyan vágóeszköze, melynek segítségével friss és vízszintes vágási sík alakítható ki a mintafelszín. Ilyenkor elengedhetetlen mintaelőkészítő lépés a tömbi preparátum mikrotommal történő előszeletelése, egészen addig a mélységig, amíg el nem érjük a növényi mintát, melyből akár vékony metszetet is készíthetünk. Sajnos ehhez a módszerhez a rendelkezésre álló vágóberendezések nem voltak megfelelőek, nem tudták a kemény epoxit eldaráolni.

A LIBS térképezések történhetnek egy rétegben, valamint akár egymást követően több rétegben is. A többrétegű térképezés előnye, hogy segítségével javítható a mérés pontossága, az egymás alatti rétegekből rögzített spektrumok lokáció szerinti

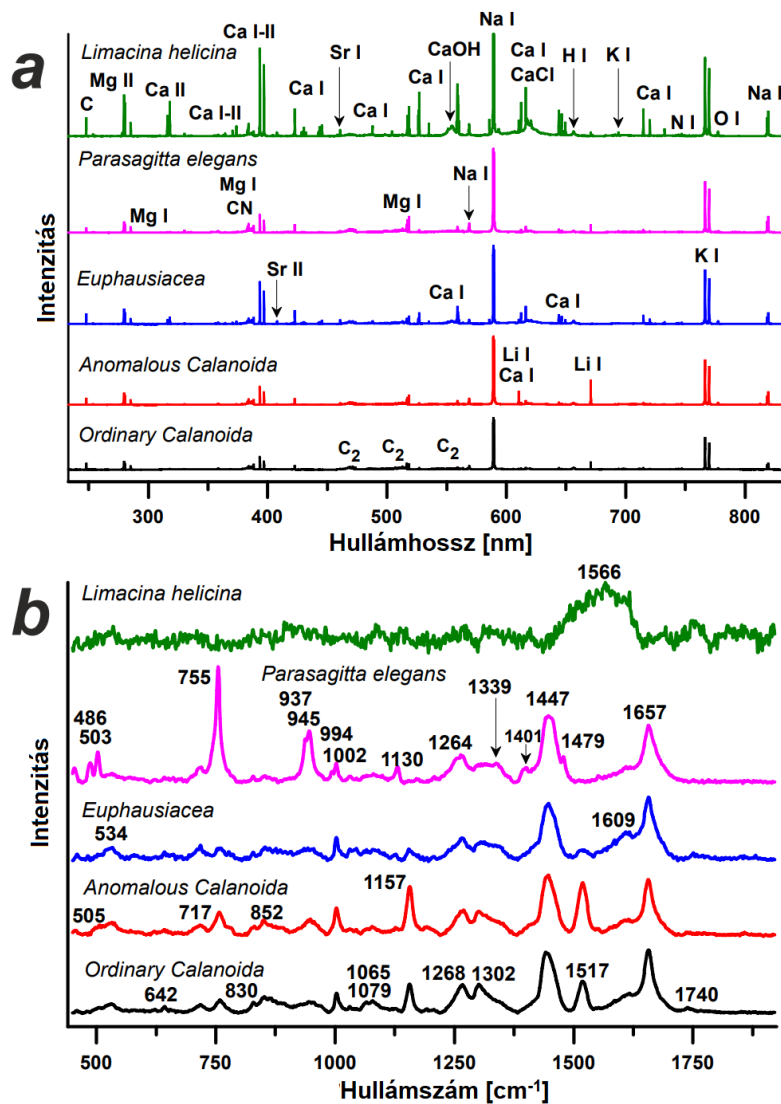
akkumulációja révén részletgazdagabb elemeloszlás térképek nyerhetők. Kellően nagy számú ablációs réteg alkalmazása esetén a vékony minta teljesen elablálható, ami szükséges a helyes elemeloszlási térképek készítéséhez. Az egyes rétegektől származó spektrumok akumulációja nélkül azokból háromdimenziós térkép is készíthető. Az azonos lokációban végrehajtott, többszöri, egymást követő abláció nagymértékű energiaközlést jelent, így a korábban ismertetett, mintarögzítéssel kapcsolatosan észrevételek fokozottan érvényesek. A kellően nagy felbontású térképek készítéséhez érdemes minél kisebb ablációs foltmérettel dolgozni úgy, hogy azok egymás mellett, egymással nem átlapolódva helyezkedjenek el, a vizsgálni kívánt terület teljes egészét lefedve. Ezek a mérések természetesen annál időigényesebbek, minél részletesebb képet szeretnénk kapni. Érdemes tehát megfontolni a mérési paraméterek kompromisszumos megválasztását, főleg az olyan biológiai minták esetén, mint amilyen a fagyasztott agyszövet, amely könnyen kiolvad és bomlásnak indul.

A térképezéskor rögzített hiperspektrális adathalmaz egy jelentős része a hordozótól vagy ragasztótól származik. Az elemeloszlás térképek ábrázolásakor a háttértől származó pixelek kiszűrése történhet manuálisan is (maszkolás), de a fejlettebb automatizálható verziót a háttér és a minta spektrális sajátosságain alapuló, kemometriai módszerekkel történő megkülönböztetése jelenti. Az eloszlástérképek színezésének helyes megválasztása szintén nagy jelentőségű. A spektrumvonalak azonosításához a LIBS műszer beépített szoftverét (Clarity) és a NIST adatbázist használtuk. Az olyan összetettebb, nagyobb adatmennyiség feldolgozására is képes kemometriai eljárások, mint a lineáris diszkriminancia analízis (LDA) az R programnyelv kemometriai csomagjának segítségével készültek [169]. A zooplankton mintákon végzett kemometriai, statisztikai kiértékelés során az alábbi programokat használtuk a nagyszámú adathalmaz kezelésére: GNU Octave, Microsoft Excel, Origin 8.5, Matlab 2020 és Wolfram Mathematica 8. A főkomponens analízis során a GNU Octave program princomp modulját alkalmaztuk, amely a főkomponensek (PC) számának meghatározására a sajátérték függvényeket használja. Az egyik algoritmus, amit az adathalmazok elemzésére alkalmaztunk a ComDim (más néven Common Components and Specific Weights Analysis, CCSWA). A ComDim algoritmus meghatározza az egyes rejtett közös dimenziókat, értékeli az egyes dimenziók hozzájárulását az adatblokkhoz, ezáltal kiszámítható, hogy az egyes dimenziók milyen fajsúllyal járulnak hozzá az adott adatblokk összetételéhez [170]. Egy további újszerű kiértékelési megközelítést a nemnegatív mátrix faktorizálás (Nonnegative Matrix

Factorizations, NMF) és a független komponens analízis (Independent Components Analysis, ICA) kemometriai technikák alkalmazása jelentette [171]. Ezen módszerek előnye, hogy fizikai tartalommal bíró főkomponenseket adnak [172]. Az elemeloszlási térképek adatainak kezelése az Epina ImageLab adatkiértékelő szoftverrel történt.

#### **4.2.4. Tengeri élőlények kvalitatív diszkriminancia analízise**

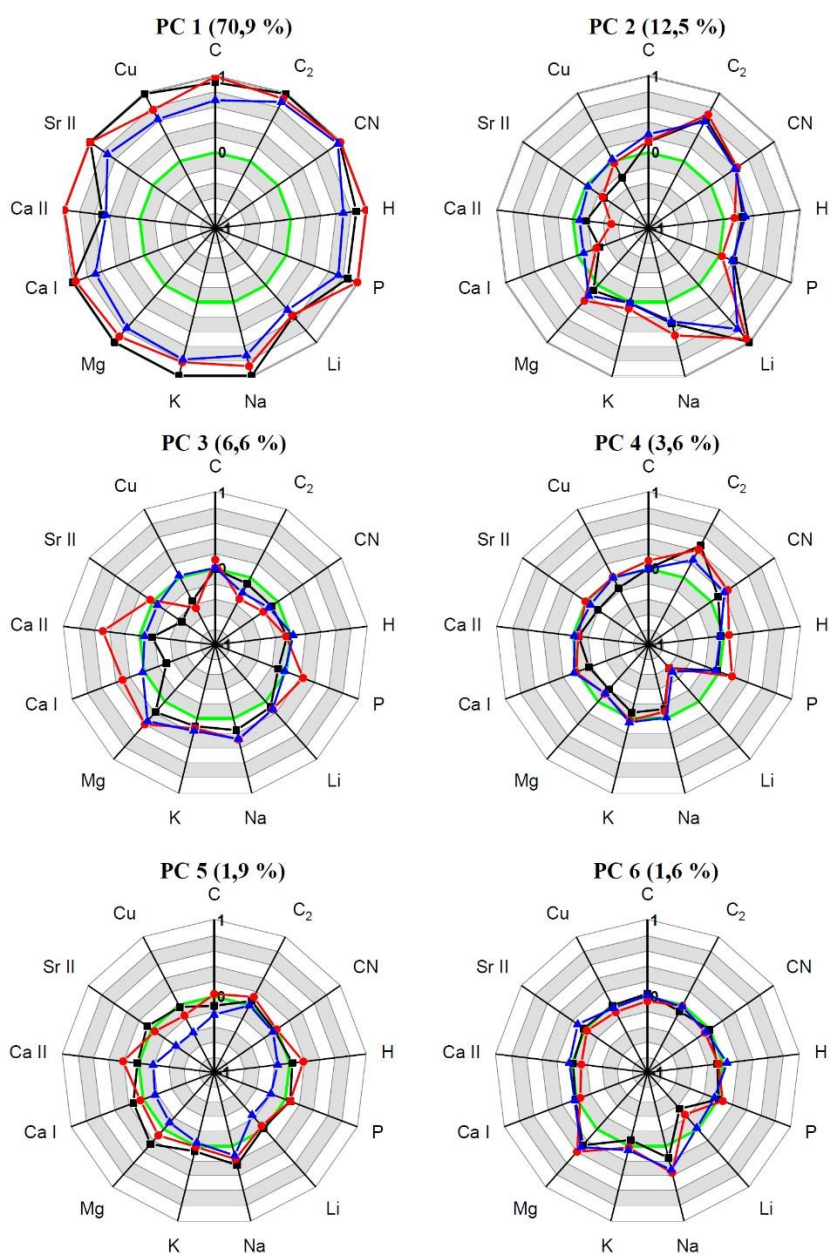
Az általunk vizsgált tengeri élőlények egy-egy reprezentatív LIBS, illetve Raman spektruma az alábbi 19. ábrán látható. A LIBS spektrumok az egyes állatok elemösszetételéről szolgáltatnak információt, melyekből az alábbi következtetések vonhatók le. Megállapítható, hogy a spektrumvonalakban leggazdagabb élőlény a tengeri csiga (*Limacina helicina*) volt. Meszes héjú háza, számos Ca, Mg, Na, K elemektől származó vonalat és CaOH és CaCl molekulákhoz tartozó csúcsokat tartalmaz. A nyílférgek (*Parasagitta elegans*) szövetei láthatóan a legkevésbé mineralizáltak, a belőlük rögzített spektrumokban leginkább a C<sub>2</sub> és a CN molekulásávok mutatkoznak meg. Az evezőlábú rákok (*Calanoida*) mintáiból rögzített spektrumok igen intenzív Li vonalakat tartalmaznak, melyek a 610,4 nm és 670,8 nm hullámhosszakon figyelhetők meg. A Raman spektrumok segítségével beazonosíthatók azok a szerves molekulák, melyek a különböző tengeri élőlények felépítésében szerepet játszanak, így az alábbi megállapításokat tudtuk levonni a kísérleti eredmények kiértékelése során. A tengeri csiga, *Limacina*, Raman spektrumai elég vonalszegények és nem túl informatívak. A nyílférgek, *Parasagitta*, spektrumain különböző aminosav jellemzők azonosíthatók, például a 755 cm<sup>-1</sup>-nél valószínűleg triptofánnak és a 945 cm<sup>-1</sup>-nél feltehetőleg valin csúcsai láthatók. 486, 503, és 3013 cm<sup>-1</sup> értékeknél az NH<sub>2</sub> csoportoknak megfelelő jeleket detektáltunk [173]. A krill rákok (*Euphausiacea*) minta által szolgáltatott spektrumokban viszonylag erős jelek a 1609 cm<sup>-1</sup> hullámszámon figyelhetők meg, mely fenil gyűrűk jelenlétére utal. A *Calanoida* erős karotinoid pigment sávokat produkált, 1004, 1157 és 1518 cm<sup>-1</sup>-nél. Összességében megállapítható, hogy szinte minden vizsgált élőlény esetén a telített és telítetlen zsírsavakhoz köthető 1446 és 1656 cm<sup>-1</sup>-nél jelentkező csúcsok dominánsak, és a fent említett hullámszámokon megjelenő csúcsok a későbbiekben, az osztályozás során kulcsfontosságú szerepet töltek be. A 1268 és 1302 cm<sup>-1</sup> detektált jelek szintén a zsírsavaktól származnak [173].



19. ábra: A különböző tengeri élőlények mérésekör rögzített LIBS (a) illetve Raman (b) spektrumok.

A Raman mérésekből származó adatokból kiindulva az osztályozás teljesítőképessége jelentősen elmarad a LIBS adatokon végzett elemzéshez képest. Ennek a jelenségnek magyarázatául szolgálhat, hogy az egyes tengeri élőlényekre nézve viszonylag kismértékű variabilitás mutatkozik meg a Raman spektrumokban. Az osztályozás során a PCA alapú szeparálás lényegében a mintákban foglalt és a Raman spektrumban megjelenő, aminosavak és karotinoid (triptofán és valin) molekulák jelenlétéhez köthetően történt. A Raman mérésekből származó eredmények PCA osztályozásának eredményei alapján megállapítható, hogy az 1-5 főkomponens felhasználásával történt szeparálás kis mértékben, de eredményesebb, mint az 1-3 főkomponenssel végzett elkülönítés.

A LIBS mérésekből származó emissziós spektrumok sok éles, jól megkülönböztethető és nagy variabilitással megmutatkozó spektrális jellemzőt tartalmaztak. Mindezek sikeresebb PCA osztályozást eredményeztek. Az alábbi kémiai komponensek mutatkoztak azon prominens mintaösszetevőknek, amelyek alapján az egyes zooplankton típusok elkülönítése a legjobban megvalósítható volt: C, C<sub>2</sub>, CN, H, P, Li, Na, K, Mg, Ca, Ca, Sr és Cu. A mintákban megfigyelt nagy Li koncentráció arra enged következtetni, hogy ezen elem két külön kémiai formában vagy felszívódási út folyamán került bele a tengeri élőlényekbe. Az első főkomponens (PC1) egy, az összes mintára egységesen jellemző összetétel struktúrát mutat, a sötét, a világos, illetve a közepes színtónusú foltokból felvett LIBS spektrumok alapján. PC3, valamint PC5 főkomponensek rámutatnak, hogy a mintáinkban a Ca szintén jelentős mértékben hozzájárul bizonyos mintatípusok összetételéhez. PC3 alapján a Ca és a P jelenlétének korrelációja arra enged következtetni, hogy a mintákban nagyobb mennyiségű kalcium-foszfát található, főleg azok közepes színtónusú részeiben. PC6 pedig a Na, illetve a K közötti összefüggést tárja fel. Ezek alapján arra a következtetésre juthatnánk, hogy a magas Li tartalom, mely a *Calanoida* [174, 175] jellemző összetevője az, ami az osztályozás alapját adja. Ennek a felvetésnek ugyanakkor ellentmond az a megfigyelés, hogy a *Parasagitta* férgek, melyek nem tartalmaznak lítiumot, viszont az említett férgekhez tartozó adatok, a bi-plot ábrázolásban, a *Calanoida* méréséből származó adatokhoz igen közel esnek. Ezt a megfigyelést erősíti tovább az a tény is, hogy a Li jel maszkolását követően a két fajból rögzített mérési eredmények eloszlása ugyanolyan eloszlási struktúrát vett fel, mint abban az esetben, amikor a Li jelek jelen voltak a vizsgált spektrumokban. Mindezek alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a Ca, illetve a Sr jelek azok, melyek az osztályozást nagymértékben befolyásolják.



20. ábra: A kemometriai csoportosítás számára lényeges elemek és azok megjelenésének variációjának a különböző szinténusú foltok esetében. Az ábrákon a fekete, piros és kék vonalak rendre a sötét, a közepes és a világos szinténusú foltokat reprezentálják, minden sáv szélessége 0,2 osztásnak felel meg a skálán, mely -1-1 tartományt ölel fel, ahol a zölddel jelölt sáv jelöli a 0 értéket.

A Raman spektrumok NMF-faktorizálása sajnos nem vezetett túl eredményes csoportosításhoz. Arra a következtetésre jutottunk, hogy a csoportosítást ez esetben a főként a karotinoidokhoz kapcsolódó spektrumrészletek határozzák meg. A Raman spektrumokban a karotinoid vegyületek és az aminosavak két különböző komponensben is megjelennek, zsírsavakhoz kötötten, mely zsírsavak szintén több megjelenési formát is mutatnak a spektrumokon belül. Érdemes azonban megjegyezni, hogy a karotinoid sávok



intenzitása nagymértékben eltér, annak megfelelően, hogy milyen színintenzitású foltból történt a spektrum felvétele. Erre magyarázatul szolgálhat, hogy az egyes foltok színmélységéért ezen vegyületek tehetők felelőssé.

A ComDim technikát teszteltük PCA, illetve ICA alapon is. Mindkét esetben az egyes mintacsoportok között megjelenő variancia mértéke rendkívül magas volt. Ennek alapján ezen technikák ideálisnak tekinthetők, az egyes kémiai komponensek közti összefüggések jól definiáltan megmutatkoztak. A csoportokba történő rendezés alkalmával viszont a szeparálás nem sikerült olyan jól, mint ahogyan azt az előzetes eredmények alapján vártuk, nem keletkeztek jól definiált mintacsoportokra jellemző klaszterek.

Kemometriai eljárás	Méréstechnika	Bemeneti adathalmaz	„Silhouette” érték (%)
<b>Rákfélék – Nyílférgék – Tengeri csigák megkülönböztetése</b>			
PCA	Raman	teljes	10,0
PCA	Raman	redukált	65,0
NMF	Raman	teljes	11,5
NMF	Raman	redukált	47,0
<b>Calanoida–Euphausiacea megkülönböztetése</b>			
PCA	LIBS	teljes	34,0
PCA	LIBS	redukált	62,0
NMF	LIBS	teljes	56,0
NMF	LIBS	redukált	60,0
SUM-PCA	LIBS+Raman	teljes	67,0
NMF	LIBS+Raman	teljes	63,0
ComDimPCA	LIBS+Raman	teljes	39,0
ComDimICA	LIBS+Raman	teljes	36,0

8. táblázat: Az általunk vizsgált kemometriai osztályozó technikák teljesítőképességét összefoglaló táblázat az egyes mintatípusok vonatkozásában. A teljesítmény jellemzésére szolgáló vizuális adatok, bi-plotok számszerűsítésére a „Silhouette” értéket [176] használtuk.

