



Departamento de
Química Analítica
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado

Espectroscopía de plasmas inducidos por láser y
calibración libre para caracterizar materiales

Javier Martínez Lanciego

Director

Jesús Anzano Lacarte

Colaborador: Andrés Cruz Conesa

Facultad de Ciencias
Septiembre 2019

Agradecimientos

A Jesús Anzano, por darme la oportunidad de realizar este trabajo, enseñarme y orientarme durante la realización de este y por crear un ambiente tan agradable de trabajo.

A Andrés Cruz, por su inestimable ayuda durante toda la realización del trabajo. Por haber sido tan buen compañero y haberme tratado como en mi casa desde mi primer día en el laboratorio láser.

A Diego y Abraham, por hacer notar su experiencia y darme muy buenos consejos en el laboratorio. Espero que les vaya muy bien en su vida en Brasil y Ecuador.

A mi familia y amigos, por apoyarme y escucharme en los momentos que más necesitaba. Sin ellos, todo esto hubiera sido mucho más difícil.

Al Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias y al Grupo de Investigación Química y Medio Ambiente.

Gobierno de Aragón, Fondo Social Europeo (E23_17D); Servicios de Apoyo a la Investigación, SAI de la Universidad de Zaragoza y el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades de España, #CTM2017-82929-R.

Resumen

El presente trabajo está basado en la técnica de Espectroscopía de Plasmas Inducidos por Láser (LIBS), en la que se describen los fundamentos y principios básicos, así como su importancia como técnica no destructiva aplicada, sobre todo, al campo del medio ambiente.

En el análisis medioambiental, LIBS ha encontrado gran aplicación en la caracterización de aerosoles atmosféricos. Este tipo de muestras presentan gran dificultad, ya que resulta casi imposible el uso de patrones de matriz similar, por lo que en este trabajo se utiliza una metodología denominada "Calibración Libre", en la que es posible caracterizar la muestra estudiando los parámetros físicos del plasma, permitiendo evitar el uso de patrones en un análisis cuantitativo convencional.

Se siguió esta metodología para realizar un análisis cuantitativo de un aerosol procedente de Brasil, realizando previamente una optimización de parámetros instrumentales. Los resultados obtenidos se comparan con los obtenidos mediante microscopía de barrido electrónico de emisión de campo, FESEM, que fueron realizados en el Servicio de Apoyo a la Investigación de la Universidad de Zaragoza, SAI.

Abstract

The present work is based on the technique of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS); LIBS fundamentals and principles are described, including its importance as non-destructive technique applied to environmental field.

In the environmental analysis, LIBS has found great application in atmospheric aerosols characterization. These types of samples present great difficulty, since it is almost impossible to use similar matrix patterns, so in this work a methodology called "Calibration Free" is used, in which it is possible to characterize the sample by studying the physical parameters of the plasma, avoiding the use of standards in a conventional quantitative analysis.

This methodology was followed to carry out a quantitative analysis of an aerosol derived from Brazil. Previously, an optimization of instrumental parameters was performed. The results are compared with those obtained by Field Emission Scanning Electron Microscopy, FESEM, which were carried out in Servicio de Apoyo a la Investigación of the University of Zaragoza, SAI.

Listado de acrónimos

LIBS: Laser Induced Breakdown Spectroscopy (Espectroscopía de Descomposición Inducida por Laser).

LASER: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation (Amplificación de Luz mediante Emisión Estimulada de la Radiación).

FESEM: Microscopio Electrónico de Barrido con Emisión de Campo

EII: Ionización de Impacto Electrónico.

MPI: Ionización multifotónica.

NIST: National Institute of Standards and Technology.

CL o CF: Calibración Libre o Calibration Free.

Nd:YAG: Neodymium-doped yttrium aluminium garnet (granate de aluminio e ytrio dopado con neodimio).

CCD: Charge-Coupled Device (Dispositivo de Carga Acoplada).

iCCD: Dispositivo de Carga Acoplada Intensificado.

AAS: Atomic Absorption Spectroscopy (Espectroscopía de Absorción Atómica, EAA).

ICP-AES: Espectroscopía de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo.

ICP-MS: Espectroscopía de Masas con Plasma de Acoplamiento Inductivo.

LTE: Local Thermodynamic Equilibrium (Equilibrio Local Termodinámico).

FWHM_{H α} : Anchura completa de la mitad del área de la línea de emisión.

SNR: Relación Señal-Ruido.

Listado de tablas

Tabla 1. Líneas espectrales elegidas para la optimización de parámetros instrumentales.

Tabla 2. SNR obtenida para distintos tiempos de integración.

Tabla 3. SNR obtenida para distintos tiempos de retraso de lectura.

Tabla 4. Resultados del cálculo de densidad electrónica para las 6 muestras.

Tabla 5. Líneas espectrales utilizadas para el cálculo por Calibración Libre.

Tabla 6. Resultado del cálculo de la temperatura para todas las muestras.

Tabla 7. Resultado (en porcentaje en masa) de la concentración de los elementos de la muestra.

Tabla 8. Resultados medios y desviación estándar para cada elemento.

Tabla 9. Resultados FESEM (en porcentaje en masa).

Listado de figuras

Figura 1. Etapas de la formación y evolución de un plasma típico inducido por un láser de nanosegundos.

Figura 2. Esquema de un equipo LIBS.

Figura 3. Imagen de la Praça dos Voluntários.

Figura 4. Montaje instrumental para análisis mediante LIBS.

Figura 5. Estructura de la cámara de análisis.

Figura 6. Ejemplo de muestras de filtros de aire.

Figura 7. Metodología aplicada para el análisis por Calibración Libre del programa LIBS++.

Figura 8. Comparación de espectros utilizando distintos tiempos de retraso de lectura.

Figura 9. Señales identificadas en el espectro de la muestra mediante LIBS++.

Figura 10. Ejemplo de integración de señales con LIBS++.

Figura 11. Forma de realizar el cálculo de la densidad electrónica.

Figura 12. Representación de Saha-Boltzmann para la Muestra 3.

Figura 13. Filtro blanco y muestra observados por FESEM.

Índice

1. Introducción	8
1.1 Espectroscopía de Plasmas Inducidos por Láser	8
1.1.1 Fundamentos básicos de la técnica	8
1.1.2 Plasma LIBS	8
1.1.3 Instrumentación	10
1.1.4 Características de la técnica	11
1.1.5 Análisis espectroscópico	11
1.2 Calibración Libre	12
1.2.1 Fundamentos	12
1.2.2 El algoritmo de CF-LIBS	13
1.3 Aplicaciones de LIBS	14
1.4 Objetivos del trabajo	15
2. Procedimiento experimental	16
2.1. Muestra	16
2.2. Instrumentación	16
2.2.1. Láser	17
2.2.2. Espectrómetro	17
2.2.3. Detector	17
2.3 Software	18
2.4 Procedimiento	18
2.4.1 Tratamiento de la muestra	18
2.4.2 Optimización de los parámetros instrumentales	18
2.4.3 Caracterización de filtros de aire utilizando LIBS y el método de Calibración Libre	19
3. Resultados y discusión	21
3.1 Optimización de parámetros instrumentales	21
3.1.1 Tiempo de integración o medida	21
3.1.2 Tiempo de retraso de lectura	21
3.2 Caracterización del filtro de aire de Brasil mediante LIBS y Calibración Libre	23
3.3 Comparación de resultados con los proporcionados por FESEM	28
4. Conclusiones	30
5. Referencias	31
6. Anexos	33

1. Introducción

La espectroscopía de plasma inducido por láser (LIBS, por sus siglas en inglés), es una técnica analítica que ha ido tomando notable importancia en los últimos tiempos, de tal manera que es, a fecha de hoy, uno de los campos de estudio que se encuentra más activo en el área de la espectroscopía.

Fue en 1962 la primera vez que se hizo referencia clara a lo que sería la técnica actual. En esos años se empleaba el láser para “*ablacionar*”, una muestra provocando una microemisión de material.¹ Un grupo vanguardista en el estudio de tecnología y materiales para láser observó un fenómeno que hoy sabemos que es el plasma inducido por láser.² Desde entonces se han producido pocos cambios en cómo son los montajes de los instrumentos, aunque sus componentes sí han evolucionado mucho.

Esta técnica ha sido empleada en múltiples campos, tanto industriales como de investigación, sobre todo en aquellos donde es necesario conservar la muestra, debido a su carácter no destructivo. Es exactamente esta cualidad no destructiva la que da gran importancia a esta técnica.³

1.1 Espectroscopía de Plasmas Inducidos por Láser

1.1.1 Fundamentos básicos de la técnica

La espectroscopía de plasmas inducidos por láser (LIBS) es una técnica de emisión atómica que permite realizar análisis cualitativos, cuantitativos y multielementales de muestras en cualquier estado de agregación, aunque es en muestras sólidas donde presenta mayores ventajas. Consiste en irradiar energía láser pulsada sobre la muestra, produciendo vaporización y atomización de esta y formando un plasma muy energético y de elevada temperatura que contiene elementos excitados, iones, especies moleculares, electrones... Es decir, se genera un plasma constituido por las mismas especies químicas que la muestra. Llega un momento que el plasma producido comienza a enfriarse y las especies excitadas del plasma evolucionan hacia estados menos energéticos, y lo hacen emitiendo fotones con longitudes de onda características.⁴ Esta luz generada es recogida, seleccionada y transformada en señales eléctricas mediante un espectrómetro con el detector CCD integrado, para luego ser registrada y representada gráficamente mediante un software. Estas representaciones gráficas son evaluadas permitiendo la identificación y cuantificación de las especies químicas presentes en el material.³

1.1.2 Plasma LIBS

El plasma, el cuarto estado de la materia, se define como un conjunto de átomos, moléculas, iones y electrones libres en el que las especies actúan de forma colectiva, de tal forma que la carga eléctrica global sea nula.

Cuando un electrón absorbe un fotón, el electrón alcanza un estado mecano-cuántico de mayor energía. Los electrones tienden a ocupar los niveles más bajos de energía posibles, y en los procesos de decaimiento el electrón emite un fotón (desexcitación). Los diferentes niveles de energía para cada átomo provocan diferentes y concretas energías para los fotones. Esas emisiones son las líneas espectrales de emisión que aparecen en el espectro LIBS.⁵ Si la energía

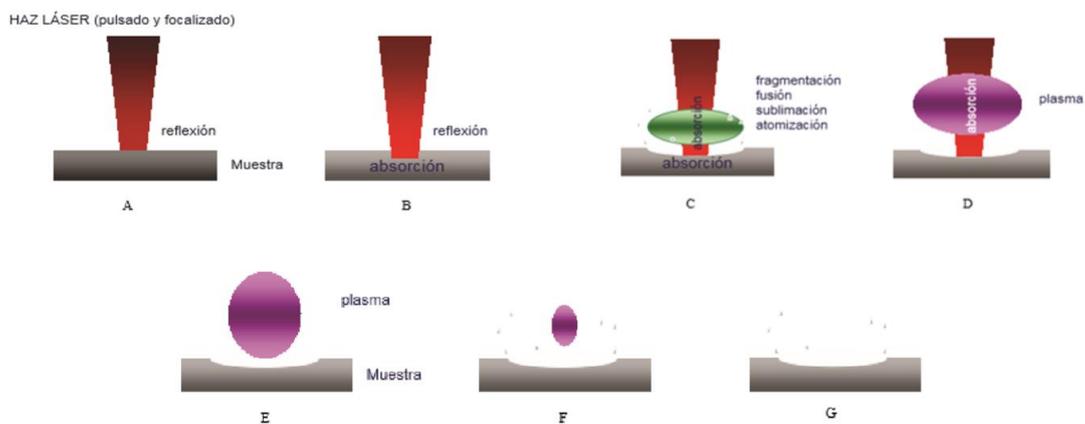
aplicada al átomo es suficiente (supera el potencial de ionización), los electrones se pueden separar del átomo produciendo electrones libres y cationes.

Básicamente, existen tres etapas en el tiempo de vida del plasma. El primero de ellos es el proceso de ablación. En este proceso la energía del láser funde y vaporiza la muestra, y el aumento de temperatura ioniza los átomos. Entre 10^{-9} y 10^{-8} s, el plasma se vuelve opaco a la radiación láser, por tanto, la última parte del pulso láser interactúa con la superficie del plasma y se absorberá, por lo que no ionizará mucho más material (apantallamiento del plasma).^{6,7} (Figura 1, casos A,B,C,D).

La siguiente etapa en la vida del plasma es crítica para la optimización de las condiciones de medida de la luz del emitida por el plasma, porque el plasma produce emisión atómica durante el proceso de enfriamiento. Tras la ablación, el plasma continúa expandiéndose y enfriándose, al mismo tiempo que cambia la temperatura y densidad de los electrones.⁸ (Figura 1, caso E).

Finalmente, la pluma se contrae y colapsa, desapareciendo la emisión y formándose un cráter.¹ (Figura 1, casos F y G).

Figura 1. Etapas de la formación y evolución de un plasma típico inducido por un láser de nanosegundos⁹



El plasma inducido por láser suele producirse por ruptura dieléctrica a través de dos mecanismos: ionización de impacto electrónico (EII) e ionización multifotónica (MPI).

- Proceso de impacto electrónico: consiste en la absorción de un fotón por un electrón libre. Este fotón absorbido produce un aumento de la energía cinética del electrón, de tal forma que es capaz de ionizar un átomo o molécula, liberando un nuevo electrón capaz de volver a iniciar el proceso. De este modo se obtienen más electrones libres disponibles para poder absorber más fotones. Por ello también se llama proceso de cascada de ionización o efecto Bremsstrahlung inverso. La probabilidad de encontrar un electrón libre en la región focal durante un pulso láser puede ser despreciable. La conclusión más evidente es que sean generados por el propio láser.¹

- Proceso de ionización multifotónica: consiste en la absorción simultánea de un número suficiente de fotones para que se produzca la ionización de una especie atómica o molecular generándose de esta manera también más electrones libres.¹⁰

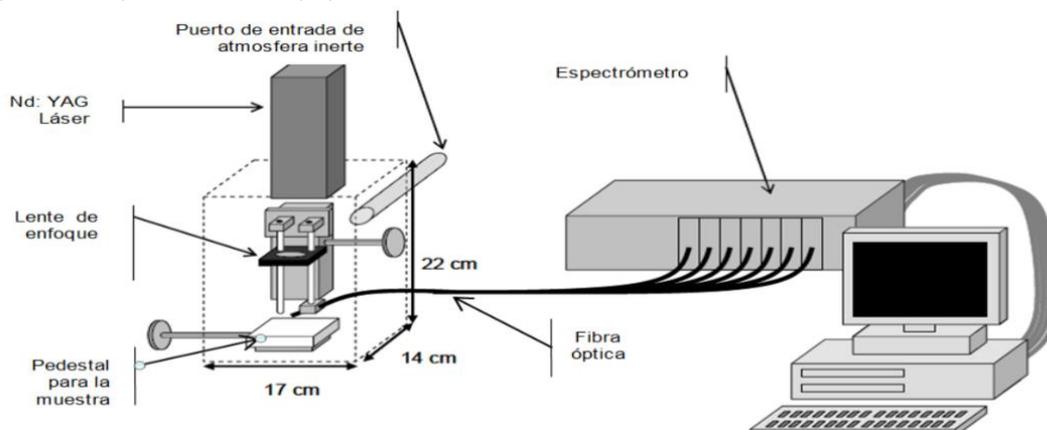
1.1.3 Instrumentación

Un equipo básico LIBS, que se encuentra esquematizado en la Figura 2, se compone principalmente de:

- 1- Un láser para crear el plasma en la muestra
- 2- Sistemas ópticos para enfocar y recoger la luz
- 3- Espectrómetro, equipado con un detector para registrar el espectro

Componentes adicionales como soporte del blanco, ordenador para analizar el espectro...

Figura 2. Esquema de un equipo LIBS³



El *láser* (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation) es un dispositivo electro-óptico que amplifica la radiación estimulada para generar luz coherente cuyas longitudes de onda están en un rango que depende del medio activo.⁴

En general, la radiación láser se produce como resultado de un gran número de emisiones estimuladas en un medio activo (el más común es Nd:YAG). En estas emisiones estimuladas un fotón interactúa con un electrón en estado excitado e induce su decaimiento provocando la generación de dos fotones, el incidente y el estimulado, los dos en la misma fase, frecuencia y dirección.¹¹ La activación del medio se produce por bombeo con fuentes muy exotérmicas, por descarga eléctrica o la combinación de ambas. Existen diferentes medios activos, tanto sólidos (rubí, Nd:YAG...), líquidos (colorantes, líquidos ionizados...) como gaseosos (Helio, CO₂...).⁹

La radiación láser se caracteriza por ser intensa, monocromática, coherente y altamente colimada.

Los *componentes ópticos* son necesarios principalmente para guiar el pulso láser hacia la muestra y para coleccionar y conducir la radiación del plasma hasta el espectrómetro y detector.

Los sistemas utilizados pueden ser muy variados, como lentes o espejos, microscopios, fibra óptica... El uso de fibra óptica como sistema coleccionador de luz supuso un gran avance en esta

técnica a la hora de realizar identificaciones y cuantificaciones de elementos en una muestra, ya que permite realizar análisis remotos más fácilmente.¹²

El *sistema de detección espectral* es el responsable de coleccionar, resolver y medir la emisión atómica del plasma formado en la muestra. Usualmente, el sistema de detección consiste en:

- Un selector de longitud de onda: monocromador o espectrómetro que permite separar los diferentes componentes de la luz emitida por el plasma, obteniendo así un espectro que relaciona la intensidad de emisión con su correspondiente longitud de onda.¹³ Los más utilizados son los de tipo Czerny-Turner, que presentan una elevada sensibilidad y los de tipo Echelle, que ofrecen un elevado poder de resolución.
- Un detector óptico: transforma los fotones provenientes del plasma en señales eléctricas que pueden ser decodificadas por un software para transformarlas en una imagen espectral⁴. Actualmente los más utilizados son los dispositivos de acoplamiento de carga (CCD), basados en el efecto fotoeléctrico. Estos dispositivos contienen sensores de silicio, en los que se genera carga cuando llega la luz. Esa carga es transferida a un amplificador que convierte la carga en voltaje. Recientemente se han desarrollado los dispositivos ICCD que son CCD intensificados. Para ello se incorpora un tubo intensificador de imagen que es un tubo electrónico compuesto por un fotocátodo, una placa microcanal y un ánodo.¹⁴

1.1.4 Características de la técnica

LIBS presenta las siguientes ventajas que le hacen una técnica importante en la Química Analítica:¹⁵

- Análisis no destructivos: la destrucción de la muestra es mínima, solo se forma un pequeño cráter imperceptible al ojo humano.
- No requiere preparación de la muestra: lo cual conlleva tiempos de análisis cortos y gastos de reactivos menores.
- Análisis multielemental: efectúa análisis simultáneo de varios elementos
- Rapidez: determinación prácticamente instantánea.
- Análisis in situ y a distancia: utilizando instrumentación adicional como telescopios...
- Acoplamiento a otras técnicas: la que más le suele acompañar es el Raman que permite detectar moléculas y grupos funcionales.¹⁶
- Instrumentación económica en comparación con otras técnicas.

