

Vloží se titulní stránka DP a zadání BP
Číslování stránek začíná číslem 3 pod prohlášením

P r o h l á š e n í

Byl jsem seznámen s tím, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li diplomovou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Diplomovou práci jsem vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím diplomové práce a konzultantem.

Datum 14. 1. 2013

Podpis

Poděkování

Poděkovat bych chtěl především své vedoucí diplomové práce paní Ing. Márii Průšové za uvedení do problematiky metody LIBS a odbornou pomoc při vytváření praktické části diplomové práce. Neméně mé poděkování patří panu Prof. Ing. Jakubovi Wienerovi, Ph.D. za konzultace, cenné rady a za odborné vedení při její tvorbě. Poděkování také patří paní Ing. Janě Šaškové za konzultace v oblasti králičích chlupů a připomínky k práci. Rád bych také poděkoval své manželce, která měla po celou dobu studia na vysoké škole se mnou trpělivost a podporovala mě.

Abstrakt

Tato práce se zabývá možností využití spektrometrie laserem buzeného plazmatu LIBS a emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem ICP OES k prvkové analýze proteinových vláken. Zaměřuje se na stanovení přítomnosti uhlíku a zinku v černých a bílých králíčích chlupech. Teoretická část se věnuje skladbě králíčích chlupů a spektrální prvkové analýze zaměřené na LIBS a ICP OES. Experimentální část se věnuje přípravě vzorků bílých a černých králíčích chlupů, jejich prvkové analýze metodou LIBS a následnému srovnání výsledků získaných metodou ICP OES.

Klíčová slova

Spektrometrie laserem buzeného plazmatu (LIBS), emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP OES), králíčí srst, zinek

Abstract

This work deals the possibility of using laser induced breakdown spectroscopy LIBS and inductively coupled plasma optical emission spectrometry ICP OES for elemental analysis of protein fibers. It focuses on the determination of the presence of carbon and zinc in black and white rabbit hairs. The theoretical part of this work deals with the composition of rabbit hair and spectral-element analysis focuset on LIBS and ICP OES. The experimental part is devoted to the preparation of samples of white and black rabbit hair, their elemental analysis by LIBS method and subsequent comparison of the results obtained by ICP OES method.

Keywords

Laser inducted breakdownspecroskopy (LIBS), inductively coupled plasma emission optical spektrometry (ICP OES), rabbit hair, zinc

OBSAH

ÚVOD	9
1 Králíčí chlup	10
1.1 Klasifikace keratinových chlupů	10
1.2 Morfologie srsti	11
1.2.1 Složení keratinového vlákna (chlupu)	11
1.2.2 Pigmenty	14
1.2.3 Typy vláken	15
1.2.4 Použití králíčího chlupu	16
2 Spektrální metody analýzy	17
2.1 Barevnost látek	17
2.2 Metody spektrální emisní analýzy	17
2.2.1 Složení spektrofotometrického přístroje	17
2.2.2 Charakter emisního spektra	19
2.3 Emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem ICP OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry)	21
2.3.1 Princip ICP OES	22
2.3.2 Přístroj Optima 2100 DV	22
2.4 Spektrometrie laserem indukovaného mikrop plazmatu LIBS (Laser Inducted Breakdown Spectrometry)	26
2.4.1 Princip laseru	26
2.4.2 Princip metody LIBS pevných látek	27
2.4.3 Přístroj LEA S500	29
3 Experimentální část	32
3.1 Popis vláken	32
3.2 FTIR spektrometrie	33
3.3 Prvková analýza srovnávací metodou ICP OES	33
3.3.1 Příprava vzorku	33
3.4 Prvková analýza metodou LIBS	33
4 VÝSLEDY MĚŘENÍ	39
4.1 FTIR spektrometrie	39
4.2 Výsledné hodnoty analýzy metodou ICP OES	40

4.3	Výsledné hodnoty analýzy metodou LIBS	41
4.4	Vliv tuku a pigmentů na absorpci ozonu	46
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	47
6	ZÁVĚR	51
	Seznam použité literatury	53
	Seznam obrázků.....	55
	Seznam tabulek	57
	Příloha.....	58

Seznam použitých symbolů a zkratk

LIBS	laserem indukovaná spektrometrie
LIPS	laserem indukovaní plazmová spektrometrie
LAS	laserová ablační spektrometrie
LSS	laserem jiskrou buzená spektrometrie
ICP OES	emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
Mn	mangan
Co	kobalt
Ni	nikl
Fe	železo
Cu	měď
Cr	chrom
C	uhlík
Zn	zinek
-N=N-	diazo skupina
-NH ₂	amidová skupina
C=O	keto skupina
E	energie
δE	rozdíl energií
h	Plankova konstanta
ν	frekvence fotonu
λ	vlnová délka
δE	rozdíl energií

ÚVOD

Ve snaze zkrátit čas potřebný k prvkové analýze a maximálně snížit požadavky na přípravu vzorků byla vyvinuta metoda spektrometrie laserem indukovaného mikrop plazmatu (LIBS). Tato metoda umožňuje určování chemického prvkového složení kovů, slitin, skleněných, keramických, plastických, práškových, kombinovaných a kompozitních materiálů, minerálů a ostatních látek a materiálů. Kromě složení se dá využít i k měření koncentrace zjištěných prvků. Velkou výhodou této metody je navíc fakt, že nevyžaduje velké množství materiálu k analýze jako třeba klasická „zkumavková metoda“. Množství materiálu, které je laserem páleno, je minimální a plocha dopadu laserového paprsku je od 0,2 mm do 1,2 mm.

Cílem této diplomové práce je zjistit, zda se metoda LIBS dá využít i k prvkové analýze proteinových vláken, tj. vláken živočišného původu, popř. jestli se různé barvy chlupů liší i svým prvkovým složením. Tyto vlákna jsou specifická tím, že kromě základního bílkovinného charakteru obsahují i přírodní pigmenty a stopová množství nejrozličnějších prvků. Tyto prvky mohou do jisté míry vypovídat i o zdravotním stavu zvířete, např. zda trpělo nedostatkem určitých minerálů v potravě apod.

Zvířetem, jehož chlupy jsem k analýze zvolil, byl králík domácí. Chlupy králíka patří se svými tepelnými vlastnostmi k nejlepším na světě. Informací o složení králíčích chlupů není moc a nejsou tak důkladně prozkoumána jako např. ovčí vlna.

Jako srovnávací metoda ke spektrometrii laserem buzeného plazmatu byla použita metoda emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP OES). Tato metoda patří do skupiny atomové emisní spektrometrie a umožňuje analyzovat látky kapalné

i plynné. Používá se nejen ke stanovení významných, ale také stopových množství jednotlivých prvků. Pomocí této metody jsme schopni stanovit téměř všechny prvky periodické tabulky. Nevýhodou této metody v porovnání s metodou LIBS (u pevných látek) je velká spotřeba vzorku k analýze, který se musí nejprve převést do roztoku.

1 Králičí chlup

1.1 Klasifikace keratinových chlupů

Vlákno z králičí srsti je často nazýváno chlupem, někde též vlasem. Řadí se do skupiny přírodních živočišných vláken (tab. 1). Původně se očekávalo, že vzhledem k výborným vlastnostem a relativně nízké ceně, bude králičí chlup využíván jako částečná náhrada kašmíru. Tato možnost ale byla vyloučena, jelikož morfologická struktura, zejména tvar, četnost šupinek a podíl dřeně, na níž závisí mechanické a zpracovatelské vlastnosti králičího chlupu je rozdílná od ostatních zvířecích chlupů. [23, 24]

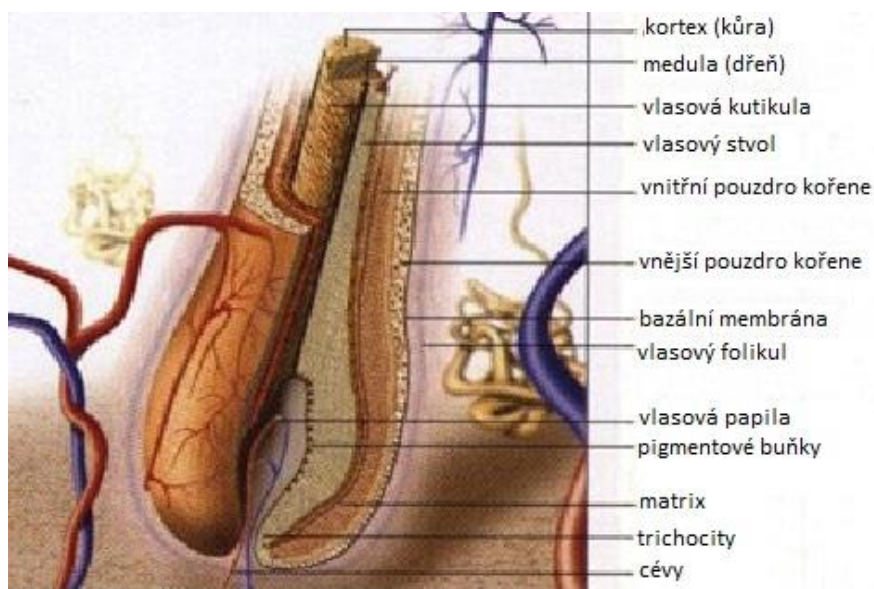
Vlastnosti králičí srsti se často odvozují od vlny, která má podobný základ. Oba chlupy obsahují keratin a mají podobnou strukturu. [24]

Tabulka 1 rozdělení živočišných vláken [24]

Přírodní živočišná vlákna		
keratinová		Fibroinová
Ovčí vlna	Srsti zvířat	Hedvábí
Merinová Nížinná Anglická kříženecká	Kašmír Mohér Kozí chlupy Velbloudí srst Srsti lam (alpaka, vikuňa, guanako, lama krotká) Králičí srst	Pravé Plané (tussah) Pavoučí

1.2 Morfologie srsti

Vlákno vyrůstá z vlasového váčku, který se nachází v kůži. Vlas je neustále zásobován z tukových žláz. Kořen vlasu obsahuje i tzv. papily, do nichž vedou cévy a nervy (obr. 1). Tento kořen přechází v krček a dál už vyčnívá na povrch kůže. Na povrchu mění svou strukturu a rohovatí na keratin. [13, 14,17, 24]

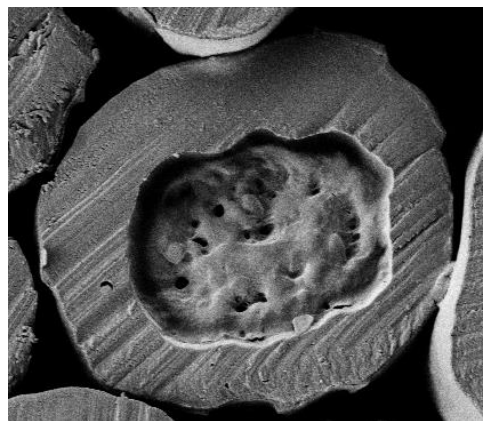
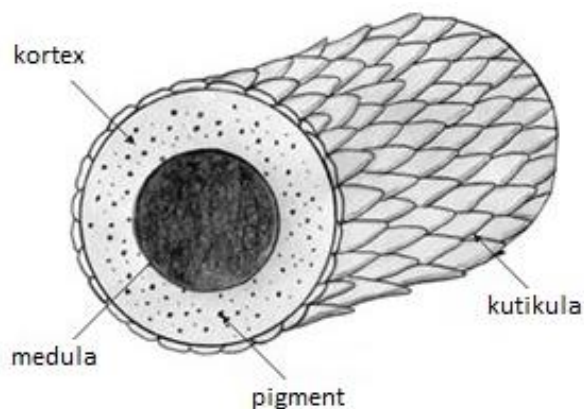


Obr. 1 *nákres kořene vlasu* [25]

Vlasy se skládá z mrtvých buněk, které se nemění vzhledu, jakmile jsou vytaženy z kůže. To znamená, že vlasy si udrží svou strukturu a vzhled, i když oddělen od zvířat srst.

1.2.1 Složení keratinového vlákna (chlupu)

Keratinové vlákno je tvořeno třemi hlavními částmi: kutikulou (pokožkou), kortexem (kůrou) a medulou (dřeví), (obr. 2). Kutikula je tvořena zploštěnými, překrývajícími se šupinkami, jejichž volné okraje směřují ke špičce vlasu. Kořeny šupinek v těle vlasu jsou k povrchu vlasu nakloněny pod různými úhly. Tento povrch je charakteristický pouze pro keratinová vlákna. Kortex je obalen kutikulárními buňkami, které mohou být úzce nebo volněji propojeny. Fyzikální a chemické vlastnosti králíčích vlasů jsou dány především kortexem. Medula je tvořená keratinem se vzduchem uvnitř uvolněných buněk (obr. 3). Buňky meduly jsou nejslabší částí králíčího chlupu, což má za následek snížení pevnosti, pružnosti a barvitelnosti. [13, 24]

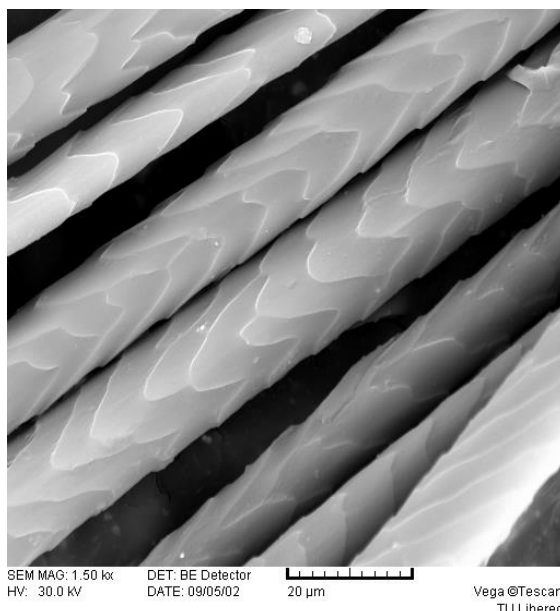


Obr. 2 *schematický náčrtek průřezu vlasu* [24] **Obr. 3** *průřez vlasu králíka*

- **Kutikula (pokožka)**

Kutikula je průhledná vrchní vrstva, tvořená šupinkami a zahrnující epikulu, exokutikulu a edokutikulu. Tloušťka kutikuly je 0,3-0,4 μm a tvoří přibližně 10% vlákna. [13, 14]

Šupinky jsou na povrchu králíčího vlasu uspořádány do písmene V, čímž brání průniku cizích látek do nitra vlasu. Struktura šupinek se mění s průměrem vlákna. U kořene vlasu je tedy struktura jiná než na špičce vlasu, jelikož vlákno se směrem ke špičce zužuje. U malých průměrů vlasu je úhel šupinek ve vertikálním směru malý. S rostoucím průměrem vlasu vzrůstá i úhel šupinek (obr. 4). [13, 24]



Obr. 4 *povrchová struktura vlasu králíka*

Kutikula, přestože nepřispívá k pevnosti vláken, je zodpovědná za charakteristické vlastnosti srsti a má vliv na plstění, které je způsobené vzájemným

třením vláken. Vzhled a vzájemné zauzlení králíčích vlasů je dáno hustotou a úhlem sklonu šupinek. Zvýšenou plstivost vykazují špičky vláken, neboť mají často vlivem okolních podmínek narušenou strukturu šupin. [13,24]

Mezi pokožkou a kůrou je membrána, kterou tvoří charakteristické buňky a její tloušťka je cca 0,3 μm .