A 8. összegző táblázatban a különböző kemometriai technikákkal az egyes bemeneti adathalmazokon végzett csoportosítások eredményeinek számszerűsítésére a bi-plotokon vizuálisan megjelenő adatokból kiszámoltuk az ún. „Silhouette” értékeket [176]. Minél nagyobb ez az érték, annál jobban teljesített az adott mintacsoport vizsgálata során az osztályozásra használt kemometriai eljárás. A „Silhouette” értékek egy-egy, a vizuálisan legjobban elkülönülő bi-plotok (kért főkomponens segítségével összeállított kétdimenziós grafikonok) alapján lettek meghatározva, vizsgálva az egy klaszteren belüli pontok

egymástól, illetve a klaszteren kívül eső összes többi ponttól mért átlagtávolságát. A bemeneti adathalmaz mérete kétféle lehet, az egyik opció a teljes spektrumokon alapuló elkülönítés, a másik pedig a redukált spektrumokon alapuló munka, mely spektrumok mentesek a nagyon intenzív rezonanciavonalakat, illetve az erősen önabszorbeáló csúcsoktól [177]. „Silhouette” értékek rámutattak, hogy a teljes spektrumok vizsgálatán alapuló osztályozások mind a LIBS, mind pedig a Raman mérések adatai alapján eredményesebb csoportosításhoz vezettek, mint a redukált spektrumokkal való munka esetén.

Összességében megállapítható, hogy LIBS spektrumok lényegesen alkalmasabbnak bizonyultak a kemometriai elemzések végrehajtására, mint önmagukban a Raman spektrumok, ám azt is érdemes megjegyezni, hogy a legjobb osztályozási eredményeket a kombinált LIBS és Raman spektrumok együtteséből kialakított adathalmazon tudtuk elérni. A tesztelt NMF és a ComDim technikák értékes összefüggéseket tártak fel az egyes kémiai komponensek közt. Megállapítható továbbá, hogy a vizsgált fajok közül a *Calanoida* és *Euphausiacea* rákfélék, valamint a *Limacina helicina* tengeri csigák közt nem volt nehéz különbséget találni, mivel azok ásványi, elemi összetétele eléggé eltérő. Ezzel szemben a nyílférgek, valamint a *Calanoida* minták pusztán a Raman spektrumok alapján történő szeparálása során sok esetben azok tévesen azonos csoportba lettek sorolva. Az egyes minták a befogás helyére jellemző spektrális sajátossággal nem bírtak, így kijelenthető, hogy a feltárt kémiai tulajdonságok, az adott fajokra általánosságban igazak.

#### **4.2.5. Sertés szövettípusok kvantitatív LIBS elemterképezése**

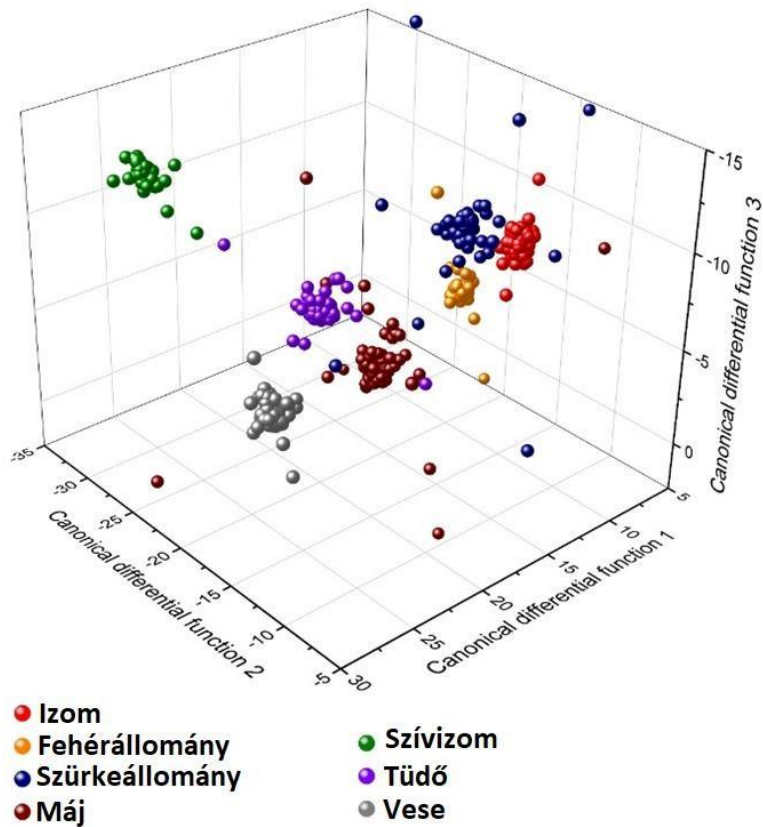
Kísérleteink során itt is az előző alfejezetben tárgyalt kemometriai osztályozó technikákhoz fordultunk, hogy megbizonyosodjunk arról, hogy a vizsgált sertés szövettípusok milyen mértékben különböztethetők meg LIBS spektrumaik alapján. Hétféle sertés szövettípusból (szív, máj, tüdő, vese, comb, szürke és fehér agyszövet) készítettünk vékony metszeteket, amelyekről több helyen, összesen 1400 LIBS spektrumot rögzítettünk. Mivel azt tapasztaltuk, hogy a rögzített spektrumok már egy szövettípuson belül is nagy variabilitást mutattak, ezért a spektrumokon iteratív előszelekciót hajtottunk végre, amelyet az egy szövetminta különböző helyein felvett spektrumok és az átlagspektrum lineáris korrelációs együtthatójának összehasonlítása alapján végeztünk el. A spektrumok skálázásához a Na I 588,9 nm spektrumvonal intenzitását használtuk.

A teljes spektrumokon alapuló LDA osztályozás eredményei a 9. táblázatban láthatók. Az úgynevezett confusion matrix táblázat azt mutatja be, hogy az osztályozó eljárás milyen csoportba sorolja be az egyes mintatípusokat. Ideális esetben az átlóban szereplő értékeknek mind 100%-nak kellene lennie. A táblázatból látható, hogy a besorolás pontossága esetünkben igen kimagasló, közel teljes, a mátrix főátlójából végig 95-100% közti értékek olvashatók le.

		Eredeti csoport						
		Szürke-állomány	Fehér-állomány	Szívizom	Vese	Máj	Tüdő	Izom
A modell által javasolt csoport	Szürke-állomány	98%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
	Fehér-állomány	0%	99%	0%	0%	1%	0%	0%
	Szívizom	0%	0%	98%	0%	1%	2%	0%
	Vese	0%	0%	0%	100%	1%	0%	0%
	Máj	0%	1%	2%	0%	95%	0%	0%
	Tüdő	0%	0%	0%	0%	1%	98%	0%
	Izom	2%	0%	0%	0%	1%	0%	100%

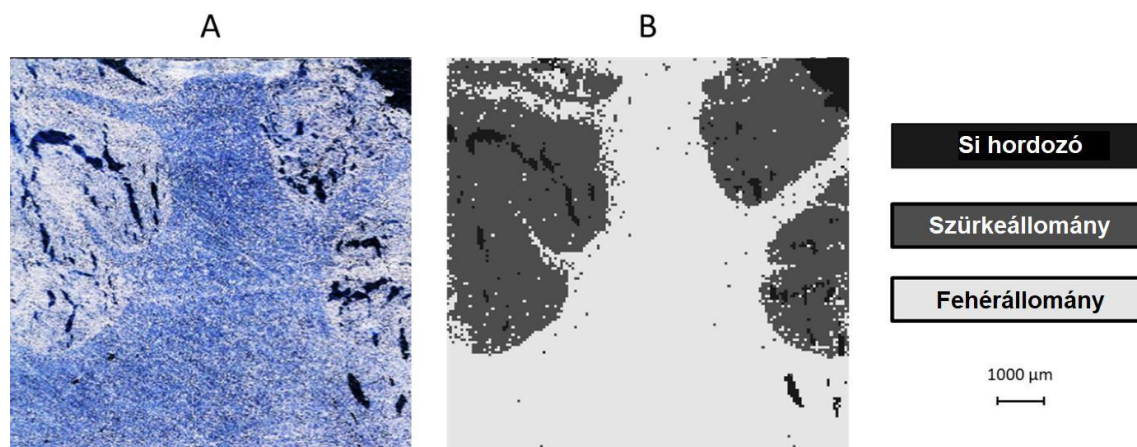
9. táblázat: A lineáris diszkriminancia analízis eredményeit összefoglaló táblázat.

Az eredmények látványos szemléltetésére egy olyan háromdimenziós grafikon is alkalmas, amely az egyes spektrumokat három kanonikus komponens terében helyezi el. Egy ilyen ábrázolást mutat be a 21. ábra, amelyen jól látható, hogy az LDA módszer sikeresen elkülönítette egymástól a szövettípusokat a spektrális jellemzők alapján. Az ábráról leolvasható, hogy kémiai összetételük, sajátágaik alapján nagy hasonlóságot mutat egymáshoz az agy szürkeállománya, a máj és az izomszövet. Ezek nagyjából egy térfélen helyezkednek el, viszonylagos közelségben vannak, holott azok fizikai jellemzői igen eltérőek, rosttartalmuk, nedvesség tartalmuk igen különböző. Szintén érdekes tény, hogy egyazon szervben, az agyban található szürke- és fehérállomány elemzéséből kapott adatok is jól elkülönülő térrészen helyezkednek el.



21. ábra: Sertés szövetminták LIBS spektrumainak osztályozása LDA módszerrel.

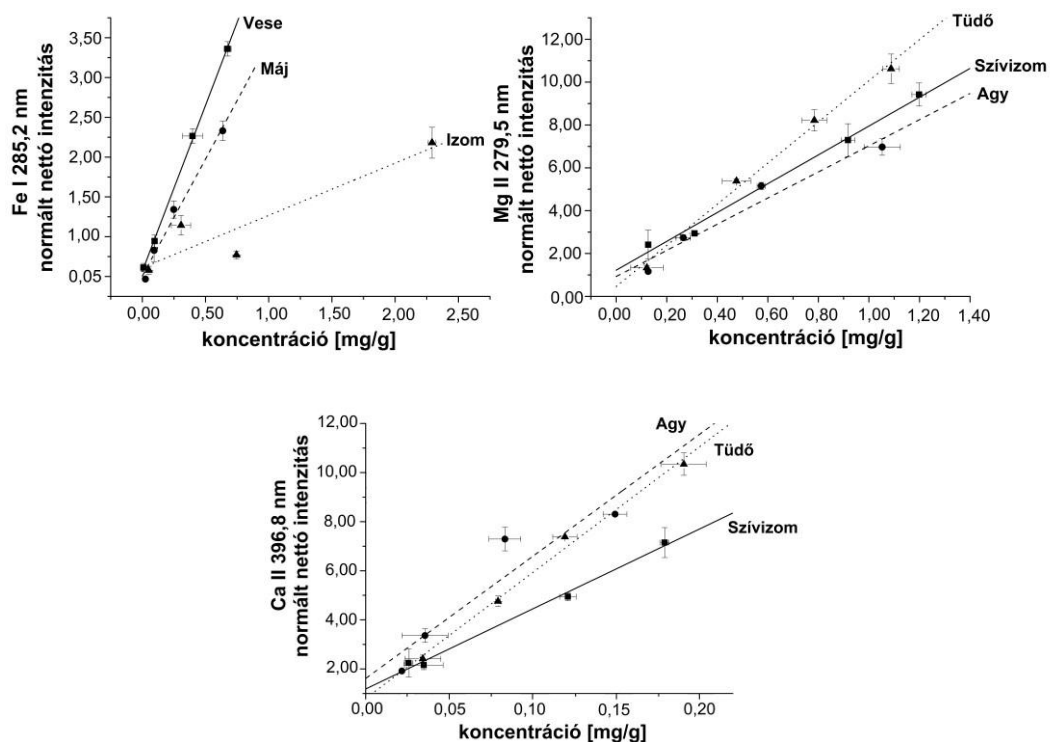
A szövettípusok osztályozásának lehetőségeit tovább illusztrálandó, készítettünk diszkriminációs térképeket is. A 22. ábra B részén egy Si lapkán előkészített sertés agyszövet vékony metszet 60  $\mu\text{m}$  felbontású diszkriminációs térképe látható. A térkép készítésekor pontról-pontra felvett LIBS spektrumok mindegyikét besoroltuk az előforduló háromféle „anyagminőség” szerint (Si, szürke- és fehérállomány), az eljárást a tiszta szövetek és a Si lapka spektrumaival tanítottuk be, majd a térképen az egyes anyagminőségeket eltérő színekkel ábrázoltuk. Az optikai mikroszkópos és LIBS diszkriminációs térképeket összehasonlítva látható, hogy a kemometriai adatkiértékelés jól használható, viszonylag megbízható és részletgazdag eloszlás információt szolgáltatott. A következő 22. ábrán balról a vizsgált sertés agyszövet vékony metszet optikai mikroszkópos képe (A), mellette pedig a kemometriai eredmények alapján készített ábra (B), látható, mely egyértelműen elkülöníti az agyszövet szürke-, illetve fehérállományát.



22. ábra: Sertés agyszövet minta optikai mikroszkópos képe (A) és a LIBS térképezés alapján kivitelezett automatikus szövettípus osztályozó LDA eljárással készített ábra.

A különböző szövettípusok eltérő fizikai és kémiai paraméterekkel jellemezhetők, ennek megfelelően egymástól eltérő módon viselkednek az alkalmazott lézer ablációs kondíciók mellett. Ez a körülmény megnehezíti a kvantitatív LIBS mérések elvégzését, hiszen minden mátrix típushoz más és más, lehetőleg azonos mátrixú, kalibrációs mintára van szükség. A kvantitatív elemeloszlás térképezés még nehezebb feladat, hiszen a mintafelület pixelről-pixelre eltérő mátrixú lehet.

Mivel távlati célunk a biológiai minták kvantitatív LIBS elemeloszlás térképezésének megvalósítása volt, ezért részletesen tanulmányoztuk a mátrixhatást. Ezen kísérletekhez szintén sertés szövetmintákat alkalmaztunk. A tapasztaltak demonstrálására a Mg, a Fe és a Ca kalibráló görbéinek alakulását mutatom be a következő 23. ábrán. A spektrális megfigyelést az alábbi hullámhosszokon végeztük, melyek mindegyikének kellően jó volt a jel/zaj viszonya, valamint zavarmentesnek tekinthetők: Mg II 279,5 nm; Fe I 285,2 nm; Ca II 396,8 nm.

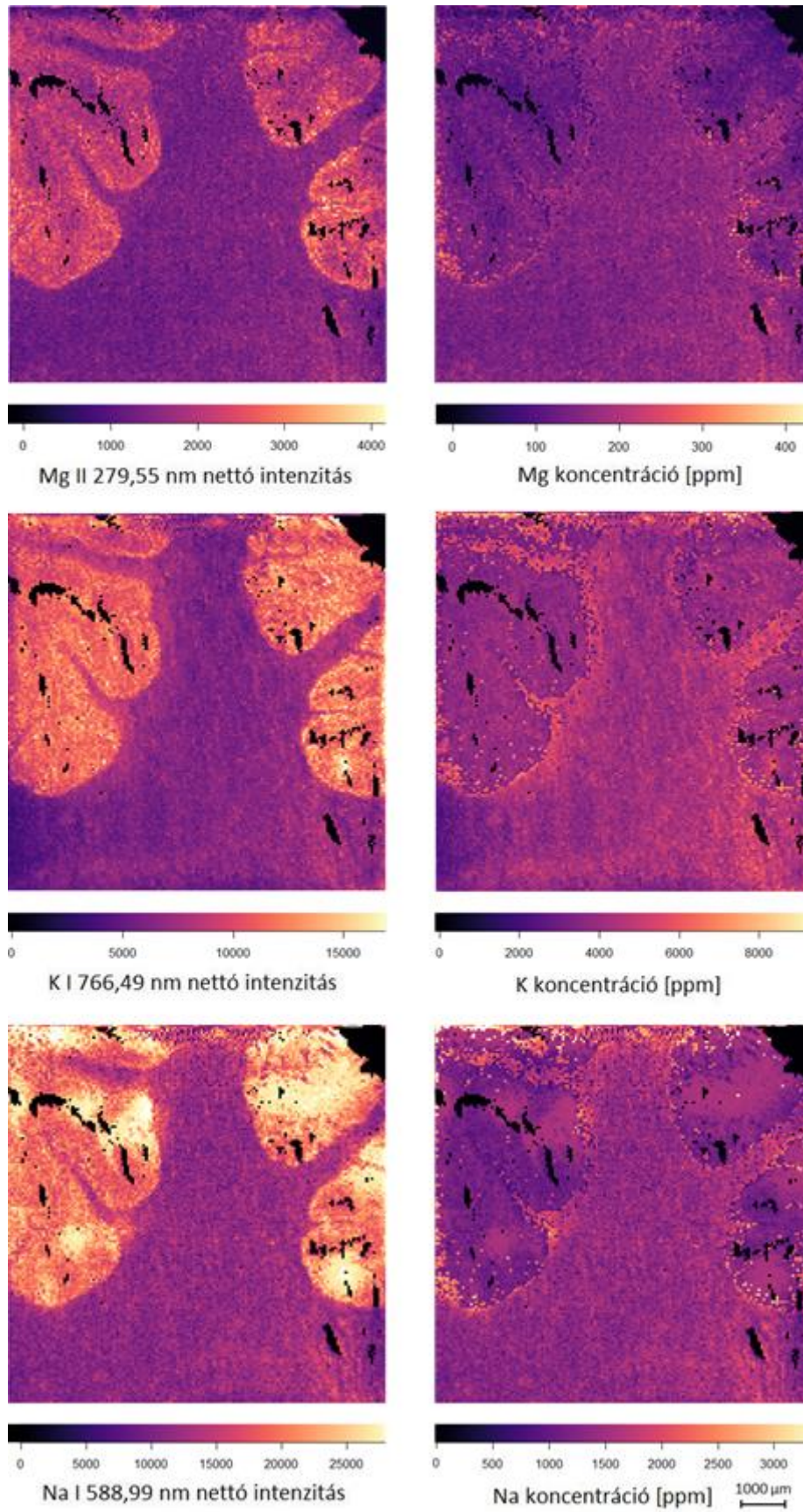


23. ábra: A Mg, Fe és a Ca kalibrációs görbéinek lefutása különböző mátrixokban a C I 248,78 nm vonalra történő normalizáció alkalmazásával.