1.1.5 Análisis espectroscópico

El análisis espectroscópico de la luz emitida por el plasma permite detectar la presencia de determinados elementos, que podrán ser identificados y cuantificados a través de sus líneas espectrales.

Análisis cualitativo. - El análisis cualitativo se basa en la identificación de un conjunto de líneas espectrales características de un elemento. Es por ello por lo que LIBS es una técnica muy potente para estos tipos de análisis ya que en los espectros LIBS aparecen líneas de todos los elementos presentes en la muestra. El análisis cualitativo se puede llevar a cabo de dos formas:

- Mediante comparación de espectros con los espectros de patrones para encontrar coincidencias con las líneas analíticas contenidas en ellos.

- Mediante la base de datos NIST, en la que se registran los valores de las longitudes de onda de las líneas características de cada elemento y se relacionan con las del espectro obtenido.

El principal problema del análisis cualitativo es el solapamiento de líneas espectrales y las interferencias debidas al efecto matriz. Estos inconvenientes se pueden corregir seleccionando líneas analíticas no interferidas. Otra dificultad importante es el fenómeno de auto-absorción, el cual es un proceso que se debe a que especies atómicas localizadas en los bordes externos del plasma LIBS absorben energía emitida por la especies ubicadas en el interior del mismo.³

Análisis cuantitativo. - El análisis cuantitativo permite conocer la concentración de los elementos presentes en la muestra. Se basa en la relación directa de la intensidad de las líneas de emisión características de un elemento y el número de átomos emisores.

El mayor problema en el análisis cuantitativo radica en el efecto matriz, que es debido al diferente comportamiento que presentan los elementos en el plasma según la matriz en la que se encuentren. Por ejemplo, un elemento presente en igual concentración en diferentes materiales presentará diferentes intensidades de sus líneas de emisión.^{17,18} A pesar de estas complicaciones, es posible el análisis cuantitativo mediante LIBS usando procedimientos de calibración externos o internos. En el primero de ellos se utilizan como referencia las señales correspondientes a un componente mayoritario de la matriz que se sabe que está en grandes cantidades en todas las muestras.¹⁶ En el segundo se añade una cierta cantidad de un elemento no presente en la muestra tanto a muestras como a patrones.

Otra solución para minimizar el efecto matriz es el uso de un método denominado “Calibración Libre”.

1.2 Calibración Libre

1.2.1 Fundamentos

El procedimiento denominado como “Calibración Libre” (CF-LIBS) fue desarrollado en 1999 por Ciucci et al.¹⁹ Este proveía solución para análisis cuantitativos de muestras heterogéneas o para las cuales no existía una matriz conocida. El método consiste en medir los parámetros físicos del plasma (temperatura y densidad electrónica), y a partir de ellos, realizar un análisis cuantitativo y multielemental sin tener que preparar ningún tipo de patrón.²⁰

Fue desarrollado siguiendo una visión alternativa de lo que se venía haciendo: en lugar de tratar a la matriz como una perturbación externa, toma en cuenta la matriz como parte del problema analítico; analiza la matriz junto con el analito.²¹ En otras palabras, Ciucci et al. hicieron la hipótesis de que el espectro contiene todo lo necesario para derivar la composición de la matriz. Sin embargo, el plasma inducido por láser es muy complejo y su descripción no es posible con modelos matemáticos simples. Para poder describir las propiedades macroscópicas del plasma, este debe cumplir una serie de condiciones:²¹

- La composición del plasma es representativa de la composición de la muestra:* esto implica que la ablación láser es estequiométrica y que el material ablacionado de la muestra también es atomizado estequiométricamente.
- El plasma se encuentra en equilibrio local termodinámico (LTE) en el espacio y en el tiempo en el que se realiza la medida:*²² en el LTE se considera que, a pesar de que

los parámetros intensivos del plasma varían en espacio y tiempo, lo hacen tan lentamente que en algún punto del plasma se puede considerar que se ha establecido equilibrio termodinámico en alguna vecindad de ese punto. El criterio más utilizado para verificar que se cumple es el Criterio de Densidad Electrónica. Este criterio asume que para que la población de estados excitados de los elementos del plasma sea provocada predominantemente por colisiones de electrones y no por procesos radiativos, el plasma requiere una mínima densidad electrónica para asegurar estas colisiones. Esta densidad electrónica mínima se conoce como Criterio de McWhirter:

$$n_e \geq 1,6 \times 10^{12} T^{\frac{1}{2}} (\Delta E)^3 \quad (\text{Ec.1}) \quad \text{donde } \Delta E \text{ es la distancia más grande entre dos niveles de energía adyacentes}$$

Este criterio se satisface en las primeras etapas del plasma, cuando la densidad electrónica es del orden de 10^{17} - 10^{18} cm^{-3} .

Esta es una condición necesaria pero no suficiente, también se deben de cumplir otros dos criterios: las temperaturas de excitación e ionización calculadas por Boltzmann y Saha-Boltzmann, respectivamente, deben ser iguales, así como la comparación de la distribución de Boltzmann teórica frente a la experimental.

- iii) El plasma puede modelarse como una fuente espacialmente homogénea
- iv) Las líneas espectrales incluidas en el cálculo deben ser ópticamente finas: el mayor problema suele ser la reabsorción de la luz por parte de los mismos elementos que hace que se subestimen las intensidades.

1.2.2 El algoritmo de CF-LIBS

El algoritmo de CF-LIBS utilizado en este trabajo está basado en el LTE. No se usa siempre el mismo, ya que existen diferentes variantes. A continuación, se describe el utilizado aquí.²³

Cálculo de la temperatura. - En LTE, los niveles excitados están poblados de acuerdo con la distribución de Boltzmann y los estados ionizados con la ecuación de equilibrio de Saha-Boltzmann. La representación gráfica de un grupo de líneas espectrales en el plano de Boltzmann es utilizada para determinar la temperatura del plasma. Cada línea espectral es representada como un punto en el plano donde la coordenada x corresponde a la energía del nivel superior de la transición ($x=E_i$) y la coordenada y al logaritmo de la intensidad de la línea I_{ij} dividido por la probabilidad de la transición A_{ij} y la degenerancia g_i . La temperatura del plasma se obtiene por regresión lineal de los puntos que representan líneas de la misma especie.²¹ Si hay presentes varias especies, se calcula la temperatura para cada una y se promedia. Es recomendable usar el máximo número de elementos y de líneas posible.

Se utiliza la representación de Saha-Boltzmann por lo que se hace uso tanto de las líneas correspondientes a átomos neutros, simbolizadas por I, como de iones II.²³

$$\ln \left(\frac{I_{ij}}{A_{ij} g_{ij}} \right)^* = -\frac{1}{kT_e} E_i + \ln \left(\frac{FN^{(I)}}{Q^{(I)}(T)} \right) \quad (\text{Ec.2})$$

En la Ec. 2 se combinan las ecuaciones de Saha y de Boltzmann y se linealiza para obtener la ecuación de una recta de pendiente $-\frac{1}{kT_e}$. Siendo:²³

$$\ln\left(\frac{I_{ij}}{A_{ij}g_{ij}}\right)^* = \begin{cases} \ln\left(\frac{I_{ij}^{(I)}}{A_{ij}^{(I)}g_i^{(I)}}\right) \text{ (neutros)} \\ \ln\left(\frac{I_{ij}^{(II)}}{A_{ij}^{(II)}g_i^{(II)}}\right) - \ln\left[2\left(\frac{2\pi m_e k}{h^2}\right)^{3/2} \frac{T_e^{3/2}}{N_e}\right] \text{ (iones)} \end{cases} \quad (\text{Ec.3})$$

Una vez se ha obtenido la pendiente de la recta de la Ec.2 se despeja para obtener el valor de T_e .

*Cálculo de la densidad electrónica*²². - Existen diversos métodos para realizar el cálculo de la densidad electrónica del plasma, pero en este trabajo se realiza a partir del ensanchamiento de la línea de hidrógeno (H_α), mediante la siguiente ecuación:

$$FWHM_{H_\alpha} = 0,549 \text{ nm} \times \left(\frac{N_e}{10^{23} \text{ m}^{-3}}\right)^{0,67965} \quad (\text{Ec.4})$$

Donde FWHM denota la anchura completa de la mitad del área de la línea de emisión, que se calcula a partir del espectro.

*Cálculo de la densidad relativa de átomos neutros e ionizados*²³. - Con la temperatura y la densidad de electrones determinadas, la densidad relativa de átomos neutros e ionizados pueden ser calculadas mediante:

$$FN^{(I/II)} = \frac{1}{M} \sum_{m=1}^M \left\{ \frac{I_{ij}^{(I/II)} Q^{(I/II)}(T_e)}{A_{ij}^{(I/II)} g_{ij}^{(I/II)} \exp\left(-\frac{E_i^{(I/II)}}{kT_e}\right)} \right\} \quad (\text{Ec.5})$$

Donde M denota el número de líneas espectrales seleccionadas, F es un factor determinado por el proceso de normalización del algoritmo y $N^{(I/II)}$ es la densidad relativa.

Un parámetro importante para el cálculo de la densidad relativa es la función de partición $Q(T_e)$:

$$Q(T_e) = \sum_i g_i \exp\left(-\frac{E_i}{kT_e}\right) \quad (\text{Ec.6})$$

*Cálculo de la abundancia relativa de cada elemento*²¹. - El paso final del cálculo es obtener la abundancia relativa de cada elemento. Una vez que se tiene la densidad relativa de todos los elementos presentes en la muestra, la abundancia relativa de cada uno de ellos se calcula como:

$$C_a = \frac{N_a}{\sum_{a'} N_{a'}} = \frac{(N_a^I + N_a^{II})}{\sum_{a'} N_{a'}} \quad (\text{Ec.7})$$

Donde el sumatorio se refiere a todos los elementos detectados.

1.3 Aplicaciones de LIBS

A continuación, se presentan algunos de los campos de aplicación más sobresalientes de la técnica LIBS:

- *Agricultura*: el interés del LIBS en este campo reside en su versatilidad y potencialidad para análisis in situ. Se ha utilizado para análisis de plantas fertilizantes y suelos. Por

ejemplo determinaciones de micro/macronutrientes y contaminantes en plantas y fertilizantes, mapeamientos químicos de plantas, textura de suelos...¹¹

- *Forense*: LIBS ha sido aplicado con éxito para el análisis forense de falsificación de moneda, drogas, explosivos, huellas dactilares, tinta y papel, pelo, pintura...³
- *Arqueología*: LIBS es una técnica muy apropiada para este tipo de análisis ya que permite la conservación del material sin destruirlo. Además, los análisis son rápidos, se requiere poca cantidad de muestra y se pueden utilizar sistemas portátiles para análisis in situ en museos, sitios de excavación... Se han analizado materiales como cerámicas, monedas esculturas, vidrios, mármoles...²⁴
- *Industria y producción*: LIBS es muy utilizado en la industria y la producción gracias a que es una técnica fácilmente adaptable a una línea de producción y, de esta manera, aumenta la velocidad de los análisis y tiene un menor costo operativo. El material que más atención ha acaparado es el acero, por ejemplo para cuantificar su contenido en C, aunque también se han analizado bronce y oros.¹²
- *Biomedicina*: es capaz de analizar la composición química de muestra biológicas como huesos, tejidos y fluidos. LIBS puede ayudar a detectar deficiencia o exceso de minerales en dientes, uñas... Además, también es capaz de detectar algún tipo de cáncer y destruir células tumorales.⁸
- *Medio ambiente*: debido al creciente interés por los problemas ambientales se han realizado numerosos estudios aplicando LIBS a diversas muestras. Puede reducir el tiempo y los costos de análisis, por lo que es una técnica prometedora para el monitoreo ambiental. Puede trabajar con aerosoles, filtros de aire, sustancias reciclables...²⁵ Las partículas atrapadas en gases (aerosoles) son de gran interés para el monitoreo medioambiental y en la industria. Afectan a la calidad del aire, por tanto, también a los humanos y al medioambiente. Desde el punto de vista medioambiental, los aerosoles constituyen un importante problema político en la regulación de la calidad del aire.²⁶ Existen dos estrategias básicas para obtener información de estos sistemas:²² control directo desde el ambiente y captura de las partículas con filtros adecuados con un análisis subsecuente de la superficie del filtro mediante el láser.

1.4 Objetivos del trabajo

Objetivo 1. Realizar una búsqueda bibliográfica de la Espectroscopía de Plasmas Inducidos por Láser, y de la Calibración Libre como método alternativo para la caracterización de muestras difíciles de resolver por métodos tradicionales de calibración.

Objetivo 2. Obtener un alto grado de destreza en el manejo de la instrumentación de la técnica, así como en el software utilizado en la Calibración Libre.

Objetivo 3. Llevar a cabo la optimización de parámetros instrumentales para la caracterización de filtros de aire.

Objetivo 4. Obtener resultados de la caracterización de los filtros de aire mediante LIBS, utilizando la metodología de calibración libre y estudiar si son comparables con otro tipo de técnica rápida y que proporciona análisis semi cuantitativos como es el FESEM.

2. Procedimiento experimental

2.1. Muestra

El filtro de aire estudiado en este trabajo proviene de Brasil. Fue tomado en la Praça dos Voluntários (Sao Carlos) por personal de la Universidade Federal de Sao Carlos. El filtro utilizado está compuesto por fibras de cuarzo en los que el material particulado queda depositado en un proceso de captación de 24 horas.

Figura 3. Imagen de la Praça dos Voluntários.



2.2. Instrumentación

En la Figura 4 se indica el montaje instrumental utilizado en el análisis de filtros de aire.

La cámara de muestras presenta la estructura que indica la Figura 5, siendo: 1- lente de focalización; 2- suministro de argón, 3 portamuestras y 4- fibra óptica.

Figura 4. Montaje instrumental para análisis mediante LIBS: 1- Sistema de bombeo del láser; 2- Láser Nd: YAG; 3- Cámara de muestras; 4- Gatillo/Disparador; 5- Espectrómetro Echelle; 6- Detector ICCD.

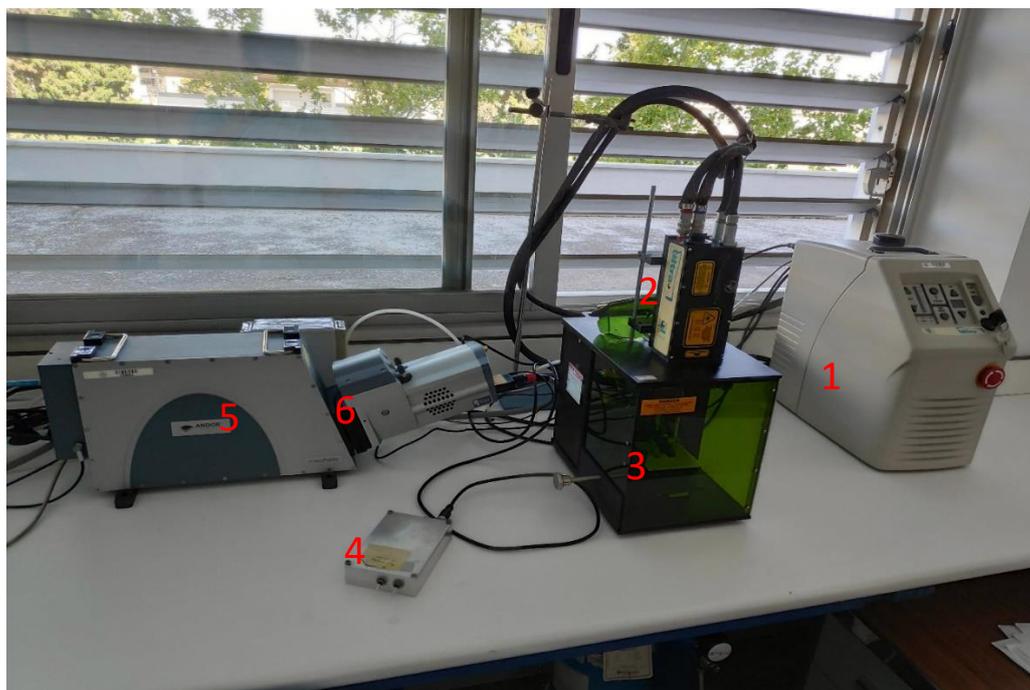


Figura 5. Estructura de la cámara de análisis



2.2.1. Láser

Se empleó un láser Nd: YAG modelo Brilliant Quantel, Ultra CFR, Q-Switched, que emite con un tiempo de duración de pulso de 8 ns, una longitud de onda de 1024 nm y una potencia máxima de 50 mJ por pulso. En los láseres de Nd: YAG el medio activo consta de un cristal amorfo de ytrio y aluminio dopado con neodimio. Las transiciones entre los niveles de energía de los iones neodimio son las responsables de la acción láser. Estos niveles, son naturalmente degenerados en 3 estados, que son apretados por la interacción del campo con el cristal. Como resultado, las transiciones que están prohibidas entre los tres estados, llegan a ser permitidas dando lugar a la consiguiente elevación de la emisión láser. El sistema de bombeo en este caso es una lámpara de xenón. Para concentrar el haz láser antes de incidir en la muestra se usa una lente de focalización.²⁷

2.2.2. Espectrómetro

Se trata de un espectrómetro Echelle (Andor Mechelle ME5000, 195 mm de longitud focal, F/7, I/AI 5000) que utiliza una rejilla de difracción para producir una gran dispersión en un rango de longitud de onda pequeño en cada orden. Proporciona una alta resolución y un paso de banda grande, se puede hacer muy compacto y está diseñado sin partes móviles. Se puede emplear para aplicaciones de campo.²⁸

Previamente se calibra el equipo con una lámpara de argón mercurio (Ocean Optics, HG-1, líneas de Hg-Ar comprendidas entre 253-922 nm)

2.2.3. Detector

Se utiliza una cámara CCD Intensificada (ANDOR iStar DH734; 1024 × 1024 píxeles; 13,6 × 13,6 μm^2 por píxel; 18 mm de diámetro del intensificador) acoplada al espectrómetro, tal y como se observa en la Figura 3. La principal ventaja que presenta es la alta velocidad de adquisición de imágenes con amplificación, haciéndola sensible incluso a bajos niveles de luz y con fuentes de impulsos, ya que este dispositivo elimina casi cualquier fondo continuo no deseado, por ejemplo, proveniente de la luz de una habitación.¹⁴

2.3 Software

Para el control de los parámetros instrumentales, del detector y para la obtención de los espectros se usó el software Andor MCD Software v.4.1.0.0

Para el tratamiento de los espectros se utilizó Origin Pro 9.0 de Origin Labs, Microsoft Excel 2017 y la Base de Datos de Líneas Atómicas Espectrales del National Institute of Standards and Technology (NIST).