- **Kortex (kůra)**

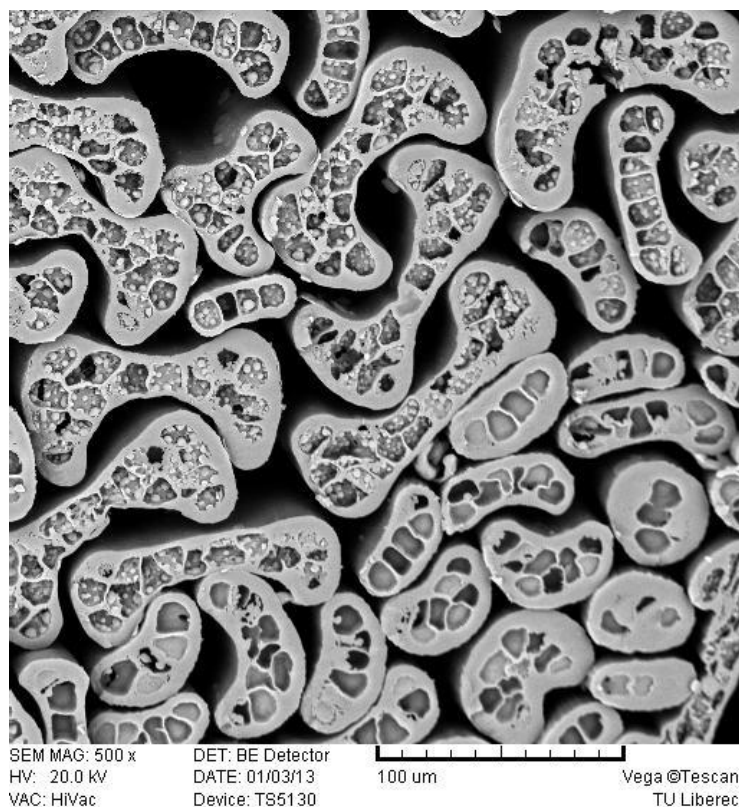
Skládá se z vřetenovitých kortikálních buněk spojených tmelem - matrixem a tvoří až 90% obsahu kreatinových vláken. Má zásadní vliv na mechanické vlastnosti jako je pevnost, tažnost nebo pružnost a obsahuje barevné pigmenty, které dávají chlupu barvu. [13, 24]

Bilaterální struktura, typická pro vlněný vlas, u králíčího vlasu neexistuje. V ultrastruktuře králíčího vlasu existuje další víceúrovňová struktura, jejíž velikost je stejná jako u vlněných vláken. Kortex se především skládá z kortikálních „cortical“ buněk, než z „vice-cortical“ buněk. Kortikální buňky jsou mnohem rozdílnější než „vice-cortical“ a hustota vlasu je v oblasti kortikálních buněk mnohem větší. Proto je krystalická oblast v kortikálních buňkách větší, prostor mezi buňkami menší a hustota je větší. Tyto vlastnosti vedou k tomu, že kortikální buňky jsou silnější s menší schopností přijímat vlhkost a lepší stabilitou vzhledem k okolnímu prostředí než „vice-cortical“ buňky. [13, 24]

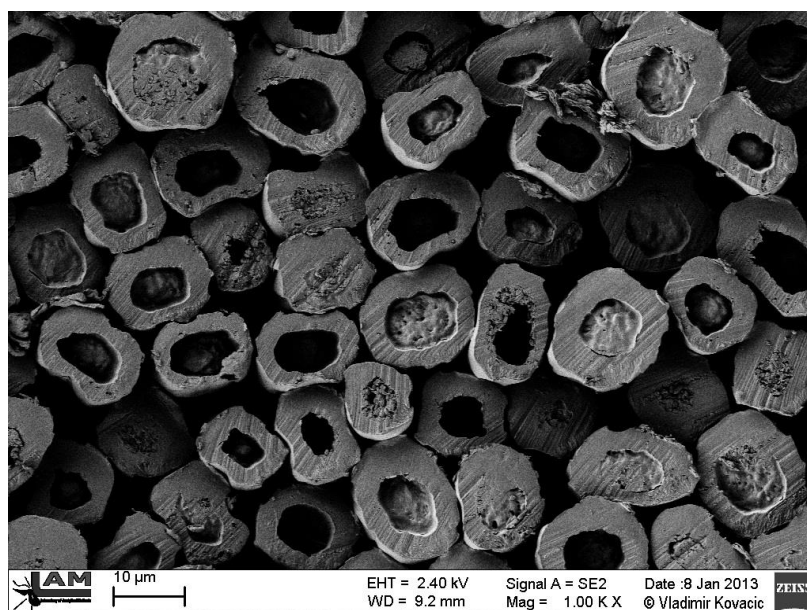
- **Medula (dřeň)**

Medula tvoří vnitřní část chlupu a vyskytuje se převážně u vláken, které mají průměr větší jak 10 μm . U jemnějších vláken většinou zcela chybí. Králíčí vlákna, podsady i pesíky obsahují dřeň, v níž se vyskytují vzduchové komory, které jsou odděleny přepážkami. Ostatní chlupy mají vzduchovou komoru zpravidla jednu a to buď souvislou, nebo přerušovanou označovanou jako dřeňový kanálek. Dřeňový kanálek bývá zpravidla uprostřed a může vyplňovat až 90% plochy průřezu vlákna.

Většina králíčích vlasů je tvořena medulou. Výjimku tvoří pouze velmi jemná vlákna. Počet vrstev meduly (vzduchových komor) se mění s průměrem vlákna. Dokonce v jednom vlákně se počet vzduchových komor mění od kořene ke špičce vlákna. Pokud má vlákno mezi 10 μm a 20 μm , většinou existuje pouze jedna vzduchová komora. Dvě až tři vzduchové komory existují u vláken s průměrem 20 μm – 30 μm a vlákna s průměry většími než 50 μm obsahují 4 a více vzduchových komor (obr. 5 a 6). [13,24]



Obr. 5 průřez *pesíkových chlupů králíka*



Obr. 6 průřez *středními částmi podsadových a krycích chlupů králíka*

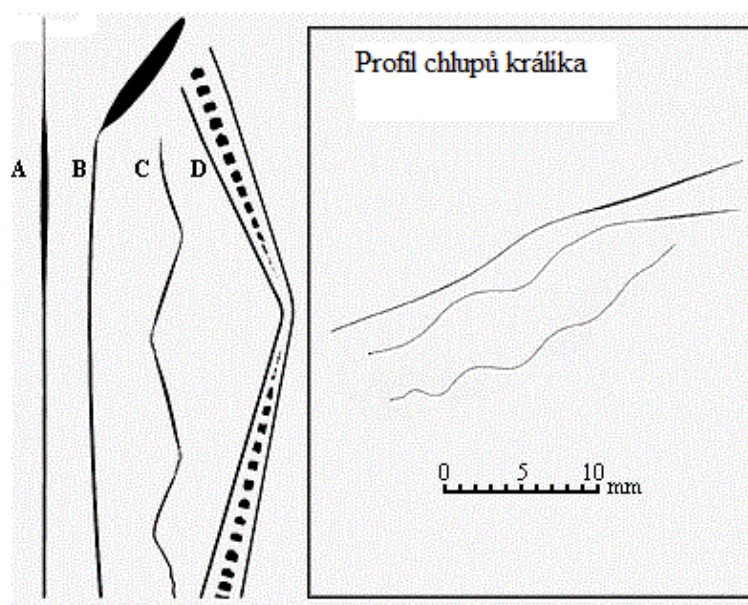
1.2.2 Pigmenty

Jak je výše uvedeno, pigmenty jsou obsaženy v kortexu. Nejčastěji se vyskytují tři typy pigmentů. Mají obvykle tvar malých zrníček a přecházejí z Malpighinovy vrstvy pokožky do vlasových cibulek, odkud se dostávají do syntetizovaných keratinových bílkovin chlupů. Nejdůležitějším a nejčastěji vyskytovaným pigmentem

je eumelanin nebo-li tyrosinový melanin. Barva tohoto pigmentu je černá a je syntetizován řadou oxidačních procesů z tyrosinu. Způsobuje přirozenou pigmentaci u černé, hnědé i světle zbarvené srsti. Pheomelanin je druhým nejčastěji vyskytujícím se pigmentem a jeho barva je žlutá. Třetím důležitým pigmentem je trichosiderin, který se vyskytuje v rezavě zbarvené srsti a má červenou barvu. Všechny tři pigmenty jsou tvrdé, mají vysokou měrnou hmotnost a mají vysoký index lomu. [1, 13, 21]

1.2.3 Typy vláken

Profily chlupů (obr. 7) a jejich zastoupení závisí na původu, druhu zvířete a na období, ve kterém se zvíře nachází. Většina zvířat mívá tzv. „letní“ a „zimní“ srst, jež se liší právě procentuálním zastoupením jednotlivých chlupů. [14]



Obr. 7 profily chlupů králíka [24]

- A - Rovný chlup se štítem regionu.
- B - Chlup s plochým a rozšířen štítu
- C - Vlnitý podsadový chlup
- D - detailní záběr na sevření, což je nepatrné zúžení chlupu

- **Pesíkový chlup**

je nejdelší, rovný, tvrdý chlup, který chrání pokožku před okolními vlivy a je v srsti zastoupen nejméně.

- **Krycí chlup**

je měkký, u kořene mírně zvlněný, směrem ke špičce rovný chlup. Ve srovnání s podsadovým chlupem delší a méně zastoupen (1:30 až 1:40).

- **Podsadový chlup**

je krátký, jemný a zvlněný. Plní funkci tepelně izolační a zastoupení je nejčetnější.

1.2.4 Použití králíčího chlupu

Pro textilní účely se využívá králíčí srsti z různých plemen králíků např. králíka angorského, belgického stříbrného, českého a dalších. [20]

Zvláštní oblibu mají chlupy angorského králíka. Jsou lehké, jemné, měkké a mají velmi dobré tepelné vlastnosti, navíc za nízkou cenu. Z tepelného hlediska je měkká Angorská králíčí srst 8 krát teplejší než kašmír a je známá jako srst s nejlepšími tepelnými vlastnostmi na světě. Čekalo se, že kašmír dokáže králíčí chlup nahradit, nicméně tento pokus nebyl úspěšný díky jeho morfologické struktuře. [20, 23]

2 Spektrální metody analýzy

2.1 Barevnost látek

Barevnost látek je důsledek sorpce a odrazu světla. Je dána přítomností chromoforů. U anorganických pigmentů jsou to ionty přechodných kovů (Mn, Co, Ni, Fe, Cu, Cr) a u organických pigmentů konjugované systémy u kterých se pravidelně střídá jednoduchá a dvojná vazba. V obou případech dochází k přenosu elektronů sousedními atomy a molekulami. Barevnost zvyšují auxochromy u anorganických pigmentů je to přítomnost síry, kyslíku a u anorganických barviv hlavně skupiny $C=O$, $-N=N-$ a $-NH_2$. [10]

Optické metody analytické chemie využívají jevů, jež jsou pozorovatelné při vzniku, nebo vzájemném působení elektromagnetického záření a analyzované soustavy a přímo souvisí s kvalitativním, nebo kvantitativním složením soustavy. [10]

2.2 Metody spektrální emisní analýzy

Účelem emisní spektrální analýzy je stanovení kvalitativního a kvantitativního složení vzorku na základě spektra emitovaného záření. Toto emitované spektrum je tvořeno souborem frekvencí (vlnových délek) záření, které vzorek v konkrétním zdroji vysílá. Kvalitativní složení je dáno zastoupením specifických frekvencí a kvantitativní složení je určeno poměrnou intenzitou těchto frekvencí. Za účelem získání těchto údajů se využívá zařízení, které se skládá ze zdroje záření, spektrálního přístroje na oddělení jednotlivých frekvencí (vlnových délek), soustavy čoček, resp. zrcadel, která zprostředkovávají vedení záření ze zdroje do spektrálního přístroje a detektoru, díky němuž měříme tok záření připadající na jednotlivé frekvence, popř. pomocného vyhodnocovacího zařízení. [11, 12]

2.2.1 Složení spektrofotometrického přístroje

- **Zdroje záření**

V praxi se zpravidla setkáváme se zářením zdrojů, jež není ani čistě koherentní ani nekoherentní a nejvýše se některé z těchto krajních variant přibližují.

Zdrojem koherentního záření zpravidla bývá oscilační obvod, kterému je plynule dodávána energie a poskytuje nepřetržitý sled elektromagnetického vlnění.

V případě nekoherentního záření může být zdrojem atom nebo molekula, kde energie dovoleného kvantového přechodu se v korpuskulární představě vyzáří

jako foton. Reálný zářič se skládá z velkého množství atomárních zářičů, přičemž děje těchto elementárních zářičů spolu nijak nesouvisí a proto vyzáření kvanta nemají ani fázi ani souhlasnou polarizaci.

Lasery, jako zdroje záření, se vyvíjí od roku 1960. V těchto zdrojích je elektromagnetickým polem velké hustoty energie vynucena současná emise aktivních center (atomů, iontů, molekul) uložených v optickém rezonátoru. Lasery jakožto optické kvantové generátory vysílají svazek skoro paralelních paprsků koherentního záření buď kontinuálně, nebo v krátkých pulsech. Změna doby trvání pulsu se označuje jako řízení režimu laseru a změna vlnové délky emitovaného záření jako ladění laseru. [11, 12]

- **Základní optika**

Základní optiku spektrálního přístroje tvoří zařízení, které slouží především k rozptylu zářivého toku a plní vlastní funkci přístroje. Jedná se o rozkladné hranoly, ohybové mřížky, interferometry, zesilovací zařízení, filtry, štěrbiny, polarizační zařízení, kyvety atd. Optické hranoly slouží k rozdělení polychromatického svazku rovnoběžných paprsků na základě lomu (refrakce). Mřížky plní stejnou funkci jako hranoly na základě ohybu (difrakce). [11, 12]

- **Pomocná optika**

Pomocná optika je tvořena soustavou čoček, clon, zrcadel, odrazných hranolů apod. Vytváří a vede přístrojem svazek paprsků tak, aby bylo maximálně využito zářivého toku zdroje a aby byl v kritických místech přesně definován. [11, 12]

- **Detektory**

Detektory slouží k indikaci záření a bývají doplněny zesilovači a převodníky. Zářivý tok, coby vstupní signál, vstupuje do detekčního obvodu detektorem, následně je zesílen na energii, která je transformovatelná do výstupního signálu. Hlavní charakterizující veličina detektoru je fotometrická veličina, která je detekovaná např. jas, tok, expozice. Důležitá je citlivost detektoru, která charakterizuje výstupní signál, jež odpovídá jednotkovému vstupu. Další důležitou vlastností je odezva detektoru, která vyjadřuje závislost výstupního signálu na vstupním. Rozsah spektra, ve kterém dává detektor prakticky významnou odezvu, je nazýván pracovním rozsahem. Absolutní, nebo taky prahová citlivost je dána minimálním, prakticky vyhodnotitelným vstupním signálem. Některé detektory mají i plošnou rozlišovací schopnost. Jako detektory se při spektrální analýze mohou použít oči, fotonky, fotonásobiče, fotoelektrické články,

odporové články, termoelektrické články, diodová pole, Geiger-Müllerovy trubice. [11, 12]

- **Vyhodnocovací zařízení**

Vyhodnocování může být prováděno člověkem, např. odečítáním hodnot vychýlení ručičky na stupnici detektoru, nebo v dnešní době nejčastěji zpracováním výstupního elektrického signálu počítačem. Počítač v závislosti na tom jaký využívá software, může vypracovat nejrůznější grafy (spektra) a tabulky obsahující informace získané analýzou. [11, 12]

2.2.2 Charakter emisního spektra

Oblast optických atomových spekter se nachází v rozmezí od 3 do 1500 nm elektromagnetického vlnění. Atomová optická spektra lze pozorovat jednak jako emisní, kdy atomy záření vysílají, jednak jako absorpční, kdy atomy záření naopak záření absorbují. [11, 12]

Elektron volného atomu se může nacházet jen na určitých energetických hladinách. K přechodu na jinou energetickou hladinu elektronu přijímá, nebo odevzdává energii odpovídající rozdílu těchto hladin resp. energetického rozdílu orbitalů. Energie elektronů je tak „kvantována“. Nejmenší energetické kvantum je rovno rozdílu dvou energeticky nejbližších orbitalů. Vráť-li se elektron z orbitalu o energii E_n na orbital E_m , vyzáří foton o energii E . Ten má charakteristickou frekvenci ν (vlnovou délku λ) [12]:

$$E = E_n - E_m = h\nu = (hc) / \lambda$$

V molekulách se vyskytují různé vazebné, protivazebné a nevazebné orbitály, molekula má určité hladiny rotační a vibrační energie. Elektron jako součást molekuly má tak nesrovnatelně více možností elektronových přechodů. Volné elektrony tedy mohou poskytovat spektra různých vlnových délek a intenzity odpovídajících jejich přechodům. Proto je emisní spektrum tvořeno obrovským množstvím blízko sebe umístěných čar, které splývají v pásy. Obsahuje-li spektrum zdánlivě spojitý interval vlnových délek, které jsou vyzařovány, jedná se o tzv. pásové spektrum. Emisní spektra lze dělit následovně:

- **Atomová neboli čárová spektra**

Atomy, resp. ionty nacházející se v plynném stavu, ve zdroji vysílají záření o omezeném počtu frekvencí, které lze i přístroji střední disperze rozložit na čárová

spektra, tj. na soubory monochromatických obrazů vstupní štěrbiny spektrálního přístroje - spektrálních čar. [11, 12]

- **Molekulová neboli pásová spektra**

Přítomnost molekul nebo radikálů vzniklých tepelnou disociací se projeví pásovými spektry těchto složek. Pásová spektra jsou prezentována řadou velmi blízkých, nebo nerozlišitelných čar. Jednotlivé čáry můžeme rozlišit jen spektrometrem s velmi vysokou rozlišovací schopností. Pásových spekter se k analytickým účelům téměř nepoužívá. Většinou analýzu znesnadňují, jelikož komplikují spektra a proto se je snažíme spíše potlačit. [11, 12]

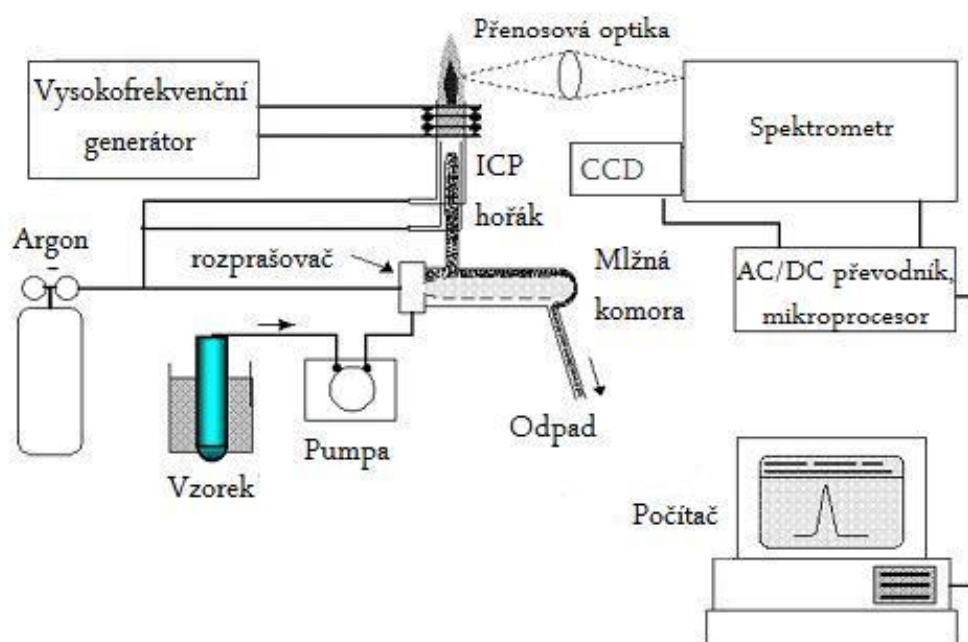
- **Kontinuální spektra**

Kontinuální spektra vyzařují pevné, kapalné i plynné substance. Vyzařování je rozděleno nepřetržitě na celý rozsah vlnových délek a toto rozdělení závisí na teplotě. Toto víceméně intenzivní spojitě spektrum nazýváme pozadí, které limituje citlivost jakýchkoli metod spektrální analýzy. Pokud by čáry čárového spektra měly mnohem nižší intenzitu než pozadí, byly by tímto pozadím překryty. [11, 12]