A kalibráló görbék készítésekor jelenleg is alkalmaztunk, mégpedig a C I 247,8 nm spektrumvonal felhasználásával. A kalibrációs egyenesek lefutása igen eltérő, de bizonyos tendenciák megfigyelhetők, mint például, hogy a vasra felvett kalibrációs egyenesek a vese és a máj esetében hasonló lefutásúak. Ez azzal magyarázható, hogy ezen szövettípusok nagyfokú hasonlóságot is mutatnak; szárazanyag és rosttartalmuk közel azonos. A Ca tekintetében az agy és a tüdő szövetek mérésekor kapott eredmények azok, amelyek viszonylagosan egyszerre futnak, hozzájuk képest a szív mérésekből származó Ca intenzitások kissé elmaradnak, így kisebb meredekségű egyeneseket kapunk. A Mg kalibrációs görbéi tüdő, szív és agy minták vizsgálata során viszonylag hasonló lefutású egyeneseket produkált, markánsabb különbség ezen szövetek közt nem figyelhető meg, mindössze kisebb eltérés mutatkozik a tüdő esetén, a másik kettő mátrixtípushoz hasonlítva. Az a tény, hogy a vonalak eltérő meredeksége a normalizálás hatására nem tűnt el teljesen, arra utal, hogy a mintákban eltérő szervesanyag- és/vagy víztartalom van jelen. Ez a hatás különösen észrevehető a Fe grafikonján. Mivel térképezési feladataink kvantitatív céllal kerültek kivitelezésre agyszövet vékony metszetek vizsgálva, így a fent bemutatott kalibrációs eredményeket a térképezés során gyűjtött intenzitás adatok koncentrációra történő átszámításakor is felhasználtuk.

A kriogenikus vágóberendezéssel 30  $\mu\text{m}$  vastagságúra metszett és Si lemezre helyezett agy szövetminta részletek kerültek térképezésre. A LIBS méréseket megelőzően a vékonymetszet mintákról optikai mikroszkópos felvételek is készültek, annak érdekében, hogy az azokon megfigyelhető, vizuálisan is jól kivehető sajátságok az elemeloszlás térképek eredményeivel összehasonlíthatók legyenek a méréseket követően. Az általunk vizsgált mintaterületet több mint 400000, egymással nem átlapolódó 60  $\mu\text{m}$  átmérőjű ablációs ponttal fedtük le és minden egyes lokációban rögzítettünk a teljes spektrumot 200-1000 nm hullámhossztartományban. Az alábbi, 24. ábra összeveti az elkészült kvantitatív, illetve mátrixazonos kalibrációval kiegészített kvalitatív elem térképeket.

Az eloszlástérképek készítése során elsőként minden egyes pixel beazonosításra került, aszerint, hogy az adott pontban detektált jel az agy szürke- vagy fehérállományától, vagy pedig a hordozóként használt Si lemeztől származik-e. A beazonosítás az előzőekben bemutatott LDA eljárással történt. Miután a kategorizálás megtörtént, az egyes agyszövet mintával azonos mátrixú kalibráció lett alkalmazva az intenzitások koncentrációra történő átszámítása során. Így végül egy pontos kvantitatív eloszlás térképet kaptunk. A koncentráció térképek legszembetűnőbb tulajdonsága, hogy az elemek koncentráció eloszlása a két agyszövet típus között merőben eltér attól, amit az intenzitástérképek sugallnak. Míg az intenzitástérképek azt mutatják, hogy az elemi koncentrációknak nagyobbak kell lenniük a szürkeállományban, mint a fehérállományban, addig a koncentráció térképek ezzel ellentétben azt jelzik, hogy a koncentrációk valójában hasonlóak (Mg és Na esetében), vagy a köztük lévő kapcsolat épp ellentétes, mint ahogyan az a K esetében látható. Ez utóbbi elemnél a fehérállomány a kalibrálást követően nagyobb K tartalmat mutat, mint a szürke, holott ez az intenzitás térképek alapján pont ellentétesnek mutatkozik. Ennek oka véleményünk szerint abban rejlik, hogy a két szövet víztartalma jelentősen eltér az orvosi szakirodalomban leírtak alapján (pl. [178, 179]). Ezt saját méréseink is megerősítették: a fehérállománynál 6,20-szeres nedves/száraz tömegarányt (más néven redukciós tényezőt) mértünk, míg a szürkeállománynál ez a szorzó 4,37-nek adódott. A fehérállomány magasabb víztartalma jobban elnyomja a LIBS jeleket, ezért a LIBS intenzitástérképek a valóságnál nagyobb koncentrációkontrasztot sugallnak.



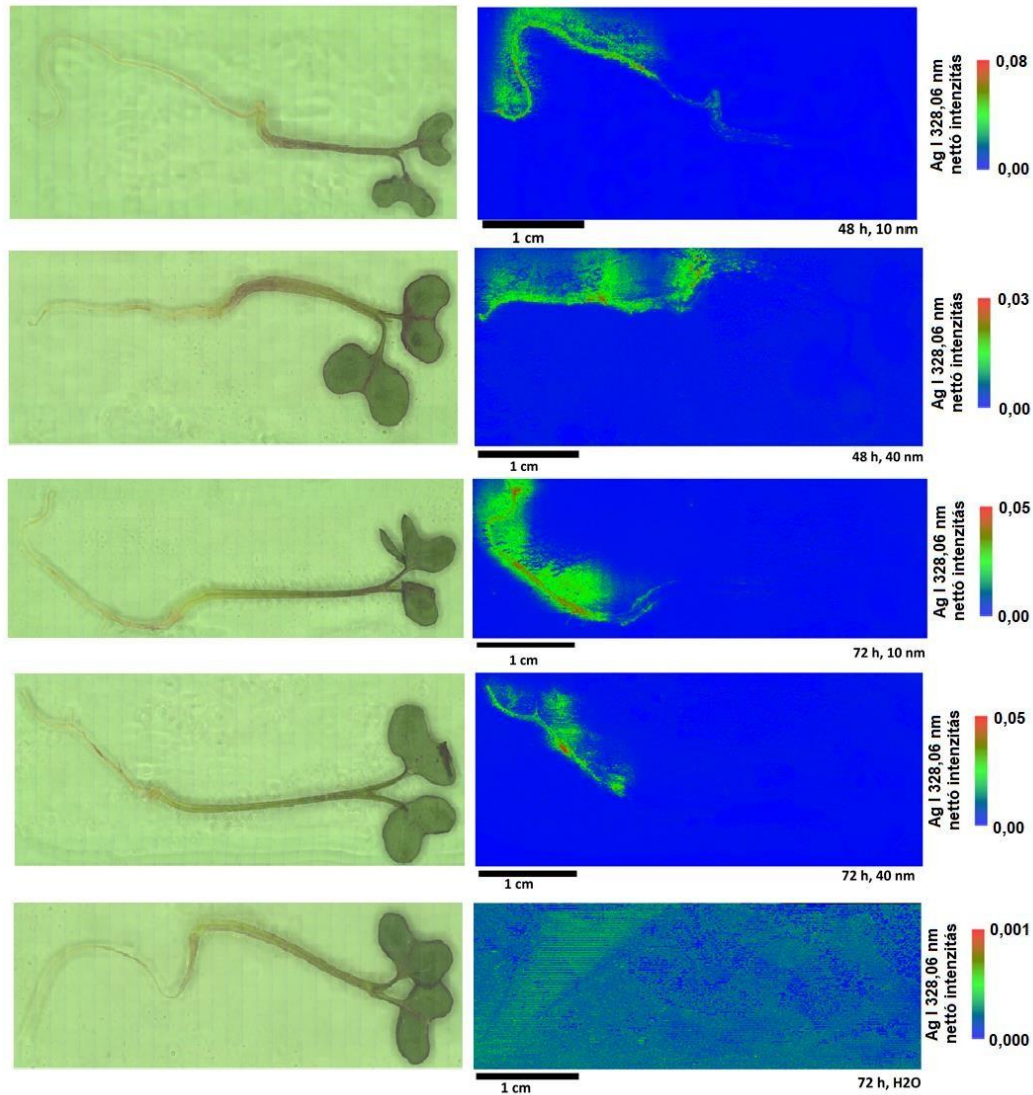
24. ábra: A LIBS intenzitás eloszlás térképek (balra) valamint a pontról pontra történő mátrixazonos kalibrálást követően generált kvantitatív elemeloszlás térképek (jobbra) Mg, K és Na elemekre.



A fehér- és szürkeállomány koncentráció térképein szereplő koncentrációtartomány meglehetősen jól egyezik a szakirodalmi értékekkel (pl. [180]). Megjegyzendő azonban, hogy a publikált nyomelemekkoncentráció adatokat általában száraz tömegre vetítve adják meg, míg a LIBS elem térképezést natívan nedves szöveten végeztük, így az összehasonlításhoz figyelembe kell venni a redukciós tényezőt. A fentiek alapján szeretném hangsúlyozni, hogy a LIBS intenzitástérképek mátrixazonos, pixelenkénti kalibrálása kulcsfontosságú, a pontos koncentráció eloszlás térképek kidolgozása végett, mivel ahogyan azt jelen példánk is jól mutatja, pusztán intenzitás eloszlások alapján téves diagnosztikai következtetések vonható le. Szeretném felhívni a figyelmet arra is, hogy a 24. ábrán látható LIBS intenzitástérképek „képminősége” (élesség, kontrasztossága) egyértelműen jobb, mint a LIBS koncentrációtérképeké. Ez utóbbiban néhány „hibásan beazonosított” pixel látható, különösen a fehér- és szürkeállomány határán. Ez a mátrixfelismerési folyamat 98%-os pontosságára vezethető vissza (néhány esetben a pontatlan beazonosítás az egyes pixeleket rossz csoportba sorolja be). Logikusan azonban ezek a kis hibák főként abban a zónában fordulnak elő, ahol a két szövettípus valóságosan keveredik egymással a lézer fókuszpontjában, amelyet egy pixel ábrázol a térképen.

#### ***4.2.6. Növények által felvett nyomelemek és nanorészecskék eloszlásának LIBS vizsgálata***

Kísérleteinkben vizsgáltuk a fehér mustár (*Sinapis alba*), Ag nanorészecske bioakkumulációs képességét és LIBS térképekkel monitoroztuk az Ag növényen belüli eloszlását. Két különböző méretű Ag nanorészecske (10 nm és 40 nm) mustárcsírák növekedésére gyakorolt hatását tanulmányoztuk, különböző expozíciós idők (48 és 72 óra) alkalmazásával. Ezek a nehézfém nanorészecskék természetes körülmények között nem keletkeznek, élő szervezetekben való jelenlétük kizárólag emberi tevékenységhez köthető, viselkedésük, hatásuk nem ismert, viszont a nanorészecskék egyre nagyobb mértékben történő előállítására miatt ezen kérdések tisztázása egyre sürgetőbb. Az alábbi 25. ábra az ezüst Ag I 328,062 nm hullámhosszán rögzített intenzitása alapján készült elemeloszlás térképeket mutatják be. A kontroll minta nem volt kitéve ezüst nanorészecskéknek.

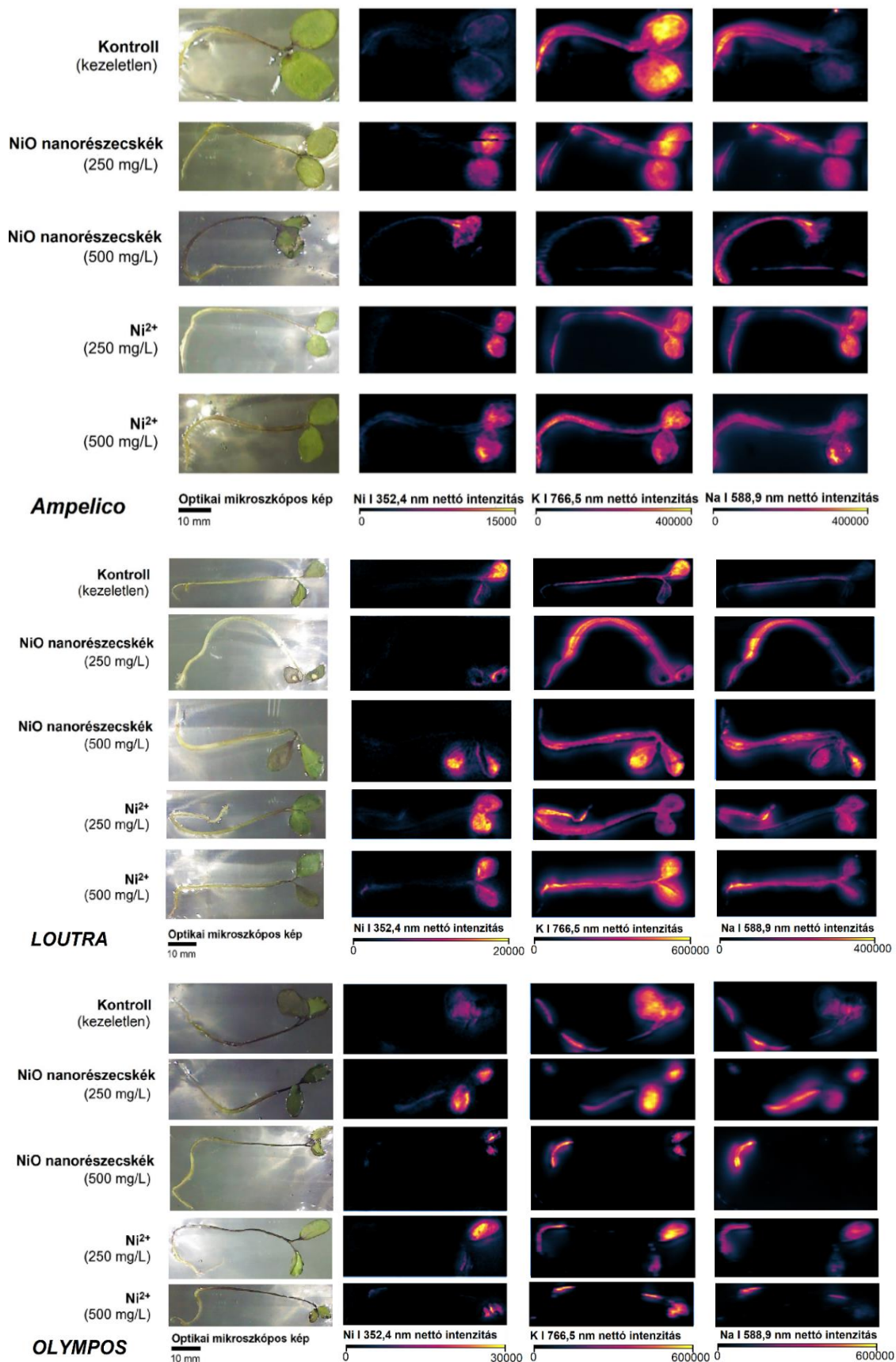


25. ábra: Az ezüst nanorészecskékkel kezelt és a kontroll fehér mustár minták LIBS elemeloszlás térképei.

A fent látható elemeloszlás térképek alapján megállapítható, hogy az alkalmazott Ag nanorészecske szuszpenzióból kellő mennyiség szívódott fel és épült be a növényekbe ahhoz, hogy az a LIBS rendszerünkkel kimutatható legyen. A térképeken a színskála kéktől pirosig terjed, ahol a kék szín jelöli az alacsony, a piros pedig a magas intenzitást. Az eredmények alapján kijelenthető, hogy a nanorészecske méretétől, illetve az expozíciós időtől függetlenül az Ag leginkább a növények gyökerében, valamint kis mértékben a szárában dúsul fel. Az Ag beépülésének mértéke a gyökér külső rétegeitől befelé haladva a gyökér középső vonala felé növekszik. Ez a jelenség legjobban a hosszabb, vagyis 72 óra Ag expozíciónak kitett növényeknél figyelhető meg. A kisebb, 10 nm méretű részecskék jobban szétszóródva, nagyobb területen, a szár felé haladva egyre nagyobb mértékű jelet produkáltak. A nagyobb, 40 nm méretű részecskék inkább egy csoportban összpontosulva,

a gyökérzet középső részében halmozódtak fel jelentősebb mértékben. Ez a mérethez köthető sajátosság megfigyelhető a 48 órás kezelést kapott minták térképei esetén is, azzal a különbséggel, hogy a kisebb expozíciós idő miatt kevesebb nanorészecske tudott felszívódni. Megállapítható továbbá, hogy a 10 nm méretű részecskék jobban be tudtak hatolni a növény szárába, mely jelenségnek magyarázata az, hogy a kisebb részecskék átférnek a membrán pórusain, így több sejthártyán képesek áthatolni [181]. Összességében kijelenthető, hogy a kisebb nanorészecskék jelentősebb mértékben képesek beépülni a növényekbe, továbbá a vártnak megfelelően a hosszabb expozíciós idő hatására nagyobb mennyiségben akkumulálódnak.

Biológiai minták LIBS elemterképezésével olyan növényfajokat is tanulmányoztunk, amelyek Ni hiperakkumuláló tulajdonsággal bírnak. Vizsgálatainkban két különböző koncentrációjú nikkelt tartalmazó nanorészecske szuszpenzióban, valamint nikkelt tartalmazó oldatban lettek nevelve a hiperakkumuláló növények. A kísérletek célja, hogy összehasonlíthassuk, van-e számottevő különbség az ionos, illetve a nanorészecske forma beépülése, eloszlása között, illetve ez miként befolyásolja a növény metabolizmusát. A következő 26. ábra a három ökotípus esetén mért kontroll, 250 mg/L és 500 mg/L nikkelt tartalmazó, valamint szintén a fent említett két koncentrációban nikkelt tartalmazó minta Ni LIBS elemeloszlás térképeit (Ni I 352,4 nm) mutatja be, kiegészítve a Na és a K elemek – 766,5 nm, illetve a 588,9 nm hullámhosszánál detektálható – integrált nettó intenzitásaival. A skálán a fekete az alacsony intenzitásnak, a sárga pedig a magasabb intenzitásoknak felel meg. Az eloszlástérképek a korábbi fejezetben leírt, hétrétegű ablációval gyűjtött akkumulált jelek alapján készültek.



26. ábra: A vizsgált terna ökotípusok (*Ampelico*, *Loutra*, *Olympos*) LIBS elemeloszlás térképei, Ni, K és Na elemekre, NiCl<sub>2</sub>, valamint NiO nanorészecske kezelést követően.