Para la realización de la “Calibración Libre” se utilizó el programa LIBS++ de ARWAN Technology.

2.4 Procedimiento

2.4.1 Tratamiento de la muestra

Se realizan cortes en el filtro con unas tijeras, de manera que se obtengan trozos rectangulares de la medida de un portaobjetos, y se pegan sobre él con cinta adhesiva de doble cara. De esta manera, el filtro está listo para ser analizado por LIBS.

Figura 6. Ejemplo de muestras de filtros de aire



2.4.2 Optimización de los parámetros instrumentales

Tiempo de retraso de lectura: es el tiempo que se tarda en medir desde que se forma el plasma. La optimización de este tiempo de retraso se basa en encontrar el tiempo de compromiso entre dos situaciones. A tiempos muy cortos el plasma tiene una elevada temperatura ($>15000\text{K}$) y una gran concentración electrónica ($>10^{18}\text{ cm}^{-3}$), por lo que en estas primeras etapas del plasma hay muchas especies emitiendo que generan una señal intensa y continua (lo que se denomina continuo)¹⁶. Además, al dejar pasar muy poco tiempo, es posible que algunos elementos de interés no hayan emitido todavía. Sin embargo, a tiempos de retraso largos, el plasma ya ha perdido mucha energía y se ha enfriado por lo que los elementos que habían sido excitados ya han emitido y regresado al estado fundamental.

Tiempo de medida: es el tiempo durante el cual se capta la emisión del plasma. Cuanto mayor sea este tiempo, más cantidad de luz llega al detector y más intensos serán los picos. Por el contrario, el ruido también crecerá. Por lo tanto, la optimización también se basa en encontrar el tiempo de compromiso entre dos situaciones. A tiempos cortos muchos elementos no darán señal por no haberles dado tiempo a emitir. A tiempos muy largos, si el elemento de interés deja

de emitir en un tiempo corto, la intensidad de la emisión recogida no corresponderá con la emitida por el elemento y habrá mucho ruido.

En ambos casos, para elegir entre dicha situación de compromiso, se eligen unos picos representativos de los elementos de la muestra y se mide la relación Señal-Ruido (SNR), de tal manera que se elegirá en cada caso el tiempo que presente mayores valores para la SNR de esas señales representativas. La forma de calcular la SNR se expone en el Anexo 1

El procedimiento seguido para la optimización de los parámetros instrumentales es el siguiente:

Se realiza un primer espectro con una energía de 45 mJ, delay de 500 ns, tiempo de integración de 2000 ns y 5 acumulaciones. Ese espectro es utilizado para obtener una primera impresión de la composición de la muestra y localizar esas líneas representativas con las que llevar a cabo la optimización. Para ello se utiliza la base de datos del NIST y se localizan todas las señales posibles que aparecen en el espectro. Una vez localizadas, se eligen para la optimización aquellas señales que son lo más finas posibles, con el menor ruido de fondo posible y que no tengan señales que puedan interferir. Las señales utilizadas para la optimización se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Líneas espectrales elegidas para la optimización de parámetros instrumentales.

Elem	Fe II	Mg II	Mg I	Al I	Al I	Ca II	Ca I	Ba II	K I	K I
$\lambda(\text{nm})$	259,93	280,27	285,21	308,27	309,30	318,00	422,72	493,42	766,5	769,9

Con las señales ya elegidas, se realizan distintos espectros con un tiempo de delay fijo de 500 ns y modificando el tiempo de integración en 1000, 1500, 2000, 3000 y 5000 ns para elegir entre ellos el óptimo.

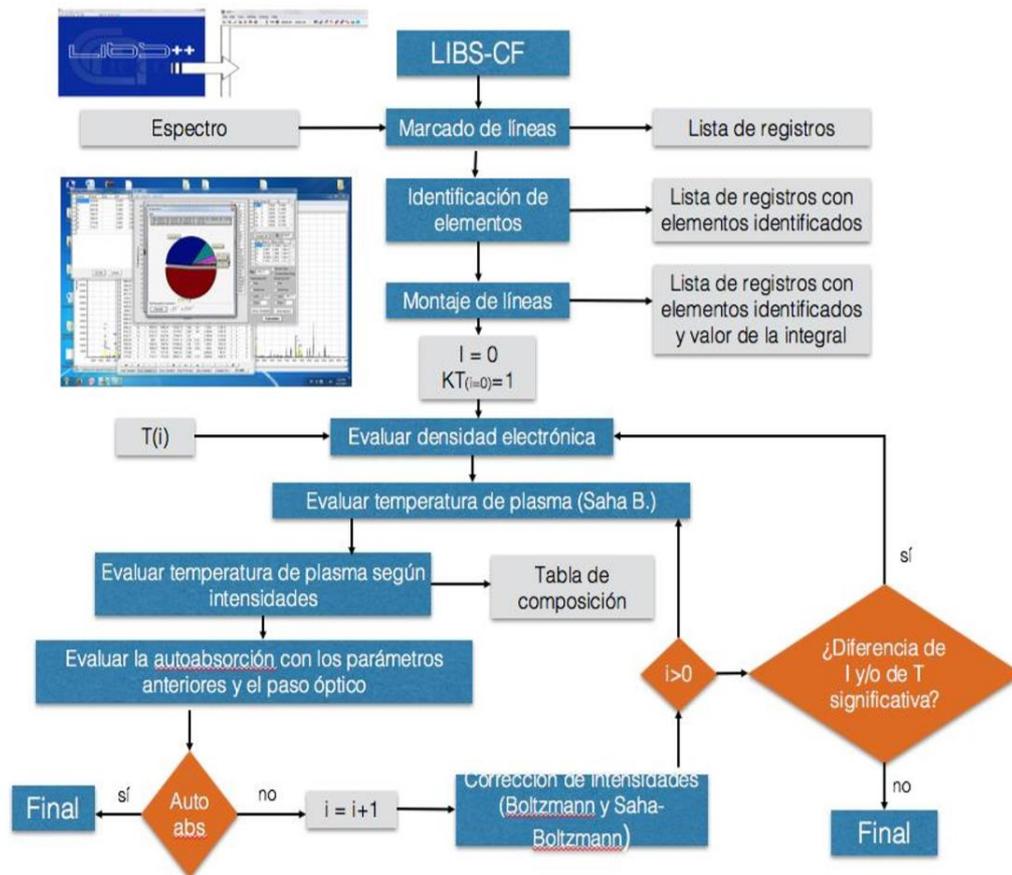
Con el tiempo de integración óptimo ya fijado, se estudian distintos tiempos de delay entre 100, 300, 500, 800, 1000, 1500 y 2000 ns.

2.4.3 Caracterización de filtros de aire utilizando LIBS y el método de Calibración Libre

Para llevar a cabo el análisis de los filtros, se divide el filtro en 6 muestras rectangulares del tamaño de un portaobjetos y se realiza la determinación de la composición de cada una de las muestras por LIBS. Para ello, con todos los parámetros optimizados, se realizan 6 espectros de cada una de las muestras, siendo cada uno de ellos formado por la acumulación de 15 disparos con el láser. El espectro analizado para cada muestra será el promedio de esos 6 espectros.

El análisis de los espectros se lleva a cabo con el software LIBS++, cuya metodología de trabajo se expone en la Figura 7.

Figura 7. Metodología aplicada para el análisis por Calibración Libre del programa LIBS++²⁹



A continuación, se explican detenidamente los pasos seguidos:

Corrección de la longitud de onda de las señales: los valores de longitudes de onda de las señales obtenidos experimentalmente no se corresponden perfectamente con los ofrecidos por las bases de datos. Para corregir esas posibles fluctuaciones, se localiza en el espectro una línea que no esté interferida y que se identifique muy bien, y si esa línea difiere del valor que proporciona la base de datos del NIST, se ordena al programa que desplace el espectro para que coincida el valor. En este trabajo se ha elegido una línea del Silicio, que según la base de datos del NIST aparece en 288,158 nm.

Identificación de líneas: como se ha explicado anteriormente, hay que identificar el mayor número de líneas posibles del mayor número de especies posibles. Para ello, se clicke sobre la línea que se quiere identificar y el programa nos ofrece una lista de los diferentes elementos y transiciones a las que puede corresponder dicha línea. Es por eso por lo que hay que tener cuidado y decidir bien a qué elemento corresponde dicha línea.

Integración de las señales: se calcula el área de cada uno de los picos, que será la señal de intensidad utilizada para elaborar la gráfica de Saha-Boltzmann. Todos los demás parámetros necesarios para la CL como la degenerancia, la probabilidad, etc los proporciona ya el software.

Cálculo de la densidad electrónica: la densidad electrónica es calculada automáticamente por el software a partir de la señal de hidrógeno que se encuentra a 656,28 nm.

Cálculo de la temperatura mediante la representación de Saha-Boltzmann: el software realiza una recta de regresión para cada elemento presente en la muestra, siendo la intensidad de cada una de las señales de ese elemento un punto de la recta. A partir de la pendiente de esa recta, el programa calcula la temperatura del plasma. Idealmente deberían de resultar iguales o muy semejantes las temperaturas proporcionadas por todos los elementos. Puede ocurrir que se observen en la recta puntos anómalos que puedan causar fuentes de error y, en ese caso, se eliminan conforme una serie de criterios.

Cálculo de la composición de la muestra: con los valores de densidad electrónica y temperatura calculados, el software, utilizando las expresiones comentadas en el Apartado 1.2.2, da los resultados de la composición relativa de cada elemento en porcentaje en masa.

3. Resultados y discusión

3.1 Optimización de parámetros instrumentales

3.1.1 Tiempo de integración o medida

En el Anexo 2 se muestran los 5 espectros realizados con tiempo de retraso de lectura de 500 ns y variando el tiempo de integración, para cada una de las señales escogidas para llevar a cabo la optimización (realizados con Origin Pro-9). Con ayuda de esos espectros, se ha calculado la SNR de cada una de las señales y los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. SNR obtenida para distintos tiempos de integración.

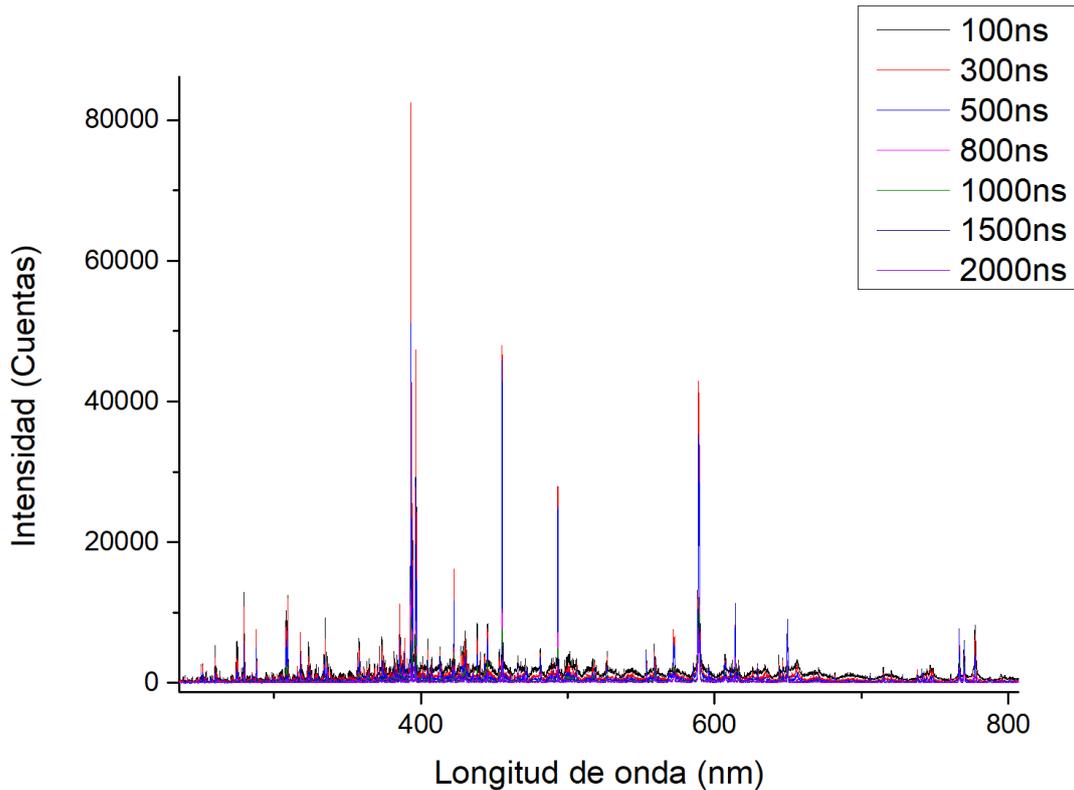
	t integracion 1000 ns	t integracion 1500 ns	t integracion 2000 ns	t integracion 3000 ns	t integracion 5000 ns
Fe II (259,93)	2,718	3,035	7,357	3,502	2,465
Mg II (280,27)	17,523	16,633	21,610	4,322	4,704
Mg I (285,21)	7,055	11,875	10,169	6,759	3,832
Al I (308,27)	5,009	4,160	4,772	4,974	5,498
Al I (309,30)	8,183	7,946	7,059	8,572	9,889
Ca II (318,00)	7,267	8,579	8,619	6,165	5,679
Ca I (422,72)	10,923	13,810	11,507	11,479	11,395
Ba II (493,42)	19,153	10,739	19,427	14,269	12,239
K I (766,5)	17,530	13,330	15,997	12,708	17,022
K I (769,9)	14,002	14,698	17,287	14,510	17,097

De la Tabla 2 se puede extraer que hay varias de las señales representativas que dan resultados muy similares de la SNR en todos los tiempos de integración, como por ejemplo las de Al I (308,27 y 309,30) y Ca II (318,00). Sin embargo, es el espectro que usa un tiempo de integración de 2000 ns el que mejores resultados generales da, siendo en la mayoría de los casos el que proporciona mayor SNR y en los demás también ofrece buenos valores de SNR. Por tanto, se elige como tiempo de integración óptimo 2000 ns.

3.1.2 Tiempo de retraso de lectura

En la Figura 8 se expone el espectro completo de la muestra para los 7 diferentes tiempos de retraso.

Figura 8. Comparación de espectros utilizando distintos tiempos de retraso de lectura.



En la imagen se puede observar que, por ejemplo, el espectro realizado con un tiempo de retraso de 100 ns (negro) y el de 300 ns (rojo) tienen demasiado ruido, por lo que esos valores no son adecuados. Aun así, se comprueba de forma numérica para todos los tiempos de retraso (calculando la SNR). En el Anexo 3 se muestran las imágenes de los 7 espectros para cada una de las señales, y los resultados de las SNR se recogen en la Tabla 3.

Tabla 3. SNR obtenida para distintos tiempos de retraso de lectura.

	delay time de 100 ns	delay time de 300 ns	delay time de 500 ns	delay time de 800 ns	delay time de 1000 ns	delay time de 1500 ns	delay time de 2000 ns
Fe II (259,93)	3,410	4,747	3,502	2,163	1,693		
Mg II (280,27)	8,150	10,431	21,610	3,583	2,520		
Mg I (285,21)	1,441	2,628	10,169	1,969	2,482	1,486683417	1,601326959
Al I (308,27)	2,898	3,448	4,772	4,724	7,207	6,622211094	6,356078975
Al I (309,30)	4,367	6,349	7,059	5,764	8,683	9,117584332	7,131924086
Ca II (318,00)	2,331	4,387	8,619	2,728	2,194		
Ca I (422,72)	4,518	5,752	11,507	3,790	2,934	5,012920361	4,563062146
Ba II (493,42)	8,283	13,567	19,427	10,491	6,233	6,177699257	5,366363647
K I (766,5)	7,485	13,912	15,997	7,040	7,281	6,108597406	6,302952199
K I (769,9)	6,504	7,853	17,287	3,986	9,530	5,330416896	5,834178097

En la Tabla 3 se puede observar que hay delay times en los que no se ha podido calcular la SNR debido a que las señales eran tan débiles que se confundían con el ruido. De esta manera los delay times de 1500 y 2000 ns quedan descartados. Entre los demás, el tiempo de 500 ns es el que mejores resultados ofrece, así que es el elegido como tiempo óptimo.

Como conclusión de este apartado, los parámetros instrumentales que mejores resultados ofrecen para llevar a cabo la determinación por LIBS de los filtros de aire son:

- Tiempo de retraso de lectura (delay time): 500 ns
- Tiempo de medida o integración :2000 ns

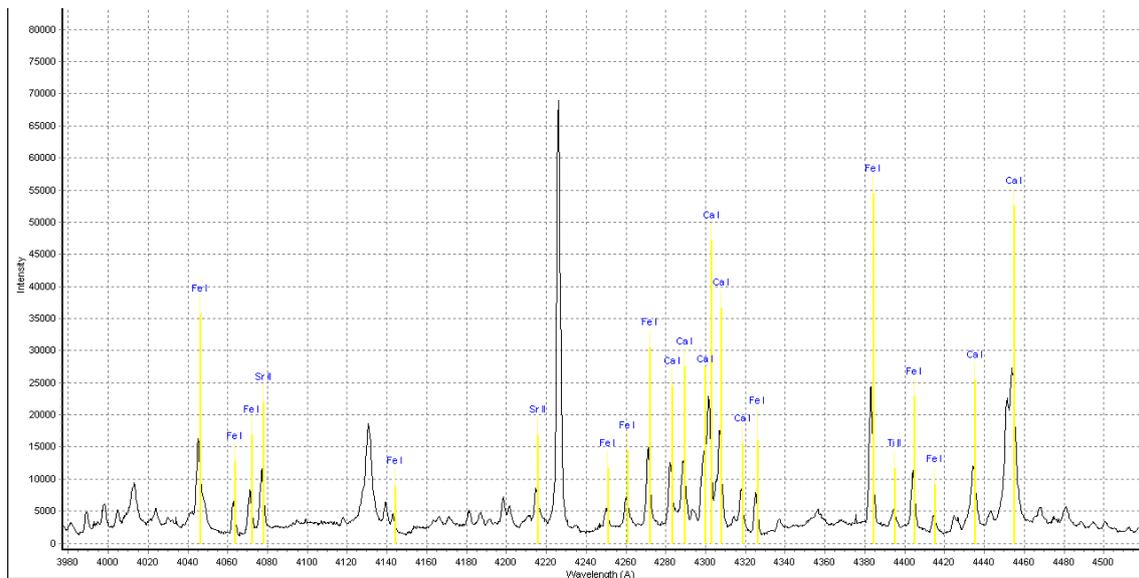
3.2 Caracterización del filtro de aire de Brasil mediante LIBS y Calibración Libre

Se ofrecen los resultados de la caracterización del filtro de aire siguiendo el procedimiento indicado en el Apartado 2.3.3.