2.3 Emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

ICP OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry)

Metoda ICP OES patří do skupiny atomové emisní spektrometrie, při které se využívá vysokofrekvenčního pole k udržení argonového plazmatu, které vzorku dodává dostatečnou energii k excitaci atomů. Pomocí ICP OES je možno analyzovat kapalné a plynné látky. Má-li látka pevné skupenství, je nutné jej nejprve do kapalného skupenství převést. Používá se ke stanovení stopových i významných množství jednotlivých prvků. Citlivost metody se pohybuje řádově v jednotkách ppb až stovkách ppm. Pomocí této metody jsme schopni stanovit téměř všechny prvky periodické tabulky. Vzorové schéma přístroje pro ICP OES je znázorněno na obrázku 8. [2, 3,5]



Obr. 8 vzorové schéma přístroje pro ICP OES

2.3.1 Princip ICP OES

Nejprve se roztok převede do aerosolu. Následně je proudem argonu dopraven do hořáku, kde je pomocí střídavého vysokofrekvenčního magnetického pole udržováno argonové plazma. Toto plazma má teplotu v rozmezí od 6000 do 10 000 K. Tato teplota má za důsledek zánik chemických vazeb v molekulách vzorku a excitaci atomů do vyšších energetických hladin. Při návratu atomu do stabilního energetického stavu dochází k emisi záření o charakteristických vlnových délkách pro konkrétní atom prvku. Toto záření je dáno rozdílem energetických hladin atomu. [2, 3, 5]

$$\Delta E = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

Kde ΔE je energetický rozdíl hladin elektronu v atomu, h je Planckova konstanta (6.626×10^{-34} Js), ν je frekvence světelného vlnění, c je rychlost světla ve vakuu a λ je vlnová délka světla. Emitované záření je pomocnou optickou soustavou směřováno do základní optiky přístroje. Zde dojde k rozptylu záření a výběru sledované vlnové délky záření. Záření o konkrétní vlnové délce je pak směřováno na detektor, který zachytí a převede na digitální informaci, kterou dále počítač vyhodnotí a v závislosti na programovém vybavení interpretuje uživatel. [2, 3, 5]

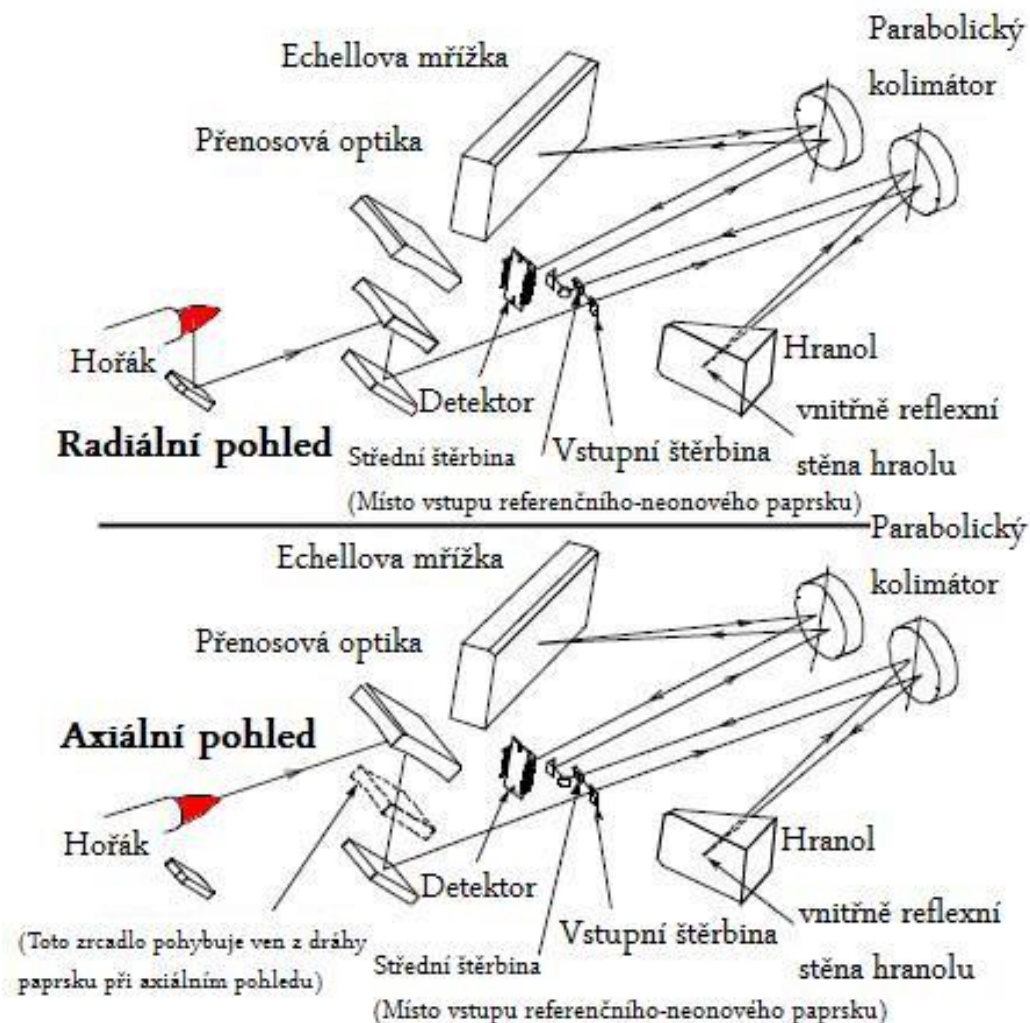
2.3.2 Přístroj Optima 2100 DV

Tento přístroj je určený pro rychlé standardní i speciální analýzy založené na metodě ICP OES (optické emisní spektrometrii).

Přístroj současně natáčí optickým hranolem i mřížkou a průměrný čas k nastavení konkrétní vlnové délky je kratší než 2 sekundy. Duální systém monochromátoru, díky velice dobré světelné propustnosti, umožňuje kvalitní rozdělení záření na vlnové délky bez ztráty kvality zářivého toku. Kromě toho je pro korekci vlnové délky měřeno referenční spektrum neonového záření. K dispozici jsou dvě štěrby pro výběr vlnové délky, jež jsou optimalizovány pro pásma UV a VIS záření, které systém automaticky vybírá. [15, 28]

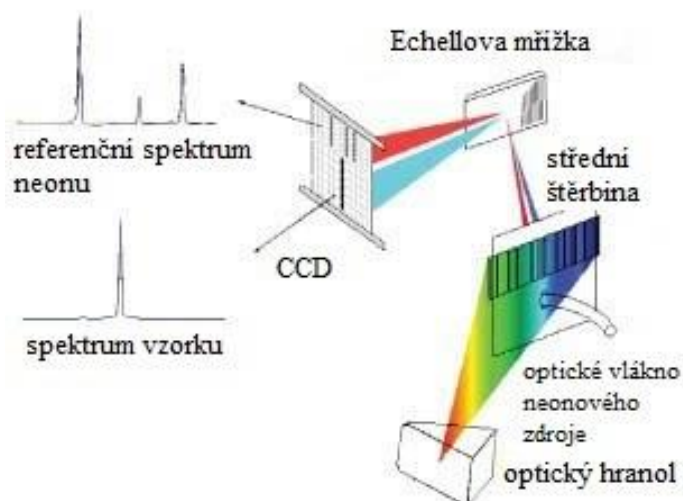
Systém obsahuje kompletní duální optiku v rámci počítače a softwaru ovládání. Každá vlnová délka může být použita v radiální a axiální ose nebo ve smíšeném režimu zobrazení. Počítač natáčí zrcadla umístěná v optickém systému a umožňuje výběr axiálního nebo radiálního zobrazení (obr. 9) a nastavení prohlížení plazmy v obou polohách. Celý spektrometr i jeho optika jsou plněny argonem nebo dusíkem. Běžný provozní průtok plynu je 2 l / min. Pro optimální výkon je navýšen na 4 l / min při

vlnových délkách $< 200 \text{ nm}$. Pohotovostní průtok je 1 l / min . Spektrometr využívá Littrowovu konfiguraci s Echellovou mřížkou, která má 79 vrypů / mm . Spektrální rozsah od 160 do 900 nm s rozlišením $< 0,009 \text{ nm}$ při 200 nm . [15, 28]



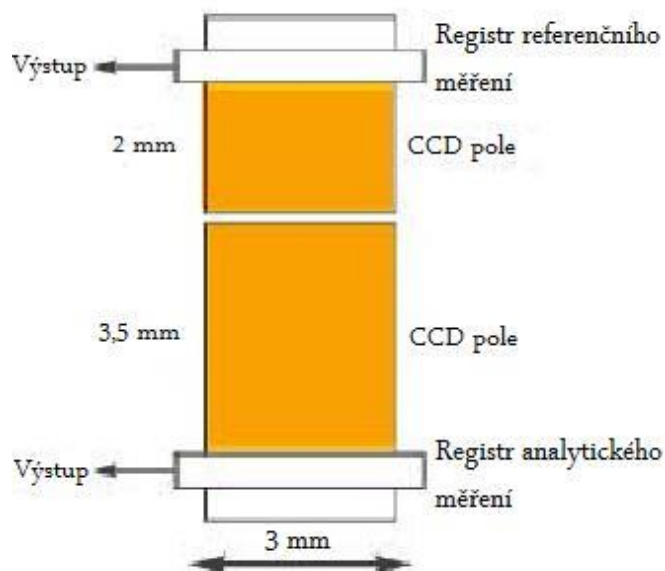
Obr. 9 schéma optické soustavy přístroje Optima 2100 DV [15]

Dynamická stabilizace vlnové délky - vlnová délka referenční části detektoru sleduje celé vlnové spektrum neonu, které slouží k aktivní nápravě pozice vlnových délek (obr. 10). Výsledná přesnost vlnové délky a reprodukovatelnost umožňuje přímé "na špičku" měření. Celková stabilita je řízena na základě údajů teploty a tlaku čidel v krytu optiky. [15]



Obr. 10 schéma průchodu paprsků přístrojem Optima 2100 DV [15]

Přístroj využívá UV citlivý duální CCD detektor (obr. 11), který je hermeticky uzavřen, naplněn suchým dusíkem a chlazen integrovaným Pettierovým chladičem na -8°C . Automatické duální snímání zajišťuje nejnižší detekční limity a nejširší pracovní rozsahy.



Obr. 11 schéma detektoru přístroje Optima 2100 DV [15]

Dvou prostorový CCD detektor obsahuje přibližně 25 600 pixelů. Jeho plocha je rozdělena do dvou různě velkých polí, které se používají pro oddělené referenční a analytické měření. Tyto části sbírají spektrum analytu a blízkého pozadí, což umožňuje současnou korekci pozadí, větší přesnost a urychlují analýzu. K analytickému měření dochází ve větším spodním poli. Zadní část plochy detektoru je

ztenčena o pár mikrometrů, aby byla maximalizována kvantová účinnost bez použití fluorescenčního nátěru v 240 nm oblasti. [15, 28]

Přístroj Optima 2100 DV využívá dvou základních typů konfigurací. Jedná se o radiální a axiální konfiguraci. Axiální konfigurace umožňuje snížení šumu pozadí a tím zvýšení detekčního limitu přístroje. Radiální konfigurace oproti tomu může radikálně minimalizovat vlivy matrice. Simultánně lze analyzovat až 60 různých prvků současně, bez snížení detekčních limitů a přesnosti analýzy. [15, 28]

2.4 Spektrometrie laserem indukovaného mikroplazmatu

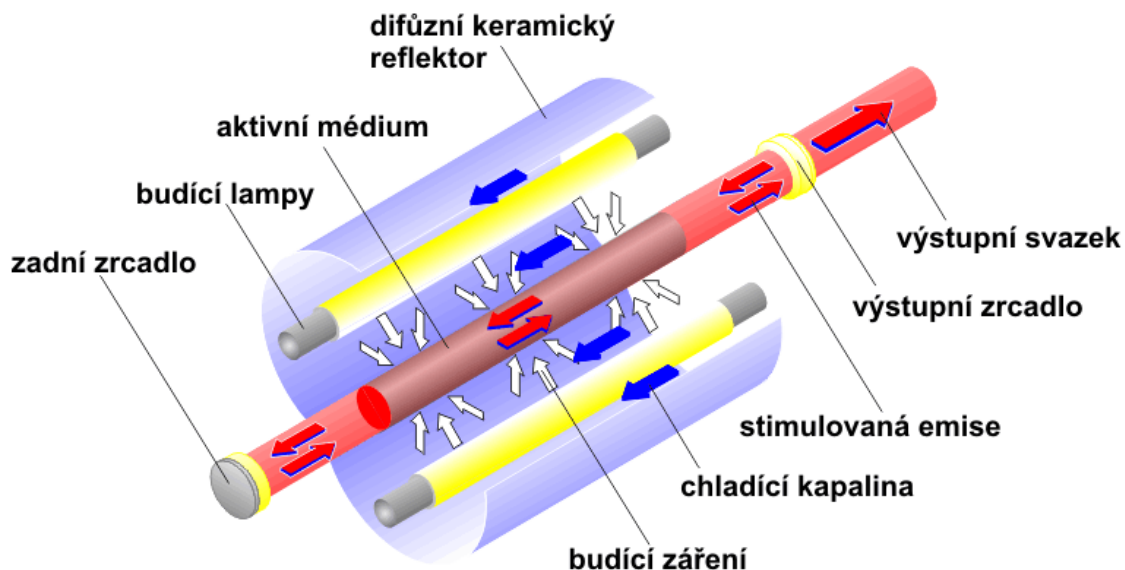
LIBS (Laser Inducted Breakdown Spectrometry)

Metoda LIBS patří do skupiny atomové emisní spektrometrie, při níž se využívá emisního záření mikroplazmatu vyvolaného laserovým zářením. Pomocí této metody mohou být analyzovány plyny, kapaliny i pevné látky. Metodou LIBS lze využít při kvalitativní i kvantitativní analýze. Metoda LIBS vychází z metod označovaných jako LIPS (Laser Inducted Plasma Spektrometry), LAS (Laser Ablation Spektrometry), či LSS (Laser Spark Spektrometry). [4, 6, 8]

2.4.1 Princip laseru

Laser je optický zesilovač, generující elektromagnetické záření (světlo) pomocí procesu stimulované emise fotonů. Světlo je z laseru vyzařováno ve formě úzkého svazku buď kontinuálně, nebo v krátkých pulsech a na rozdíl od světla přirozených zdrojů je koherentní a monochromatické. [18,19]

Laser je tvořen aktivním prostředím, rezonátorem a zdrojem energie (obr. 12). Zdrojem energie je do aktivního média dodávána energie. Tato energie vybudí elektrony aktivního prostředí ze základní energetické hladiny do vyšší energetické hladiny, dojde k tzv. excitaci. Tímto je do vyšších energetických stavů vybudena většina elektronů aktivního prostředí a vzniká tzv. inverze populace. Při opětovném přestupu elektronu na nižší energetickou hladinu dochází k vyzaření (emisi) kvanta energie ve formě fotonů (kvanta elektromagnetického záření). Tyto fotony následně interagují s dalšími elektrony inverzní populace, čímž spouštějí tzv. stimulovanou emisi fotonů se stejnou frekvencí a fází i u nich. Díky umístění aktivní části laseru do rezonátoru, tvořeného například zrcadly, dochází k odrazu paprsku fotonů a jeho opětovnému průchodu prostředím. To dále podporuje stimulovanou emisi, a tím dochází k exponenciálnímu zesilování toku fotonů. Výsledný světelný svazek pak opouští rezonátor průchodem skrze výstupní polopropustné zrcadlo. [18, 19]



Obr. 12 schéma laseru [19]

Důležité je, že při procesu stimulované emise má dopadající a emitovaný foton stejnou energii (frekvenci), stejný směr, polarizaci a fázi. Z tohoto plynou tři základní vlastnosti laseru, které ho odlišují od jiných zdrojů záření. [19]

Svazek laseru je:

- Kolimovaný – nerozbíhá se
- Monochromatický – „jednobarevný“, tzv. generované fotony mají stejnou frekvenci resp. vlnovou délku
- Koherentní – generované fotony jsou tzv. ve fázi jak časové tak prostorové

2.4.2 Princip metody LIBS pevných látek

Koherentní laserový paprsek lze pomocí optické soustavy zaměřit na malou plochu povrchu vzorku o průměru řádově jednotek až stovek μm . Při dostatečné energii světelného toku dochází k tzv. laserové ablaci, což je soubor procesů, které probíhají při interakci laserového paprsku se vzorkem. Ablace zahrnuje destruktivní děje (např. erozi, explozi, sublimaci), vznik tlakové vlny a mikroplazmatu o vysoké teplotě až 15000 K. Během krátkého časového úseku mikroplazma expanduje nadzvukovou rychlostí, ochlazuje se a vyzáří energii. Toto emisní záření atomů a iontů nese informace o kvalitativním i kvantitativním složení vzorku. Mikroplazma vyzařuje

i kontinuální záření, avšak toto záření nevypovídá nic o kvalitativním ani kvantitativním složení. [4, 6, 9]

U kovů energii z laseru absorbují elektrony z vodivostního pásu. Elektrony způsobují stínění iontů mřížky a zabraňují tak přímé interakci iontů se zářením. Laserem indukovaná excitace se dále šíří pomocí kolizí vybuzených elektronů s mřížkou. [4, 6, 9]

V případě polovodičů a izolantů je excitace způsobována elektrony i ionty. Vodivostní pás u izolantů není obsazený vůbec a u polovodičů je obsazen elektrony jen částečně. Absorpce záření tak vede převážně k tvorbě páru elektron – díra. Pouze při vysokých hodnotách energií zářivého toku lze dosáhnout výskytu významného počtu elektronů ve vodivostním pásu a generovat volné elektrony. [4, 6, 9]

Procesy excitace a vznik mikrop plazmatu se u fyzikálních stavů a složení liší počátkem. Může nastat děj zvaný frakcionalizace při němž je rozdílné složení vypařovaného materiálu a vzorku. Tento děj může být způsoben různými vlivy. Převážně se vyskytuje při termickém mechanismu. Potlačit jej je možné vhodným výběrem vlnové délky, energii zářivého toku či délkou pulzu. Následné procesy jsou podobné. Ablatovaná substance se formou volných elektronů a vysoce ionizovaných atomů šíří nadzvukovou rychlostí a vytváří se tlaková vlna. Tento oblak stále absorbuje energii dodávanou laserovým zářením a vytváří se mikrop plazma. V okamžiku, kdy ustane dodávka energie, mikrop plazma v důsledku kolizí s okolními částicemi vzduchu ztrácí svou energii a dochází k rekombinačnímu procesu elektron-ion. Nastává zvýšení hustoty neutrálních látek v post-plazmatickém oblaku a dochází k tepelné a koncentrační difuzi částic s okolním plynem tzv. vyhasínání mikrop plazmatu. Tento proces obvykle trvá od stovek mikrosekund po milisekundy od vzniku mikrop plazmatu.