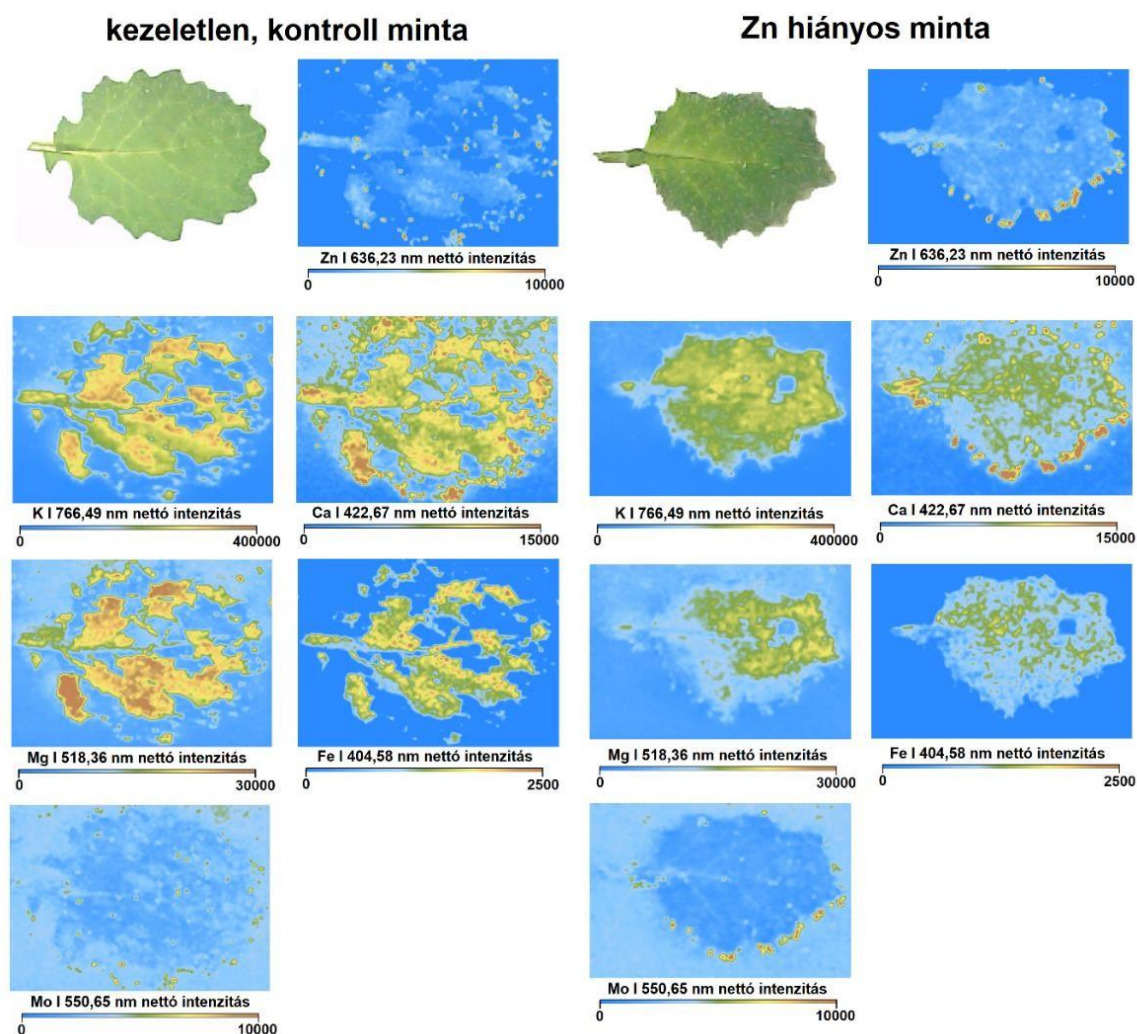
A korábbiakban láthattuk, hogy az Ag leginkább a növény gyökerében, illetve szárában dúsult fel, ellentétben a nikkellel, mely elem a ternye faj esetén a csíranövények levelében mutat jelentősebb mennyiségeket. Utóbbi tényre magyarázat lehet, hogy az Ag részecskékkel folytatott kísérletek során olyan növénnyel volt dolgunk, mely nem mutat hiperakkumuláló tulajdonságot Ag-re. Az *Ampelico* nikkellel hiperakkumuláló és ezekre a növényekre jellemző, hogy a felvett elemeket előszeretettel összpontosítják a leveleikben. A kísérleti eredmények alapján az is megállapítható, hogy az ionos Ni nagyobb mértékben volt képes beépülni a növénybe. A nanorészecskékkel kezelt növényeknél a Ni mennyisége szintén jelentős mértékű a levélben, illetve bizonyos esetekben a szárból is sikerült Ni jelet detektálni.

A fenti megállapításhoz hozzá tartozik, ha összehasonlítjuk a Ni intenzitás skálákat, akkor láthatjuk, hogy az *Ampelico* csoportba tartozó mintáknál a maximálisan detektált intenzitás Ni-re nézve nagyjából 15000-nek adódott, ezzel szemben az *Olympos* esetén ez az érték ennek a duplája, vagyis 30000. *Loutra* mintáknál a maximális Ni intenzitás nagyjából 20000 körülnek mutatkozik. Következtetésként elmondható, hogy a legnagyobb mértékben az *Olympos* ökotípusba tartozó növények képesek a Ni elraktározására, bioakkumulációjára és azt is leginkább az ionos formából származó Ni esetén teszik.

A K és a Na elemek eloszlástérképei információt nyújtanak arról, hogy a felvett Ni mennyiség, milyen mértékben és hogyan befolyásolja a fejlődéshez szükséges elemek, tápanyagok eloszlását, azok beépülését. Felmerülhet az az eshetőség, hogy a nikkellel való kezelés következtében a növény már nem képes további hasznos tápelemeket felvenni, a nagy dózisú Ni terhelés hatására a növény akkumuláló képessége telítődik és így a tápelemek nem tudnak beépülni, ami fejlődési zavarokat, visszamaradást eredményezhet. A térképekre tekintve látható, hogy ezen elemek sokkal homogénebb eloszlás eredményeket adnak, mint a Ni. A térképek mindegyikén, függetlenül a Ni kezelés formájától (ionos vagy nanorészecskés) és mértékétől, minden esetben kirajzolódik a növény gyökere szára és levele. Mivel a K és a Na igen fontos mellékkomponensek, nagyobb mennyiségben fordulnak elő a növényben, mint a Ni (az intenzitás skála maximum értékei 400000 és 600000 közé estek). A *Loutra* növény esetén megfigyelhető, hogy az ionos nikkellel kezelt növényeknél, ahol magasabb Ni mennyiségek kerültek detektálásra, vagyis a levélben, ott a Na és a K mennyisége kissé elmarad. A növények szárában a Ni jelenléte alig kimutatható, ezek a növényi szervek igen gazdagok Na és K

elemekben. Az ionos nikkell ezen hatása megfigyelhető a nikkell-kloriddal kezelt *Ampelico* minták esetén is.

LIBS méréseink során a cinkhiányos körülmények közt nevelt növényi minták térképezését is elvégeztük. Vizsgáltuk, hogy miként alakul a Zn és ezzel együtt további létfontosságú makro (Ca, K, Mg) és nyomelemek (Fe, Mo) mennyiségének változása a csökkentett, valamint a standard cinktartalmú táptalajokban nevelt növények esetén. Az elemeloszlás térképeket a 27. ábra mutatja be.

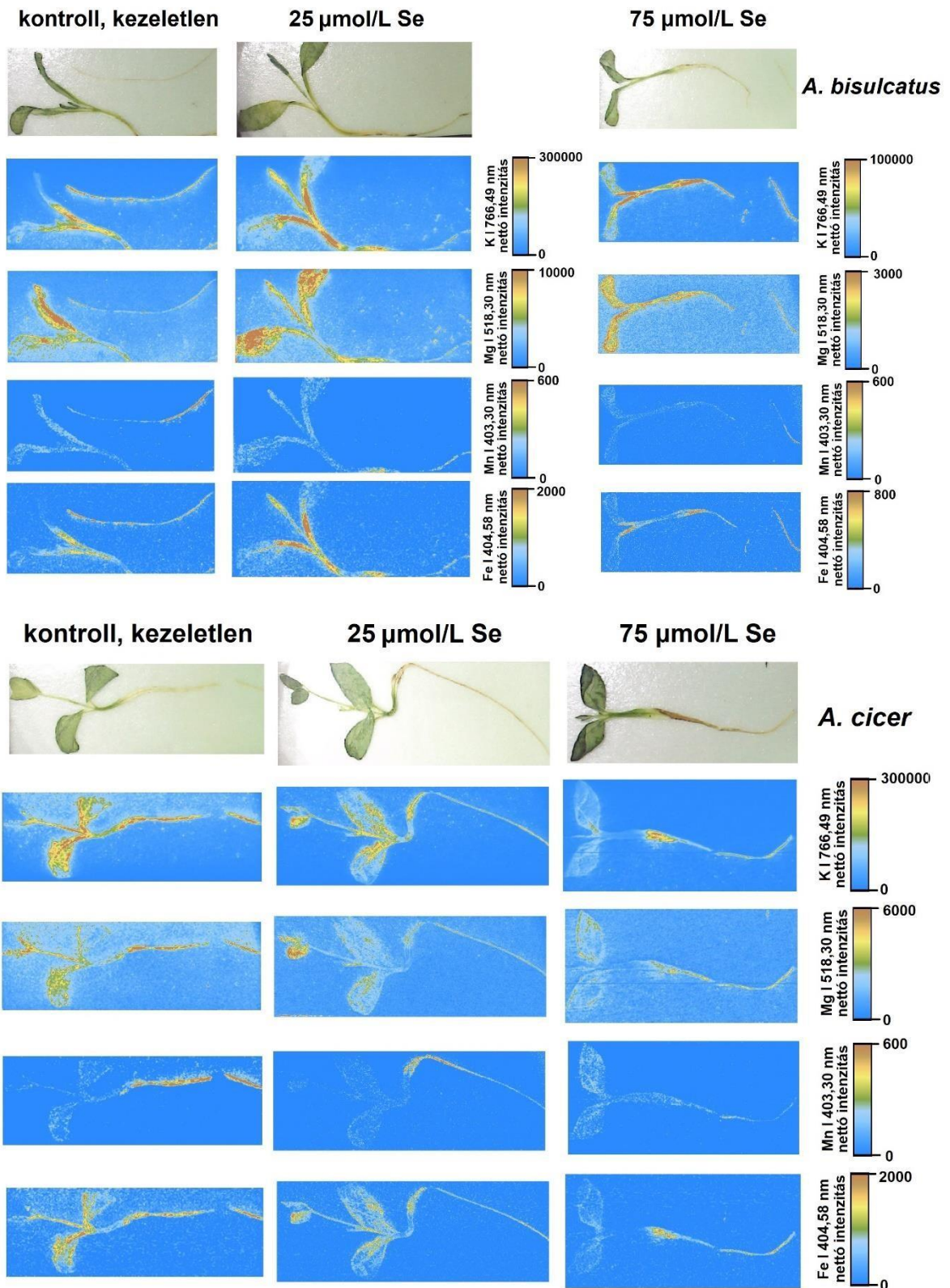


27. ábra: Az optimális fejlődési körülmények között növekedő, illetve a Zn hiányos állapotban nevelt repce minta optikai mikroszkópos képe, valamint LIBS elemeloszlás térképei, Zn, K, Ca, Mg, Fe és Mo elemek esetén.

Ezen kísérletek a repce (*Brassica napus*) növényen történtek. Az elemeloszlás térképeken jól látható, hogy a Zn leginkább a levél szélein összpontosul, mind a Zn hiányos, mind pedig a normál cinktartalmú táptalajban nevelt növények esetén. A minták által felvett Zn mennyiségében a két kezelésmód esetén jelentősebb különbség nem

mutatkozik, amiből arra következtethetünk, hogy a csökkentett Zn tartalmú táptalaj még mindig elegendő mennyiséget biztosított ahhoz, hogy a növény kifejlődhessen. Ugyanez a jelenség a Mo elemeloszlásában is megmutatkozik, mely elem szintén a levelek szélén koncentrálódik. A nyomelemek levelek szélén történő raktározásának módja ennél a növényfajnál gyakori. A makroelemek tekintetében azonban jelentősebb különbségek figyelhetők meg a cinkhiányos állapotban és a normál Zn tartalmú környezetben nevelt növények leveleinek elemeloszlásában. A K, Ca és Mg esetén látható, hogy a normál cinktartalmú minta nagyobb mennyiségeket volt képes beépíteni ezekből az elemekből. A csökkentett cinktartalmú mintáknál a makroelemek kisebb mennyiségben szívódtak fel, esetükben a Ca elemeloszlása hasonló mintázatot mutat, mint ami a Mo és a Zn esetén volt megfigyelhető. A Fe elemeloszlása hasonlóan alakul, viszonylag homogén módon és eléggé jelentős mennyiségben fordul elő a normál cinktartalmú mintában. Ezen elem a csökkentett cinktartalmú minta középső tájékán összpontosul, a levél szélei felé haladva alig mutatkozik meg.

Korábbi kutatások rávilágítottak arra, hogy a Se felesleg módosítja a növények makro- és mikroelem homeosztázisát [168], az emelkedett Se tartalom következtében a létfontosságú mikro és makro tápanyagok növényben való eloszlása megváltozhat, melyet az alábbi 28. ábrán bemutatott, különböző csüdfű (*Astragalus*) mintákon készített LIBS elemeloszlás térképek szemléltetnek.



28. ábra: A kontroll, illetve a Se kezelt *A. bisulcatus*, valamint *A. cicer* minták optikai mikroszkópos képei, illetve LIBS elemeloszlás térképei, K, Mg, Mn, és Fe esetén. Az egyes térképekhez tartozó intenzitás skálák jobbra találhatóak.



A LIBS mérések során monitoroztuk a Fe I 404,58 nm, a Mn I 403,30 nm, a Mg I 518,30 nm, valamint a K I 766,49 nm hullámhosszakon megjelenő csúcs intenzitásokat. Az *A. bisulcatus* esetében a magas szöveti Se tartalom ellenére nem tapasztaltunk szignifikáns változást a makroelemek (K és Mg) eloszlásában. A 75  $\mu\text{mol/L}$  Se kezeléssel átesett *A. bisulcatus* mintáknál is csak kismértékű csökkenést fedeztünk fel a Fe és a Mn mikroelemek esetében. Az enyhén érintett makro- és mikroelem tartalom alátámasztja az *A. bisulcatus* Se toleranciáját. Az *A. cicer* növényekről viszont ez már nem mondható el. A LIBS elemeloszlás térképek rávilágítanak arra, hogy a K, Mg, Mn és Fe mennyisége csökkent a megemelkedett Se koncentráció hatására. A Fe, K és Mg elemektől származó jelek leginkább a „hajtásban” (a hipokotilban és a sziklevelekben együtt), míg a Mn a gyökérben mutatkozott meg a kontroll és a 25  $\mu\text{mol/L}$  Se-nel kezelt *A. cicer* növényekben. A 75  $\mu\text{mol/L}$  Se-nel kezelt *A. cicer* növényeknél látszik, hogy a magas Se koncentrációval összefüggően a vizsgált nyomelemek eloszlása megváltozott, a Fe, K, Mg szintek jelentősen lecsökkentek a gyökérben, illetve a hajtás szárrészében. A Fe mennyisége az egész hajtásban nagymértékű csökkenést mutatott a magasabb Se koncentráció miatt.

A LIBS analízis eredményei azt mutatják, hogy a vizsgált makro- és mikroelemek eloszlása jelentősen megváltozott a Se kezelést követően, különösen az *A. cicer* palántákban. A kezelt növények tápanyag felvétele módosult. Egy korábbi tanulmányban megfigyelték, hogy a 100  $\mu\text{mol/L}$  valamint 200  $\mu\text{mol/L}$  szelenátot tartalmazó táptalajon nevelt 14 napos repce (*Brassica napus*) palántáknál mind a hajtás, mind a gyökér K és Mg tartalma csökkent, valamint a Mn és Fe homeosztázis is zavart szenvedett, ezek a korábbi megfigyelések összhangban vannak az általunk tapasztaltakkal [182]. A fent részletezett eredmények alapján megállapítható, hogy a LIBS elemterképezés értékes információt szolgáltat növénybiológiai kutatásokhoz.

#### **4.3. A LIBS módszer teljesítőképességének javítása nanorészecskékkel**

A LIBS módszer teljesítőképesség-növelő technikái között egy új és ígéretes módszer a nanorészecskék alkalmazása. Kísérleteink során célul tűztük ki különböző nanorészecske felviteli eljárások tesztelését és optimalizálását. Vizsgáltuk a felületerősített Raman spektroszkópiában (SERS) használt, fém nanorészecskékkel dekorált ITO (indium-tin-oxide) szubsztrátok módosított változatának [183] NELIBS célú alkalmazhatóságát folyadékminták analízisére. Teszteltük továbbá az olyan folyadék felviteli eljárások

kivitelezhetőségét is, mint a szórópisztollyal történő szórásos felvitel (spray coating), a mikropipettával való felcseppentés, illetve a folyadékba történő bemártás (dip coating).

Céljaink között szerepelt, hogy ezen nanorészecske felviteli eljárások lokális jelerősítő hatásának tesztelését követően a módszert tovább finomítva és optimalva átültessük az NELIBS elemeloszlás térképezési feladatok gyakorlatába is. Az itt felmerülő egyik analitikai kihívást az adta, hogy míg az NELIBS jelerősítés szempontjából előnyös, ha minél nagyobb ablációs foltmérettel dolgozunk, addig elemeloszlás térképezések alkalmával ez információvesztéshez vezethet. A felület nanorészecskékkel történő homogén borítottságának biztosítása szintén további kihívásokat rejteget.

#### 4.3.1. Felhasznált anyagok és módszerek

LIBS méréseink most is a korábban már bemutatott ASI J-200 tandem LA/LIBS készülékkel történtek, mely beállításai a jelen kísérleteknél a 10. táblázatban láthatók.

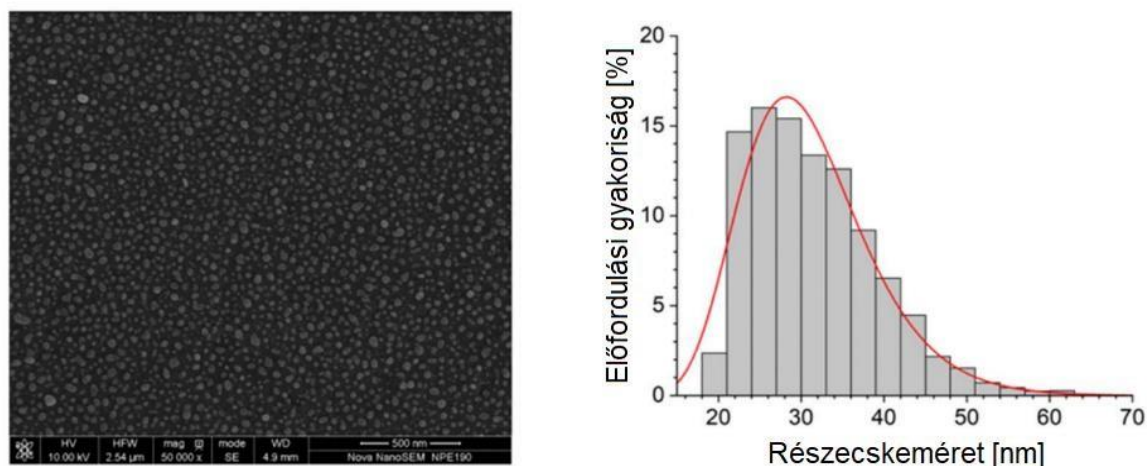
Mintatípus	NELIBS szubsztrátok	Mórági gránit
Lézer impulzus energia	2-8 mJ	~ 17,5 mJ
Lézer foltméret	150 $\mu\text{m}$	40 $\mu\text{m}$
Kapuzélesség	1,05 ms	1,05 ms
Spektrális adatgyűjtés késleltetési ideje	1,0 $\mu\text{s}$	0,5 $\mu\text{s}$
Mintatartó mozgatásának sebessége	1 mm/s	1 mm/s
Ismétlési frekvencia	10 Hz	10 Hz
Inert gázáram (Ar) áramlási sebessége	1 L/perc	1 L/perc

10. táblázat: Az alkalmazott LIBS mérési kondíciók.