Identificación de líneas: se han utilizado para el cálculo 117 líneas correspondientes a los elementos Fe, Ti, Si, Al, Ca, Zn, Na, K, Ba, Mg y Sr. Fe y Ti concentran, entre la especie excitada y la ionizada, más de la mitad de las líneas del espectro, ya que Fe presenta 38 líneas y Ti 23. Otro elemento rico en líneas es el Ca, el cual presenta 22. Los demás elementos aportan un menor número líneas. El Mg aporta 5 y el Sr 3. Para el Ba se han identificado 4 señales únicamente del estado excitado y ninguna del ionizado. Lo contrario ocurre con K, Na, Zn, Al y Si que aportan respectivamente 2, 4, 5, 3 y 8 líneas, pero sólo de la especie excitada.

En la Figura 9 se muestra la imagen de una fracción del espectro con las señales identificadas mediante LIBS++. El resto de las fracciones se recogen en el Anexo 4.

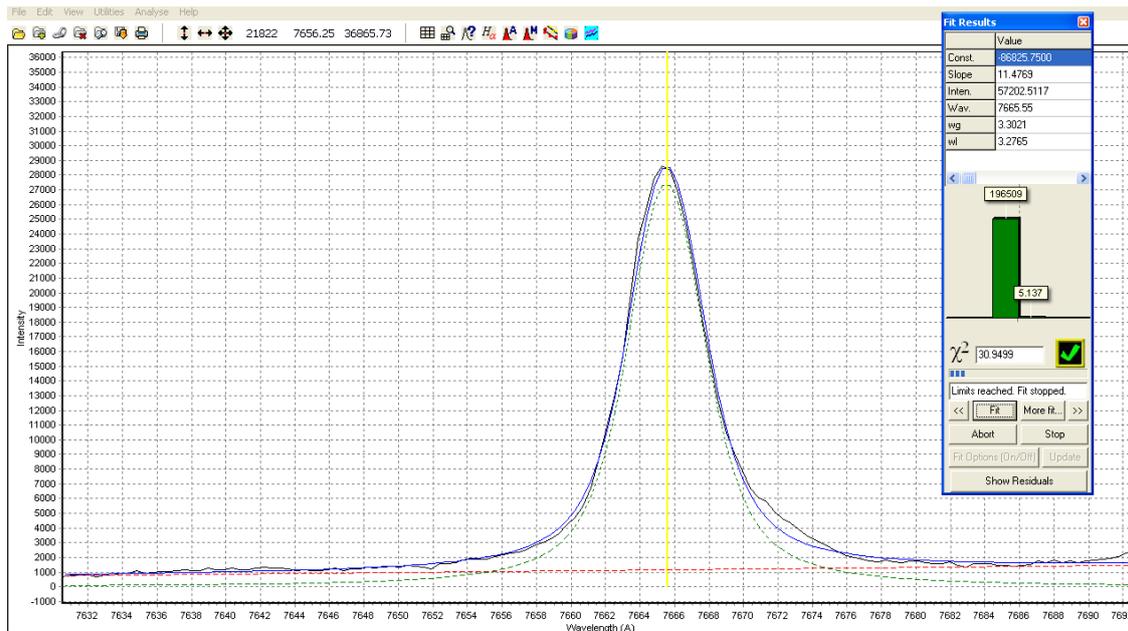
Figura 9. Señales identificadas en el espectro de la muestra mediante LIBS++.



Como se observa en la Figura 9, aparecen señales de intensidad relevante que no son utilizadas para el cálculo. Esto ocurre porque pueden ser señales descartadas según los criterios que se verán más adelante, pero también puede ser que dichas señales no se puedan identificar con ninguno de los elementos ya contrastados. Estas señales se pueden atribuir a especies moleculares formadas en la duración del plasma.

Integración de los picos: la Figura 10 muestra la manera de llevar a cabo la integración de un pico. Se exponen más ejemplos en el Anexo 5.

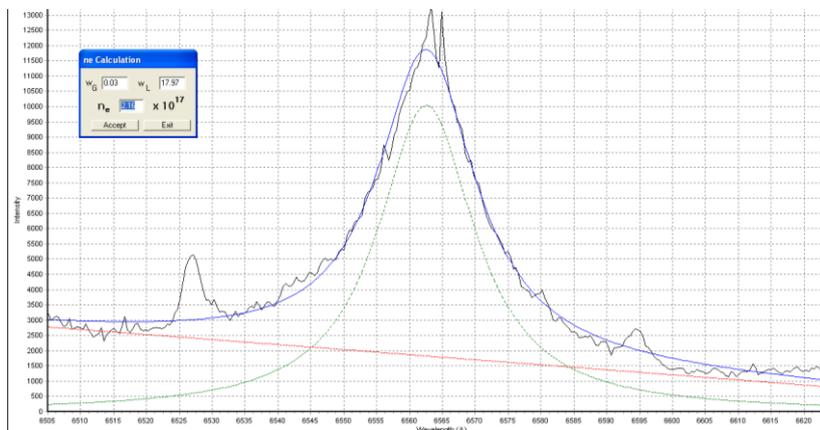
Figura 10. Ejemplo de integración de señales con LIBS++



Para llevar a cabo una buena integración, hay que centrar bien la señal en la pantalla, acercando o alejando el espectro para que quede bien encuadrada. Entonces se utiliza la herramienta de integración de LIBS++. La línea roja debe representar lo más exactamente posible la línea base del pico y la línea verde debe ajustarse lo máximo posible a su altura y forma. Si esa línea verde no se ajusta bien, habría que encuadrar la señal de otra manera y volver a integrarla.

Cálculo de la densidad electrónica: en la Figura 11 se muestra cómo se realiza.

Figura 11. Forma de realizar el cálculo de la densidad electrónica



En la Figura 11 se observa el pico de hidrógeno a 656,28 nm. Al hacer la integración de ese pico, y calcular las anchuras de Gauss y Lorentz, el software calcula la densidad electrónica mediante la Ec. 4 expuesta en el Apartado 1.2.2.2.

La Tabla 4 muestra los resultados de la densidad electrónica para las 6 muestras.

Tabla 4. Resultados del cálculo de densidad electrónica para las 6 muestras.

Muestra	1	2	3	4	5	6
Densidad electrónica (cm ⁻³)	$2,24 \times 10^{17}$	$2,20 \times 10^{17}$	$2,21 \times 10^{17}$	$2,16 \times 10^{17}$	$2,17 \times 10^{17}$	$2,18 \times 10^{17}$

Como indica la tabla, todos los valores están dentro del Criterio de Mc Whirter, luego se puede asegurar que el plasma cumple el LTE.

Cálculo de la temperatura mediante la representación de Saha-Boltzmann: como se explica en la metodología de trabajo expuesta anteriormente, se realiza una primera representación de Saha-Boltzmann con todas las líneas identificadas y se observa que en las rectas aparecen puntos anómalos que hacen que empeore el análisis de regresión. Para eliminar dichos puntos y así obtener pendientes similares y mejores valores de temperatura para todos los elementos se siguen una serie de criterios:³⁰

- Todas las líneas que involucran el estado fundamental son excluidas. Además, son excluidas las líneas que corresponden a transiciones con el nivel inferior de energía menos de 6000 cm⁻¹, para minimizar el efecto de autoabsorción.
- Se excluyen las líneas con coeficiente de emisión espontánea menor que 2×10^6 s⁻¹, porque los correspondientes tiempos de emisión pueden ser comparables con el tiempo asociado a las variaciones del plasma.³¹
- Todas las señales con intensidad relativa muy elevada (generalmente >3000) se eliminan porque, como consecuencia de la integración espacial de las líneas de emisión a lo largo de la ruta óptica, la población correspondiente se puede sobreestimar.
- Las líneas que se crea que puedan sufrir interferencias espectrales también son eliminadas.

Por todos estos motivos, varias líneas espectrales fueron eliminadas y al final el cálculo se realizó con 117 señales, como se ha dicho anteriormente. Las longitudes de onda de todas las líneas utilizadas para el cálculo se muestran en la Tabla 5.

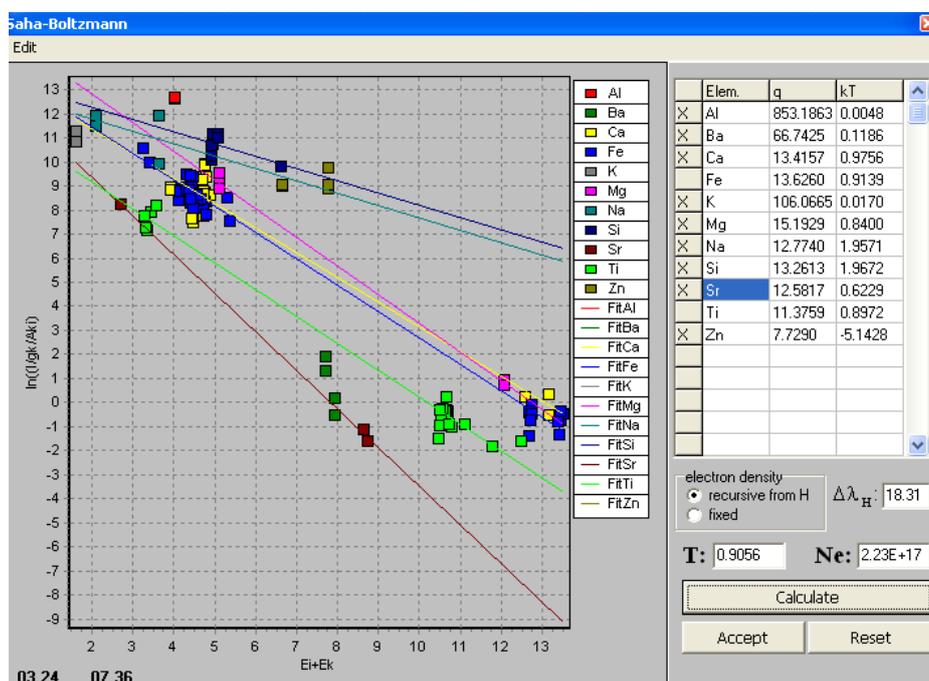
Tabla 5. Líneas espectrales utilizadas para el cálculo por Calibración Libre.

Elemento	Estado del elemento	Número de líneas	Longitud de onda (nm)
Fe	Fe I	27	356,54 357,01 358,12 360,89 361,87 363,15 364,82 373,48 374,55 374,97 381,58 382,04 382,59 382,78 404,58 406,36 407,17 414,39 425,08 426,05 427,18 432,58 438,35 440,48 441,51 492,05 532,80
	Fe II	11	259,59 259,94 260,71 261,19 261,38 261,76 271,41 273,95 274,32 274,93 275,57
Al	Al I	3	308,22 309,27 396,15
Si	Si I	8	250,69 251,61 251,92 252,41 252,85 262,13 288,16 390,55

Ti	Ti I	8	364,27 365,35 453,48 498,17 499,11 499,95 500,72 501,42
	Ti II	15	319,09 323,45 323,66 323,90 324,20 325,29 328,77 334,94 336,12 337,28 338,38 338,78 368,52 439,50 457,20
Ca	Ca I	19	428,30 428,94 429,90 430,25 430,77 431,86 443,49 445,48 526,56 527,03 558,88 559,45 559,85 560,29 610,27 616,22 643,91 644,98 646,26
	Ca II	3	315,89 317,93 370,60
Zn	Zn I	5	328,23 330,26 334,50 472,22 481,05
Na	Na I	4	588,99 589,59 818,33 819,48
K	K I	2	766,49 789,90
Ba	Ba II	4	493,41 585,37 614,17 649,69
Mg	Mg I	3	516,73 517,27 518,36
	Mg II	2	279,55 280,27
Sr	Sr I	1	460,73
	Sr II	2	407,77 421,55

Con todas las líneas presentadas en la Tabla 5, una vez calculada su intensidad y con todos los demás parámetros necesarios ofrecidos automáticamente por LIBS++, además de los valores de densidad electrónica, se realiza la representación de Saha-Boltzmann. En la Figura 12 se muestra la representación de Saha-Boltzmann para la muestra 3, el resto de las representaciones se recogen en el Anexo 6.

Figura 12. Representación de Saha-Boltzmann para la Muestra 3.



La Figura 12 muestra la representación de Saha-Boltzmann de varios elementos presentes en la muestra. Como se puede observar, hay diferencias significativas en las pendientes de dichas rectas, debido a que, para algunas especies, hay muy pocas señales seleccionadas. Sin embargo, los elementos Fe y Ti, para los cuales hay un gran número de señales identificadas tanto del estado excitado (puntos de la izquierda de la gráfica), como del ionizado (puntos de la parte derecha), dan valores muy semejantes de kT . Por tanto, esas dos rectas serán las seleccionadas para el cálculo de la temperatura en todas las muestras. La Tabla 6 muestra los resultados del cálculo de la temperatura para las 6 muestras.

Tabla 6. Resultado del cálculo de la temperatura para todas las muestras

Muestra	1	2	3	4	5	6
kT (eV)	0,9101	0,9065	0,9056	0,8980	0,9000	0,9043
T (K)	10561 K	10519	10509	10421	10444	10494

Resultados de composición para las muestras: los resultados de la composición de las 6 muestras, calculados mediante las expresiones de los apartados 1.2.2.3 y 1.2.2.4, se recogen en la Tabla 7. Estos resultados se dan en porcentaje en masa ya que se carece de datos de las pesadas de los filtros.

Tabla 7. Resultado (en porcentaje en masa) de la concentración de los elementos de la muestra

Elemento	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
Sr	0,10 %	0,12 %	0,13 %	0,13 %	0,14 %	0,12 %
Mg	0,62 %	0,66 %	0,67 %	0,69 %	0,74 %	0,68 %
Ba	2,47 %	1,30 %	1,24 %	1,37 %	1,37 %	1,25 %
K	3,84 %	4,15 %	4,20 %	4,12 %	4,26 %	3,99 %
Na	5,17 %	5,60 %	5,53 %	5,86 %	5,75 %	5,25 %
Ti	5,30 %	5,87 %	6,01 %	6,91 %	6,09 %	6,28 %
Zn	6,26 %	5,89 %	7,37 %	6,71 %	7,09 %	6,58 %
Ca	10,21 %	10,40 %	10,04 %	11,95 %	11,86 %	10,07 %
Si	16,69 %	14,89 %	14,12 %	14,35 %	14,34 %	15,14 %
Fe	22,62 %	24,28 %	23,50 %	23,88 %	21,71 %	24,72 %
Al	26,72 %	26,84 %	27,18 %	24,03 %	26,65 %	25,92 %

De acuerdo con los resultados de la Tabla 7, se ha calculado una concentración media para cada elemento y su desviación estándar. Todo ello se muestra en la Tabla 8.

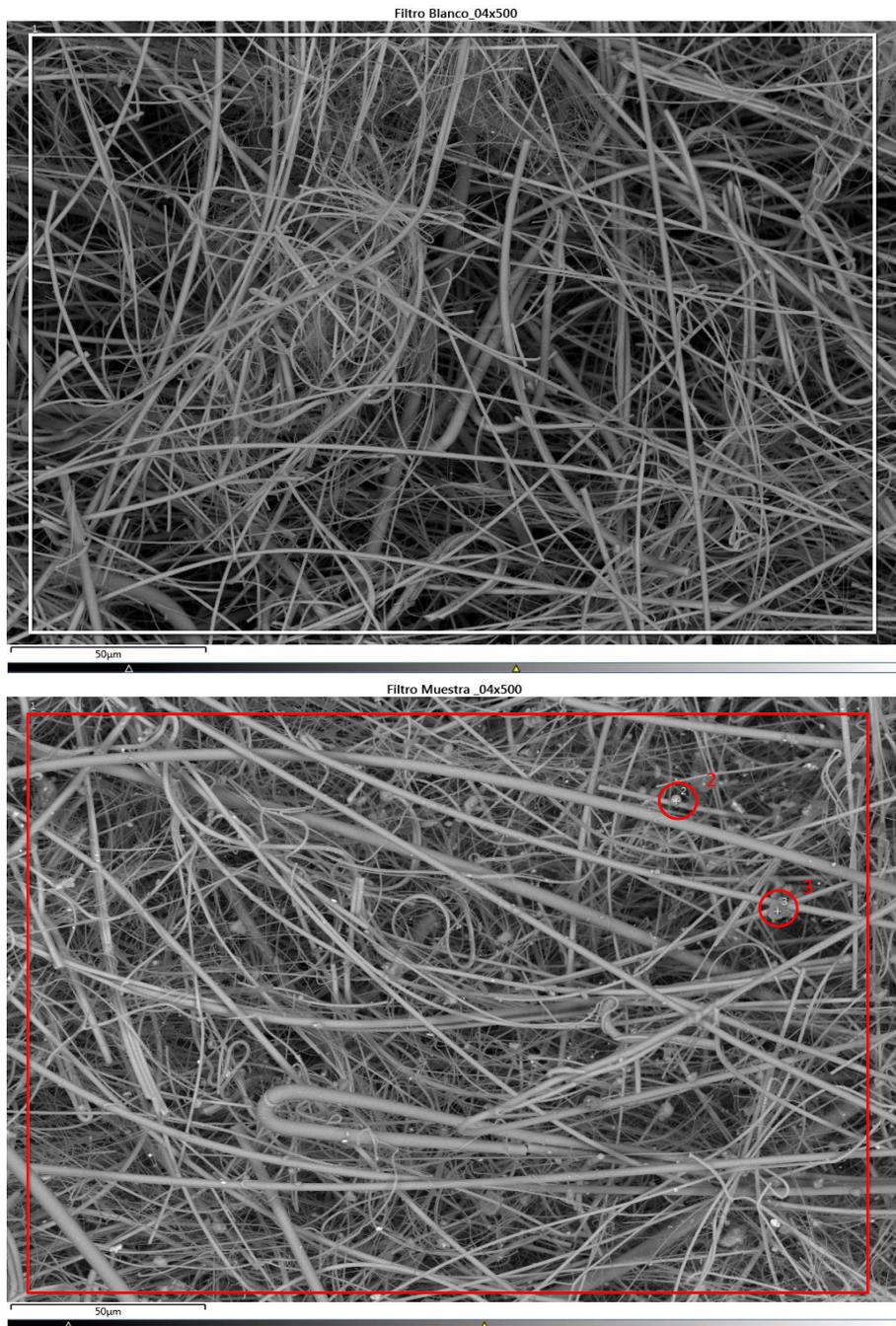
Tabla 8. Resultados medios y desviación estándar para cada elemento

Elem	Sr	Mg	Ba	K	Na	Ti	Zn	Ca	Si	Fe	Al
Media	0,12	0,68	1,50	4,09	5,53	6,08	6,65	10,76	14,92	23,45	26,22
Desv est.	0,01	0,04	0,48	0,15	0,27	0,53	0,54	0,90	0,95	1,11	1,15

3.3 Comparación de resultados con los proporcionados por FESEM

A la par que los análisis realizados por LIBS, la muestra fue analizada mediante FESEM (Microscopía Electrónica de Barrido con Emisión de Campo) y microanálisis por rayos X por miembros del Servicio General de Apoyo a la Investigación (SAI) de la Universidad de Zaragoza. Las especificaciones del análisis se encuentran en el Anexo 7. En la Figura 13 se muestra una imagen por FESEM del filtro blanco y otra del filtro de muestra. El resto de las imágenes sacadas mediante FESEM se recogen en el Anexo 8.