Výsledek analýzy může negativně ovlivnit vedle již zmíněné frakcionalizace i stínění mikrop plazmatem. Při tomto ději mikrop plazma vzniklá při interakci vzorku s laserovým paprskem může absorbovat laserové záření, nebo jej odrážet. Ovlivnit se dá tento děj energií zářivého toku, délkou pulsu, nebo vlnovou délkou laserového záření. [4, 6, 9]

• Kvalitativní a kvantitativní analýza

Každý prvek má své charakteristické spektrum, ze kterého lze vyčíst o jakých vlnových délkách a energiích je záření při analýze emitováno. Tyto spektra jsou pro každý prvek natolik specifická, že jsou přirovnávány k otiskům prstů. Tyto spektra

jsou obsažena v knihovnách, které jsou při analýze spekter vzorku využívány. Intenzita specifických spekter prvků vypovídá o kvantitativním zastoupení prvku ve vzorku. [4, 9]

2.4.3 Přístroj LEA S500

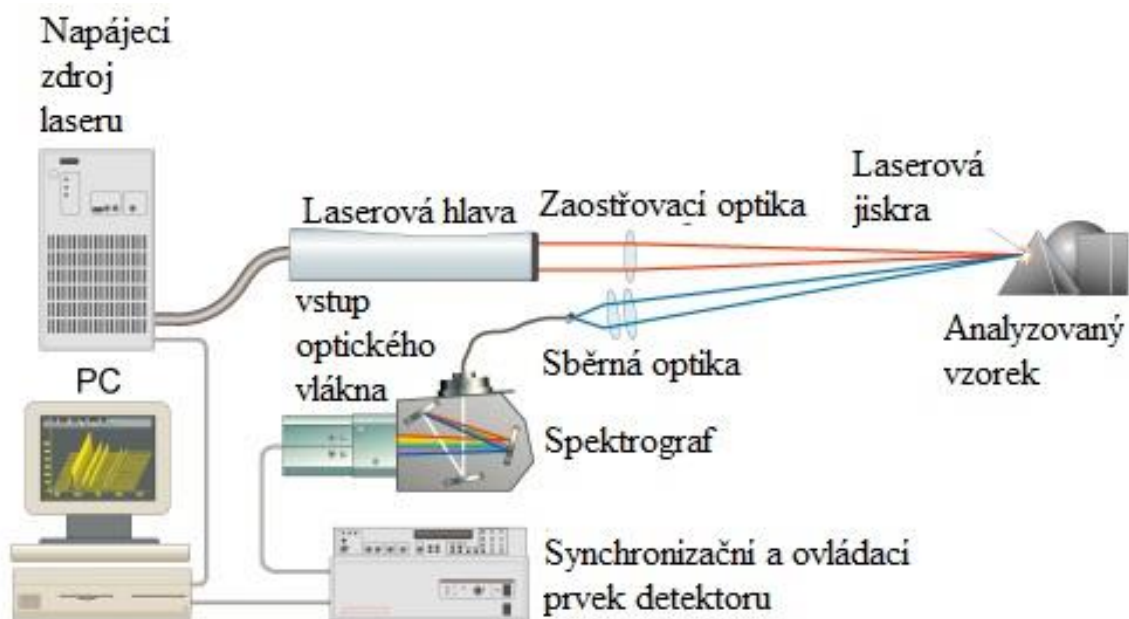
Laserový emisní spektrometr LEA S500 využívá nanosekundového dvoupulsního (Nd:YAG) laseru, optického systému s velmi citlivým širokospektrálním detektorem se simultánním záznamem spekter. Rozsah destrukce materiálu je u této metody tak malý, že se označuje jako minimálně destruktivní, v některé literatuře se dokonce metoda řadí mezi nedestruktivní. [6, 7]

Přístroj LEA S500 je využíván:

- K určování chemického prvkového složení kovů, slitin, skleněných, keramických, plastických, práškových, kombinovaných a kompozitních materiálů, minerálů a ostatních látek a materiálů.
- K měření koncentrace prvků a jejich sloučenin v analyzovaném vzorku
- K analyzování specifických ploch (bodů) vzorků s použitím umístovacího a vizualizačního zařízení
- Ke kvalitativnímu, semi-quantitativnímu a kvantitativnímu analýzám prvkového složení surových materiálů, složek, prostředků, nečistot, vložek ve všech fázích výroby a také pro kontrolu koncových výrobků ve stavebnictví, cihelnách, povrchových lomech, skláren, rudném hornictví, zpracovatelských podniků, hutnictví a ostatních podniků, laboratoří a také ve výzkumu.

Přístroj LEA S500 se skládá z následujících základních částí: laseru, posuvné platformy, optického systému, spektrometru a časově synchronizovaného detektoru. Vzorek je umístěn uvnitř ablační komory opatřené okénkem z taveného křemene a povrch vzorku je možné sledovat pomocí CCD kamery (Obr. 13). [6, 7]

Mimo jiné se přístroj LEA 500 skládá další servisní jednotek zajišťující jednoduché a bezpečné měření jako jsou systém vytvářející vakuum, který odjímá vzduch z ablační komory (prostoru), optický systém a systém který zajišťuje vizualizaci povrchu, umístovací systém, který zajišťuje umístění vzorku do správné polohy vůči laseru. [6, 7]



Obr. 13 schéma přístroje LEA S500 [16]

- **Nanosekundový Nd:YAG laser**

Jedná se o pevnolátkový dvou-pulzní Q-switched Nd:YAG laser pracující na základní frekvenci infračervené oblasti elektromagnetického spektra s vlnovou délkou 1064 nm. [6, 7]

Tento typ laseru využívá aktivního prostředí krystalu yttrito-hlinitého granátu dopovaného neodymem. Laser působí jako zdroj pulzního záření působícího na povrch analyzovaného materiálu. Specifickou vlastností tohoto laseru je schopnost pracovat v dvou-pulzním režimu. K buzení tohoto laseru se používá pulzní xenonová výbojka.

Laser emituje dva pulsy s časovým odstupem do 20 μ s, délkou pulzu 10 ns, energií pulzu 80 - 150 mJ, plocha dopadu laserového paprsku 0,2 – 1,2 mm a hustotou zářivého výkonu 0,7 – 50 HW/cm². [6, 7]

Pomocí dvou-pulzního laseru se dosahuje zvýšení teploty plazmatu, prodloužení času trvání plazmatu a v některých případech zvýšení ablatované hmoty. Tímto se docílí získání co největších intenzit spektrálních čar při vytvoření co nejmenšího ablačního kráteru.

- **Spektrometr**

Přístroj LEA S500 využívá spektrometr (monochromátor) typu Czerny Turner. Tento spektrometr se využívá ke shromažďování elektromagnetického záření emitovaného atomy plazmy a také k prostorové disperzi světla na jeho monochromatické složky. Tímto je možné detekovat rozdělení vlnových délek jejich

intenzit (detekovat atomová emisní spektra). Konstrukční parametry spektrometru můžou být stanoveny na základě analyzovaných látek a materiálů a identifikovaných prvků. Hlavními parametry spektrometru jsou výsledná spektra, rozlišení a výkonnost.

Lineární disperze je nejdůležitější informací spektrometru využívajícího polární lineární detektor. Lineární disperze charakterizuje lineární rozestup (měřeno v ohniskové rovině přístroje) mezi paprsky dvou blízkých vlnových délek – $d\lambda/d\lambda$ – a je vyjádřena v jednotkách mm/nm. Tuto jednotku je možné jednoduše převést na $d\lambda/\text{pixel}$, což vyjadřuje aktuální hodnotu výkonu přístroje využívajícího polovodičovým (intenzifikovaný) CCD detektor. [6, 7, 15]

Lineární disperze optické mřížky funkčně souvisí s hustotou drážek mřížky a také s ohniskovou vzdáleností objektivu detekčního systému. S rostoucím množstvím drážek na milimetr a delší ohniskovou vzdáleností roste výpovědní hodnota vlnových délek analyzovaného spektra. S rostoucí hustotou drážek nicméně roste i lineární disperze. Toto redukuje rozsah detekovatelných vlnových délek a zužuje spektrální interval detekovaného spektra v daném momentu ve vztahu k dané celkové detekční ploše přístroje. [6, 7, 15]

- **Detektor**

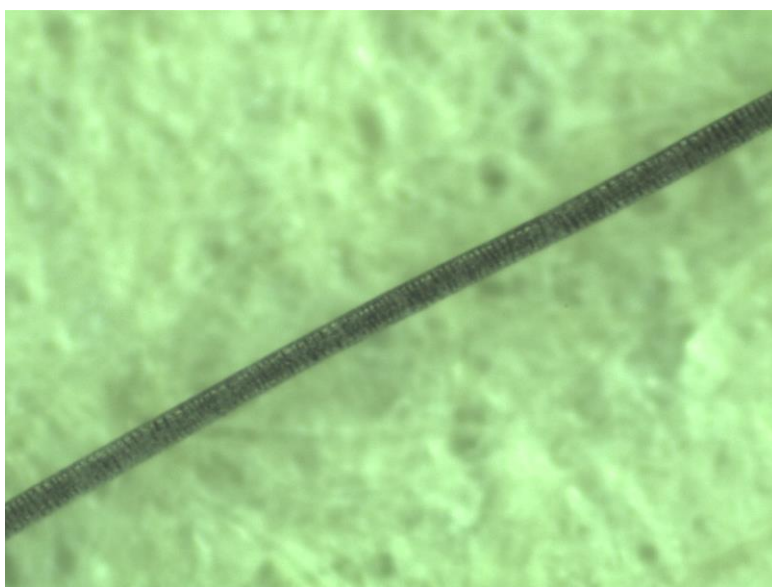
Emise plazmy (okamžitá intenzita spektrálních čar) není konstantní v čase, ale mění se z nuly na maximum a poté padá znovu na nulu během doby existence plazmy. V počáteční a konečné fázi života plazmy, intenzita spektrálních čar je srovnatelná s kontinuem produkovaným volnými elektrony. Bylo by opodstatněné očekávat časový rozklad 1 μs z detekčního systému, aby se umožnilo měření spektrální intenzity v nejvhodnější okamžik. Nicméně, můžeme jen těžko těžít z detekčního systému s takovým časovým rozlišením, jehož cena je srovnatelná s cenou celého přístroje LEA S500. Efekt kontinua může být v podstatě eliminovaný pomocí několikanásobného stanovení. [6, 7, 15]

Charakter pulzu procesu „laser-plazma“ zaručuje načasování detektoru a laseru. Po přijetí signálu z laseru, detektor produkuje sekvenci synchronizovaných pulzů. Možnost synchronizace s pulzy laseru, dostatečná citlivost a možnost rychlého zapnutí/vypnutí jsou důležitými požadavky na detektor. Přesné časové nastavení „detekčního okna“ je velice důležité a je předmětem optimalizace každé dané aplikace. Čas zpoždění je důležité volit pečlivě, protože během pulzu laseru a krátce po něm se emise mikroplazmatu vyznačuje vysokým spojitým pozadím, které je za analytického hlediska nevyužitelné. [6, 7, 15]

3 Experimentální část

3.1 Popis vláken

Králičí chlupy byly odřezávány z kožky králíka domácího. Barva chlupů byla černá a bílá (obr 14 a 15). Pro metodu FTIR byly separovány z kožky pesíkové, krycí i podsadové, rozděleny byly pouze na základě barvy. Stejné dělení bylo i pro metodu ICP-OES. Pro metodu LIBS byly separovány pesíkové a krycí chlupy pro jejich velikost a s tím spojenou přijatelnost tvorby vzorku. Podsadové chlupy jsou příliš jemné a zkroucené na to, aby se dal z nich vzorek požadovaného uspořádání připravit.



Obr. 14 *černý králičí chlup*



Obr. 15 *bílý králičí chlup*

3.2 FTIR spektrometrie

Porovnání absorpce záření bílými a černými králičími chlupy je nezbytná z důvodu verifikace metody LIBS k analýze těchto vzorků. Porovnává se absorpce záření o frekvenci shodné se zářením emitovaným laserem. Snahou je vyloučení rozdílné interakce vzorků se zářením, které metoda LIBS využívá. K této zkoušce byla zvolena FTIR spektrometrie (Fourier-Transform Infrared – technika). Jedná se o spektrometrii v blízké infračervené oblasti. Ke měření byla využita ATR technika (krystal Ge), přístroj - Nicolet iZ10 s knihovnou spekter - HR Spectra Polymers a Plasticizers.

3.3 Prvková analýza srovnávací metodou ICP OES

3.3.1 Příprava vzorku

Základem přípravy vzorku bylo rozpustit králičí chlupy, tak aby nebyl výsledek ovlivněn množstvím, či typem rozpouštědla.

Do 10ml odměrné baňky byly vpraveny 2g vzorku a rozpuštěny v roztoku s obsahem 35% aktivního chloru a obsahující 5% NaOH při teplotě 20°C.

Vzorky pro analýzu byly tři. První vzorek obsahoval pouze rozpouštědlo tzv. „blank“, druhý obsahoval černé chlupy a třetí bílé chlupy.

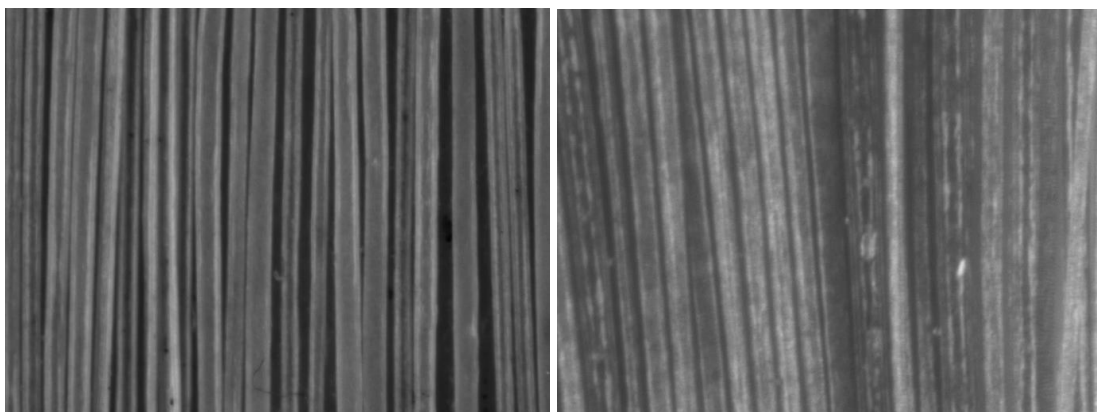
Měření bylo provedeno na přístroji OPTIMA 2100DV.

3.4 Prvková analýza metodou LIBS

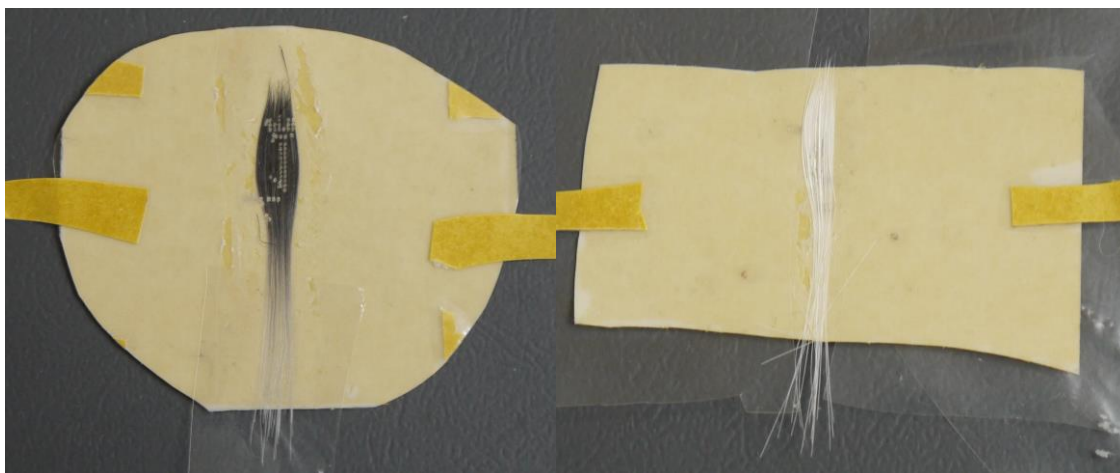
• Příprava vzorků lepením chlupů na lepicí pásku

Pro potřeby analýzy po délce vláken bylo nutné dosáhnout co nejdelšího požadovaného zaplnění vzorků. Podařilo připravit vzorek požadovaných vlastností o použitelné maximální délce maximálně 15mm.