A módosított SERS szubsztrátok nanorészecske rétegének megfigyelése, tulajdonságának tanulmányozása pásztázó elektronmikroszkópiás mérésekkel történt. Kísérleteinkben egy Hitachi S-4700 FE-SEM (Hitachi) készüléket használtunk, 10  $\mu\text{A}$  áramerősségű elektronnyalábbal, szekunder elektron üzemmódban mérve. A különböző nanorészecske depozíciós technikákkal felvitt részecskék felületi tömegkoncentrációjának meghatározása során ICP-MS méréseket is végeztünk, egy Agilent 7700x ICP-MS készüléket használva, királyvizes leoldást követően.

A spektrális vonalak azonosításhoz a LIBS műszer beépített szoftverét (Clarity) és a NIST ASD adatbázist használtuk. Az elemeloszlási térképek adatainak kezelése itt is az Epina ImageLab adatkiértékelő szoftverrel valósult meg. A nanorészecskék méretének és egymástól mért távolságának meghatározására az ImageJ szoftvert használtuk. A további általános számítások MS-Office Excel, valamint OriginPro 8.5 programban történtek.

Kísérleteinkben hat, különböző felületi nanorészecske borítottsággal bíró (2-67%) ITO üveg szubsztrátot alkalmaztunk. Az Ag nanorészecskék átmérőjét 10-80 nm között szabályoztuk. Ezekre a hordozókra a fent említett három eljárással vittük fel a nyomanalitikai tisztaságú sókból Zn, Mn és Cr (Merck) 100 µg/mL koncentrációban készült oldatokat. Az NELIBS térképezési kísérletek a korábbiakban a geológiai mintákat tárgyaló fejezetben már bemutatott M1 jelzésű mórági gránit mintán történtek.



29. ábra: A 30 nm nagyságú Ag nanorészecskékkel bevont SERS szubsztrát pásztázó elektronmikroszkópos képe és a mérettartományt bemutató hisztogram.

A szórópisztolyos folyadékfelvitelt DU-30 K eszközzel végeztük el, 200 µm nagyságú szórófejjel, 3 bar Ar gáznyomás mellett. A felületre történő anyagfelvitel öt ismételt lépésben történt, egy felviteli lépés öt másodperc folyamatos anyagfelvitelből és azt követően egy egyperces infravörös lámpa alatti szárításból állt. A reprodukálható mintaelőkészítés érdekében egy állványon fixen rögzített és a mintától 25 cm távolságban elhelyezett szórópisztolyt használtunk, így a teljes minta egyenletesen lett befedve a folyadékkal. A mikropipettás anyagfelvitel során a mintaoldatot egy 1-10 µL térfogattartományon belül állítható pipettával végeztük (Biohit Proline Plus). Minden műveletet egy lamináris áramlású (Alpine K700) pormentes fülke alatt hajtottunk végre. A folyadék minták felületre történő rászárítása itt is infravörös lámpával történt. Az elemterképezési feladatok kivitelezésekor a mórági minta NELIBS mérése során 40 nm

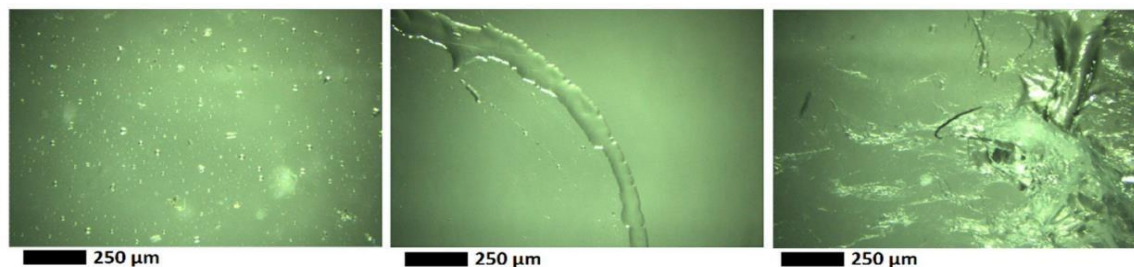
átmérőjű ezüst nanorészecske szuszpenziót (PELCO NanoXact) használtunk, amelyet a Ted Pella (USA) cégtől szereztük be.

#### 4.3.2. Folyadékminták kvantitatív mérése

Folyadékminták NELIBS analitikai mérésre való előkészítése során a mintát egy előre elkészített (fém nanorészecskékkel borított) szubsztrátra homogén eloszlásban vittük. Ebben az elrendezésben a folyadékminta oldottanyagtartalma a részecskék tetejére szárad rá, hasonlóan a Raman spektroszkópiás mérésekhez. Mivel hasonló (de az eltérő mechanizmus miatt nem teljesen azonos) követelmények vonatkoznak az optimális jelnövelő hatás elérésére a SERS és az NELIBS technikák esetében, ezért kutatócsoportunkban részletes kísérleteket folytattunk annak felderítésére, hogy kell-e, és ha igen, akkor miként szükséges módosítani a szubsztrátokat ahhoz, hogy azok NELIBS mérésekre is alkalmasak legyenek. Ezen kísérletek, amelyek Palásti Dávid kollégám értekezésében kerültek részletes ismertetésre [169], felderítették, hogy kb. 70 nm nagyságú Ag nanorészecskék 66%-os borítottság mellett (a szoros monoréteghez képest) kapjuk a legnagyobb LIBS jelnövekményt (kb. háromszorost), így analitikai kísérleteim során ezeket a kondíciókat alkalmaztam.

Fény- és elektronmikroszkópos megfigyelésekkel vizsgáltuk, hogy adott fókuszfolt mellett milyen energiájú lézerimpulzusokkal érhető el a nanorészecskék teljes ablációja. A kísérletek eredményeként arra jutottunk, hogy az optimális eredmény 150  $\mu\text{m}$  foltméret és 8 mJ impulzusenergia alkalmazása mellett érhető el.

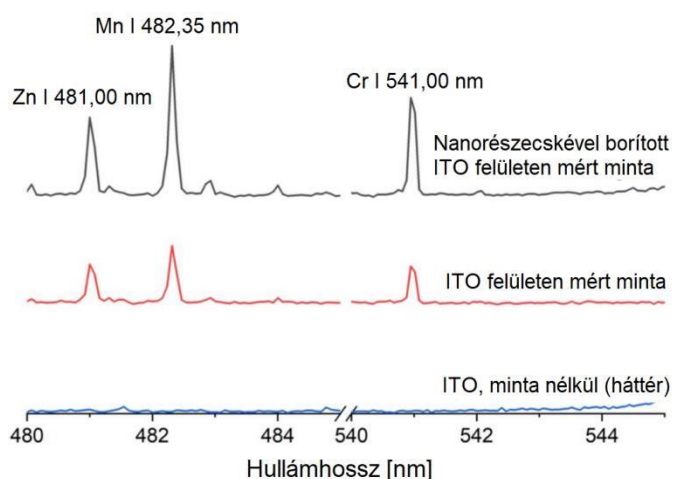
A folyadék mintafelvétel során fontos, hogy annak anyaga minél jobban rászáradjon a hordozóra, valamint a lehető leghomogénebb mintázatot mutassa. Különböző folyadék depozíciós (felcseppentős, szórásos és bemártásos) technikákat vizsgálva, az alábbi következtetésekre jutottunk.



30. ábra: Az egyes folyadék felvételi technikák után visszamaradt anyaglerakódások optikai mikroszkópos képe (balra a szórásos, középen a felcseppentős, jobbra pedig a minta bemártásos technika eredménye látható).

A szórásos folyadékfelvitel esetén viszonylag homogén eloszlású, nagyjából 10-30  $\mu\text{m}$  nagyságú kristályok maradtak vissza száradást követően a mintafelületen. A 30. ábra középső képén látható, hogy az 1  $\mu\text{L}$  térfogatú felcseppentést követően egy pár mm átmérőjű folt maradt vissza, ahol a csepp eredeti körvonala összefüggő kristályhalmazként mutatkozik meg, míg a csepp belső része nem tartalmazott jelentősebb mértékben maradványokat (a száradás során a csepp széle felé húzódott ki az oldott anyag). A jobb szélén látható kép a folyadékba történő mintabemártás eredményeképpen kapott eloszlást mutatja. Láthatjuk, hogy kisebb-nagyobb csoportosulásokban kristályosodott ki a felvitt anyagmennyiség, szintén inhomogén eloszlást eredményezve. Ezen megfigyelések tehát arra utaltak, hogy szórásos megoldás adja a leginkább homogén lerakódásokat.

Kalibrációs görbéket vettünk fel Cr, Zn és Mn elemekre, a Zn I 481,00 nm, a Mn I 485,35 nm, valamint a Cr I 541,00 nm hullámhosszakon való detektálással. Minden mintánál öt egymástól távolabb eső lokációból gyűjtöttük a spektrumokat, hogy elkerüljük az ablációs kráterek átlapolódását. A spektrumokat a tiszta, Ag nanorészecskét nem tartalmazó ITO felületről, valamint a minta nélküli nanorészecskékkel kezelt felületről is felvettük. A spektrumok összehasonlítását a 31. ábra mutatja be, míg az 32. ábrán a kalibrációs görbék láthatók.

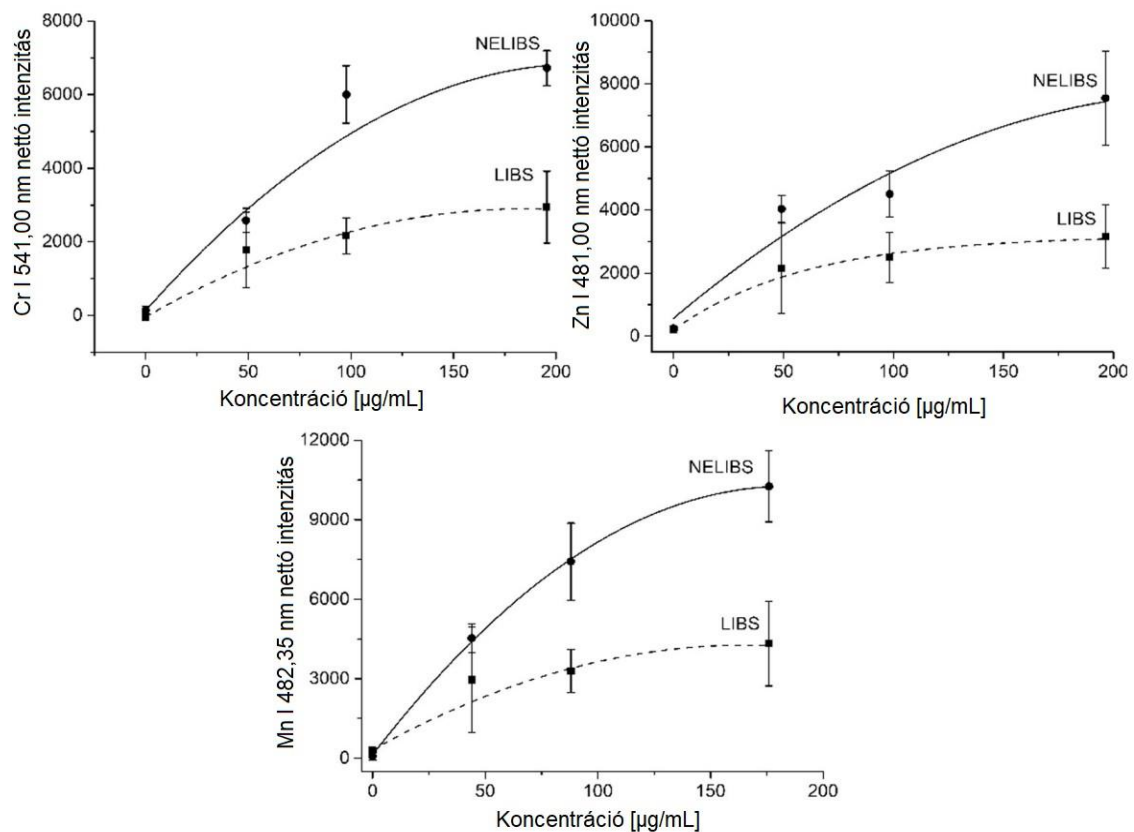


31. ábra: A különböző felületekről rögzített LIBS spektrumok.

A spektrumok összehasonlítása azt mutatta, hogy a nanorészecskékkel kezelt hordozón jelenlévő ezüst mennyisége olyan kicsi, hogy előnyösen nem produkál érdemi háttérjelet. A spektrumok az NELIBS jelnövekményt is jól illusztrálják minden vizsgált elemre vonatkozóan. Az elért jelnövekedése mértéke még jobban megítélhető a kalibrációs

görbékből: a nettó jel 2,5-3-szorosára nőtt a vizsgált elemek mindegyikére az NELIBS mérések esetén a nanorészecskék nélkül mért LIBS esetekhez képest. Ezzel párhuzamosan a jel relatív szórása sem nőtt jelentősen, az a kis ismétlés mellett felvett SP-LIBS jelekre jellemző 5-10% érték körül alakult. Ez azt eredményezi, hogy nem csak a jel/zaj arány javul, hanem a kimutatási határok is csökkennek. A javított kimutatási határok 4,0; 2,7; valamint 6,6  $\mu\text{g/mL}$  értékűnek adódtak a Mn, a Zn és a Cr esetén.

A kalibráló görbék telítésbe hajlanak mind a LIBS, mind az NELIBS mérések esetében. A tapasztaltakhoz mindkét technikánál többek közt az önabszorpció is hozzájárulhat, azonban érdemes arra is rámutatni, hogy folyadékminták NELIBS mérésénél egy további komplikáló körülmény is fellép. A mintatartóra rászárított minta ugyanis a növekvő anyagmennyiséggel egyre vastagabb rétegben fogja befedni a nanorészecskéket, ami gátolja az elektronok kilépését és így csökkenti a plazmonikus, illetve téremissziós effektusok hatását. Ehhez a gátló hatáshoz kisebb mértékben az analit, de inkább a mátrix járul hozzá. Mindazonáltal a fenti eredmények azt mutatják, hogy megfelelő mintaelőkészítési megoldásokat alkalmazva, nem túl tömény mátrix mellett, az NELIBS technika valóban előnyösen használható folyadékminták kvantitatív analizésére.

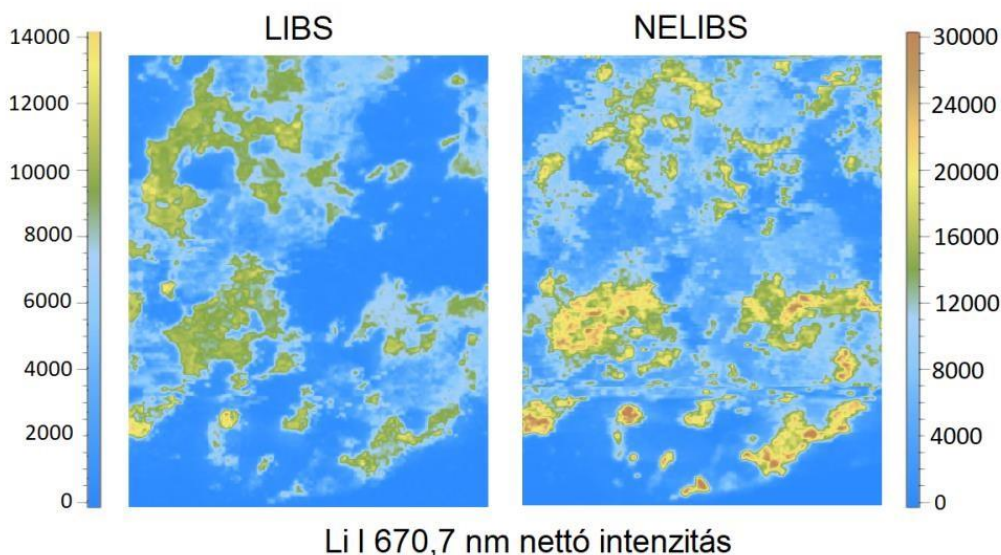


32. ábra: A Cr, a Zn valamint a Mn kalibrációs görbéinek alakulása LIBS és NELIBS mérések során. A szórások az öt párhuzamos mérés alapján lettek számolva.

### 4.3.3. Elemeloszlás térképek javítása

A folyadék minták NELIBS mérése kapcsán szerzett tapasztalatok alapján arra következtettünk, hogy a szórópisztollyal való nanorészecske szuszpenzió felvitel alkalmas mintaelőkészítési lépés elemeloszlás térképek NELIBS mérése során is. Az NELIBS technika elemeloszlás térképezési feladatok kivitelezésében történő alkalmazhatóságát tovább nehezítheti, hogy a térképezés során a nanorészecskék az ablációval érintett foltok közelében elmozdulhatnak, rontva a réteg homogenitását, ami a térkép kismértékű torzulását okozhatja.

A korábbi előkísérletek és az irodalmi adatok alapján képesek voltunk kialakítani és alkalmazni olyan felhordási körülményeket, ami lehetővé tette a megfelelő depozíciót. A felvitt nanorészecske réteg minél nagyobb homogenitásának elősegítése érdekében öt egymást követő szórási folyamattal hoztuk létre a szükséges felületi koncentrációt, majd a mintát IR lámpával szárítottuk meg. Az NELIBS térképezési feladatok során a geológiai minták vizsgálatakor már bemutatott mórági gránit (M1) mintát vizsgáltuk. A következő 33. ábrán összehasonlítóképpen egymás mellett láthatók a minta LIBS, illetve NELIBS technikákkal felvett Li elemeloszlás térképei. Először a LIBS térkép készült el, majd a mintafelszínre felvittük a nanorészecskéket, és ezt követően ugyanarról a területről az NELIBS térképeket vettük fel.



33. ábra: Az M1 jelzésű mórági gránit minta Li elemeloszlási térképei, balra a LIBS mérési eredményekből, jobbra pedig az NELIBS intenzitásértékekből ábrázolva.

A fent bemutatott elemeloszlás térképeket összevetve látható, hogy a jelerősítés mértéke a korábbiakban a SERS minták mérése során tapasztaltakkal összevethető,

valamivel jobb, mint kétszeres mértékű. Noha a mérés mikrodestruktív jellegéből és a kőzetminták szemcsézettsége miatti mélységi változékonyságból adódóan a mintázatokat nem lehet tökéletesen összehasonlítani, de az NELIBS térképek finomabban struktúrálnak, részletesebbnek is tűnnek. Mindezek biztató előzetes eredmények, amelyek azt jelzik, hogy valóban realiztikus lehet NELIBS megközelítéssel az elemeloszlás térképek minőségén is javítani.



## 5. ÖSSZEFOGLALÁS

Doktori kutatásaim során a lézer ablációs spektroszkópiás módszerek (LIBS és LA-ICP-MS) alkalmazhatóságát, analitikai teljesítőképességének növelését vizsgáltam, fejlesztettem változatos, interdiszciplináris (főként geológiai és biológiai) mintatípusok felhasználásával. Kísérleteimben nagy figyelmet fordítottam ezen minták mérésekor felmerülő analitikai kihívásokra, illetve az ezek kezelésére alkalmas megoldások kifejlesztésére. Foglalkoztam a nagy adathalmazok elemzésekor használt kemometriai eljárások alkalmazhatóságának vizsgálatával is.