Figura 13. Filtro blanco y muestra observados por FESEM.



En la Figura 13 se observa claramente la diferencia entre el filtro blanco, en el que sólo se ven las fibras, y el filtro de muestra en el que se ven las fibras con el material particulado.

Los resultados aportados por el FESEM se indican en la Tabla 9.

Tabla 9. Resultados FESEM (en porcentaje en masa)

	Na	Mg	Al	Si	P	S	Cl	K	Ca	Ti	Fe	Zn	Ba	W
BL	11,79		5,67	52,52				5,80	2,68			9,30	12,26	
M1	11,27		6,36	51,01		0,64		6,15	2,87		1,42	8,26	12,04	
M2	7,87	0,57	11,33	38,81		0,60		3,66	1,78	0,45	27,95	2,65	4,31	
M3	7,27	1,29	5,41	26,45	1,35	1,09	0,53	3,54	2,84		42,60	1,36	3,68	2,59

El componente mayoritario del filtro blanco es el Si (lo cual es lógico porque es el componente mayoritario de la matriz). Sin embargo, se ve que el filtro blanco ya contiene metales como el Na, Al, K, Ca, Zn y Ba, por lo que está contaminado, probablemente por el mal embalaje de los filtros en el viaje a España, ya que iban envueltos en papel de aluminio.

Los valores de la muestra 1 indican el análisis realizado en el recuadro grande rojo de la imagen de la Figura 13. Debido a que se coge una gran cantidad de fibra, los resultados del FESEM para la muestra 1 son muy similares a los del blanco, pero ya se puede observar la aparición de una pequeña cantidad de Fe, y como el valor del Al aumenta. También se aprecia que hay algo de K y Ca.

La muestra 2 corresponde al análisis de la partícula que se encuentra en el interior del círculo rojo marcado con el número 2 de la Figura 13. Al analizar únicamente la partícula, se aprecia como la concentración de Fe ya es muy grande y la de Al también ha aumentado considerablemente. Eso indica que dicha partícula está compuesta mayoritariamente por hierro y aluminio, aunque también tiene algo de Ti y Mg.

En la partícula analizada en la muestra 3 ocurre lo mismo. El valor de la concentración de Fe es muy grande, así que esa partícula también será fundamentalmente hierro.

Estos resultados pueden considerarse similares a los obtenidos por LIBS, que también nos indican que los componentes mayoritarios del filtro de material particulado son el Al y el Fe y Si, que hay una cantidad apreciable de Ti, y que los demás elementos también se encuentran en el filtro, pero, probablemente, por contaminación.

Probablemente, la razón por la cual el análisis por LIBS da sólo una concentración de 14,92 % de Si es que, al ser el componente mayoritario de la matriz, las señales del elemento estén saturadas y, por lo tanto, no lleguen a dar la intensidad que deberían.

4. Conclusiones

Las conclusiones obtenidas tras la realización del trabajo y la obtención de los resultados son las siguientes:

1. Se ha llevado a cabo una optimización de los siguientes parámetros instrumentales: tiempo de retraso de lectura y tiempo de integración. Los parámetros instrumentales óptimos empleados para llevar a cabo el análisis fueron los siguientes:

Tiempo de retraso de lectura	Tiempo de integración
500	2000

2. Tras la realización de la caracterización de un filtro de aire de Brasil mediante LIBS, se han identificado los siguientes elementos: aluminio (Al), hierro (Fe), silicio (Si), zinc (Zn), titanio (Ti), calcio (Ca), potasio (K), sodio (Na), bario (Ba), magnesio (Mg) y estroncio (Sr), en las siguientes concentraciones relativas (mostrados en porcentaje en masa).

Elem	Sr	Mg	Ba	K	Na	Ti	Zn	Ca	Si	Fe	Al
Media	0,12	0,68	1,50	4,09	5,53	6,08	6,65	10,76	14,92	23,45	26,22
Desv est.	0,01	0,04	0,48	0,15	0,27	0,53	0,54	0,90	0,95	1,11	1,15

3. Tras la comparación con los resultados del FESEM, se ha llegado a la conclusión de que el elemento mayoritario en el filtro blanco es el Si, pero que está contaminado con otros metales como Na, Al, K, Ca, Zn y Ba (que también se detectan en LIBS). También se ha observado que el material particulado está compuesto principalmente por Fe y Al, que son los que dan más concentración en la determinación mediante LIBS.
4. Por todo ello, se puede considerar a la técnica CF-LIBS como una técnica comparable con otras de análisis multielemental rápido (como el FESEM) a la hora de aplicarlas a la caracterización de filtros de aire.

5. Referencias

- (1) Cid Velasco, J. P. Evolución y Dinámica de Plasmas Inducidos Por Láser. **2015**.
- (2) Maker, P. D.; Terhune, R. W. Study of Optical Effects Due to an Induced Polarization Third Order in the Electric Field Strength. *Phys. Rev.* **1965**.
<https://doi.org/10.1103/PhysRev.137.A801>.
- (3) Robayo Barragán, M. D. C. Aplicaciones En Espectroscopía de Plasma Inducido Por Láser (LIBS) Para Análisis No Destructivo (Forense, Arqueológico y de Superficie), Pontificia Universidad Católica del Ecuador, 2016.
- (4) Cremers, D. A.; Radziemski, L. J. *Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*; 2006. <https://doi.org/10.1002/0470093013>.
- (5) Cagnac, B.; Pebay-Peyroula, J. C.; Deech, J. S.; Hawkins, B. Modern Atomic Physics : Fundamental Principles . *Am. J. Phys.* **1977**. <https://doi.org/10.1119/1.10895>.
- (6) Vadillo, J. M.; Fernández Romero, J. M.; Rodríguez, C.; Laserna, J. J. Effect of Plasma Shielding on Laser Ablation Rate of Pure Metals at Reduced Pressure. *Surf. Interface Anal.* **1999**. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9918\(199911\)27:11<1009::AID-SIA670>3.0.CO;2-2](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9918(199911)27:11<1009::AID-SIA670>3.0.CO;2-2).
- (7) Aguilera, J. A.; Aragón, C.; Peñalba, F. Plasma Shielding Effect in Laser Ablation of Metallic Samples and Its Influence on LIBS Analysis. *Appl. Surf. Sci.* **1998**.
[https://doi.org/10.1016/S0169-4332\(97\)00648-X](https://doi.org/10.1016/S0169-4332(97)00648-X).
- (8) Anabitarte, F.; Cobo, A.; Lopez-Higuera, J. M. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy: Fundamentals, Applications, and Challenges. *ISRN Spectrosc.* **2012**.
<https://doi.org/10.5402/2012/285240>.
- (9) Lasheras, R. J. Caracterización y Cuantificación de Materiales Mediante Espectrometría de Plasmas Inducidos Por Láser, Tesis Doctoral, Universidad de Zaragoza, 2007.
- (10) Morgan, C. G. Laser-Induced Breakdown of Gases. *Reports Prog. Phys.* **1975**.
<https://doi.org/10.1088/0034-4885/38/5/002>.
- (11) Machado, R. C.; Andrade, D. F.; Babos, D. V. De; Gamela, R. LASER INDUCED-BREAKDOWN SPECTROSCOPY (LIBS): HISTÓRICO , Revisão. **2019**, No. April.
- (12) Lic, T.; Alvira, F.; Bilmes, G. M.; Carlos, F. *Espectroscopia de Plasmas Inducidos Por Láser (LIBS) Aplicada a La Caracterización de Piezas Únicas y Productos de Interés Industrial . Facultad de Ciencias Exactas Departamento de Química*; 2010.
- (13) Marín Roldán, A. Estudios de Variabilidad Climática y Estacionalidad Mediante Espectroscopía Láser, Universidad Complutense de Madrid, 2017.
- (14) Musazzi, S.; Perini, U. LIBS Instrumental Techniques. *Springer Ser. Opt. Sci.* **2014**.
https://doi.org/10.1007/978-3-642-45085-3_3.
- (15) Lacarte, J. A.; Lasheras, R. J.; Gálvez, C. B. Espectroscopía de Descomposición Inducida Por Láser (LIBS): Una Técnica Emergente En La Química Analítica. *Ciencia* **2010**.
- (16) Harmon, R. S.; Russo, R. E.; Hark, R. R. Applications of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy for Geochemical and Environmental Analysis: A Comprehensive Review. *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.* **2013**, *87*, 11–26.
<https://doi.org/10.1016/j.sab.2013.05.017>.

- (17) Eppler, A. S.; Cremers, D. A.; Hickmott, D. D.; Ferris, M. J.; Koskelo, A. C. Matrix Effects in the Detection of Pb and Ba in Soils Using Laser-Induced Breakdown Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* **1996**. <https://doi.org/10.1366/0003702963905123>.
- (18) Gornushkin, S. I.; Gornushkin, I. B.; Anzano, J. M.; Smith, B. W.; Winefordner, J. D. Effective Normalization Technique for Correction of Matrix Effects in Laser-Induced Breakdown Spectroscopy Detection of Magnesium in Powdered Samples. *Appl. Spectrosc.* **2002**. <https://doi.org/10.1366/0003702021955088>.
- (19) Ciucci, A.; Corsi, M.; Palleschi, V.; Rastelli, S.; Salvetti, A.; Tognoni, E. New Procedure for Quantitative Elemental Analysis by Laser-Induced Plasma Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* **1999**. <https://doi.org/10.1366/0003702991947612>.
- (20) Herrera, K. K.; Tognoni, E.; Omenetto, N.; Smith, B. W.; Winefordner, J. D. Semi-Quantitative Analysis of Metal Alloys, Brass and Soil Samples by Calibration-Free Laser-Induced Breakdown Spectroscopy: Recent Results and Considerations. *J. Anal. At. Spectrom.* **2009**, *24* (4), 413–425. <https://doi.org/10.1039/b820493d>.
- (21) Tognoni, E.; Cristoforetti, G.; Legnaioli, S.; Palleschi, V. Calibration-Free Laser-Induced Breakdown Spectroscopy: State of the Art. *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy*. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2009.11.006>.
- (22) Molineros, C. Estudio de Las Condiciones Físicas Necesarias de La Evolucion de Un Plasma LIBS Para La Implementacion de Un Método de Análisis Cuantitativo Sin Calibración (Calibration-Free LIBS). **2014**, 102.
- (23) Praher, B.; Palleschi, V.; Viskup, R.; Heitz, J.; Pedarnig, J. D. Calibration Free Laser-Induced Breakdown Spectroscopy of Oxide Materials. In *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy*; 2010. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2010.03.010>.
- (24) Genc Oztoprak, B.; Sinmaz, M. A.; Tülek, F. Composition Analysis of Medieval Ceramics by Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS). *Appl. Phys. A Mater. Sci. Process.* **2016**. <https://doi.org/10.1007/s00339-016-0085-9>.
- (25) Gallou, G.; Sirven, J. B.; Gallou, G.; Dutouquet, C.; Bihan, O. Le; Frejafon, E. Aerosols Analysis by Libs for Monitoring of Air Pollution by Industrial Sources. *Aerosol Sci. Technol.* **2011**, *45* (8), 918–926. <https://doi.org/10.1080/02786826.2011.566899>.
- (26) Park, K.; Cho, G.; Kwak, J. H. Development of an Aerosol Focusing-Laser Induced Breakdown Spectroscopy (Aerosol Focusing-LIBS) for Determination of Fine and Ultrafine Metal Aerosols. *Aerosol Sci. Technol.* **2009**. <https://doi.org/10.1080/02786820802662947>.
- (27) Anzano Lacarte, J. *Fuentes Láser*; Zaragoza.
- (28) Cremers, D. A.; Chinni, R. C. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy-Capabilities and Limitations. *Appl. Spectrosc. Rev.* **2009**. <https://doi.org/10.1080/05704920903058755>.
- (29) Anzano, J. Proyecto Docente e Investigador, Universidad de Zaragoza, 2017.
- (30) De Giacomo, A.; Dell'Aglio, M.; De Pascale, O.; Longo, S.; Capitelli, M. Laser Induced Breakdown Spectroscopy on Meteorites. *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.* **2007**. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2007.10.004>.
- (31) De Giacomo, A. Experimental Characterization of Metallic Titanium-Laser Induced Plasma by Time and Space Resolved Optical Emission Spectroscopy. *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.* **2003**. [https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(02\)00234-3](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(02)00234-3).

6. Anexos

Anexo 1. Cálculo de la relación Señal-Ruido (SNR)

Para calcular la SNR hay que aplicar la siguiente expresión:

$$SNR = \frac{Señal}{Ruido} \quad \text{Ec. 1 Cálculo de la SNR}$$

El valor de la Señal se obtiene del espectro y el valor del Ruido se calcula como se explica a continuación.

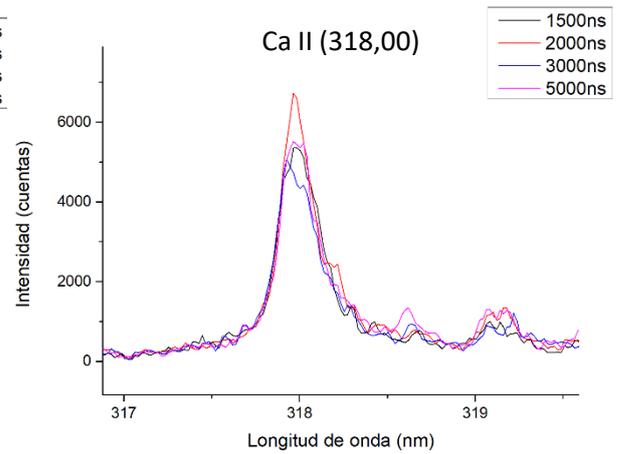
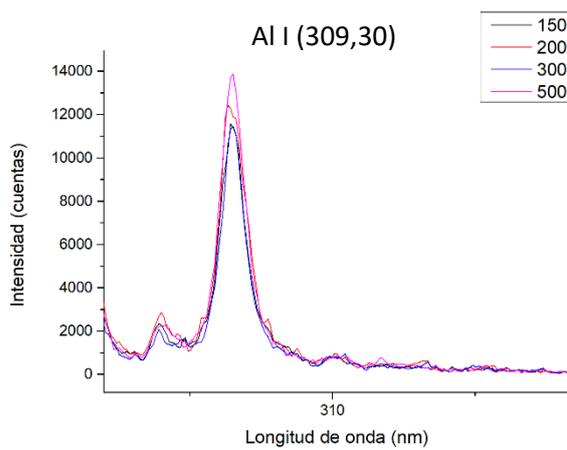
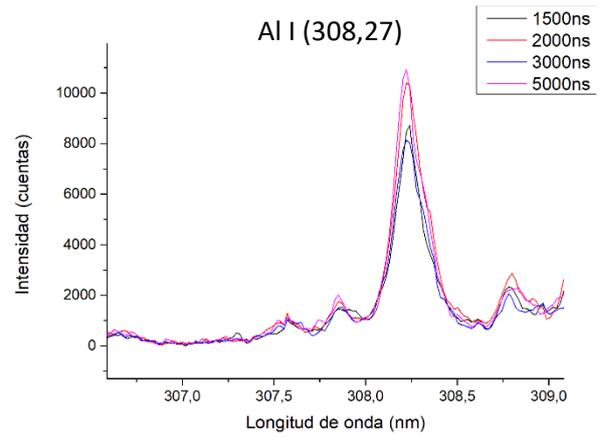
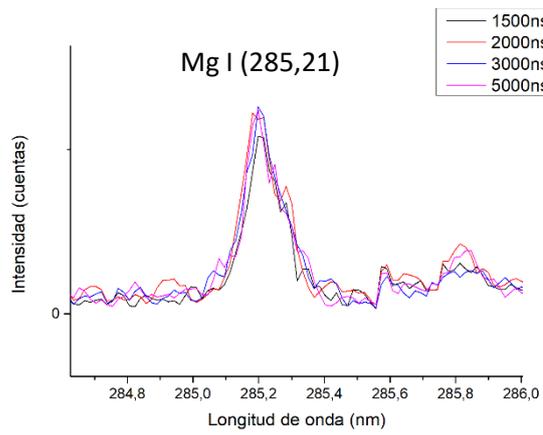
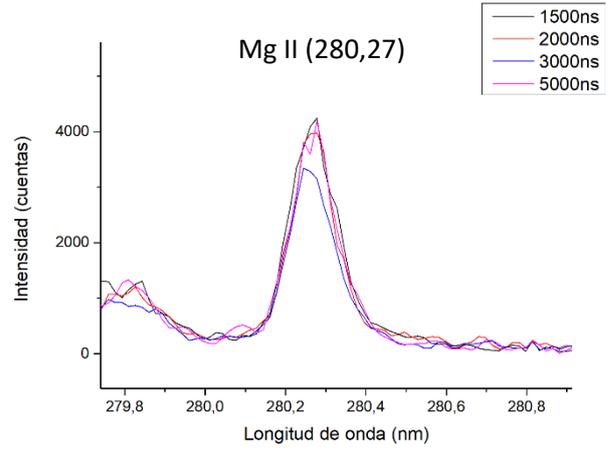
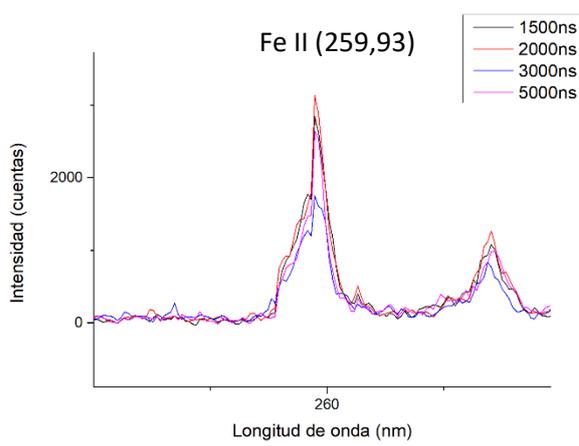
Se localizan los valores de ruido máximo y ruido mínimo a la derecha y a la izquierda de la señal de interés y se calcula el ruido a cada lado como:

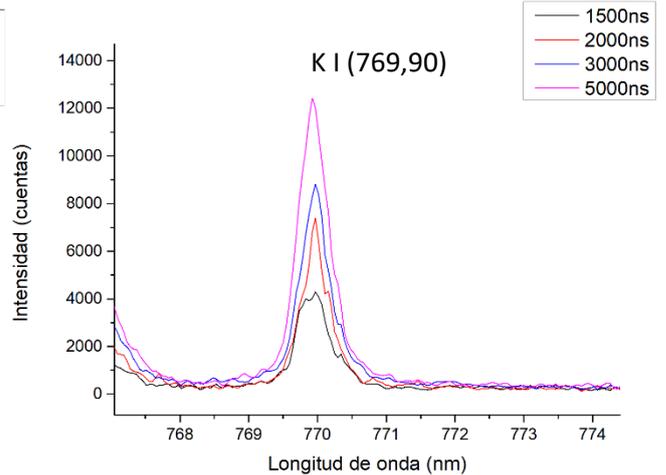
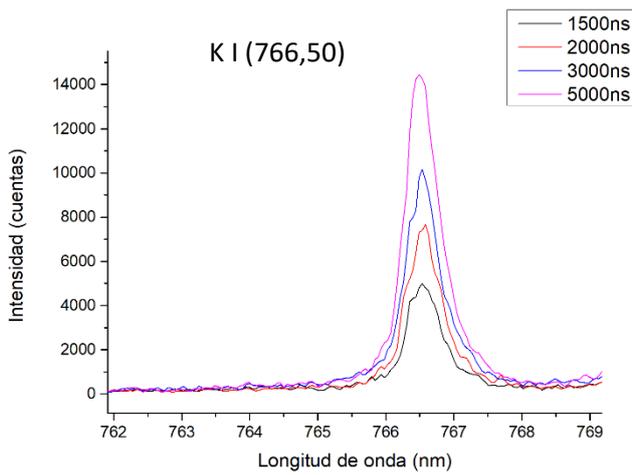
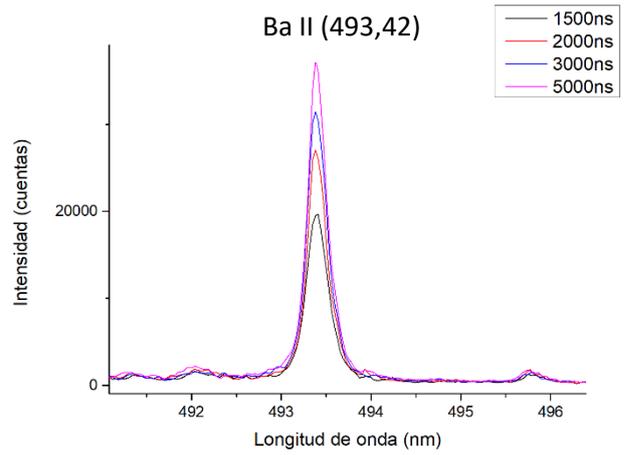
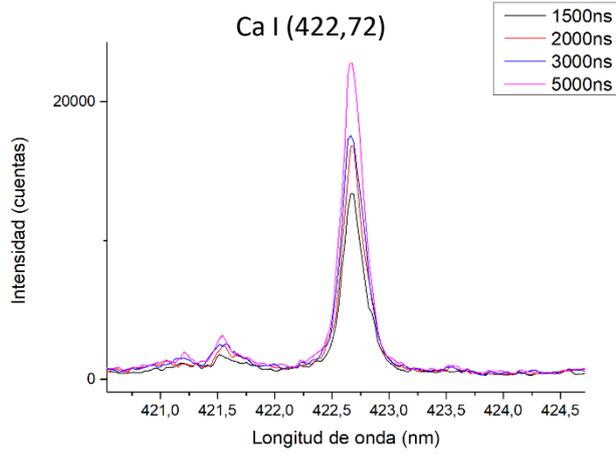
$$Ruido\ dcha\ (o\ izq) = Ruido\ máx - Ruido\ mín \quad \text{Ec 2. Cálculo del ruido a un lado}$$

Finalmente se obtiene el valor de Ruido como promedio entre el ruido a ambos lados de la señal:

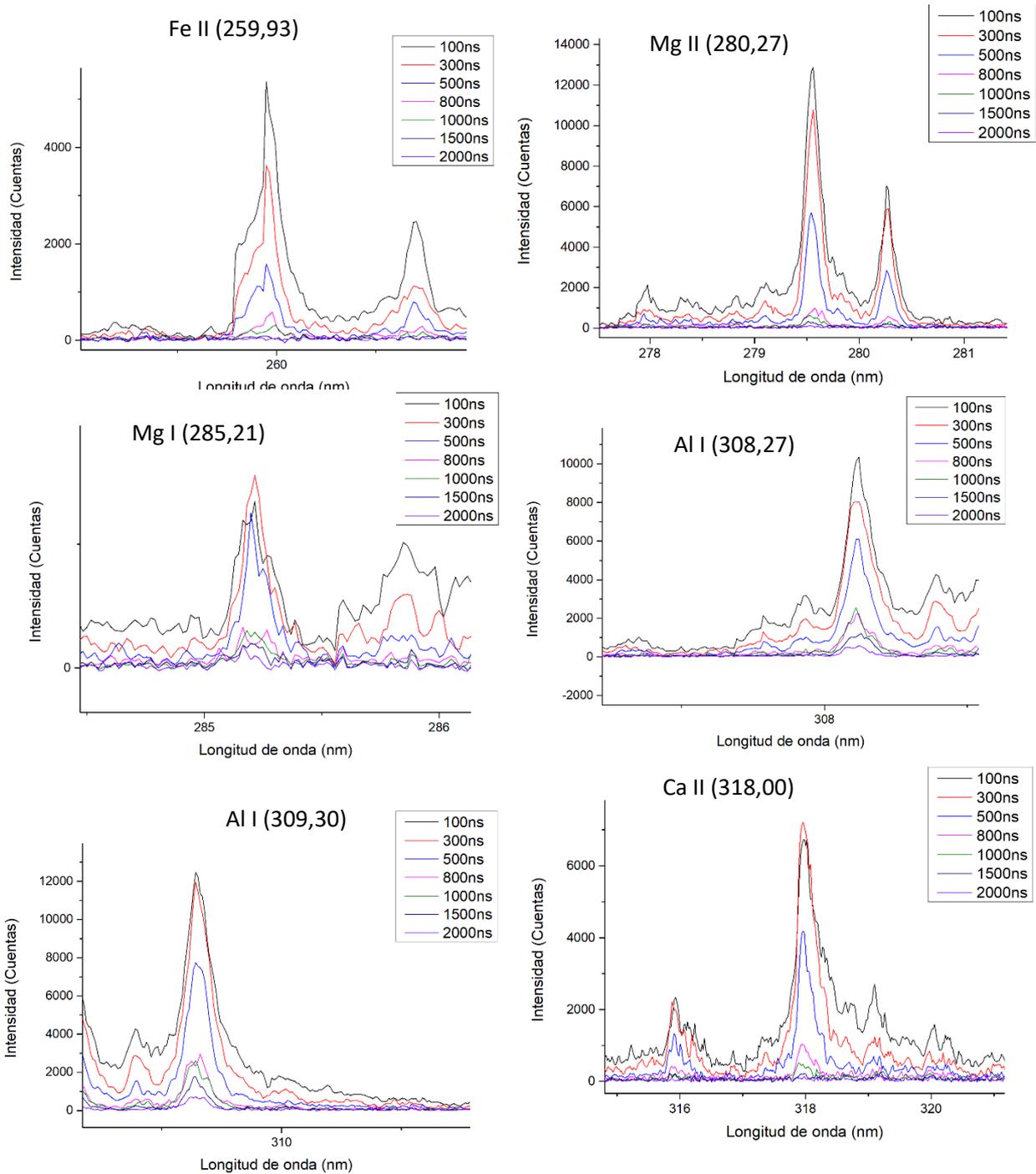
$$Ruido = \frac{Ruido\ dcha + Ruido\ izq}{2} \quad \text{Ec 3. Cálculo del Ruido}$$

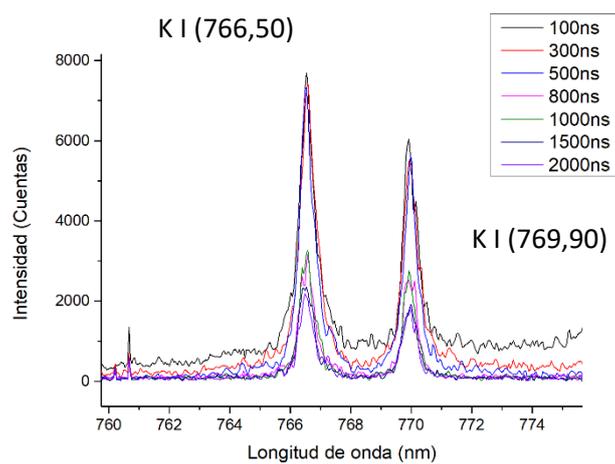
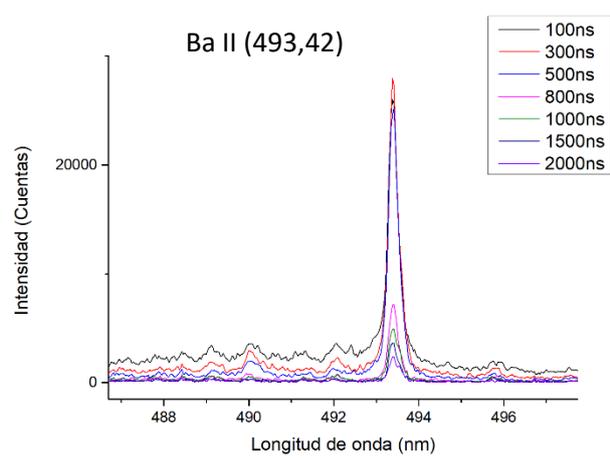
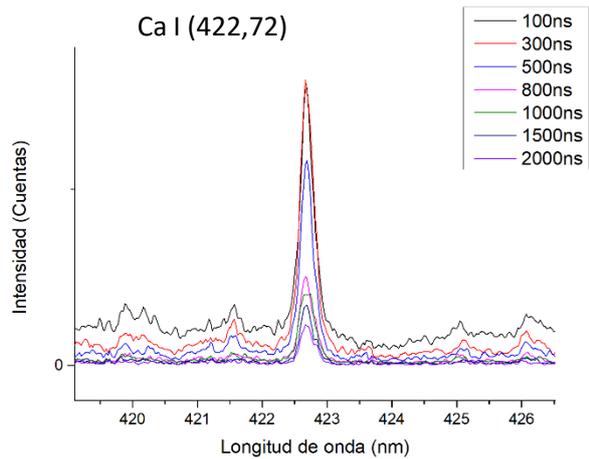
Anexo 2. Comparación de señales para distintos tiempos de integración



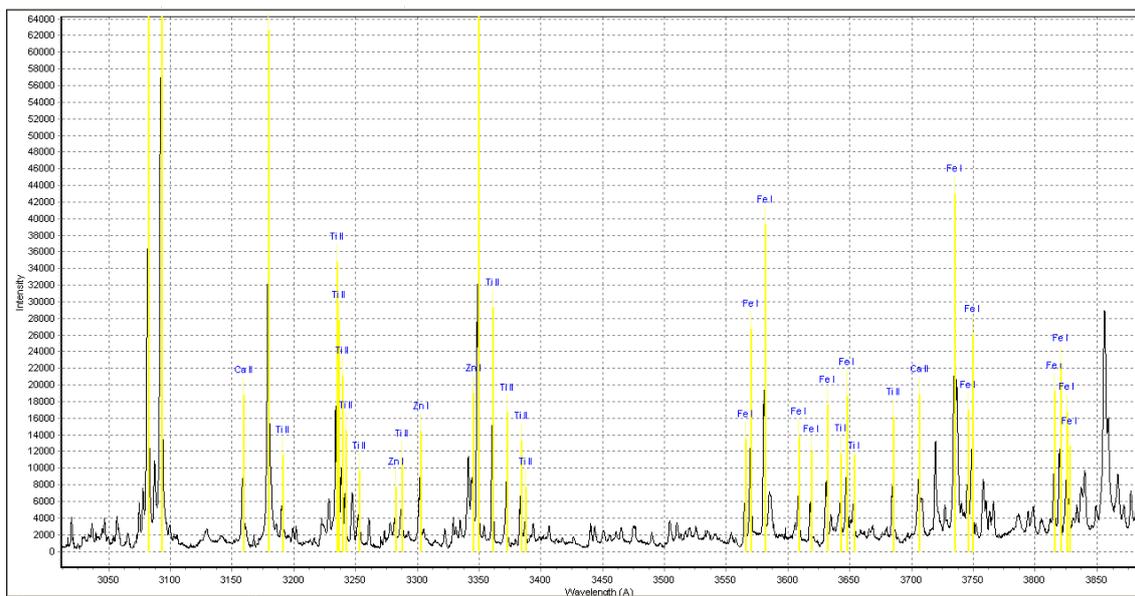
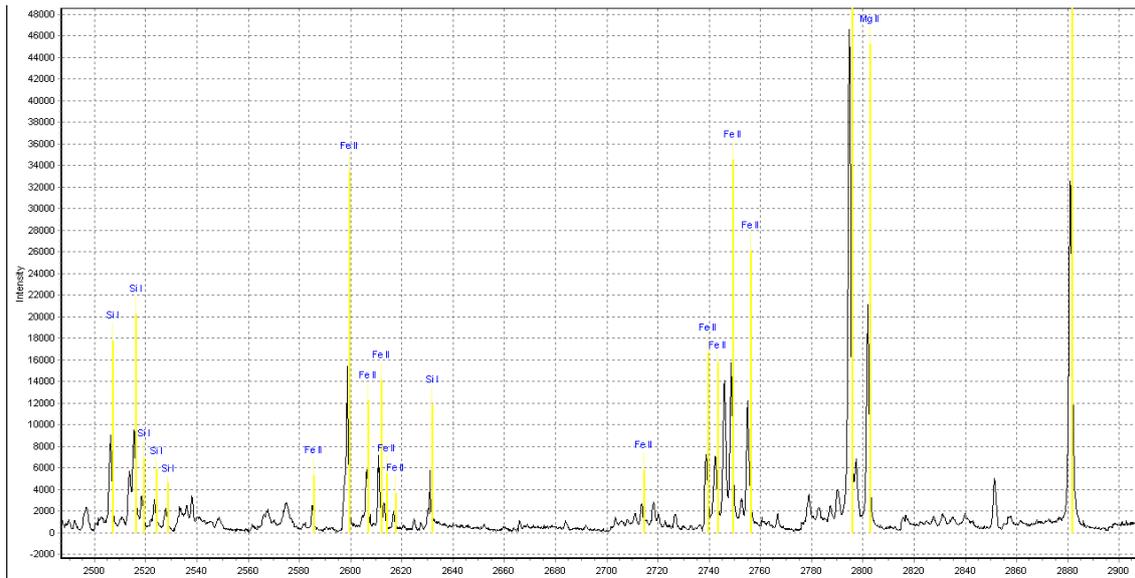


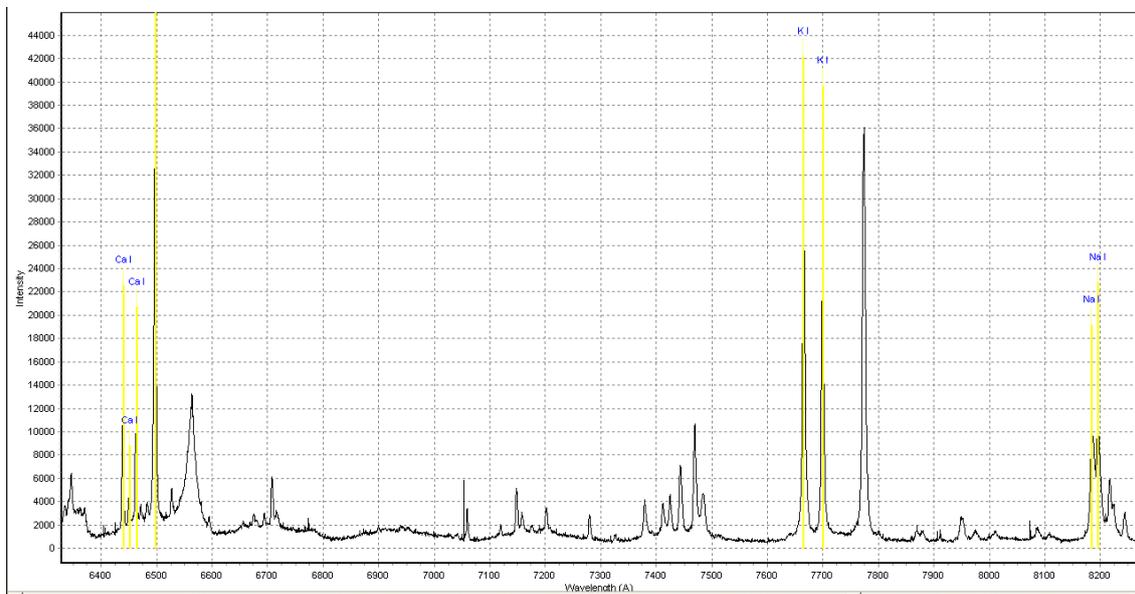
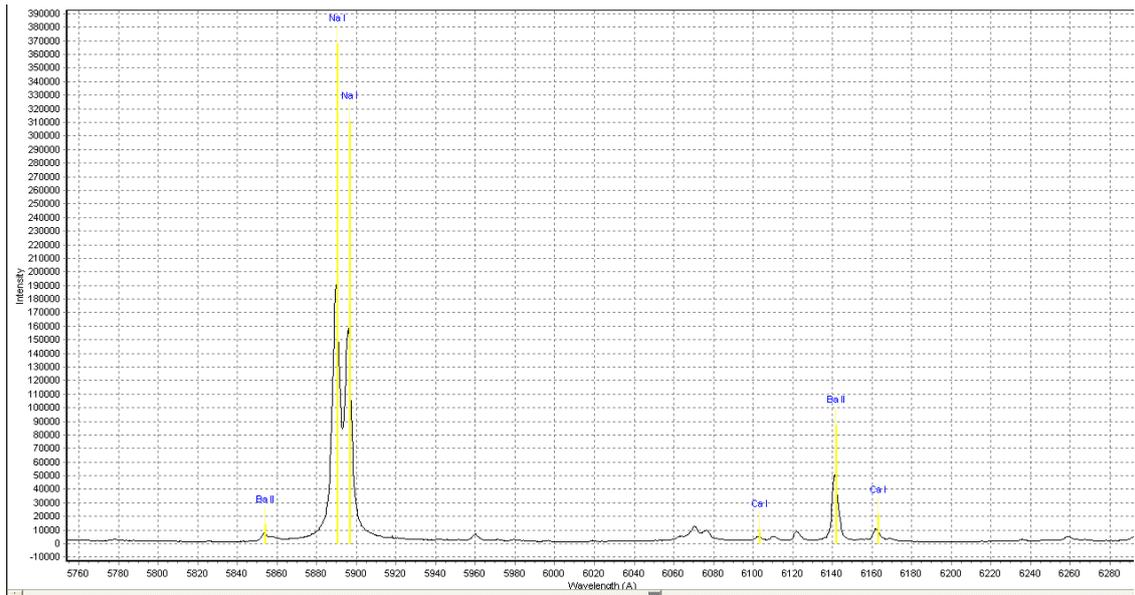
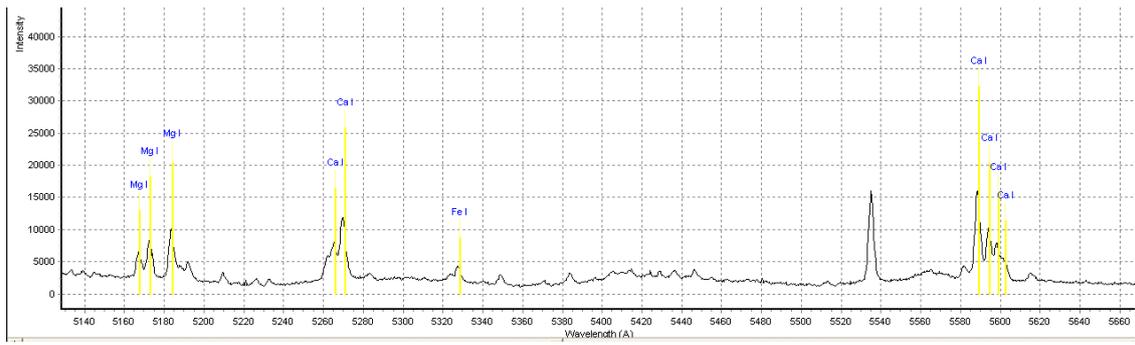
Anexo 3. Comparación de señales para distintos tiempos de retraso de lectura