Nejprve byly chlupy pokládány na lepicí pásku pomocí pinzety, co nejbližší vedle sebe. Jak je patrné z obr. 16 tato metoda se ukázala jako nedostatečná jelikož se i při maximální snaze nedařilo dosáhnout dostatečného zaplnění plochy vzorku. Jako vyhovující se ukázala metoda (obr. 17), při které došlo nejprve uchycení konce chlupu na lepicí pásku, a zbylý chlup se pomocí jehly přimačkával na předchozí chlup, po kterém sklouzl a uchytil se na pásku těsně vedle předchozího chlupu. Tímto postupem se dařilo lepit chlupy těsně vedle sebe po většině délky chlupu vyjma začátku a konce. Výsledný vzorek je zobrazen na obr. 18.



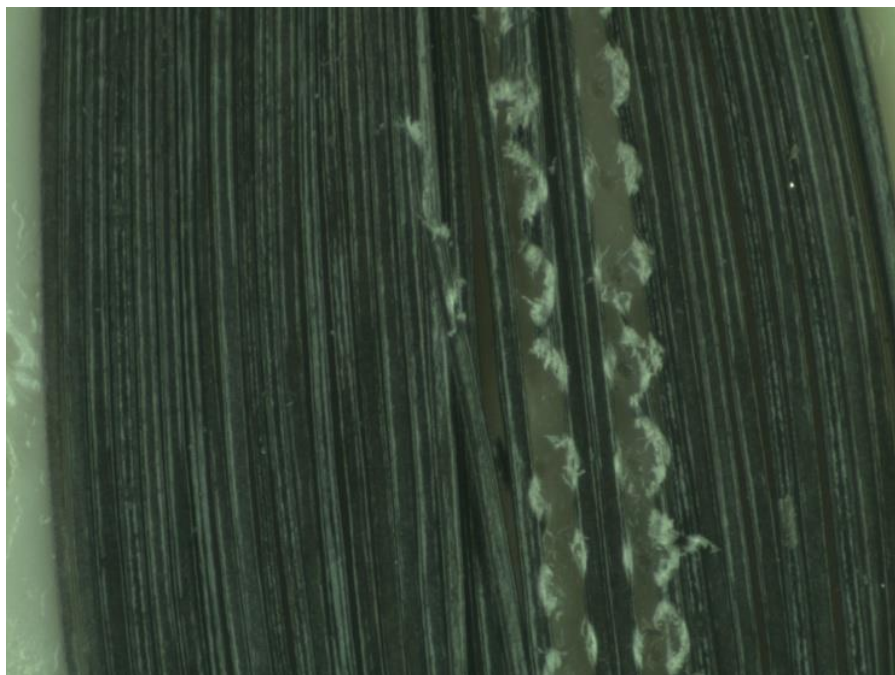
Obr. 16 chlupy lepené pomocí pinzety **Obr. 17** chlupy lepené pomocí pinzety a jehly



Obr. 18 vzorek černých a bílých chlupů

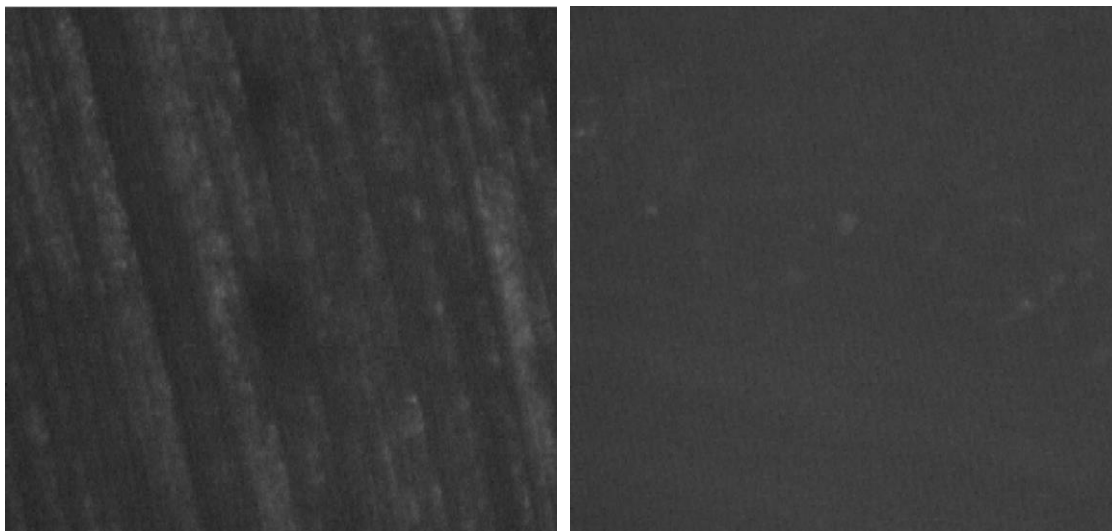
V první řadě byla provedena analýza vláken v rozsahu vlnových délek od 200 nm po 800 nm. Z důvodu možného ovlivnění výsledků lepicí páskou, na které byly chlupy nalepeny, byla provedena analýza i této pásky.

Během analýzy dochází k částečné destrukci vzorku a je nutné si dát pozor na orientaci vláken tak, aby nedocházelo k destrukci v ose vláken, jelikož hrozí uvolnění přerušného vlákna, jak je patrné z obr. 19.



Obr. 18 vzorek po analýze metodou LIBS s uvolněným vláknem

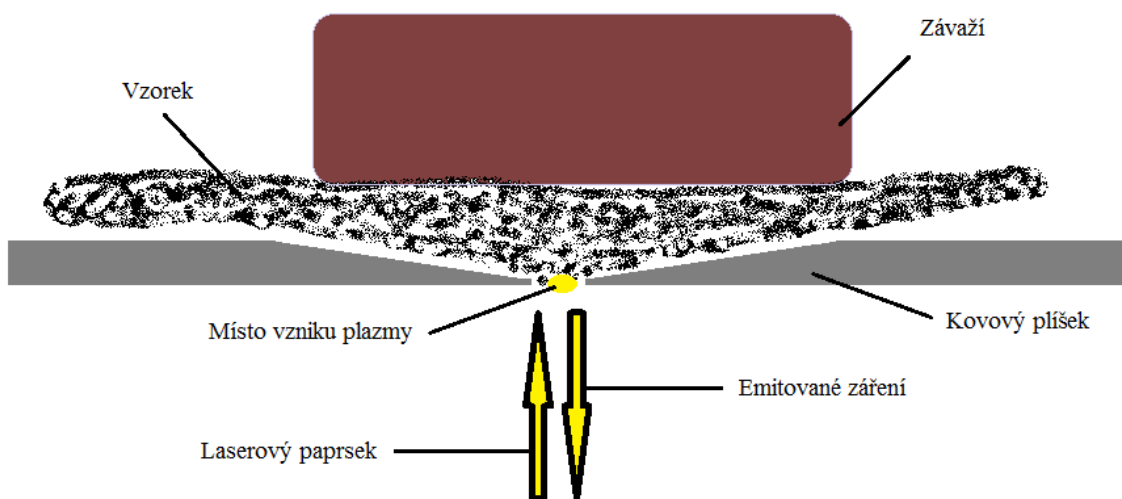
I když přístroj LEA S500 poskytuje pohled na vzorek v přístroji a umožňuje shlédnout proces vzniku plazmatu (pálení chlupu), obraz pohledu na vlákna nemá dostatečnou vypovídací hodnotu, aby mohla obsluha vždy jednoznačně říct, zda došlo k „pálení“ chlupu, nebo podkladu což je patrné z obr. 19 a 20.



Obr. 19 a 20 zobrazení černého chlupu (vlevo) a bílého (vpravo) přístrojem LEA S500

- **Úprava měřicí geometrie pro analýzu chlupů na kůži**

Výše uvedené problémy s uspořádáním vzorku byly vyřešeny pomocí úpravy měřicí geometrie znázorněné na obrázku 21 a vzorku samotného. Na otvor detektoru, na který se vkládal vzorek, byl nejprve umístěn tenký plíšek s otvorem o průměru 2 mm (obr. 22) a přichycen oboustrannou lepicí páskou. Tento plíšek, byl v okruhu otvoru zbrúšen z důvodu minimalizace jeho výšky. Na tento plíšek se vkládal vzorek ve formě vyříznuté části kůže, což snížilo pracnost přípravy vzorku na minimum. U výběru části kůže bylo třeba se vyvarovat nerovným částem a povrchovým kazům. Vzorek kůže s chlupy byl vyčesáním zbaven nečistot a ihned připraven k analýze viz obr. 23. Z důvodu zvýšení hustoty výskytu chlupů v detekční oblasti byl vzorek zatížen dvěma závažími. Spodní závaží o hmotnosti 149 g s průměrem 40 mm a vrchním o hmotnosti 162g a průměru 35 mm. Postup vkládání vzorku do detekční část přístroje je znázorněn na obrázcích 24 - 26.



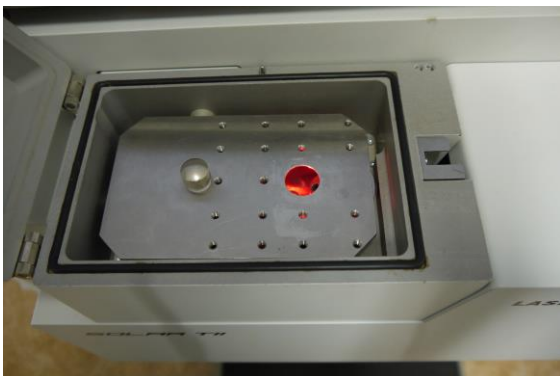
Obr. 21 schéma úpravy měřicí geometrie přístroje LEA S500



Obr. 22 plíšek pro úpravu měřicí geometrie přístroje LEA S500



Obr. 23 *Vzorky s černými a bílými chlupy pro LIBS*



Obr. 24 *detekční otvor přístroje LEA S500*



Obr. 25 *umístění clony z kovového plíšku do detekčního prostoru*



Obr. 26 *umístění vzorku v detekční části přístroje po změně geometrie měření*

- **Nastavení přístroje LEA S500**

Pro prvotní analýzu celého rozsahu spektra černých a bílých chlupů od 200 nm do 800 nm bylo vybráno nastavení, které se používá při analýze vlasů. Pro docílení optimálního měření zinku ve vzorku byly testovány různé hodnoty nastavení přístroje. Jako nejlepší řešení vyšlo nastavení, které se lišilo oproti původnímu v energii laseru, kde byla hodnota zvýšena z 20 na 27 J. Přehled nastavených hodnot je znázorněn na obr. 30.

Detector		Spectrometer	
Name	Value	Name	Value
Scan array	79	Wavelength, nm	405
As active graph	YES	Slit width, mkm	25
Accumul. type	Aver	Turning slit	0
Accumul. count	10	Turn. slit mode	Auto
Counter limit	1	Filter	
Make blank flashes	YES	Use WL correction?	YES
Blank flashes count	5	Auto WL correction	YES
Backgr. subtr.	YES	Telescope, mkm	250
Store series, mkm	NO	Light	255
Update view each scan?	NO		
Vacuum		Laser	
Name	Value	Name	Value
Leak	500	Lamp energy, J	20
Auto Vacuum	NO	Q-SW1 delay, mks	140
Auto clean	NO	Q-SW2 delay, mks	147
Pump time, msec	3000	Single channel	2-impulse

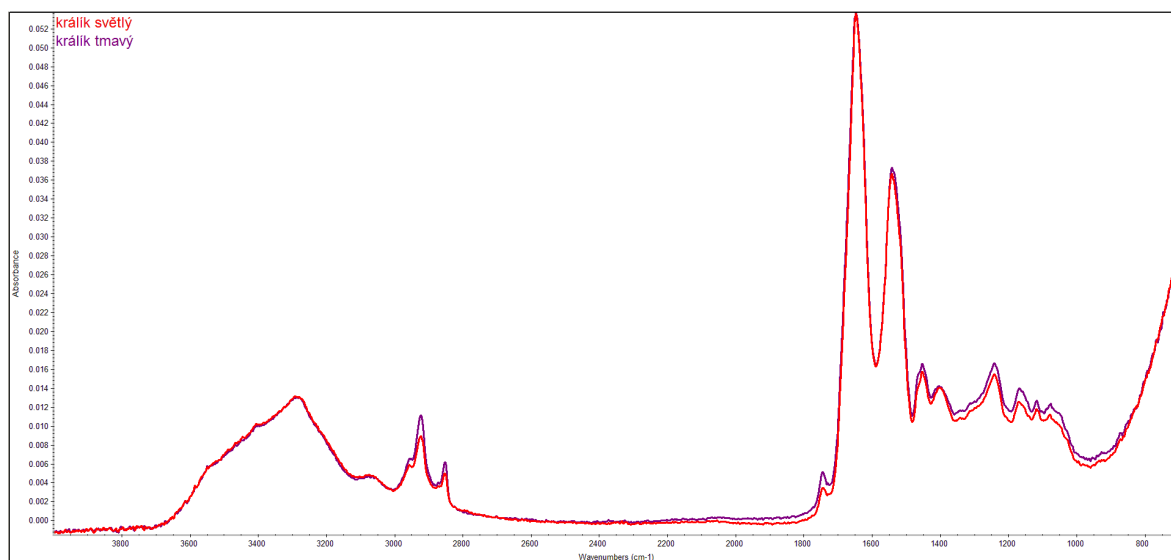
Obr. 27 hodnoty nastavení přístroje LEA S500

4 VÝSLEDY MĚŘENÍ

4.1 FTIR spektrometrie

Výsledkem FTIR spektrometrie je následující spektrum zobrazeno na obr. 28. Kde je vidět porovnání absorbance králíčích chlupů černých (tmavých) a světlých, které se v podstatě od sebe neliší.

Rozdíl v barvě způsobují látky, které jsou v chlupech přítomny v tak malém množství, že je nelze pomocí FTIR spektrometrie detekovat, nebo to jsou látky, které jsou v IR spektru neaktivní. Obě spektra chlupů odpovídají stejné směsi bílkovin a proteinů.



Obr. 28 Absorpční spektrum FTIR (červená - bílý chlup, modrá - černý chlup)

4.2 Výsledné hodnoty analýzy metodou ICP OES

Tabulka 2 výsledky prvkové analýzy na přístroji Optima 2100DV

koncentrace kovů [mg/l]	blank	černé	bílé
Cd	<0,005	<0,005	<0,005
Be	<0,001	<0,001	<0,001
As	<0,01	<0,01	<0,01
Ni	<0,01	<0,01	<0,01
Zn	0,065	1,19	1,34
Pb	<0,01	<0,01	<0,01
Fe	0,008	0,0054	0,0073
Sb	<0,01	<0,01	<0,01
Mn	0,005	0,007	0,007
Co	<0,01	<0,01	<0,01

Z výsledných hodnot rozboru rozpouštědla tzv. „blanku“, černých a bílých králíčích chlupů uvedených v tab. 2 je zřejmé, že vzorky obsahovaly stopová množství prvku Cd, Be, As, Ni, Sb a Co jejichž množství byly na hranici detekčních limitů přístroje. Nelze s jistotou tvrdit, zda se tyto prvky nacházely pouze v rozpouštědle, nebo i v králíčích chlupech.

U obsahu železa je otázkou, jestli pokles hodnot u chlupů oproti čistému roztoku je v toleranci odchylky měření přístroje, nebo tento jev dán jinou skutečností.

Z výše uvedených hodnot je zřejmé, že králíčí chlupy obsahovaly Mn a Zn. Hodnoty Cr a Mn obsažené v chlupech jsou minimální oproti Zn, který je obsažen v chlupech několikanásobně více.