A kutatás mindhárom fő irányában sikerült új tudományos eredményeket elérnem. Geológiai eredetű minták vizsgálatával kapcsolatosan sikeresen demonstráltam, hogy az LA-ICP-MS, valamint LIBS technikák segítségével értékes elem-, illetve izotóp összetétel eredmények nyerhetők, gyorsan, minimális mintaelőkészítést követően. Az elemeloszlás térképek segítségével lehetséges azonosítani az előforduló ásványszemcsék helyét és típusát. Gránitos kőzetminták ásványszemcséi (pl. földpát, biotit, kvarc, amfibol, cirkon) nagy megbízhatósággal (92%+) és nagy laterális térbeli pontossággal (akár 5  $\mu\text{m}$ ) voltak azonosíthatók és lokalizálhatók. Megmutattam, hogy elemtérképezési, képalkotási és lokális kvantitatív mérési adatok kombinálásával meg lehet azt is becsülni, hogy egyes elemek vagy izotópok milyen mennyiségben fordulnak elő az adott ásványszemcsében. Az adatok alapján prediktív jelleggel következtetést vonhatunk le az esetleges későbbi kitermelés gazdaságosságát illetően. Részletesen vizsgáltam a lézer ablációs kísérleti paraméterek, valamint a minta tulajdonságainak hatását az analitikai adatok minőségére. Többféle kemometriai megközelítés (pl. indikátor spektrumvonalas, véletlen erdő és lineáris diszkriminancia analízis) teljesítőképességét tanulmányoztam a geokémiai célú kvalitatív diszkriminációs vizsgálatok esetén. Kísérleteimben cirkon szemcséket tartalmazó kőzetminta vizsgálatával lehetőségem nyílt geokronológiai mérések végrehajtására is. Az LA-ICP-MS technikával végzett méréseken alapuló Pb/U izotóparányos geokronológiai kormeghatározásaink kellő pontosságúnak bizonyultak, azok eredményei a korábbi Rb/Sr arányokon alapuló eredményekkel összhangban vannak.

Egy másik kutatási irány a biológiai minták (állati és növényi szövetek, organizmusok) lokális és térképező elvű kvantitatív, valamint kvalitatív analízisével volt kapcsolatos. Ezen a területen elért LIBS bázisú eredményeim demonstrálták, hogy a kvalitatív diszkrimináció hatékony megvalósítható fejlett kemometriai eljárások segítségével. Biológiai minták (zooplanktonok és sertés szövetek) LIBS spektrumain

alapuló osztályozása a Raman spektroszkópia eredményeivel összehasonlítva és abszolút értelemben is nagyon jó pontosságot (96%+) eredményezett. A legtöbb esetben a lineáris diszkriminancia analízis (LDA) és főkomponens analízis (PCA) adatkiértékelési technikák használata bizonyult a legeredményesebbnek. Részletesen tanulmányoztam az állati szövetminták LIBS térképezési alkalmazásokhoz megfelelő mintaelőkészítési és lézer ablációs körülményeket, valamint a mintatípusok által kifejtett mátrixhatásokat is. A kvantitatív elemeloszlási alkalmazások céljára sikerült olyan, jól automatizálható eljárásokat is kidolgozni, ami a LIBS spektrumok alapján a szövettípus felismerését lehetővé teszi, így az intenzitás eloszláson alapuló LIBS elemtérkép adatok pontos kvantitatív koncentráció adatokká konvertálhatók mátrixazonos kalibráció alkalmazásával. A kifejlesztett LIBS térképezési módszerrel sikeresen vettem fel többféle repce, ternye, csüdfű és mustár növényfaj egyedeinek elemeloszlás térképeit, amelyek hasznosnak bizonyultak növénybiológiai vizsgálatok számára. Ni, Se és Zn nyomelemek, valamint Ag és Ni nanorészecskék felszívódását tanulmányoztam és megmutattam, hogy az ezen folyamat során előálló változások követésére a LIBS elemtérképek igazán alkalmasak.

Kutatásaim harmadik fő területe a LIBS spektroszkópia nanorészecskék segítségével történő teljesítőképesség-növelés vizsgálata volt. Ezen kísérleteim rámutattak, hogy optimált kialakítású, nanorészecskékkel dekorált szubsztrát és mintafelviteli eljárás segítségével folyadékminták NELIBS analízise is sikeresen megvalósítható. Különböző nanorészecske és folyadékminta felviteli technikákat teszteltem, és megállapítottam, hogy elektrokémiai előállított ezüst nanorészecskékkel dekorált ittrium-ón-oxid (ITO) üveg szubsztrátok és szórással (spray-coating) történő folyadékminta felvitellel érhető el legjobb érzékenységgű mérések. A szakirodalomban korábban felvetődött kételyeket eloszlatva demonstráltam, hogy a LIBS mérések ismételhősége nem romlik az NELIBS megközelítés alkalmazásával kivitelezett mérések során, így a jelnövelés a kimutatási határokon is számottevő, mintegy háromszoros javulást eredményez. Sikeresen demonstráltam azt is, hogy az eddig leginkább csak lokális mérésekre használt NELIBS technika a szórással nanorészecske szuszpenzió felviteli eljárással akár elemeloszlás térképek konzisztens érzékenyítését is lehetővé teszi.

## 6. SUMMARY

My doctoral research topic was to investigate the applicability of laser ablation spectroscopy methods (LIBS and LA-ICP-MS) and develop their analytical performance, using various, interdisciplinary (mainly geological and biological) sample types. My experiments were focused on those analytical challenges and the development of the solution of them that arise when measuring these samples. I also investigated the applicability of chemometric procedures used in the analysis of large data sets.

One of the three main directions of the research was related to the examination of geological samples. I successfully demonstrated that, valuable and reliable element and isotope composition results can be obtained in a time efficient way, after minimal sample preparation by LA-ICP-MS and LIBS measurements. With the help of element distribution maps, it is possible to identify the location and type of mineral grains. Mineral grains of granitic rock samples (e.g. feldspar, biotite, quartz, amphibole, zircon) could be identified and localized with high reliability (92%+) and high lateral spatial accuracy (up to 5  $\mu\text{m}$ ). I showed that by combining element maps and results of localized quantitative measurement, it is possible to estimate the quantity of certain elements or isotopes in the given mineral grain, thus we can make a predictive conclusion regarding to the possibility of economically efficient extraction. I investigated the effect of the laser ablation experimental parameters and the sample properties on the quality of the analytical data in detail. I also studied the performance of several type of chemometric approaches (e.g. indicator spectrum line, classification tree, random forest and linear discrimination analysis) in the case of qualitative discrimination tests for geochemical purposes. In my experiments, by examining rock samples containing zircon grains, I also had the opportunity to perform geochronological measurements. Our LA-ICP-MS based Pb/U geochronological age determinations proved to be sufficiently accurate, their results were consistent with previous results based on Rb/Sr ratios.

Another research direction was related to the quantitative and qualitative analysis of biological samples (animal and plant tissues, organisms). My LIBS-based results achieved in this area demonstrated that qualitative discrimination can be effectively achieved using advanced chemometric techniques. The classification of biological samples (zooplankton and pig tissues) based on their LIBS spectra, resulted in a very good accuracy (96%+) both in comparison and in absolute terms with Raman spectroscopy. In most cases, the use of linear discriminant analysis (LDA) and principal component analysis (PCA) data

evaluation techniques proved to be the most effective. I studied the appropriate sample preparation and laser ablation conditions for LIBS spatial imaging applications of animal tissue samples, as well as the matrix effects exerted by the sample types. For the purpose of quantitative element distribution applications, we developed a well-automated procedure that enable recognition of the tissue type based on their LIBS spectra. Thus, the LIBS intensity distribution maps can be converted into accurate quantitative concentration maps by pixel by pixel matrix-identical calibration. Using the developed LIBS mapping method, I successfully recorded the element distribution maps of several species of rapeseed, horseradish, Mongolian milkvetch and mustard plant species, which proved to be useful for plant biological studies. The results contributed to the study of the absorption of Se, Ni and Zn trace elements (in their ionic form) as well as Ag and Ni nanoparticles and their effect to the plant physiology of the plants. I showed that LIBS element maps are suitable to follow the changes that occur during this process.

The third main area of my research dealt with the investigation of potential performance development of LIBS spectroscopy with the help of nanoparticles. These experiments showed that the NELIBS analysis of liquid samples can be successfully implemented with the help of an optimized substrate, decorated with nanoparticles and a suitable sample preparation procedure. I tested different nanoparticle and liquid sample deposition techniques. The most sensitive measurements were achieved, on yttrium-tin-oxide (ITO) glass substrates, decorated with electrochemically produced silver nanoparticles, and liquid sample application by spray-coating. Dispelling the doubts previously raised in the literature, I demonstrated that the repeatability of LIBS measurements does not deteriorate during measurements using the NELIBS approach. In the detection limits a considerable, approximately threefold, signal enhancement can be achieved. I also successfully demonstrated that the NELIBS technique, which until now mostly has been used for localized measurements only, enables the consistent sensitivity improvement of element distribution maps too, using the spray-coating nanoparticle suspension application process.

My research has not only brought new scientific results in the field of analytical laser spectroscopy, but it can also provide alternative, useful approaches for important practical applications. My results are expected to be applicable in several areas of biology, geochemistry, environmental protection or medical diagnostics, as well as in the industry.

## 7. IRODALOMJEGYZÉK

- [1] E.F. Runge, R.W. Minck, F.R. Bryan, Spectrochemical analysis using a pulsed laser source, *Spectrochim. Acta*, 20 (1964) 733
- [2] F. Brech, L. Cross, Optical microemission stimulated by a ruby maser, *Appl. Spectrosc.*, 16 (1962) 59
- [3] T.R. Loree, L.J. Radziemski, Laser-induced breakdown spectroscopy: Time-integrated applications, *Plasma Chem. Plasma Process*, 1 (1981) 271
- [4] L. Moenke-Blankenburg, Laser Micro Analysis, *John Wiley and Sons* (1989) New York
- [5] S. Musazzi, U. Perini, Laser-induced breakdown spectroscopy: Theory and applications, series in optical sciences, *Springer* (2014) Berlin
- [6] F. Anabitarte, A. Cobo, J. M. Lopez-Higuera, Laser-induced breakdown spectroscopy: Fundamentals, applications, and challenges, *Int. Sch. Res. Notices*, 2012 (2012) 1
- [7] J.M. Vadillo, J.J. Laserna, Laser-induced plasma spectrometry: Truly a surface analytical tool, *Spectrochim. Acta B*, 59 (2004) 147
- [8] B.N. Chichkov, C. Momma, S. Nolte, F. von Alvensleben, A. Tunnermann, Femtosecond, picosecond and nanosecond laser ablation of solids, *Appl. Phys. A*, 63 (1996) 109
- [9] J.M. Vadillo, J.M. Fernández Romero, C. Rodriguez, J.J. Laserna, Effect of plasma shielding on laser ablation rate of pure metals at reduced pressure, *Surf. Interface Anal.*, 27 (1999) 1009
- [10] C. Pasquini, J. Cortez, L.M.C. Silva, F.B. Gonzaga, Laser-induced breakdown spectroscopy, *J. Braz. Chem. Soc.*, 18 (2007) 463
- [11] X. Mao, R.E. Russo, Observation of plasma shielding by measuring transmitted and reflected laser pulse temporal profiles, *Appl. Phys. A*, 64 (1997) 1
- [12] G. Galbács, Laser-induced breakdown spectroscopy: Biological, forensic and materials sciences, *Springer* (2022) Berlin
- [13] A.W. Miziolek, V. Palleschi, I. Schechter, Laser-induced breakdown spectroscopy: Fundamentals and applications, *Cambridge University press* (2006) Cambridge
- [14] K. Song, Y-I. Lee, J. Sneddon, Applications of laser-induced breakdown spectrometry, *Appl. Spectrosc. Rev.*, 32 (1997) 183
- [15] W. Sdorra, K. Niemax, Basic investigations for laser microanalysis: III. Application of different buffer gases for laser-produced sample plumes, *Microchim. Acta*, 107 (1992) 319
- [16] Z.A. Arp, D.A. Cremers, R.D. Harris, D.M. Oschwald, G.R. Parker, D.M. Wayne, Feasibility of generating a useful laser-induced breakdown spectroscopy plasma on rocks at high pressure: preliminary study for a Venus mission, *Spectrochim. Acta B*, 59 (2004) 987
- [17] G. Galbács, Az elemanalitika korszerű módszerei: Lézeres elemanalitikai módszerek, *Akadémiai kiadó* (2006) Budapest
- [18] L. Jolivet, M. Leprince, S. Moncayo, L. Sorbier, C.P. Lienemann, V. Motto-Ros, Review of the recent advances and applications of LIBS-based imaging, *Spectrochim. Acta B*, 151 (2018) 41
- [19] A.J. Effenberger, J.R. Scott, Effect of atmospheric conditions on LIBS spectra, *Sensors*, 10 (2010) 4907

- [20] C.C. García, M. Corral, J.M. Vadillo, J.J. Laserna, Angle-resolved laser-induced breakdown spectrometry for depth profiling of coated materials, *Appl. Spectrosc.*, 54 (2000) 1027
- [21] A.I. Whitehouse, Laser-induced breakdown spectroscopy and its application to the remote galvanized action of hazardous materials, *Spectrosc. Eur.*, 18 (2006) 14
- [22] J.P. Singh, S.N. Thakur, Laser-induced breakdown spectroscopy, *Elsevier* (2007) Amsterdam
- [23] N. Jedlinszki, Többimpulzusos lézer indukált plazmák jellemzése és atomspektroszkópiái alkalmazása, SZTE TTIK, *Ph.D. értekezés* (2011) Szeged
- [24] R. Noll, Laser-induced breakdown spectroscopy: Fundamentals and applications, *Springer* (2012) Berlin
- [25] S.N. Thakur, J.P. Singh, Laser-induced breakdown spectroscopy: Fundamentals of LIBS and recent developments, *Elsevier* (2020) Amsterdam
- [26] J.A. Aguilera, J. Bengoechea, C. Aragón, Spatial characterization of laser induced plasmas obtained in air and argon with different laser focusing distances, *Spectrochim. Acta B*, 59 (2004) 461
- [27] A. Metzinger, Analitikai módszerek fejlesztése folyadék és szilárd minták LIBS vizsgálatára, SZTE TTIK, *Ph.D. értekezés* (2016) Szeged
- [28] C. Chaléard, P. Mauchien, N. Andre, J. Übbing, J.L. Lacour, C.J. Geertsen, Correction of matrix effects in quantitative elemental analysis, *J. Anal. At. Spectrom.*, 12 (1997) 183
- [29] P. Fichet, P. Mauchien, J.F. Wagner, C. Moulin, Quantitative elemental determination in water and oil by laser induced breakdown spectroscopy, *Anal. Chim. Acta*, 429 (2001) 269
- [30] G. Galbács, V. Budavári, Zs. Geretovszky, Multi-pulse laser-induced plasma spectroscopy using a single laser source and a compact spectrometer, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2 (2005) 974
- [31] A.K. Rai, H.S. Zhang, F.Y. Yueh, J.P. Singh, A. Weisburg, Parametric study of a fiber-optic laser-induced breakdown spectroscopy probe for analysis of aluminum alloys, *Spectrochim. Acta B*, 56 (2001) 2371
- [32] Z. Haider, Y. Munajat, R. Raja Ibrahim, Review: Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) a promising technique, its limitations and a proposed method, *J. Teknol.*, 57 (2012) 45
- [33] D.A. Rusak, B.C. Castle, B.W. Smith, J.D. Winefordner, Fundamentals and applications of laser-induced breakdown spectroscopy, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 27 (1997) 257
- [34] J.B. Ko, W. Sdorra, K. Niemax, On the internal standardization in optical emission spectrometry of microplasmas produced by laser ablation of solid samples, *Fresenius J Anal Chem.*, 355 (1989) 648
- [35] A.S. Eppler, D.A. Cremers, D.D. Hickmott, M.J. Ferris, A.C. Koskelo, Matrix effects in the detection of Pb and Ba in soils using laser-induced breakdown spectroscopy, *Appl. Spectrosc.*, 50 (1996) 1175
- [36] D.M. Silvestre, F.M. Barbosa, B.T. Aguiar, F.O. Leme, C.S. Nomura, Feasibility study of calibration strategy for direct quantitative measurement of K and Mg in plant material by laser-induced breakdown spectrometry, *Anal. Chem. Res.*, 5 (2015) 28
- [37] A. Ciucci, M. Corsi, V. Palleschi, S. Rastelli, A. Salvetti, E. Tognoni, New procedure for quantitative elemental analysis by laser-induced plasma spectroscopy, *Appl. Spectrosc.*, 53 (1999) 960

- [38] G. Galbács, I.B. Gornushkin, B.W. Smith, J.D. Winefordner, Semi-quantitative analysis of binary alloys using laser-induced breakdown spectroscopy and a new calibration approach based on linear correlation, *Spectrochim. Acta B*, 56 (2001) 1159
- [39] G. Galbács, N. Jedlinszki, G. Cseh, Z. Galbács, L. Túri, Accurate quantitative analysis of gold alloys using multi-pulse laser induced breakdown spectroscopy and a correlation-based calibration method, *Spectrochim. Acta B*, 63 (2008) 591
- [40] B. Sharma, R.R. Frontiera, A.I. Henry, E. Ringe, R.P. Van Duyne, SERS: Materials, applications, and the future, *Mater.*, 15 (2012) 16
- [41] K. Aslan, M. Wu, J.R. Lakowicz, C.D. Geddes, Fluorescent core-shell Ag@SiO<sub>2</sub> nanocomposites for metal-enhanced fluorescence and single nanoparticle sensing platforms, *J. Am. Chem. Soc.*, 129 (2007) 1524
- [42] J.M. Pitarke, V.M. Silkin, E.V. Chulkov, P.M. Echenique, Theory of surface plasmons and surface-plasmon polaritons, *Rep. Prog. Phys.*, 70 (2007) 1
- [43] V. Amendola, R. Pilot, M. Frascioni, O.M. Maragò, M.A. Iatì, Surface plasmon resonance in gold nanoparticles: a review, *J. Phys.*, 29 (2017) 203002
- [44] J.W. Haus, Fundamentals and applications of nanophotonics, *Woodhead Publishing* (2016) Sawston
- [45] P.K. Jain, M.A. El-Sayed, Noble metal nanoparticle pairs: Effect of medium for enhanced nanosensing, *Nano Lett.*, 8 (2008) 4347
- [46] A. De Giacomo, M. Dell'Aglio, R. Gaudiuso, C. Koral, G. Valenza, Perspective on the use of nanoparticles to improve LIBS analytical performance: nanoparticle enhanced laser induced breakdown spectroscopy (NELIBS), *J. Anal. At. Spectrom.*, 31 (2016) 1566
- [47] M. Dell'Aglio, R. Alrifai, A. De Giacomo, Nanoparticle enhanced laser induced breakdown spectroscopy (NELIBS), a first review, *Spectrochim. Acta B*, 148 (2018) 105
- [48] A. De Giacomo, C. Koral, G. Valenza, R. Gaudiuso, M. Dell'Aglio, Nanoparticle enhanced laser-induced breakdown spectroscopy for microdrop analysis at subppm level, *Anal. Chem.*, 88 (2016) 5251
- [49] D.A. Rusak, T.P. Anthony, Z.T. Bell, Note: A novel technique for analysis of aqueous solutions by laser-induced breakdown spectroscopy, *Rev. Sci. Instrum.*, 86 (2015) 116106
- [50] D. Body, B.L. Chadwick, Optimization of the spectral data processing in a LIBS simultaneous elemental analysis system, *Spectrochim. Acta B*, 56 (2001) 725
- [51] V. Lazic, R. Fantoni, F. Colao, A. Santagata, A. Morone, V. Spizzichino, Quantitative laser induced breakdown spectroscopy analysis of ancient marbles and corrections for the variability of plasma parameters and of ablation rate, *J. Anal. At. Spectrom.*, 19 (2004) 429
- [52] K.D. Ohls, A personal view of the development of solid sampling emission spectrochemical analysis, *Spectrochim. Acta B*, 51 (1996) 245
- [53] I.T. Jolliffe, Principal Component Analysis, *Springer* (2002) Berlin
- [54] J. Jin, J. An, Robust discriminant analysis and its application to identify protein coding regions of rice genes, *Math. Biosci.*, 232 (2011) 96
- [55] L. Tóthné Parázso, A kutatómódszertan matematikai alapjai, *Digitális Tankönyvtár* (2011) Budapest
- [56] M. Bevilacqua, R. Bucci, A. Magrì, A. Magrì, R. Nescatelli, F. Marini, Chemometrics in food chemistry: Classification and class-modelling, *Elsevier* (2013) Amsterdam
- [57] P.-N. Tan, M. Steinbach, V. Kumar, Introduction to data mining, *Pearson* (2006) London