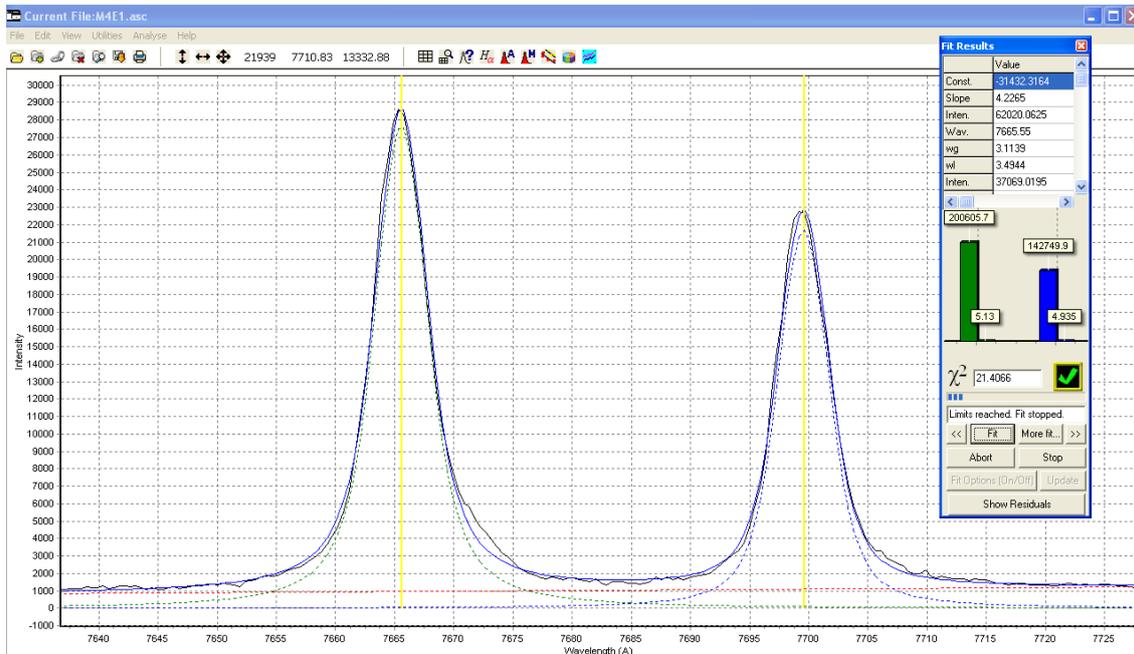
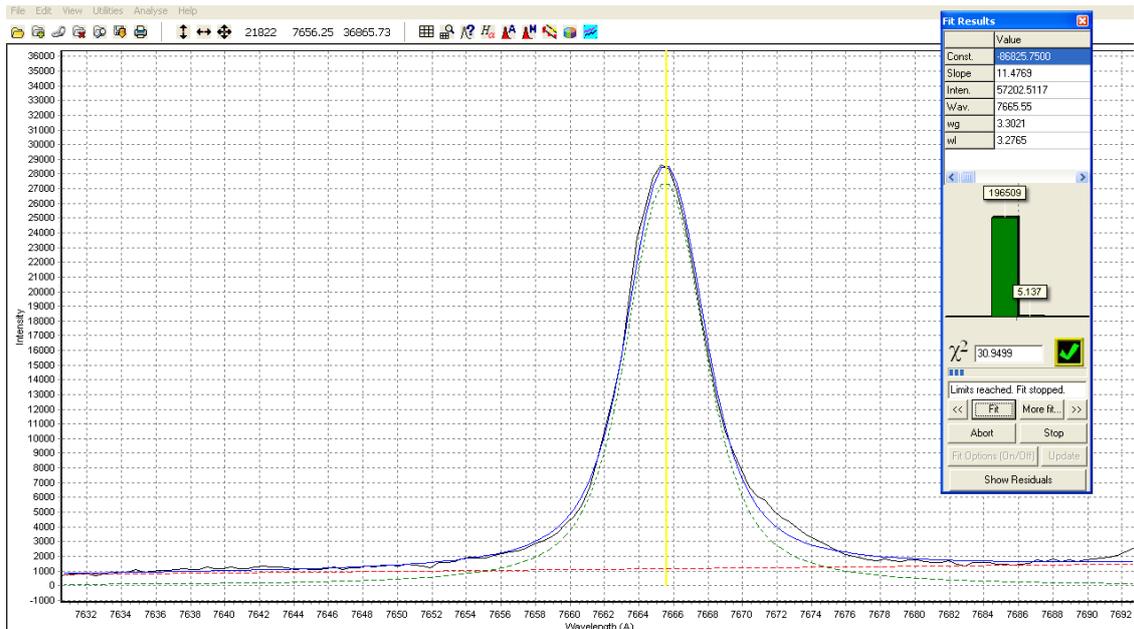


Anexo 4. Fragmentos del espectro de la muestra con las señales identificadas mediante el software LIBS++

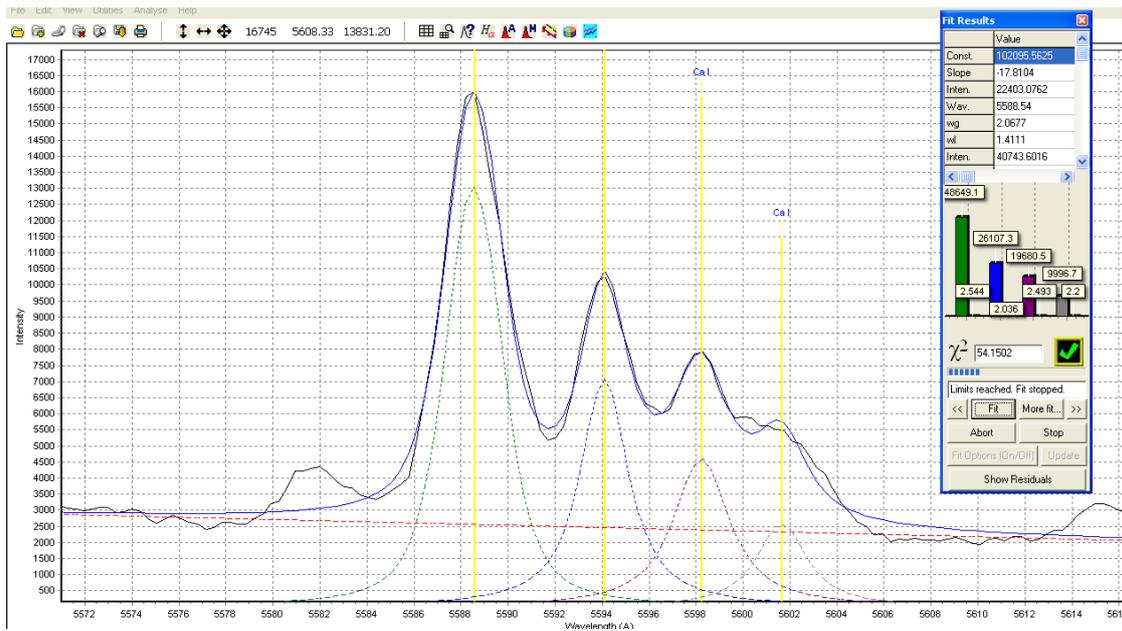




Anexo 5. Ejemplo de integración de señales con LIBS++



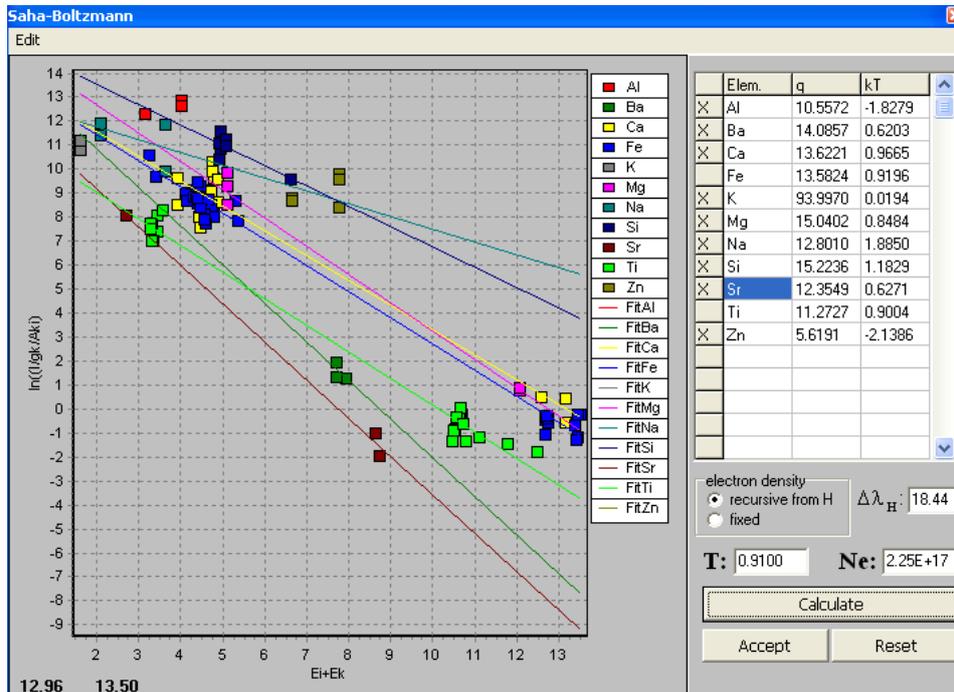
Cuando dos líneas se encuentran juntas en el espectro, existe la posibilidad de integrarlas las dos a la vez, encuadrándolas juntas en la misma ventana.



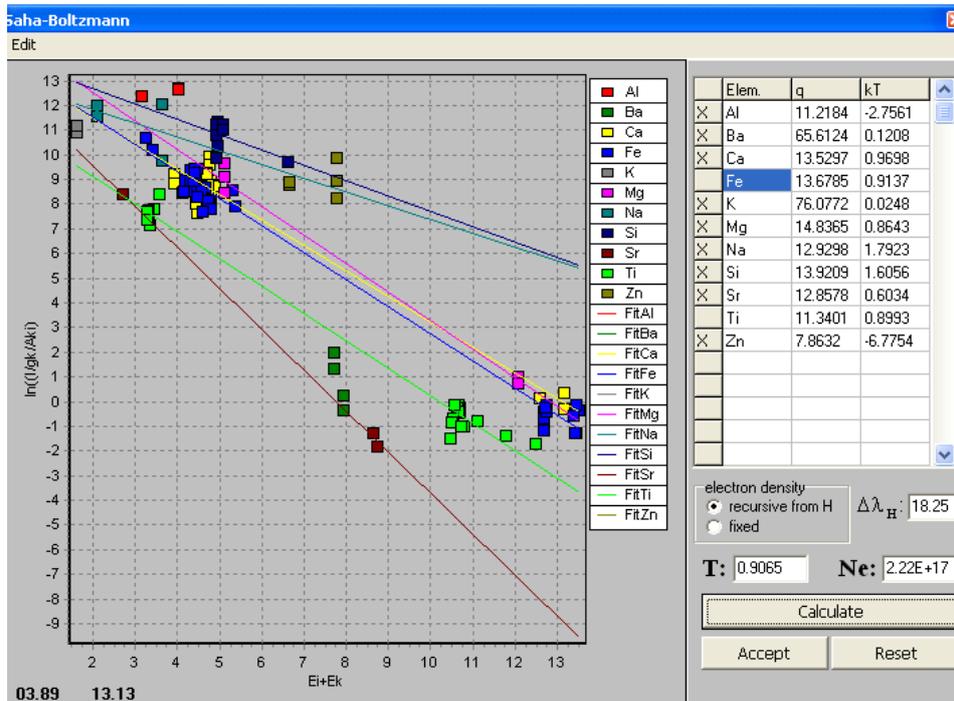
Si varias señales se encuentran demasiado juntas de tal manera que no se pueden integrar por separado, también se pueden integrar todas a la vez y el propio programa es capaz de separar la integración de todas las señales.