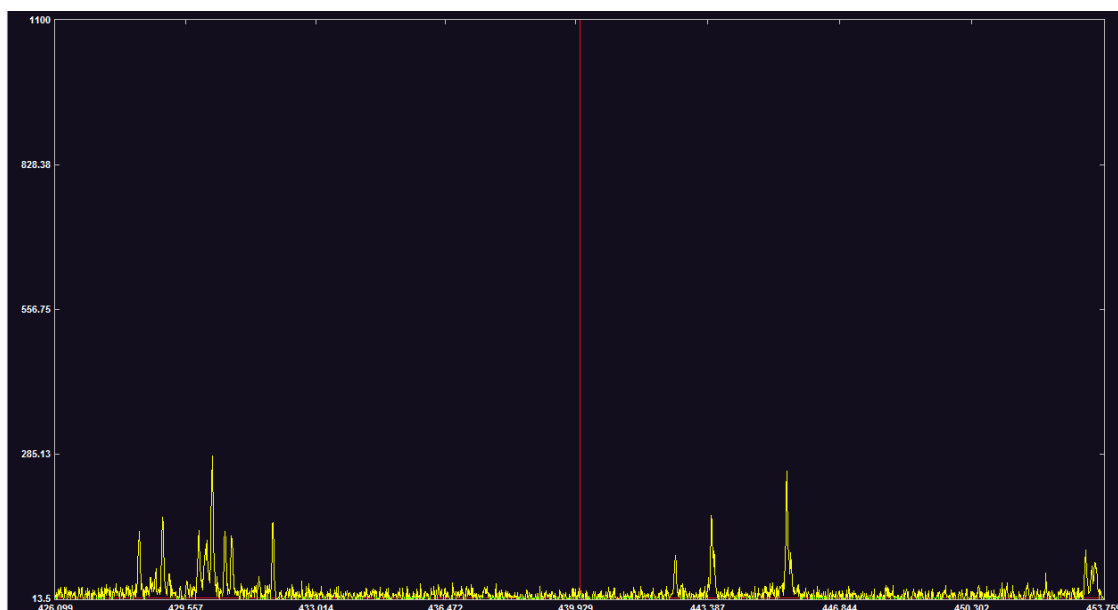
4.3 Výsledné hodnoty analýzy metodou LIBS

- **Analýza králíčních chlupů na lepicí pásce**

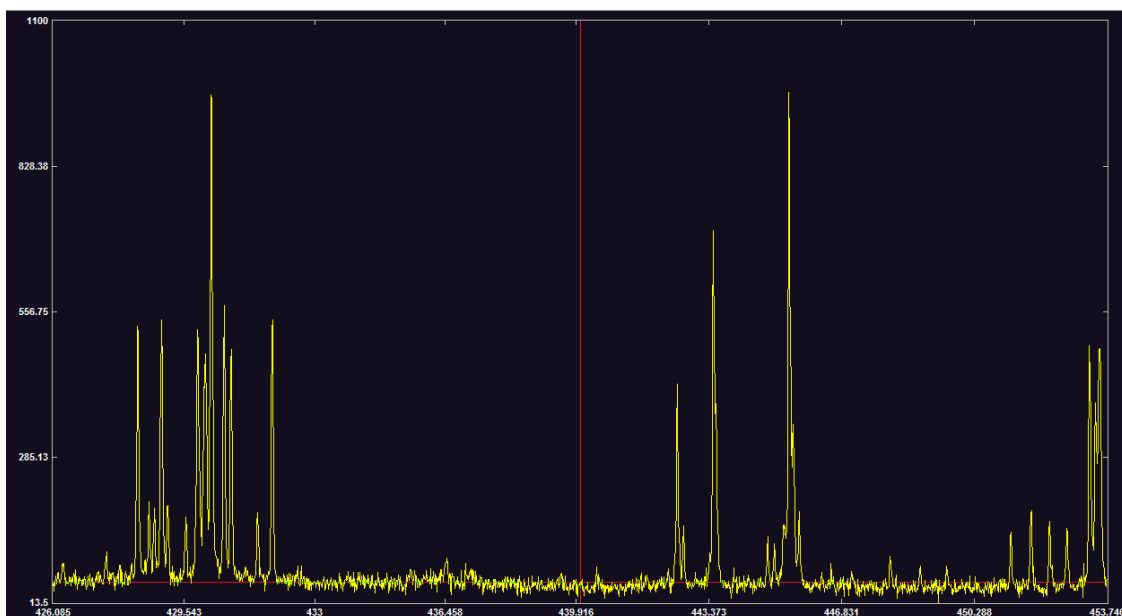
Nejprve byly vzorky králíčních chlupů připraveny nalepením do souvislé vrstvy na oboustrannou lepicí pásku výše uvedeným postupem. U těchto vzorků chlupů bylo naměřeno spektrum od 200 nm po 800nm v 30 nm intervalech pro černé i bílé chlupy. Z důvodu kontroly výsledků bylo změřeno spektrum podkladu vzorku (lepicí pásky).

Při analýze těchto spekter byl objeven pík Cr na vlnové délce 428,9716 a pík Fe na vlnové délce 430,792. Výskyt těchto prvků v králíčních chlupích byl potvrzen metodou ICP OES byť v množství jednotek tisícín mg/l. K těmto dvěma píkům byl přidán k analýze ještě pík C, o jehož přítomnosti v chlupích není pochyb. Aby se dalo vzhledem k němu posoudit, jestli se koncentrace Fe a Cr skutečně mezi bílými a černými chlupy liší.

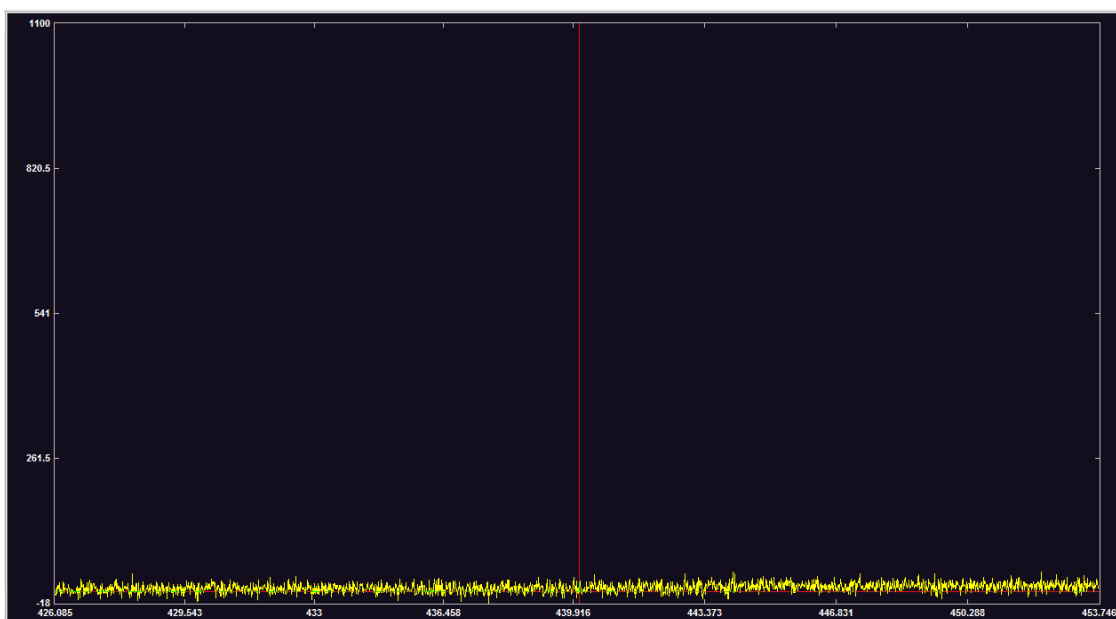
Při načítání spekter v rozsahu od 425 nm do 455 nm, ve kterém se píky Cr a Fe nacházely, došlo po nějaké době i k načtení spektra, kde jakékoli píky chyběly, viz Obr. 29, 30 a 31. Jelikož ze zobrazení místa „pálení“ vzorku na přístroji nebylo jisté, zda se laserem člověk trefil do chlupu nebo mezi ně, přišlo na řadu porovnání spekter králíčních chlupů a lepicí pásky. Bylo zjištěno, že spektra králíčních chlupů ve většině případů celého rozsahu od 200 nm do 800 nm obsahují píky, které se vyskytují i u lepicí pásky.



Obr. 29 Absorpční spektru chlupu od 425 nm do 455 s píky lepicí pásky

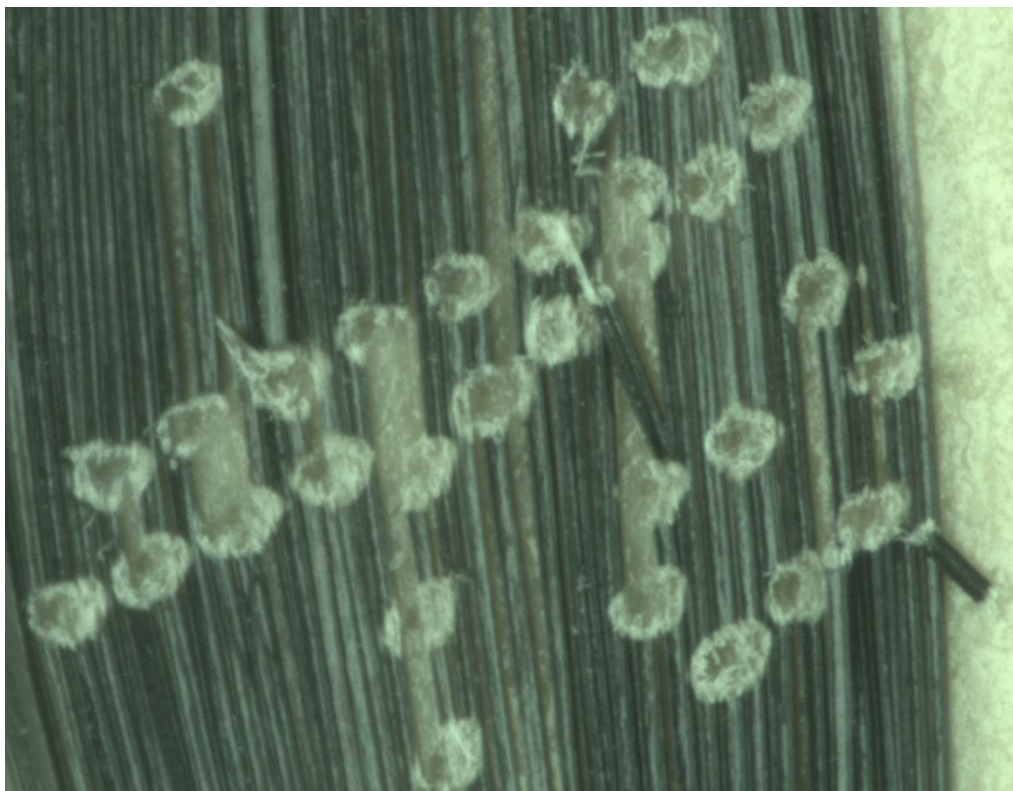


Obr. 30 Absorpční spektrum lepicí pásky od 425 nm do 455 nm



Obr. 31 Absorpční spektrum chlupu od 425 nm do 455 nm bez píků lepicí pásky

Při podrobnějším pohledu na obr. 32 je patrné, že krátery po pálení vzorku jsou i na lepicí pásce. Tím bylo dokázáno, že nebylo „páleno“ mezi chlupy, ale že docházelo k propalování chlupů.



Obr. 32 *Detail propáleného vzorku*

Aby se problém s pálením pásky vyřešil, muselo se změnit uspořádání vzorku. Prvním pokusem bylo příčné překládání chlupů na lepicí pásce přes sebe. První vrstva šla nalepit relativně snadno. Problém nastal u druhé vrstvy. Při snaze napnutý chlup přilepit po přeložení přes první vrstvu na pásku tyto chlupy po napnutí a přitisknutí k pásce často praskaly. Dalo se předpokládat, že při porušení chlupů při analýze tyto chlupy budou odpadat, nebo se minimálně odchlípnout a nepřispějí tak k dobré využitelnosti obtížně připravitelného vzorku. Problém se podařilo vyřešit změnou geometrie měření a vzorku viz obr. 21 str. 31.

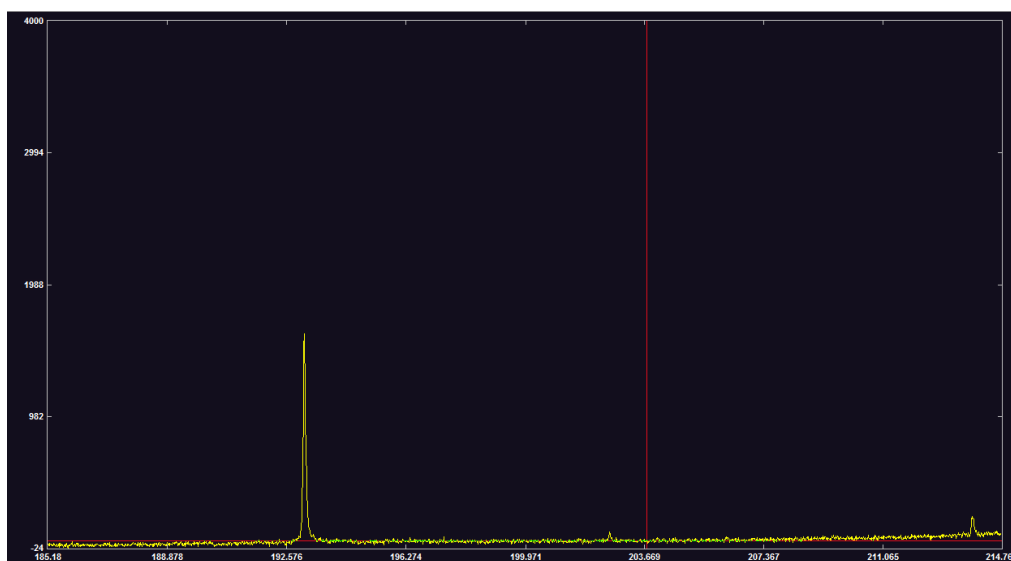
- **Analýza chlupů na kůžce se změněnou geometrií měření**

Se změněnou geometrií měření bylo naměřeno spektrum od 200 nm po 800nm v 30 nm intervalech. V tomto rozsahu se při základním nastavení vyskytly píky C, Fe, Si, Co a K.

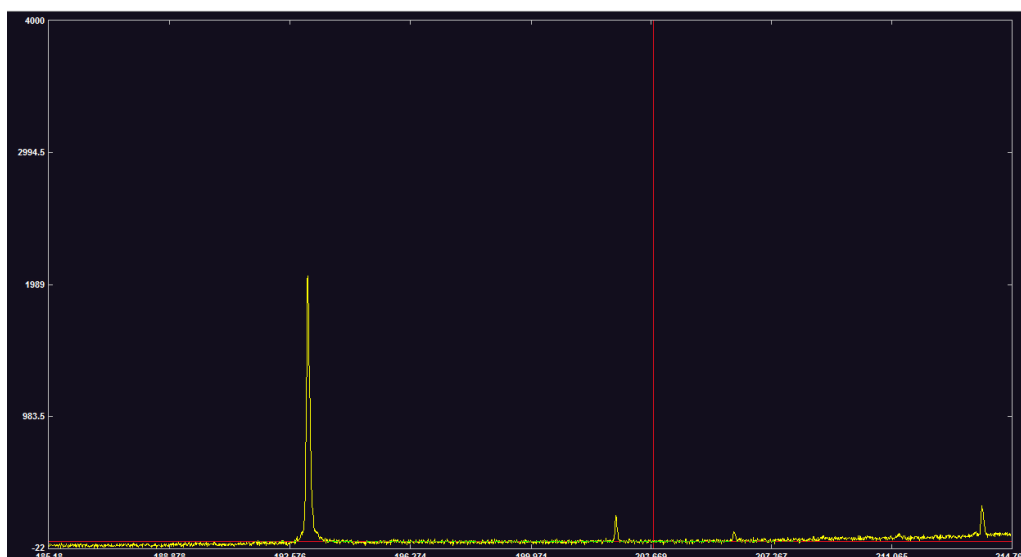
Dílčím cílem této práce bylo najít možnost porovnání bílých a černých chlupů na základě prvkového složení a porovnat výsledky se srovnávací metodou. Pro tento účel přicházel v úvahu pouze Zn, který se ve spektru měřeném při základním nastavení nevyskytoval. Bylo nutné v knihovně najít údaj, při jakých vlnových délkách se vyskytuje a měnit nastavení přístroje, dokud nebyl nalezen. Měnilo se nastavení

hodnoty energie laseru z původních 20 J na 18, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26 (obr. 33), 27 (obr. 35) a 28 J (obr. 37). Z těchto hodnot nastavení vycházelo nejlépe spektrum naměřeno s energií laseru 27 J. Byly pak vyzkoušeny i hodnoty bližší 27J tj. 26,5 J (obr. 34), a 27,5 J (obr. 36).

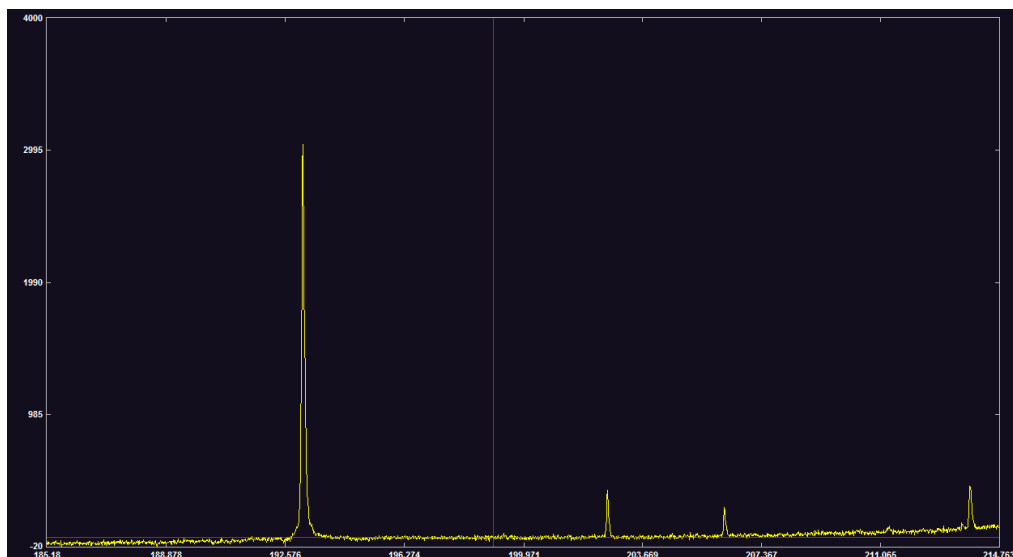
Jako optimální byla zvolena hodnota energie laseru 27J, při které se ve spektru vyskytoval kromě dvou píků Zn i pík C. Pík uhlíku byl sledován pro účely porovnání rozptylu a objemu Zn v bílých a černých vláknech. Bylo provedeno 30 měření u bílých chlupů a 30 u černých chlupů.