- [58] Q.L. Ma, V. Motto-Ros, W.Q. Lei, M. Boueri, L.J. Zheng, H.P. Zeng, M. Bar-Matthews, A. Ayalon, G. Panczer, J. Yu, Multi-elemental mapping of a speleothem using laser-induced breakdown spectroscopy, *Spectrochim. Acta Part B*, 65 (2010) 707
- [59] G. Galbács, I. Kevei-Bárány, E. Szőke, N. Jedlinszki, I.B. Gornushkin, M.Z. Galbács, A study of stalagmite samples from Baradla Cave (Hungary) by laser induced plasma spectrometry with automatic signal correction, *Microchem. J.*, 99 (2011) 406
- [60] N. Hausmann, P. Siozos, A. Lemonis, A.C. Colonese, H.K. Robson, D. Anglos, Elemental mapping of Mg/Ca intensity ratios in marine mollusc shells using laser-induced breakdown spectroscopy, *J. Anal. At. Spectrom.*, 32 (2017) 1467
- [61] European Commission, Directorate-General for Internal Market, Industry, Entrepreneurship and SMEs, Raw materials scoreboard 2018: European innovation partnership on raw materials, Publications Office, 2018, <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/117c8d9b-e3d3-11e8-b690-01aa75ed71a1>
- [62] K.J. Grant, G.L. Paul, J.A. O'Neill, Quantitative elemental analysis of iron ore by laser-induced breakdown spectroscopy, *Appl. Spectrosc.*, 45 (1991) 701
- [63] K.J. Grant, G.L. Paul, J.A. O'Neill, Time-resolved laser-induced breakdown spectroscopy of iron ore, *Appl. Spectros.*, 44 (1990) 1711
- [64] L. Barrette, S. Turmel, On-line iron-ore slurry monitoring for real-time process control of pellet making processes using laser-induced breakdown spectroscopy: graphitic vs. total carbon detection, *Spectrochim. Acta B.*, 56 (2001) 715
- [65] D.L. Death, A.P. Cunningham, L.J. Pollard, Multi-element and mineralogical analysis of mineral ores using laser induced breakdown spectroscopy and chemometric analysis, *Spectrochim. Acta B*, 64 (2009) 1048
- [66] N.J. McMillan, R.S. Harmon, F.C. De Lucia, A.M. Miziolek, Laser-induced breakdown spectroscopy analysis of minerals: Carbonates and silicates, *Spectrochim. Acta B*, 62 (2007) 1528
- [67] J.L. Gottfried, R.S. Harmon, F.C. De Lucia Jr., A.W. Miziolek, Multivariate analysis of laser-induced breakdown spectroscopy chemical signatures for geomaterial classification, *Spectrochim. Acta B*, 64 (2009) 1009
- [68] A. Koujelev, M. Sabsabi, V. Motto-Ros, S. Laville, S.L. Lui, Identification of polymer materials using laser-induced breakdown spectroscopy combined with artificial neural networks, *Planet. Space Sci.*, 58 (2010) 682
- [69] S-L. Lui, A. Koujelev, Accurate identification of geological samples using artificial neural network processing of laser-induced breakdown spectroscopy data, *J. Anal. At. Spectrom.*, 26 (2011) 2419
- [70] N.J. McMillan, C.E. McManus, R.S. Harmon, F.C. DeLucia, A.W. Miziolek, Laser-induced breakdown spectroscopy analysis of complex silicate minerals—beryl, *Anal. Bioanal. Chem.*, 385 (2006) 263
- [71] B. Sallé, J.-L. Lacour, E. Vors, P. Fichet, S. Maurice, D.A. Cremers, R.C. Wiens, Laser-Induced Breakdown Spectroscopy for Mars surface analysis: capabilities at stand-off distances and detection of chlorine and sulfur elements, *Spectrochim. Acta B*, 59 (2004) 1413
- [72] R.C. Wiens, S. Maurice, B. Barraclough, The ChemCam instrument suite on the Mars Science Laboratory (MSL) rover: body unit and combined system tests, *Space Sci. Rev.*, 170 (2012) 167



- [73] J. Lasue, R.C. Wiens, S.M. Clegg, D.T. Vaniman, K.H. Joy, S. Humphries, A. Mezzacappa, N. Melikechi, R.E. McInroy, S. Bender, Remote laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) for Lunar exploration, *J. Geophys. Res.*, 117 (2012) E01002
- [74] G.S. Senesi, J. Cabral, C.R. Menegatti, B. Marangoni, G. Nicolodelli, Recent advances and future trends in LIBS applications to agricultural materials and their food derivatives: An overview of developments in the last decade (2010–2019). Part II. Crop plants and their food derivatives, *TrAC Trends Anal. Chem.*, 118 (2019) 453
- [75] L. Krajcarová, K. Novotný, M. Kummerová, J. Dubová, V. Gloser, J. Kaiser, Mapping of the spatial distribution of silver nanoparticles in root tissues of *Vicia faba* by laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), *Talanta*, 173 (2017) 28
- [76] P. Modlitbová, P. Pořízka, S. Střítežská, Š. Zezulka, M. Kummerová, K. Novotný, J. Kaiser, Detail investigation of toxicity, bioaccumulation, and translocation of Cd-based quantum dots and Cd salt in white mustard, *Chemosphere*, 251 (2020) 126174
- [77] P. Modlitbová, K. Novotný, P. Pořízka, J. Klus, H. Zlámalová-Gargošová, J. Kaiser, Comparative investigation of toxicity and bioaccumulation of Cd-based quantum dots and Cd salt in freshwater plant *Lemna minor* L., *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 147 (2018) 334
- [78] V.K. Singh, D.K. Tripathi, X. Mao, R.E. Russo, V. Zorba, Elemental mapping of lithium diffusion in doped plant leaves using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), *Appl. Spectrosc.*, 73 (2019) 387
- [79] L. Sancey, V. Motto-Ros, B. Busser, S. Kotb, J.M. Benoit, A. Piednoir, F. Lux, O. Tillement, G. Panczer, J. Yu, Laser spectrometry for multi-elemental imaging of biological tissues, *Sci. Rep.*, 4 (2014) 6065
- [80] S. Kunjachan, A. Detappe, R. Kumar, T. Ireland, L. Cameron, D.E. Biancur, V. Motto-Ros, L. Sancey, S. Sridhar, G.M. Makrigiorgos, Nanoparticle mediated tumor vascular disruption: a novel strategy in radiation therapy, *Nano Lett.*, 15 (2015) 7488
- [81] S. Moncayo, F. Trichard, B. Busser, M. Sabatier-Vincent, F. Pelascini, N. Pinel, I. Templier, J. Charles, L. Sancey, V. Motto-Ros, Multi-elemental imaging of paraffin-embedded human samples by laser-induced breakdown spectroscopy, *Spectrochim. Acta B*, 133 (2017) 40
- [82] M. Bonta, J.J. Gonzalez, C. Derrick Quarles, R.E. Russo, B. Hegedus, A. Limbeck, Elemental mapping of biological samples by the combined use of LIBS and LA-ICP-MS, *J. Anal. At. Spectrom.*, 31 (2016) 252
- [83] A. El-Hussein, A.K. Kassem, H. Ismail, M.A. Harith, Exploiting LIBS as a spectrochemical analytical technique in diagnosis of some types of human malignancies, *Talanta*, 82 (2010) 495
- [84] H. Imam, R. Mohamed, A. A. Eldakrouil, Primary study of the use of laser-induced breakdown spectroscopy for the diagnosis of breast cancer, *Opt. Photonics J.*, 2 (2012) 193
- [85] Q. Sun, M. Tran, B.W. Smith, J.D. Winefordner, Zinc analysis in human skin by laser induced-breakdown spectroscopy, *Talanta*, 52 (2000) 293
- [86] Z.A. Abdel-Salam, Z. Nanjing, D. Anglos, M.A. Harith, Effect of experimental conditions on surface hardness measurements of calcified tissues via LIBS, *Appl. Phys. B*, 94 (2009) 141
- [87] F.C. Alvira, F. Ramirez Rozzi, G.M. Bilmes, Laser-induced breakdown spectroscopy microanalysis of trace elements in *Homo Sapiens* teeth, *Appl. Spectrosc.*, 64 (2010) 313
- [88] Z. Hosseinimakarem, S.H. Tavassoli, Analysis of human nails by laser-induced breakdown spectroscopy, *J. Biomed. Opt.*, 16 (2011) 57002

- [89] M.D. Mowery, R. Sing, J. Kirsch, A. Razaghi, S. Béchar, R.A. Reed, Rapid at-line analysis of coating thickness and uniformity on tablets using laser induced breakdown spectroscopy, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 28 (2002) 935
- [90] A. Dubey, G. Keyvan, R. Hsia, K. Saranteas, D. Brone, T. Misra, F. J. Muzzio, Analysis of pharmaceutical tablet coating uniformity by laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), *J. Pharm. Innov.*, 6 (2011) 77
- [91] L. St-Onge, J.F. Archambault, E. Kwong, M. Sabsabi, E.B. Vadas, Rapid quantitative analysis of magnesium stearate in tablets using laser-induced breakdown spectroscopy, *J. Pharm. Sci.*, 8 (2005) 272
- [92] G.G. Arantes de Carvalho, L.C. Nunes, P. Florencio de Souza, F.J. Krug, T.C. Alegre, D. Santos Jr, Evaluation of laser induced breakdown spectrometry for the determination of macro and micronutrients in pharmaceutical tablets, *J. Anal. At. Spectrom.*, 25 (2010) 25
- [93] K. Melessanaki, V. Papadakis, C. Balas, D. Anglos, Laser induced breakdown spectroscopy and hyper-spectral imaging analysis of pigments on an illuminated manuscript, *Spectrochim. Acta B*, 56 (2001) 2337
- [94] S. Guirado, F.J. Fortes, J.J. Laserna, Elemental analysis of materials in an underwater archaeological shipwreck using a novel remote laser-induced breakdown spectroscopy system, *Talanta*, 137 (2015) 182
- [95] S. Guirado, F.J. Fortes, V. Lazic, J.J. Laserna, Chemical analysis of archeological materials in submarine environments using laser-induced breakdown spectroscopy. On-site trials in the Mediterranean sea, *Spectrochim. Acta B*, 74-75 (2012) 137
- [96] 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, *Anal. Chim. Acta*, 554 (2005) 136
- [97] D. Marcos-Martinez, J.A. Ayala, R.C. Izquierdo-Hornillos, F.J. Manuel de Villena, J.O. Caceres, Identification and discrimination of bacterial strains by laser induced breakdown spectroscopy and neural networks, *Talanta*, 84 (2011) 730
- [98] M.M. El-Deftar, N. Speers, S. Eggins, S. Foster, J. Robertson, C. Lennard, Assessment and forensic application of laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) for the discrimination of Australian window glass, *Forensic Sci. Int.*, 241 (2014) 46
- [99] M.T. Taschuk, Y.Y. Tsui, R. Fedosejevs, Detection and mapping of latent fingerprints by laser-induced breakdown spectroscopy, *Appl. Spectrosc.*, 60 (2006) 1322
- [100] F.F. Hilario, M.L. De Mello, E.R. Pereira-Filho, Forensic analysis of hand-written documents using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) and chemometrics, *Anal. Methods*, 13 (2021) 232
- [101] H. Balzer, M. Höhne, R. Noll, V. Sturm, New approach for online monitoring of the Al depth profile of the hot-dip galvanized sheet steel using LIBS, *Anal. Bioanal. Chem.*, 358 (2006) 225
- [102] H. Balzer, S. Hölters, V. Sturm, R. Noll, Systematic line selection for online coating thickness measurement of galvanized sheet steel using LIBS, *Anal. Bioanal. Chem.*, 358 (2006) 234
- [103] J. Gruber, J. Heitz, H. Strasser, D. Bäuerle, N. Ramaseder, Rapid in-situ analysis of liquid steel by laser-induced breakdown spectroscopy, *Spectrochim. Acta B*, 56 (2001) 685
- [104] M. Sabsabi, P. Cielo, Quantitative analysis of aluminum alloys by laser-induced breakdown spectroscopy and plasma characterization, *Appl. Spectrosc.*, 49 (1995) 499
- [105] DTE, <https://www.dtequipment.com/>

- [106] A. Santagata, D. Spera, G. Albano, R. Teghil, G. P. Parisi, A. De Bonis, P. Villani, Orthogonal fs/ns double-pulse LIBS for copper-based-alloy analysis, *Appl. Phys. A*, 93 (2008) 929
- [107] T. Takahashi, B. Thornton, K. Ohki, T. Sakka, Calibration-free analysis of immersed brass alloys using long-ns-duration pulse laser-induced breakdown spectroscopy with and without correction for nonstoichiometric ablation, *Spectrochim. Acta B*, 111 (2015) 8
- [108] B. Noharet, C. Sterner, T. Irebo, J. Gurell, A. Bengston, R. Vainik, H. Karlsson, E. Illy, A compact LIBS system for industrial applications, *Proc. SPIE*, 9369 (2015) 936904
- [109] A. Hartford Jr, D.A. Cremers, T.R. Loree, G.P. Quigley, L.J. Radziemski, D.J. Taylor, Optical instrumentation for on-line analysis of chemical processes, *Proc. SPIE*, 0411 (1983) 92
- [110] D. Redoglio, E. Golinelli, S. Musazzi, U. Perini, F. Barberis, A large depth of field LIBS measuring system for elemental analysis of moving samples of raw coal, *Spectrochim. Acta B*, 116 (2016) 46
- [111] S. Legnaioli, B. Campanella, S. Pagnotta, F. Poggialini, V. Palleschi, Determination of ash content of coal by laser-induced breakdown spectroscopy, *Spectrochim. Acta B*, 155 (2019) 123
- [112] C. Davies, H. Telle, A. Williams, Remote in situ analytical spectroscopy and its applications in the nuclear industry, *Fresenius. J. Anal. Chem.*, 355 (1996) 895
- [113] A. Lang, D. Engelberg, N.T. Smith, D. Trivedi, O. Horsfall, A. Banford, P.A. Martin, P. Coffey, W.R. Bower, C. Walther, M. Weiß, H. Bosco, A. Jenkins, G.T.W. Law, Analysis of contaminated nuclear plant steel by laser-induced breakdown spectroscopy, *J. Hazard. Mater.*, 345 (2018) 114
- [114] A.A.I. Khalil O.A. Labib, Detection of micro-toxic elements in commercial coffee brands using optimized dual-pulsed laser-induced spectral analysis spectrometry, *Appl. Opt.*, 57 (2018) 6729
- [115] B. Sezer, H. Apaydin, G. Bilge, I. H. Boyaci, Coffee arabica adulteration: Detection of wheat, corn and chickpea, *Food Chem.*, 264 (2018) 142
- [116] G. Bilge, B. Sezer, K.E. Eseller, H. Berberoglu, A. Topcu and I.H. Boyaci, Determination of whey adulteration in milk powder by using laser induced breakdown spectroscopy, *Food Chem.*, 212 (2016) 183
- [117] E.C. Ferreira, E.A. Menezes, W.O. Matos, D.M.B.P. Milori, A.R.A. Nogueira, L. Martin-Neto, Determination of Ca in breakfast cereals by laser induced breakdown spectroscopy, *Food Control*, 21 (2010) 1327
- [118] M.A. Gondal, Y. B. Habibullah, U. Baig, L.E. Oloore, Direct spectral analysis of tea samples using 266 nm UV pulsed laser-induced breakdown spectroscopy and cross validation of LIBS results with ICP-MS, *Talanta*, 152 (2016) 341
- [119] K.W. Se, S.K. Ghoshal, R.A. Wahab, Laser-induced breakdown spectroscopy unified partial least squares regression: An easy and speedy strategy for predicting Ca, Mg and Na content in honey, *Measure.*, 136 (2019) 1
- [120] O. Axner, G. Galbács, Encyclopedia of analytical chemistry: Laser spectrometric techniques in analytical atomic spectrometry, *John Wiley and Sons* (2012) New York
- [121] D. Günther, S.E. Jackson, H.P. Longerich, Laser ablation and arc/spark solid sample introduction into inductively coupled plasma mass spectrometers, *Spectrochim. Acta B*, 54 (1999) 381

- [122] É. Bertalan, Az elemanalitika korszerű módszerei: Induktív csatolású plazma tömegspektrometria, *Akadémiai kiadó* (2006) Budapest
- [123] D. Günther, B. Hattendorf, Solid sample analysis using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry, *Trends Anal. Chem.*, 24 (2005) 255
- [124] T. Mochizuki, A. Sakashita, H. Iwata, Laser ablation for direct elemental analysis of solid samples by ICP–atomic emission spectrometry and ICP–mass spectrometry, *Nippon Kagaku Kaishi*, 58 (1990) 19
- [125] X.R. Liu, G. Horlick, In situ laser ablation sampling for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Spectrochim. Acta B*, 50 (1994) 537
- [126] J.S. Becker, Applications of inductively coupled plasma mass spectrometry and laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry in materials science, *Spectrochim. Acta B*, 57 (2002) 1805
- [127] S.C. Wilschefski, M.R. Baxter, Inductively coupled plasma mass spectrometry: introduction to analytical aspects, *Clin Biochem Rev.*, 40 (2019) 115
- [128] J. Koch, D. Güther, Review of the state-of-the-art of laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry, *Appl. Spectrosc.*, 65 (2011) 155
- [129] J.J. Leach, L.A. Allen, D.B. Aeschliman, R.S. Houk, Calibration of laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry using standard additions with dried solution aerosols, *Anal. Chem.*, 71 (1999) 440
- [130] C. Leloup, P. Marty, D. Dall’ava, M. Perdereau, Quantitative analysis for impurities in uranium by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry: improvements in the experimental setup, *J. Anal. At. Spectrom.*, 12 (1997) 945
- [131] V.V. Kogan, M.W. Hinds, G.I. Ramendik, The direct determination of trace metals in gold and silver materials by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry without matrix matched standards, *Spectrochim. Acta B*, 49 (1994) 333
- [132] A. Raith, J. Godfrey, R.C. Hutton, Quantitation methods using laser ablation ICP-MS, *Fresenius’ J. Anal. Chem.*, 354 (1996) 163
- [133] R.C. Marin, J.E.S. Sarkis, M.R.L. Nascimento, The use of LA-SF-ICP-MS for nuclear forensics purposes: uranium isotope ratio analysis, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 44 (2013) 99
- [134] M. Krachler, M. Wallenius, A. Nicholla, K. Mayer, Spatially-resolved uranium isotopic analysis of contaminated scrap metal using laser ablation multi-collector ICP-MS, *RSC Adv.*, 10 (2020) 16629
- [135] S. Cagno, K. Hellemans, O.C. Lind, L. Skipperud, K. Janssens, B. Salbu, LA-ICP-MS for Pu source identification at Mayak PA, the Urals, Russia, *Environ. Sci.: Processes Impacts*, 16 (2014) 306
- [136] T. Vaculovič, T. Warchilová, T. Šimo, O. Matal, V. Otruba, P. Mikuškad, V. Kanický, Elemental mapping of structural materials for a nuclear reactor by means of LA-ICP-MS, *J. Anal. At. Spectrom.*, 27 (2012) 1321
- [137] N.M.W. Roberts, K. Drost, M.S.A. Horstwood, D.J. Condon, D. Chew, H. Drake, A.E. Milodowski, N.M. McLean, A.J. Smye, R.J. Walker, R. Haslam, K. Hodson, J. Imber, N. Beaudoin, J.K. Lee, Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS) U–Pb carbonate geochronology: strategies, progress, and limitations, *Gchron.*, 2 (2020) 33

- [138] I. Horn, R.L. Rudnick, W.F. McDonough, Precise elemental and isotope ratio determination by simultaneous solution nebulization and laser ablation-ICP-MS: application to U–Pb geochronology, *Chem. Geol.*, 167 (2000) 405
- [139] R. Feng, N. Machado, J.N. Ludden, Lead geochronology of zircon by laser probe-inductively coupled plasma mass spectrometry (LP-ICPMS), *Geochim. Cosmochim. Acta*, 57 (1993) 3479
- [140] X. Xia, Z. Ren, G. Wei, L. Zhang, M. Sun, T. Wang, In situ rutile U-Pb dating by laser ablation MC-ICPMS, *Geochem. J.*, 47 (2013) 459
- [141] F.L.H. Tissot, M. Ibáñez-Mejía, P. Boehnke, N. Dauphas, D. McGee, T. Grove, T.M. Harrison,  $^{238}\text{U}/^{235}\text{U}$  measurement in single-zircon crystals: implications for the Hadean environment, magmatic differentiation and geochronology, *J. Anal. At. Spectrom.*, 34 (2019) 2035
- [142] S. Rings, R. Sievers, M. Jansen, Analysis of the spatial distribution of the constituting elements in amorphous solids: laser ablation with ICP spectrometry, *Fres. J. Anal. Chem.*, 363 (1999) 165
- [143] F. Bea, P. Montero, G. Garuti, F. Zacharini, Pressure-dependence of rare earth element distribution in amphibolite- and granulite- grade garnets. A LA-ICP-MS study, *Geostand. Newslett.*, 21 (1997) 253
- [144] E.K. Shibuya, J.E.S. Sarkis, J. Enzweiler, A.P.S. Jorge, A.M.G. Figueiredo, Determination of platinum group elements and gold in geological materials using an ultraviolet laser ablation high-resolution inductively coupled plasma mass spectrometric technique, *J. Anal. At. Spectrom.*, 13 (1998) 941
- [145] D. Günther, A. Audétat, R. Frischknecht, C.A. Heinrich, Quantitative analysis of major, minor and trace elements in fluid inclusions using laser ablation–inductively coupled plasmamass spectrometry, *J. Anal. Atom. Spectrom.*, 13 (1998) 263
- [146] A. Juhász, T. M Tóth, K. Ramseyer, A. Matter, Connected fluid evolution in fractured crystalline basement and overlying sediments, Pannonian basin, SE Hungary, *Chem. Geol.*, 182 (2002) 91
- [147] K.P. Jochum, D. Scholz, B. Stoll, U. Weis, S.A. Wilson, Q. Yang, A. Schwalb, N. Börner, D.E. Jacob, M.O. Andreae, Accurate trace element analysis of speleothems and biogenic calcium carbonates by LA-ICP-MS, *Chem. Geol.*, 31 (2012) 318
- [148] J.D. Winter, Principles of igneous and metamorphic petrology, *Pearson Education* (2014) London
- [149] A.B. Raucsikné Varga, B. Raucsik, R. Száli, A Szalatnaki agyagpala formáció metaüledékes képződményeinek kőzettani korrelációja, *Hung. Geol. Soc.*, 11 (2021) 63
- [150] V.A. Utenkov, Z. Balla, E. Sallay, Annual report of the Geological Institute of Hungary, *Működési jelentés – Activity Report, 2000–2001*, 1 (2003) 153
- [151] X.M. Liu, W. Li, Optimization of lithium isotope analysis in geological materials by quadrupole ICP-MS, *J. Anal. At. Spectrom.*, 34 (2019) 1708
- [152] N. Zhang, T. Ou, M. Wang, Z. Lin, C. Lv, Y. Qin, J. Li, H. Yang, N. Zhao, Q. Zhang, A brief review of calibration-free laser-induced breakdown spectroscopy, *Front. Phys.*, 10 (2022) 887171
- [153] L. Breiman, Random Forests, *Mach Learn.*, 45 (2001) 5
- [154] K. Varmuza, P. Filzmoser, Introduction to multivariate statistical analysis in chemometrics, *CRC Press* (2009) Boca Raton

- [155] J.A. Nelder, R. Mead, A simplex method for function minimization, *Comput. J.*, 7 (1965) 308
- [156] T. Zhang, H. Tang, H. Li, Chemometrics in laser-induced breakdown spectroscopy, *J. Chemom.*, 32 (2018) e2983
- [157] N. Gyftokostas, D. Stefanos, V. Kokkinos, C. Bouras, S. Couris, Laser-induced breakdown spectroscopy coupled with machine learning as a tool for olive oil authenticity and geographic discrimination, *Sci. Rep.*, 11 (2021) 5360
- [158] Gy. Maros, A mórági gránit szerkezeti fejlődése az ImaGeo magszkennerrel történt fúrás értékelések alapján, Miskolci Egyetem, *Ph.D. értekezés* (2006) Miskolc
- [159] A.P. Dickin, Lead isotopes: Radiogenic isotope geology, *Cambridge University Press* (2005) Cambridge
- [160] L. Gyalog, A földtani térképek jelkulcsa és a rétegtani egységek rövid leírása, *MAFI* (1996) Budapest
- [161] A.J.M. Baker, Accumulators and excluders-strategies in the response of plants to heavy metals, *J. Plant Nutr.*, 3 (1981) 643
- [162] R.R. Brook, Biogeochemistry and hyperaccumulators: Plants that hyperaccumulate heavy metals, *CAB International* (1998) Wallingford
- [163] M.R. Broadley, P.J. White, J.P. Hammond, I. Zelko, A. Lux, Zinc in plants, *New Phytol.*, 173 (2007) 677
- [164] V.M. Silva, E.H.M. Boleta, M.G.D.B. Lanza, J. Lavres, J.T. Martins, E.F. Santos, F.L.M. dos Santos, F.F. Putti, E.F. Junior, P.J. White, M.R. Broadley, H.W.P. de Carvalho, A.R. dos Reis, Physiological, biochemical, and ultrastructural characterization of selenium toxicity in cowpea plants, *Environ. Exp. Bot.*, 150 (2018) 172
- [165] Z. Kolbert, N. Lehotai, Á. Molnár, G. Feigl, "The roots" of selenium toxicity: a new concept, *Plant Signal. Behav.*, 11 (2016) e1241935
- [166] M. Hasanuzzaman, M.B. Bhuyan, A. Raza, B. Hawrylak-Nowak, R. Matraszek-Gawron, J. Al Mahmud, K. Nahar, M. Fujita, Selenium in plants: boon or bane?, *Environ. Exp. Bot.*, 178 (2020) 104170
- [167] P.J. White, Selenium accumulation by plants, *Ann. Bot.*, 117 (2016) 217
- [168] Zs. Kolbert, Á. Molnár, R. Szöllösi, G. Feigl, L. Erdei, A. Ördög, Nitro-oxidative stress correlates with Se tolerance of astragalus species, *Plant Cell Physiol.*, 59 (2018) 1827
- [169] D. Palásti, Teljesítménynövelő technikák és analitikai módszerek a lézer indukált plazma spektroszkópiában, SZTE TTIK, *Ph.D. értekezés* (2022) Szeged
- [170] V. Cariou, D. Jouan-Rimbaud Bouveresse, E.M. Qannari, D.N. Rutledge, Data fusion methodology and applications: ComDim methods for the analysis of multiblock data in a data fusion perspective, *Elsevier* (2019) Amsterdam
- [171] N.I. Sushkov, G. Galbács, K. Fintor, N.V. Lobus, T.A. Labutin, A novel approach for discovering correlations between elemental and molecular composition using laser-based spectroscopic techniques, *Analyst*, 147 (2022) 3248
- [172] A. Cichocki, R. Zdunek, A.H. Phan, S. Amari, Nonnegative matrix and tensor factorizations: Applications to exploratory multi-way data analysis and blind source separation, *Wiley Publishing* (2009) Hoboken
- [173] J. De Gelder, K. De Gussem, P. Vandenabeele, L. Moens, Reference database of Raman spectra of biological molecules, *J. Raman Spectrosc.*, 38 (2007) 1133

- [174] N.V. Lobus, A.V. Drits, M. V. Flint, Accumulation of chemical elements in the dominant species of copepods in the Ob estuary and the adjacent shelf of the Kara sea, *Oceanology*, 53 (2018) 405
- [175] N.V. Lobus, E.G. Arashkevich, E.A. Flerova, Major, trace, and rare-earth elements in the zooplankton of the Laptev sea in relation to community composition, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 26 (2019) 23044
- [176] L. Kaufman, P.J. Rousseeuw, Finding groups in data: An introduction to cluster analysis, *Wiley-Interscience*, (2005) Hoboken
- [177] S.M. Zaytsev, A.M. Popov, T.A. Labutin, Stationary model of laser-induced plasma: critical evaluation and applications, *Spectrochim. Acta B*, 158 (2019) 105632
- [178] P. Ramos, A. Santos, E. Pinto, N.R. Pinto, R. Mendes, T. Magalhães, A. Almeida, Alkali metals levels in the human brain tissue: anatomical region differences and age-related changes, *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 38 (2016) 174
- [179] H. Duflou, W. Maenhaut, J. De Reuck, Regional distribution of potassium, calcium, and six trace elements in normal human brain, *Neurochem Res.*, 14 (1989) 1099
- [180] C. Grochowski, E. Blicharska, P. Krukow, K. Jonak, M. Maciejewski, D. Szczepanek, K. Jonak, J. Flieger, R. Maciejewski, Analysis of trace elements in human brain: Its aim, methods, and concentration levels, *Front. Chem.*, 7 (2019) 115
- [181] H. Nakamura, S. Watano, Penetration of nanoparticles across cell membrane: a review, *KONA Powder Part. J.*, 35 (2018) 49
- [182] M. Filek, M. Zembala, A. Kornaś, S. Walas, H. Mrowiec, H. Hartikainen, The uptake and translocation of macro- and microelements in rape and wheat seedlings as affected by selenium supply level, *Plant Soil.*, 336 (2010) 303
- [183] P. Albrycht, E. Rozniecka, M. Podrazka, R. Holyst, J. Niedziółka-Jönsson, A method of depositing metal nanoparticles on a surface in an electrochemical process, the surface obtained by this method and its application, EP3382063A3, *szabadalom*, (2018) Lengyelország

## 8. PUBLIKÁCIÓS LISTA

Magyar Tudományos Művek Tára (MTMT) azonosító: 10062651

### 8.1. Az értekezés alapjául szolgáló referált folyóirat közlemények

**P. Janovszky**, K. Jancsek, D. J. Palásti, J. Kopniczky, B. Hopp, T. M. Tóth, G. Galbács, Classification of minerals and the assessment of lithium and beryllium content in granitoid rocks by laser-induced breakdown spectroscopy, *J. Anal. At. Spectrom.*, 36 (2021) 813 Impakt faktor: 4,02 (Q1)

A. Limbeck, L. Brunnbauer, H. Lohninger, P. Porízka, P. Modlitbová, J. Kaiser, **P. Janovszky**, A. Kéri, G. Galbács, Methodology and applications of elemental mapping by laser induced breakdown spectroscopy, *Anal. Chim. Acta*, 1147 (2021) 72 Impakt faktor: 6,38 (Q1)

Á. Molnár, S. Kondak, P. Benkő, **P. Janovszky**, K. Kovács, R. Szöllősi, O.K. Göndörné, D. Oláh, K. Gémes, G. Galbács, Janda, Zs. Kolbert, Limited Zn supply affects nutrient distribution, carbon metabolism and causes nitro-oxidative stress in sensitive *Brassica napus*, *Environ. Exp. Bot.*, 202 (2022) 105032 Impakt faktor: 6,03 (Q1)

N.I. Sushkov, G. Galbács, **P. Janovszky**, N.V. Lobus, T.A. Labutin, Towards an automated classification of zooplankton by using combination of laser spectral techniques and advanced chemometrics, *Sensors*, 22 (2022) 8234 Impakt faktor: 3,84 (Q1)

D.J. Palásti, P. Albrycht, **P. Janovszky**, K. Paszkowska, Zs. Geretovszky, G. Galbács, Nanoparticle enhanced laser-induced breakdown spectroscopy of liquid samples by using modified surface-enhanced Raman scattering substrates, *Spectrochim. Acta B*, 166 (2020) 105793 Impakt faktor: 3,64 (Q1)

**P. Janovszky**, A. Kéri, D. J. Palásti, L. Brunnbauer, F. Domoki, A. Limbeck, G. Galbács, Quantitative elemental mapping of organic tissues by laserinduced breakdown spectroscopy using automatic matrix recognition, *Sci. Reports*, (2023) benyújtva

R. Szöllősi, Á. Molnár, **P. Janovszky**, A. Kéri, M. Dernovics, G. Galbács, Zs. Kolbert, Selenate triggers diverse oxidative responses in *Astragalus* species with diverse selenium tolerance and hyperaccumulation capacity, *Ann. Bot.*, (2023) benyújtva

**Összes impakt faktor: 23,91**



## 8.2. További referált folyóirat közlemények, könyvfejezetek

M. Pintér, T. Ajtai, G. Kiss-Albert, D. Kiss, N. Utry, **P. Janovszky**, D. Palásti, T. Smausz, A. Kohut, B. Hopp, G. Galbács, Á. Kukovecz, Z. Kónya, G. Szabó, Z. Bozóki, Thermo-optical properties of residential coals and combustion aerosols, *Atm. Environ.*, 178 (2018) 118 Impakt faktor: 4,01 (Q1)

K. Jancsek, **P. Janovszky**, G. Galbács, T. M. Tóth, Granite alteration as the origin of high lithium content of groundwater in south-east Hungary, *Appl. Geochem.*, 149 (2023) 105570 Impakt faktor: 3,61 (Q2)

G. Wilsch, I.B. Gornushkin, L. Kratochvilová, P. Pořízka, J. Kaiser, S. Millar, G. Galbács, D.J. Palásti, **P.M. Janovszky**, et al., Interlaboratory comparison for quantitative chlorine analysis in cement pastes with laser induced breakdown spectroscopy, *Spectrochim. Acta B*, 202 (2023) 106632 Impakt faktor: 3,75 (Q1)

G. Galbács, D.J. Palásti, **P.M. Janovszky**, State-of-the-art analytical performance, in: G. Galbács (szerk): Laser-induced breakdown spectroscopy in biological, forensic and materials sciences, *Springer* (2022) Berlin

## 9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném megköszönni témavezetőmnek, Prof. Dr. Galbács Gábornak, hogy csatlakozhattam az általa vezetett Lézer és plazma spektroszkópiai kutatócsoportba és biztosította számomra a kísérletek elvégzéséhez a tudományos, szakmai háttérrel. Segítségével részt vehettem több, a témában elismert hazai és külföldi szaktekintélyek által vezetett kutatócsoport munkájában is. Előrehaladásomat tanulmányaim során mindvégig elősegítette és támogatta. Szeretnék egyúttal köszönetet mondani a csoport minden jelenlegi és korábbi tagjának (elsősorban Dr. Kéri Albert, Dr. Palásti Dávid Jenő és Bélteki Ádám kollégáimnak) is, akikkel számos tudományos eredményt volt szerencsém közösen elérni és publikálni.

Az együttműködésért köszönet illeti az MTA ATOMKI Hertelendi Ede Környezetanalitikai Laboratórium (Dr. Braun Mihály), az MTA Energiatudományi Kutatóközpont Sugárvédelmi Laboratórium (Dr. Kovács-Széles Éva), a Bécsi Műszaki Egyetem Kémiai Technológiai és Analitikai Intézet (Dr. Andreas Limbeck), a Brnói Műszaki Egyetem és a Central European Institute of Technology (Dr. Jozef Kaiser és Dr. Pavel Porizka), a Lomonoszov Moszkvai Állami Egyetem (Nikolai I. Sushkov, Dr. Timur A. Labutin), valamint az SZTE TTIK Ásványtani, Geokémiai és Kőzettani Tanszéke (Dr. M-Tóth Tivadar, Dr. Schubert Félix, Jancsek Krisztián), az SZTE TTIK Növénybiológiai Tanszéke (Dr. Kolbert Zsuzsanna, Dr. Szöllősi Réka), az SZTE SZAOK Élettani Intézete (Dr. Domoki Ferenc), valamint az SZTE TTIK Optikai és Kvantumelektronikai Tanszéke (Dr. Geretovszky Zsolt, Dr. Kopniczky Judit, Villy Lajos Péter) munkatársait. Az általuk biztosított változatos mintatípusok, felvetett tudományos problémák és rendelkezésre bocsátott kiegészítő mérés technikák jelentősen elősegítették kutatásaim eredményességét.

Végül, de nem utolsósorban köszönöm szüleimnek, hogy mindig mellettem állnak és mindenben támogatnak.