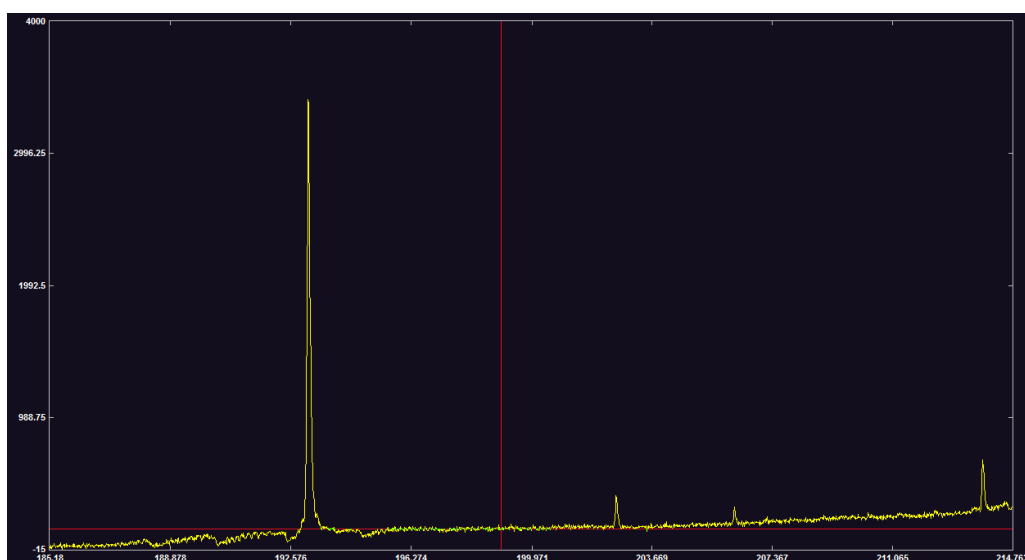
Obr. 33 spektrum vzorku s píky C a Zn při energii laserového záření 26 J



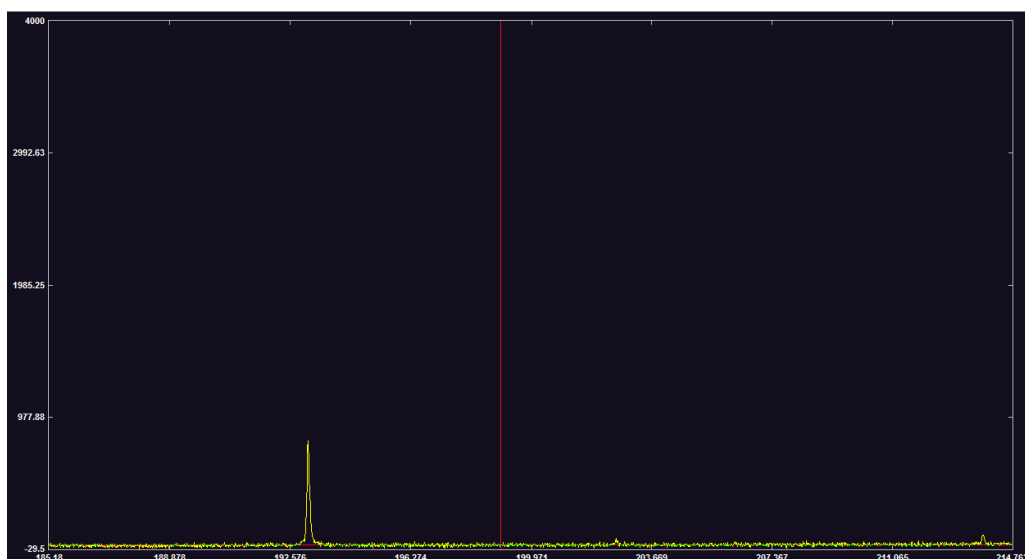
Obr. 34 spektrum vzorku s píky C a Zn při energii laserového záření 26,5 J



Obr. 35 spektrum vzorku s píky C a Zn při energii laserového záření 27J



Obr. 36 spektrum vzorku s píky C a Zn při energii laserového záření 27,5 J



Obr. 37 spektrum vzorku s píky C a Zn při energii laserového záření 28 J

4.4 Vliv tuku a pigmentů na absorpci ozonu

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

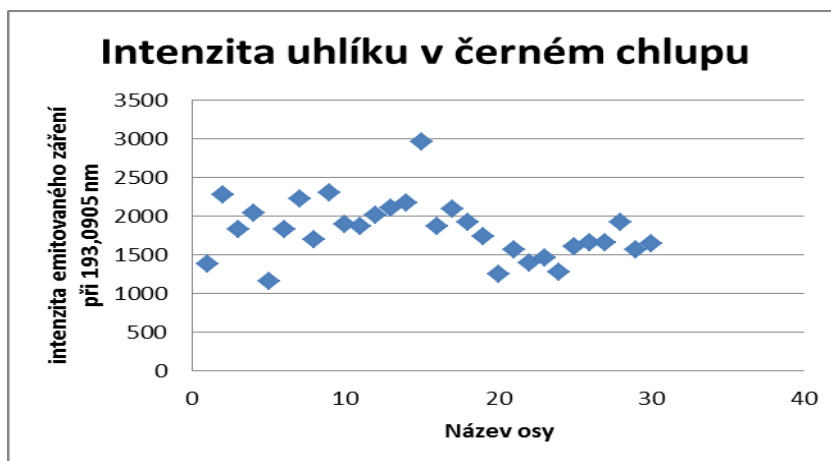
Porovnání intenzit píků C s vlnovou délkou 193,0905 nm v bílém a černém chlupu



Obr. 38 grafické znázornění intenzit píků C při 193,0905 nm v bílých chlupech

Tabulka 3 statistické hodnoty intenzit píků C při 193,0905 nm v bílých chlupech

Bílý chlup - C	Střední hodnota vrcholu píku 193,0905 nm	Střední hodnota intenzity pozadí 192,692 nm	výsledná intenzita píku
střední hodnota	1873,63	21,60	1852,03
Směrodatná odchylka	669,96	11,04	664,43
Variační koeficient		51,12 %	35,88 %

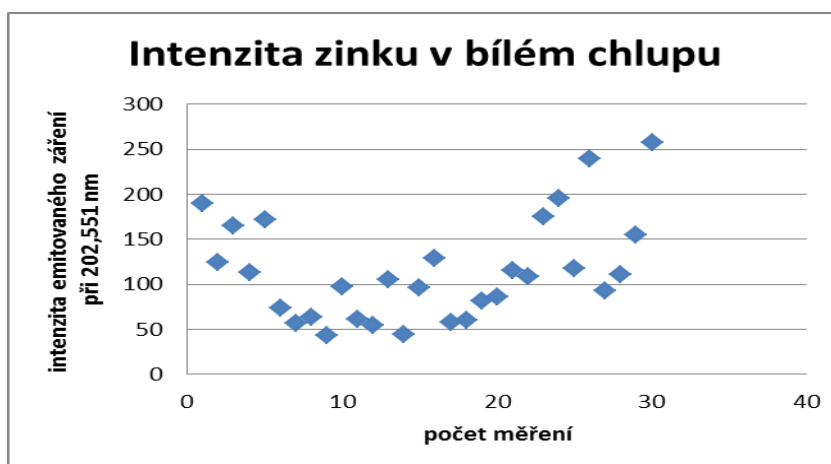


Obr. 39 grafické znázornění intenzit píků C při 193,0905 nm v černých chlupech

Tabulka 4 statistické hodnoty intenzit píků C při 193,0905 nm v černých chlupech

Černý chlup - C	Střední hodnota vrcholu píku 193,0905 nm	Střední hodnota intenzity pozadí 192,692 nm	výsledná intenzita píku
střední hodnota	1830,67	15,68	1814,98
Směrodatná odchylka	375,61	10,92	370,91
Variační koeficient		69,60 %	20,44 %

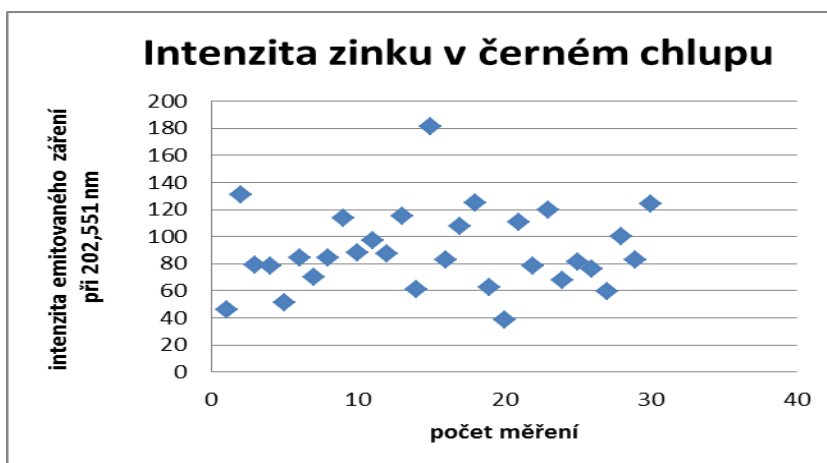
Porovnání intenzit píků zinku v bílém a černém chlupu ve dvou vlnových délkách.



Obr. 40 grafické znázornění intenzit píků Zn při 202,551 nm v bílých chlupech

Tabulka 5 statistické hodnoty intenzit píků Zn při 202,551 nm v bílých chlupech

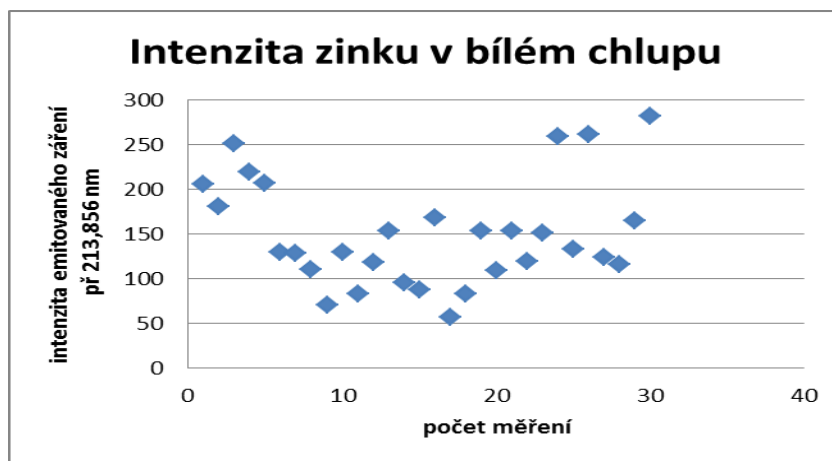
Bílý vlas - Zn	Střední hodnota vrcholu píku 202,551 nm	Střední hodnota intenzity pozadí 202,494nm	výsledná výška píku
střední hodnota	151,95	37,38	114,57
Směrodatná odchylka	67,76	22,87	55,75
Variační koeficient		61,18 %	48,66 %



Obr. č. 41 grafické znázornění intenzit píků Zn při 202,551 nm v černých chlupech

Tabulka 6 statistické hodnoty intenzit píků Zn při 202,551 nm v černých chlupech

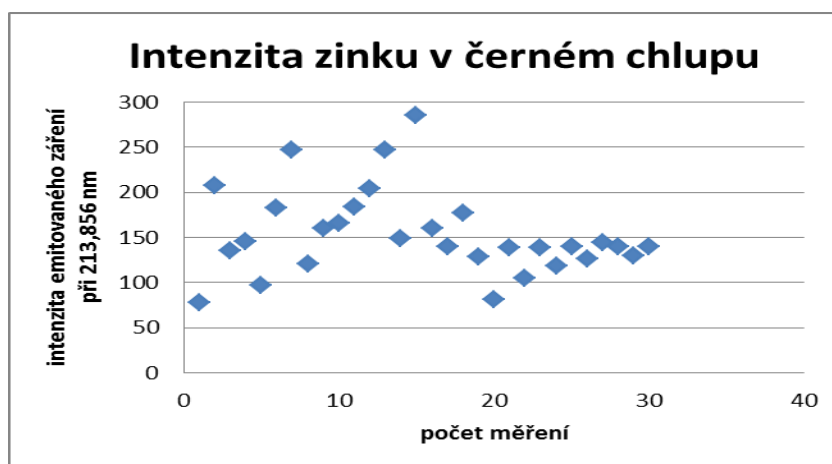
Černý vlas - Zn	Střední hodnota vrcholu píku 202,551 nm	Střední hodnota intenzity pozadí 202,494nm	výsledná výška píku
střední hodnota	120,95	31,57	89,38
Směrodatná odchylka	35,27	14,67	29,29
Variační koeficient		46,48 %	32,77 %



Obr. 42 grafické znázornění intenzit píků Zn při 213,856 nm v bílých chlupech

Tabulka 7 statistické hodnoty intenzit píků Zn při 213,856 nm v bílých chlupech

Bílý vlas - Zn	Střední hodnota vrcholu píku 213,856 nm	Střední hodnota intenzity pozadí 213,778 nm	výsledná výška píku
střední hodnota	234,07	83,80	150,27
Směrodatná odchylka	82,91	37,01	58,91
Variační koeficient		44,16 %	39,20 %



Obr. 43 grafické znázornění intenzit píků Zn při 213,856 nm v černých chlupech

Tabulka 8 statistické hodnoty intenzit píků Zn při 213,856 nm v černých chlupech

Černý vlas - Zn	Střední hodnota vrcholu píku 213,856 nm	Střední hodnota intenzity pozadí 213,778 nm	výsledná výška píku
střední hodnota	236,78	82,67	154,12
Směrodatná odchylka	64,21	26,89	46,60
Variační koeficient		32,53	30,24

Z výše uvedených statistických hodnot vyplývá, že rozložení Zn v chlupech na rozdíl od C je nerovnoměrné.

Tabulka 9 *průměrné hodnoty intenzity emisního záření a jejich poměrné zastoupení*

LIBS	prvek	Intenzita emise záření		Poměrné zastoupení bílého a černého chlupu ve spektru pro jednotlivý pík	Poměrné zastoupení bílého a černého chlupu pro konkrétní prvek
		bílý chlup	černý chlup		
	C	1852,03	1814,98	1,02	1,125
	Zn (1)	114,57	89,38	1,28	
	Zn (2)	150,27	154,98	0,97	

Tabulka 10 *obsah Zn v bílých a černých chlupech a hodnota poměrného zastoupení*

ICP-OES	prvek	obsah		Poměrné zastoupení Zn u bílého a černého chlupu
		bílý chlup	černý chlup	
	Zn	1,34	1,19	1,126

Z výše uvedených tabulek 7 a 8 vyplývá, že intenzita píků Zn v poměrném zastoupení bílých a černých chlupů se liší v obou vlnových délkách. Avšak průměr poměrného zastoupení intenzit píků v těchto dvou vlnových délkách s hodnotou 1,125 v podstatě odpovídá hodnotě 1,126 poměrného zastoupení obsahu Zn v bílých a černých chlupech metodou ICP OES.

6 ZÁVĚR

Diplomová práce se zabývala složením králíčích chlupů, jejich prvkovou analýzou a možností jistit zda se různé barvy chlupů od sebe liší i složením kovů. Hlavním cílem bylo ověření použitelnosti spektrometrie laserem buzeného plazmatu LIBS na proteinových vláknech.

Nejprve bylo v rámci přípravy nutné ověřit, zda králíčí chlupy bílé a černé barvy neabsorbují rozdílně záření o vlnové délce 1064 nm. Záření této vlnové délky je využíváno laserem přístroje LEA S500 k vytvoření mikrop plazmatu. Pokud by docházelo k rozdílné interakci chlupů se zářením, bylo by nutné vybrat jiný zdroj chlupů než králíka domácího. K tomuto byla použita infračervená spektroskopická metoda FTIR. Výsledek analýzy byl příznivý a potvrdil, že obě barvy králíčích chlupů mají stejnou absorpci záření.

Následovala klasická analýza obsahu prvků v chlupcích formou spektroskopie s indukčně vázaným plazmatem ICP OES. Tato metoda prokázala přítomnost několika kovů v králíčích chlupcích, nejčastěji však na hranici detekčního limitu přístroje Optima 210DV.

K vlastní analýze bílých a černých králíčích chlupů metodou LIBS bylo zvoleno nastavení, které se úspěšně používá k prvkové analýze jiných proteinových vláken, kterými jsou lidské vlasy. Při přípravě vzorků bylo dbáno na to, aby vrstva chlupů byla na lepicí pásce souvislá po maximální možné délce a tím se docílilo co největší analyzovatelné plochy vzorku. Vzorky bílých i černých chlupů byly proměřeny v celém spektru od 200 nm do 800 nm. V dílčím spektru od 425 nm do 455 nm se vyskytly píky Fe. Při opakovaném proměření těchto spekter došlo ke zjištění, že dochází k propalování chlupů a zmíněné prvky jsou z lepicí pásky. Na základě tohoto zjištění bylo nutné změnit způsob přípravy vzorků i geometrie měření.

Došlo v první řadě k zjednodušení způsobu přípravy vzorků, při kterém je nutné pouze najít rovnou část kůže s chlupy jednotlivé barvy. Tuto část kůže vyříznout a vyčesáním zbavit nečistot. A v druhé řadě úpravě měřicí geometrie vložení tenkého plíšku mezi detektor a kůžku s chlupy. Kůžku je třeba zatížit závažími z důvodu zajištění konstantního zaplnění měřicího prostoru chlupy. S tímto způsobem přípravy měření bylo opět proměřeno celé spektrum od 200 nm do 800 nm. V tomto rozsahu se při základním nastavení vyskytly píky C, Fe, Si, Co a K.

Z výsledků srovnávací analýzy ICP OES bylo zřejmé, že má-li se prověřit možnost porovnání bílých a černých chlupů na základě prvkového složení, je bylo by ideální najít ve spektru pík Zn. Tento prvek se však při původním nastavení přístroje ve spektru neprojevil. V knihovně vzorků byly vzhledány vlnové délky výskytu Zn a upraveno nastavení energie laseru tak, aby bylo možné poměrné zastoupení Zn v bílých a černých chlupech ověřit.

Z výpočtu směrodatné odchylky bylo zřejmé, že rozložení Zn v chlupech není oproti tak C rovnoměrné. Avšak výsledná průměrná hodnota poměrného zastoupení emise záření Zn v bílých a černých chlupech (LIBS) se s poměrnou hodnotou obsahu Zn v bílých a černých chlupech (ICP OES) liší pouze v jedné tisícíně.

Z těchto výsledků vyplývá, že metoda LIBS je v prvkové analýze takovýchto vláken použitelná i přesná.

Ačkoli je barevnost králíčích chlupů dána především organickými pigmenty, které v čisté formě žádné kovy neobsahují, je podle výsledků této práce pravděpodobné, že kovy (nebo alespoň zinek), k barevnosti chlupu určitou vazbu mají.

Přínos této diplomové práce spočívá v úspěšném ověření použitelnosti metody LIBS k prvkové analýze proteinových vláken.

Do budoucna by bylo možné této metody využít například při sledování obsahu makro, nebo mikro biogenních prvků v srsti zvířete. Snížené množství zinku v potravě králíků má za důsledek hubnutí, snížení hematokritu krve, častý výskyt alopecie, kožní léze, projevy adermatózy, stejně jako reprodukční selhání. Jak některé studie ukazují právě nedostatek Zn ve stravě se projeví dosti výrazně i ve srsti zvířete. [22, 23]

Seznam použité literatury

- [1] Ing. Šimůnková, Doc. Ing. Karhan CSc.: Pigmenty, barviva a metody jejich identifikace, VŠCHT Praha 1993
- [2] Mgr. Eva Neidobová, spektrální vlastnosti ICP výboje ve vakuové ultrafialové oblasti a jejich analytické využití, Masarykova univerzita, Brno 2006
- [3] doc. RNDr. Emil Jelínek, CSc. - Moderní analytické metody v geologii, VŠCHT Praha 2008
- [4] Michael E. Simgman, Application of Laser-induced Breakdown Spectroscopy to Forensic Science: Analysis of Paint and Glass Samples, National Center for Forensic Science and Department of Chemistry, University of Central Florida 2010, doc. No 232135
- [5] K. Urbánková, Z. Pavlitová Letková, Nové možnosti využití ICP OES v hodnocení průmyslových odpadních materiálů, 14. Mezinárodní konference: Ekologie a nové stavební hmoty a výrobky, Výzkumný ústav stavebních hmot Brno
- [6] Cremers, D. a Radziemski, L. J. *Handbook of laser-induced breakdown spectroscopy*. Chichester: John Wiley & Sons, 2006. ISBN 04-700-9299-8.
- [7] M.H. Ebinger, D. A. Cramers, Total Carbon Measurement in Soils using Laser-Induced Breakdown Spectroscopy: Results from the Field and Implications for Carbon Sequestration
- [8] Fang-Yu Yueh, Jagdish P. Singh, H.Zang, Laser-induced Breakdown Spectroscopy, Elemental Analysis, Chichester, 2000
- [9] K. Matýsková, Souvislosti mezi spektry LIBS a materiálovými vlastnostmi pevných vzorků, Masarykova univerzita Brno, 2012
- [10] Ing. Eva Šimůnková, Doc. Ing. Jiří Karhan, CSc., Pigmenty, Barviva a metody jejich identifikace, VŠCHT Praha 1993
- [11] Ing. Pavel Klouda, Moderní analytické metody, nakladatelství Pavel Klouda, Ostrava 1996, ISBN 80-902155-0-5
- [12] Prof. RNDr. PhMr. Jaroslav Zýka, DrSc. a kolektiv, Analytická příručka Díl II. Čtvrté vydání, SNTL Praha 1988
- [13] Akademik Anton Blažej a kolektiv, Technologie kůže a kožešin, SNTL Praha 1984
- [14] RNDr. Vladimír Hladík a kolektiv, Textilní vlákna, SNTL Praha 1970

- [15] http://www.chemistry.nmsu.edu/Instrumentation/NMSU_Optima2100A.html
- [16] <http://www.lambdaphoto.co.uk/applications/100.200>
- [17] <http://www.chymist.com/HAIR%20ANALYSIS.pdf>
- [18] <http://www.mmspektrum.com/clanek/prumyslove-lasery-1-princip-laseru.html>
- [19] <http://www.lao.cz/aktualne/clanky-a-zpravy/serial-o-laserech/serial-hlavni-prumyslove-lasery.htm>
- [20] <http://www.nonwoven-material.cn/special-fibers/angora-rabbit-hair-fiber.asp?m=a&m1=a1&m2=a8a>
- [21] Anthony J Thody¹, Elisabeth M Higgins¹, Kazumasa Wakamatsu², Shosuke Ito², Susan A Burchill¹ and Janet M Marks¹ , Pheomelanin as well as Eumelanin Is Present in Human Epidermis , ¹Department of Dermatology, University of Newcastle upon Tyne, U.K. ²School of Hygiene, Fujita Health University, Toyoake, Aichi, Japan, Journal of Investigative Dermatology (1991)
- [22] <http://www.journalofanimalscience.org/content/33/6/1255.full.pdf>
- [23] <http://la.rsmjournals.com/content/8/1/1.full.pdf>
- [23] Qiu Ting Zheng, Yi Zhang, Meng Xing Yang, Hua Wu Liu, Morphological Structures of Rabbit Hair, Advanced Materials Research, 332-334, 1063, 2011
- [24] http://www.ecobyte.com.au/using_.html
- [25] <http://www.fn-natural.cz/clanky/35/vlas-a-jeho-slozeni>
- [26] Prof.Ing. Jiří Militký CSc. EUR ING, Textilní vlákna, TU Liberec 2002
- [27] <http://www.andor.com/learning-academy/libs-an-overview-of-andor's-solutions-for-libs>
- [28] http://www.chemistry.nmsu.edu/Instrumentation/NMSU_Optima2100.html

Seznam obrázků

- Obr. 1 nákres kořene vlasu [14]*
- Obr. 2 schematický nákres průřezu vlasu [14]*
- Obr. 3 průřez vlasu králíka*
- Obr. 4 povrchová struktura vlasu králíka [14]*
- Obr. 5 průřez pesíkových chlupů králíka*
- Obr. 6 průřez středními částmi podsadových a krycích chlupů králíka*
- Obr. 7 profily chlupů králíka [14]*
- Obr. 8 vzorové schéma přístroje pro ICP OES*
- Obr. 9 schéma optické soustavy přístroje Optima 2100 DV*
- Obr. 10 schéma průchodu paprsků přístrojem Optima 2100 DV*
- Obr. 11 schéma detektoru přístroje Optima 2100 DV*
- Obr. 12 schéma laseru*
- Obr. 13 schéma přístroje LEA S500*
- Obr 14 černý králičí chlup*
- Obr 15 bílý králičí chlup*
- obr. 16 chlupy lepené pomocí pinzety*
- obr. 17 chlupy lepené pomocí pinzety a jehly*
- Obr. 18 vzorek černých a bílých chlupů*
- Obr. 18 vzorek po analýze metodou LIBS s uvolněným vláknem*
- Obr. 19 a 20 zobrazení černého chlupu (vlevo) a bílého (vpravo) přístrojem LEA S500*
- Obr. 21 plíšek pro úpravu měřicí geometrie přístroje LEA S500*
- Obr. 22 schéma úpravy měřicí geometrie přístroje LEA S500*
- Obr. 23 Vzorky s černými a bílými chlupy pro LIBS*
- Obr. 24 detekční otvor přístroje LEA S500*
- Obr. 25 umístění clony z kovového plíšku do detekčního prostoru*
- Obr. 26 umístění vzorku v detekční části přístroje pozměně geometrie měření*
- Obr. 27 hodnoty nastavení přístroje LEA S500*
- Obr. 28 Absorpční spektrum FTIR (červená - bílý chlup, modrá - černý chlup)*
- Obr. 29 Absorpční spektru chlupu od 425 nm do 455 s píky lepicí pásky*

Obr. 30 Absorpční spektrum lepicí pásky od 425 nm do 455 nm

Obr. 31 Absorpční spektrum chlupu od 425 nm do 455 nm bez píků lepicí pásky

Obr. 32 Detail propáleného vzorku

Obr. 33 spektrum vzorku s píky C a Zn při energii laserového záření 26 J

Obr. 34 spektrum vzorku s píky C a Zn při energii laserového záření 26,5 J

Obr. 35 spektrum vzorku s píky C a Zn při energii laserového záření 27J

Obr. 36 spektrum vzorku s píky C a Zn při energii laserového záření 27,5 J

Obr. 37 spektrum vzorku s píky C a Zn při energii laserového záření 28J

Obr. 38 grafické znázornění intenzit píků C při 193,0905 nm v bílých chlupech

Obr. 39 grafické znázornění intenzit píků C při 193,0905 nm v černých chlupech

Obr. 40 grafické znázornění intenzit píků Zn při 202,551 nm v bílých chlupech

Obr. 41 grafické znázornění intenzit píků Zn při 202,551 nm v černých chlupech

Obr. 42 grafické znázornění intenzit píků Zn při 213,856 nm v bílých chlupech

Obr. 43 grafické znázornění intenzit píků Zn při 213,856 nm v černých chlupech

Seznam tabulek

Tabulka 1 rozdělení živočišných vláken

Tabulka 2 výsledky prvkové analýzy na přístroji Optima 2100DV

Tabulka 3 statistické hodnoty intenzit píků C při 193,0905 nm v bílých chlupech

Tabulka 4 statistické hodnoty intenzit píků C při 193,0905 nm v černých chlupech

Tabulka 5 statistické hodnoty intenzit píků Zn při 202,551 nm v bílých chlupech

Tabulka 6 statistické hodnoty intenzit píků Zn při 202,551 nm v černých chlupech

Tabulka 7 statistické hodnoty intenzit píků Zn při 213,856 nm v bílých chlupech

Tabulka 8 statistické hodnoty intenzit píků Zn při 213,856 nm v černých chlupech

Tabulka 9 průměrné hodnoty intenzity emisního záření a jejich poměrné zastoupení

Tabulka 10 obsah Zn v bílých a černých chlupech a hodnota poměrného zastoupení

Příloha

Tabulka 1 hodnoty intenzit piků C při 193,0905 nm a pozdí v bílých chlupech

Tabulka 2 hodnoty intenzit piků C při 193,0905 nm a pozdí v černých chlupech

Tabulka 3 hodnoty intenzit piků Zn při 202,551 nm a pozdí v bílých chlupech

Tabulka 4 hodnoty intenzit piků Zn při 202,551 nm a pozdí v černých chlupech

Tabulka 5 hodnoty intenzit piků Zn při 213,856 nm a pozdí v bílých chlupech

Tabulka 6 hodnoty intenzit piků Zn při 213,856 nm a pozdí v černých chlupech

Tabulka 1 hodnoty intenzit píků C při 193,0905 nm a pozdí v bílých chlupích

Bílý vlas - C	vrchol píku 193,0905 nm	intenzita pozadí 192,692 nm	výsledná intenzita píku
1	2989,5	40	2949,5
2	1918	28,5	1889,5
3	2957,5	32	2925,5
4	2171,5	27	2144,5
5	2340	62	2278
6	1770,5	20	1750,5
7	1735,5	23,5	1712
8	1298	19,5	1278,5
9	1020	16,5	1003,5
10	1445,5	15,5	1430
11	1248	23	1225
12	864	2,5	861,5
13	1471	29	1442
14	1059	7	1052
15	1560,5	9	1551,5
16	1792	4,5	1787,5
17	896,5	17,5	879
18	1381	15	1366
19	1220	18	1202
20	1558	18	1540
21	1653,5	24,5	1629
22	1459	15	1444
23	2494,5	30,5	2464
24	3076	23	3053
25	2179	30	2149
26	3072	22,5	3049,5
27	1746,5	17	1729,5
28	2285,5	19,5	2266
29	2852,5	21,5	2831
30	2694,5	16,5	2678
střední hodnota	1873,63	21,60	1852,03
Směrodatná odchylka	669,96	11,04	664,43
Variační koeficient		51,12	35,88

Tabulka 2 hodnoty intenzit píků C při 193,0905 nm a pozadí v černých chlupech

Černý vlas - C	vrchol píku 193,0905 nm	intenzita pozadí 192,692 nm	výsledná intenzita píku
1	1389,5	1	1388,5
2	2291,5	18,5	2273
3	1849	24,5	1824,5
4	2051,5	4,5	2047
5	1166,5	4	1162,5
6	1848,5	18,5	1830
7	2239	10	2229
8	1730	33,5	1696,5
9	2331	27	2304
10	1898,5	3,5	1895
11	1904,5	31	1873,5
12	2035	14,5	2020,5
13	2141	27,5	2113,5
14	2177	5,5	2171,5
15	3008,5	45	2963,5
16	1882,5	14	1868,5
17	2105	10	2095
18	1939,5	16,5	1923
19	1748,5	13,5	1735
20	1256	4,5	1251,5
21	1573,5	7,5	1566
22	1422,5	19,5	1403
23	1474	5	1469
24	1304	23,5	1280,5
25	1606,5	-2	1608,5
26	1675,5	10,5	1665
27	1680	22	1658
28	1929	9,5	1919,5
29	1600	29,5	1570,5
30	1662,5	18,5	1644
střední hodnota	1830,67	15,68	1814,98
Směrodatná odchylka	375,61	10,92	370,91
Variační koeficient		69,60	20,44

Tabulka 3 hodnoty intenzit píků Zn při 202,551 nm a pozadí v bílých chlupech

Bílý vlas - Zn	vrchol píku 202,551 nm	intenzita pozadí 202,494nm	výsledná výška píku
1	230	40	190
2	136,5	12,5	124
3	231	66	165
4	147	34,5	112,5
5	278,5	106,5	172
6	106	33	73
7	103	46,5	56,5
8	102,5	39	63,5
9	59,5	16,5	43
10	105	8	97
11	87	26	61
12	74,5	20,5	54
13	125	19,5	105,5
14	81,5	37	44,5
15	115	19	96
16	155,5	26,5	129
17	76	18,5	57,5
18	111	51	60
19	98	17	81
20	121	35	86
21	160,5	45,5	115
22	141	32,5	108,5
23	194,5	19	175,5
24	262,5	67	195,5
25	213,5	96	117,5
26	279,5	40,5	239
27	102	9,5	92,5
28	149	38,5	110,5
29	210	55	155
30	302,5	45,5	257
střední hodnota	151,95	37,38	114,57
Směrodatná odchylka	67,76	22,87	55,75
Variační koeficient		61,18	48,66

Tabulka 4 hodnoty intenzit píků Zn při 202,551 nm a pozadí v černých chlupích

Černý vlas - Zn	vrchol píku 202,551 nm	intenzita pozadí 202,494nm	výsledná výška píku
1	73,5	27,5	46
2	184	53	131
3	103	24	79
4	134	55,5	78,5
5	68	17	51
6	122,5	38,5	84
7	115,5	45,5	70
8	92	8	84
9	150	36,5	113,5
10	115,5	27,5	88
11	132,5	35,5	97
12	122,5	35,5	87
13	141,5	26,5	115
14	113,5	52,5	61
15	250,5	69,5	181
16	111	28,5	82,5
17	137	29,5	107,5
18	125,5	0,5	125
19	95	32,5	62,5
20	55,5	17	38,5
21	130	19,5	110,5
22	95,5	17,5	78
23	132,5	12,5	120
24	99,5	32	67,5
25	102	21	81
26	118	42	76
27	102	42,5	59,5
28	141	41	100
29	115,5	33	82,5
30	150	25,5	124,5
střední hodnota	120,95	31,57	89,38
Směrodatná odchylka	35,27	14,67	29,29
Variační koeficient		46,48	32,77

Tabulka 5 hodnoty intenzit píků Zn při 213,856 nm a pozadí v bílých chlupech

Bílý vlas - Zn	vrchol píku 213,856 nm	intenzita pozadí 213,778 nm	výsledná výška píku
1	325,5	119,5	206
2	261	80,5	180,5
3	372,5	121,5	251
4	288	69	219
5	390	183	207
6	206,5	76,5	130
7	208	79,5	128,5
8	158	48	110
9	122,5	51,5	71
10	182	52,5	129,5
11	148,5	65,5	83
12	133,5	15	118,5
13	222,5	68,5	154
14	147	51,5	95,5
15	149,5	61,5	88
16	214	45,5	168,5
17	107	50,5	56,5
18	189,5	107	82,5
19	205,5	51,5	154
20	201	91,5	109,5
21	227	73	154
22	193	73,5	119,5
23	235	84	151
24	383	124	259
25	310,5	177	133,5
26	377	115	262
27	185	61	124
28	217,5	101,5	116
29	286,5	122	164,5
30	375,5	93,5	282
střední hodnota	234,07	83,80	150,27
Směrodatná odchylka	82,91	37,01	58,91
Variační koeficient		44,16	39,20

Tabulka 6 hodnoty intenzit píků Zn při 213,856 nm a pozadí v černých chlupích

Černý vlas - Zn	vrchol píku 213,856 nm	intenzita pozadí 213,778 nm	výsledná výška píku
1	167	88,5	78,5
2	354,5	147	207,5
3	221	85,5	135,5
4	249,5	104	145,5
5	143,5	46	97,5
6	243,5	60,5	183
7	311,5	64	247,5
8	191	70	121
9	287,5	127,5	160
10	242,5	76,5	166
11	246,5	62	184,5
12	296	92	204
13	329,5	82	247,5
14	252,5	103,5	149
15	452,5	167,5	285
16	244,5	84	160,5
17	225,5	85,5	140
18	249	71,5	177,5
19	203,5	75	128,5
20	138,5	57	81,5
21	183	44,5	138,5
22	161	55,5	105,5
23	207	68,5	138,5
24	174	55,5	118,5
25	209,5	69	140,5
26	212	85	127
27	233	88	145
28	216,5	76	140,5
29	223	93,5	129,5
30	235	95	140
střední hodnota	236,78	82,67	154,12
Směrodatná odchylka	64,21	26,89	46,60
Variační koeficient		32,53	30,24