Anexo 6. Representación de Saha-Boltzmann para todas las muestras

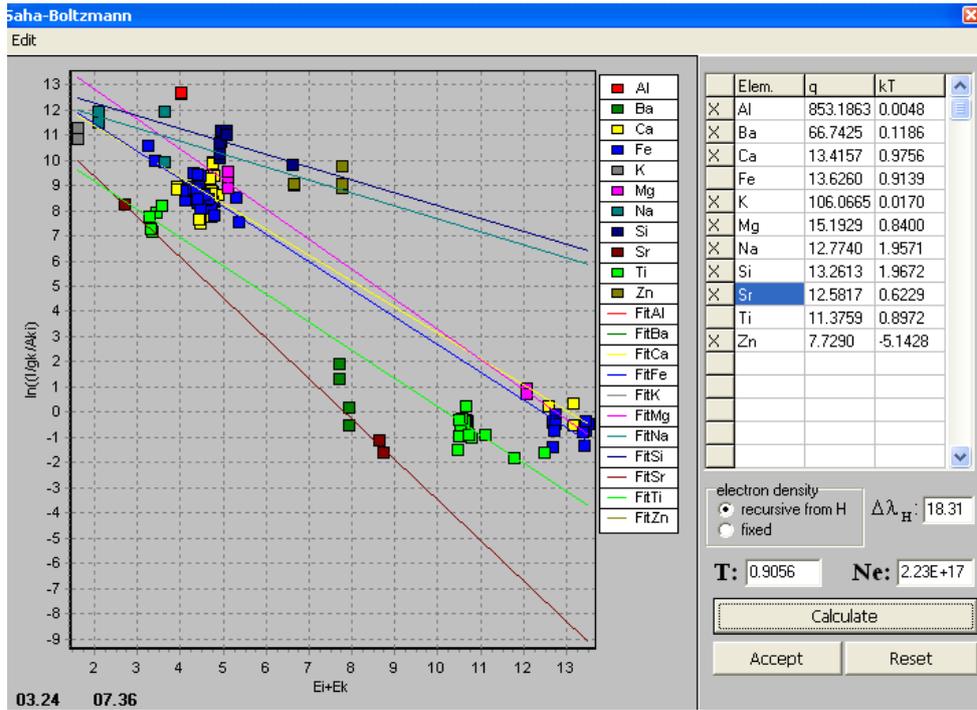
Muestra 1



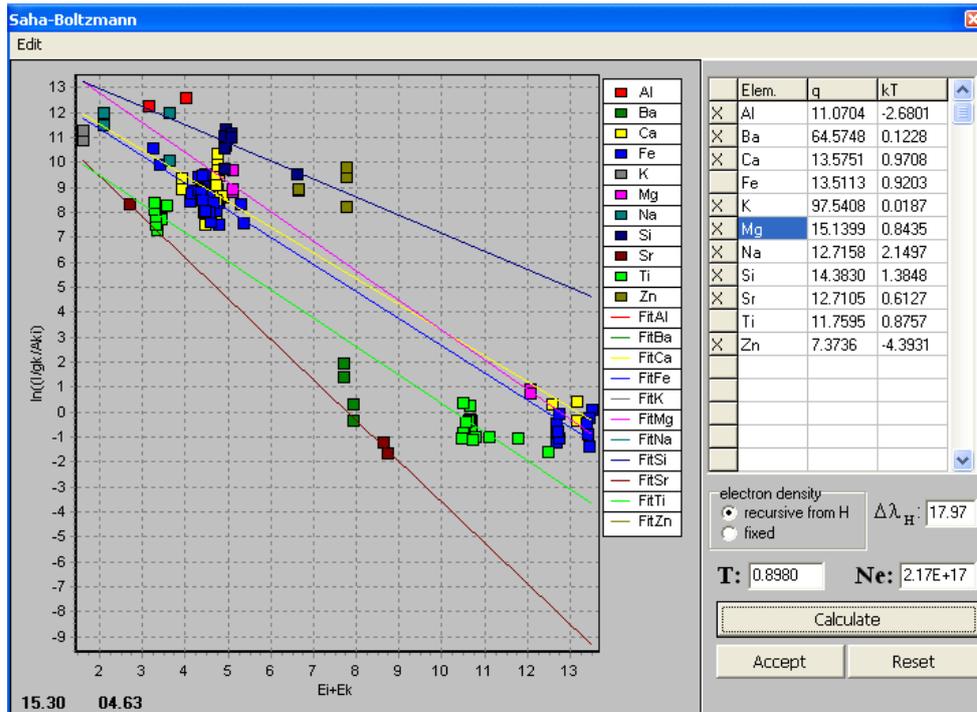
Muestra 2



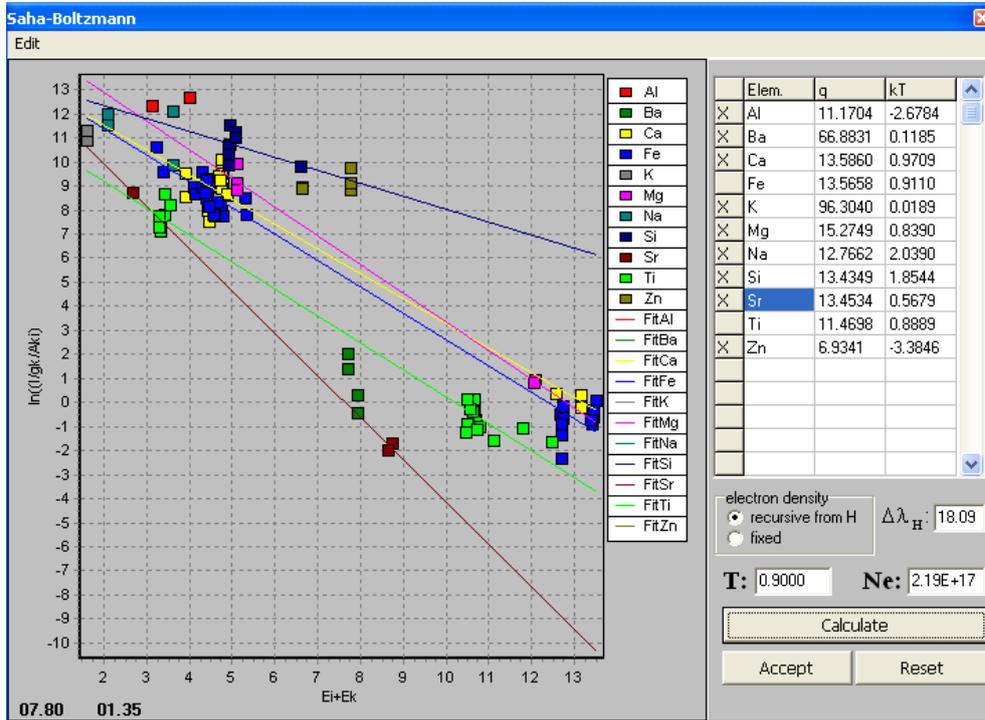
Muestra 3



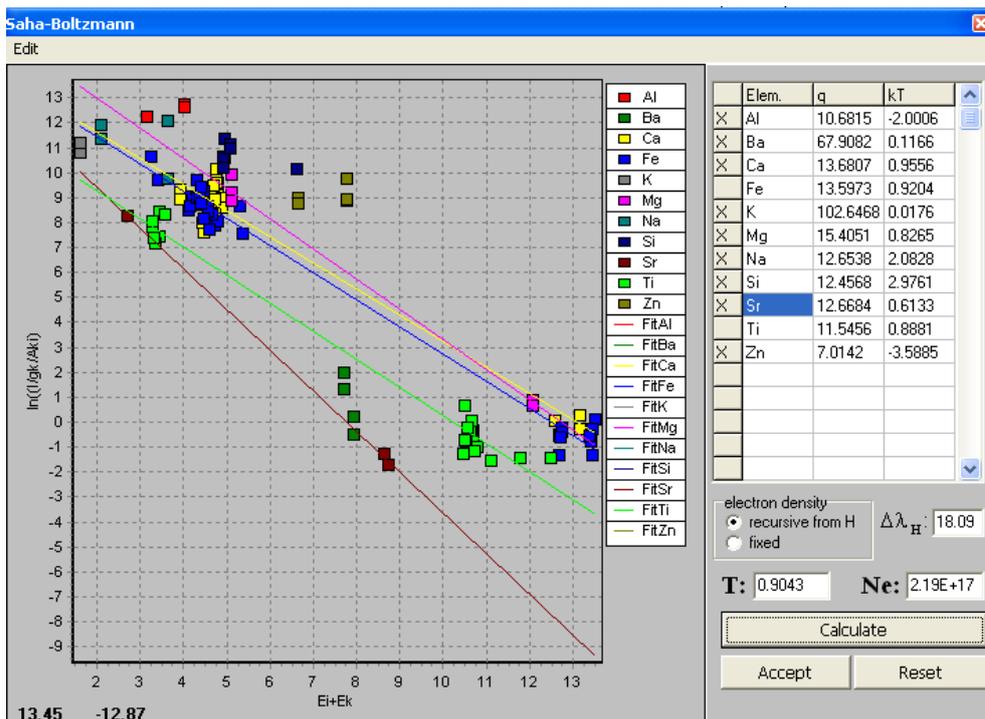
Muestra 4



Muestra 5



Muestra 6



Anexo 7. Especificaciones del análisis de la muestra mediante FESEM

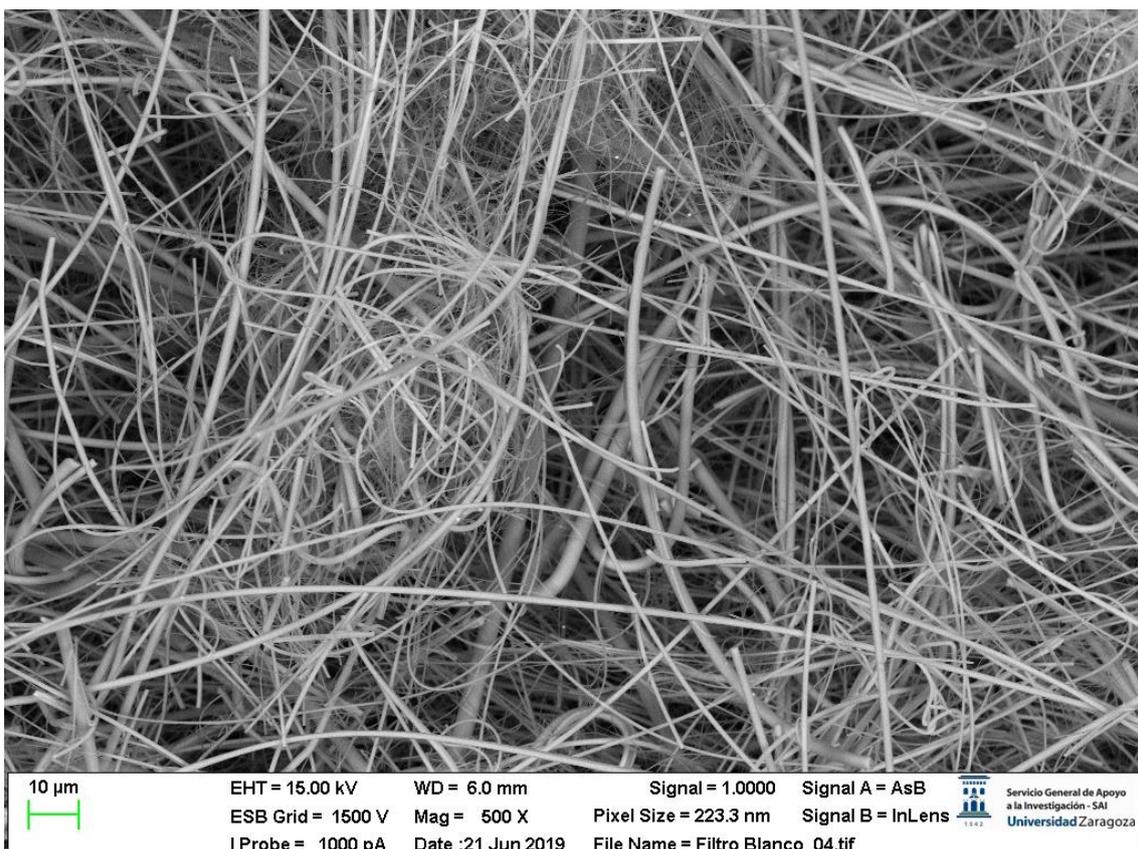
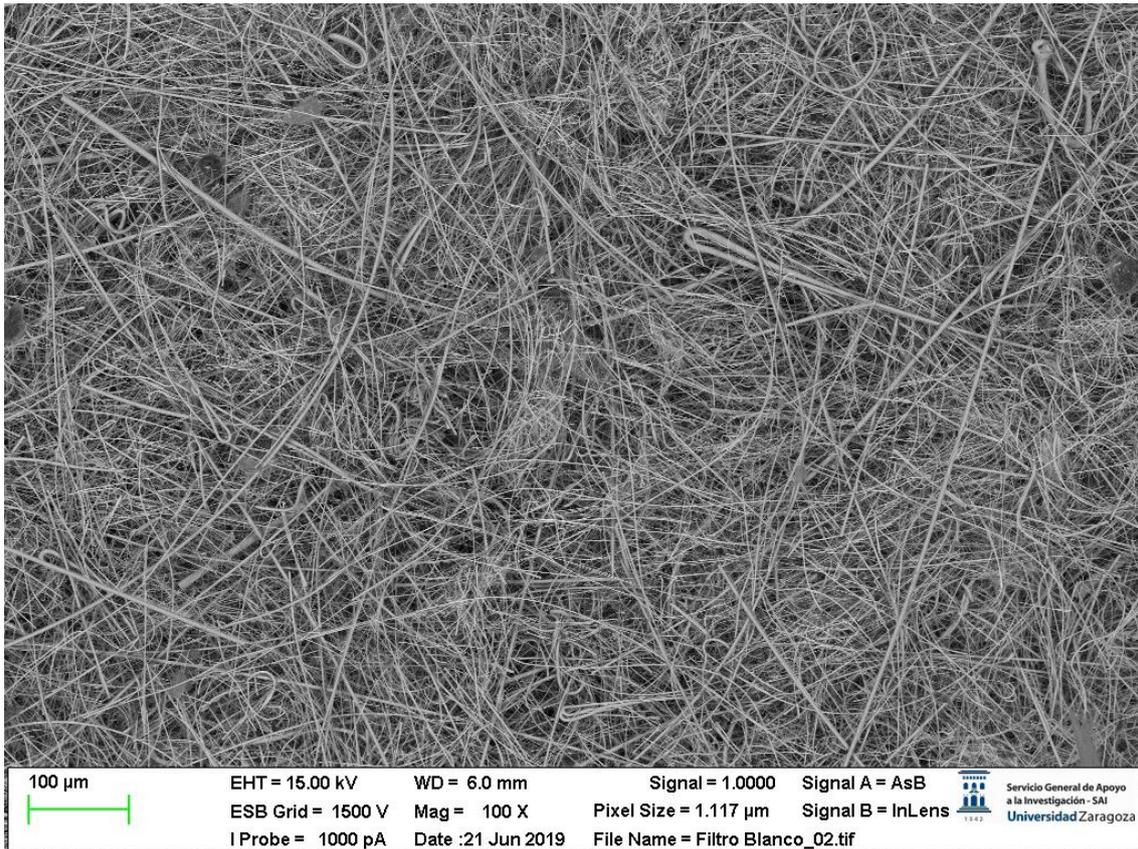
Los análisis han sido llevados a cabo con un Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de Campo (FESEM) Carl Zeiss MERLIN™, que tiene las siguientes características:

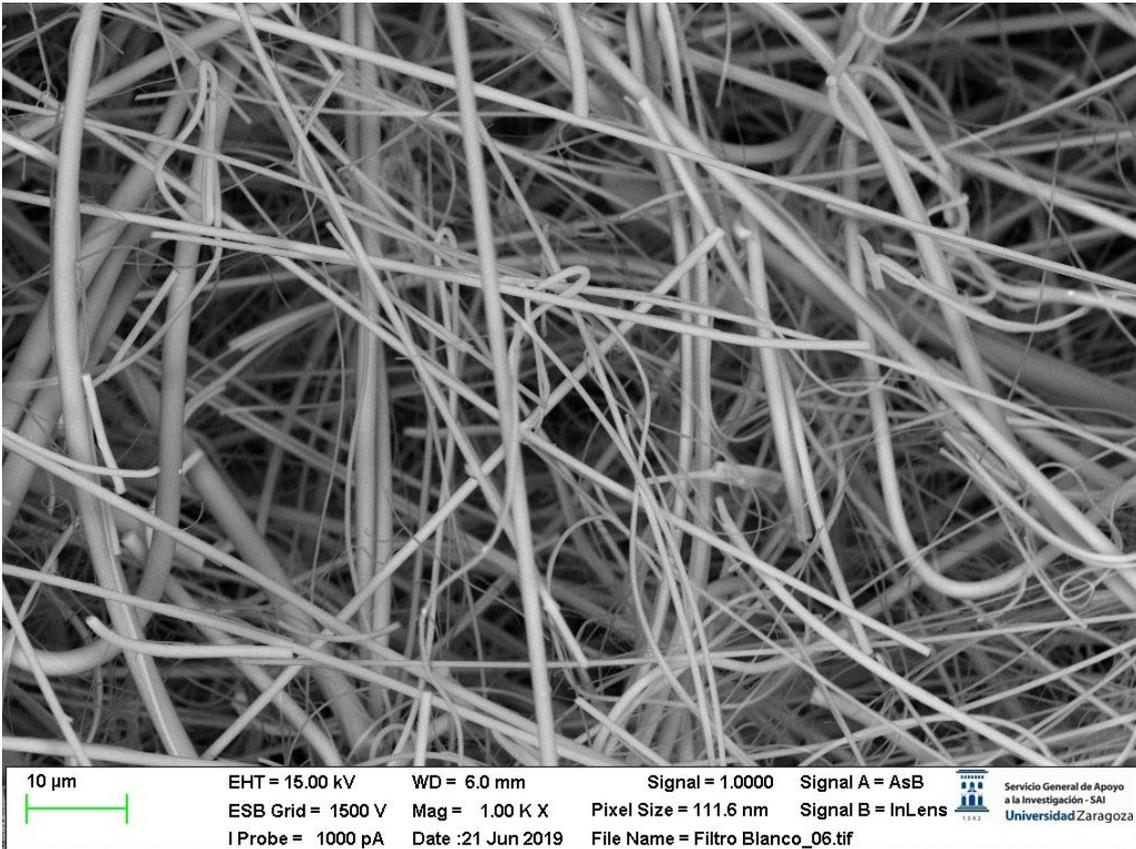
- Cañón de emisión de electrones por emisión de campo de punta caliente.
- Permite observaciones de hasta 0,8 nm de resolución espacial.
- Voltajes de aceleración entre 0,02 y 30 kV.
- Detectores de electrones secundarios y retrodispersados en la cámara y en la columna (in-lens).
- Detector EDS para Análisis de la Energía de los Rayos X dispersados INCA 350 (Electron Back Scatter Diffraction) para el registro y análisis de diagramas de difracción de electrones retrodispersados y mapas de orientación cristalográfica.
- Detector STEM.
- Detector de cátodoluminiscencia SIGMA de Zeiss.
- Modo “Ojo de Pez”, que permite tener una imagen en el interior de la cámara.
- Sistema de control de vacío “Modo Silencio” que desconecta la rotatoria periódicamente con el propósito de ahorrar energía y reducir ruido en el laboratorio.
- Sistema de compensación de carga por inyección de nitrógeno. Este sistema permite la observación de muestras aislantes sin recubrir utilizando detectores de electrones de alto vacío.
- Sistema de limpieza por plasma (“plasma cleaner”) y por inyección de oxígeno.
- Entorno informático de Oxford, AZTec.
- Software ESPIRIT DynamicS para simulación de patrones EBSD de alta resolución.

Las especificaciones para cada una de las imágenes obtenidas por FESEM se indican de cada imagen.

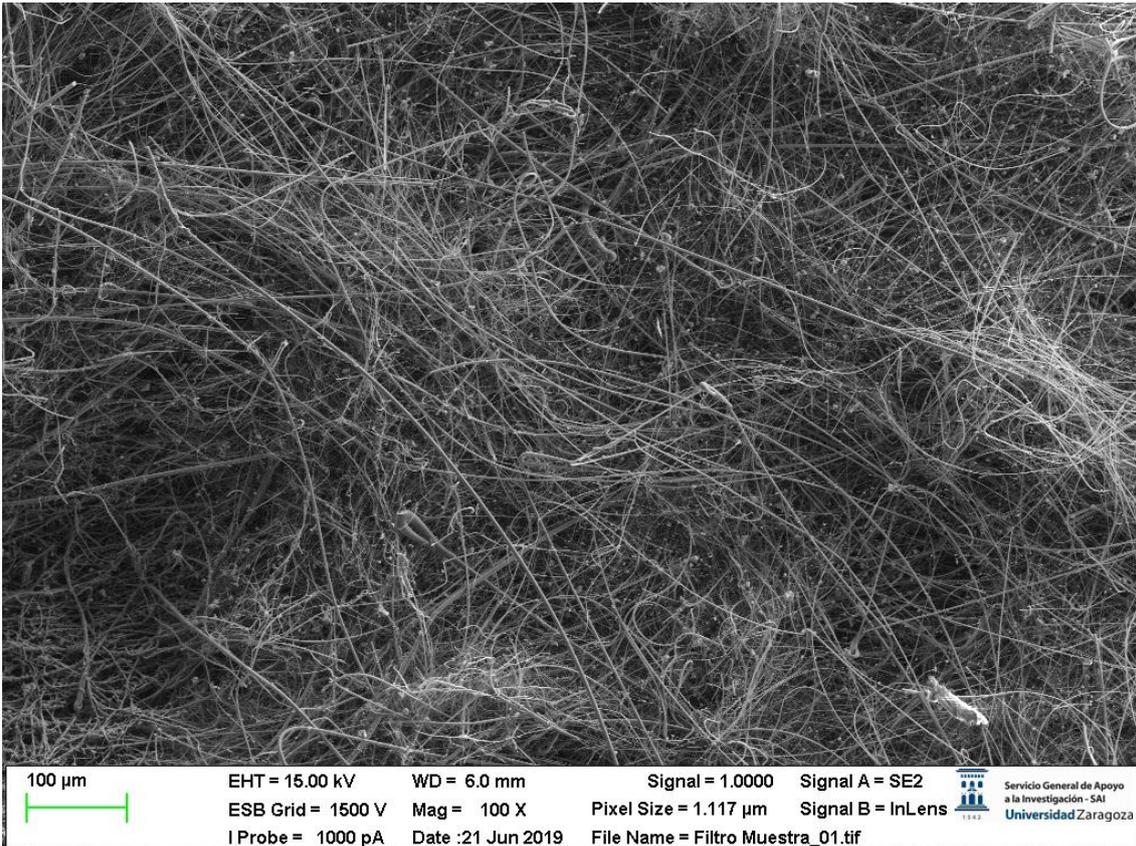
Anexo 8. Imágenes de los filtros obtenidas por FESEM

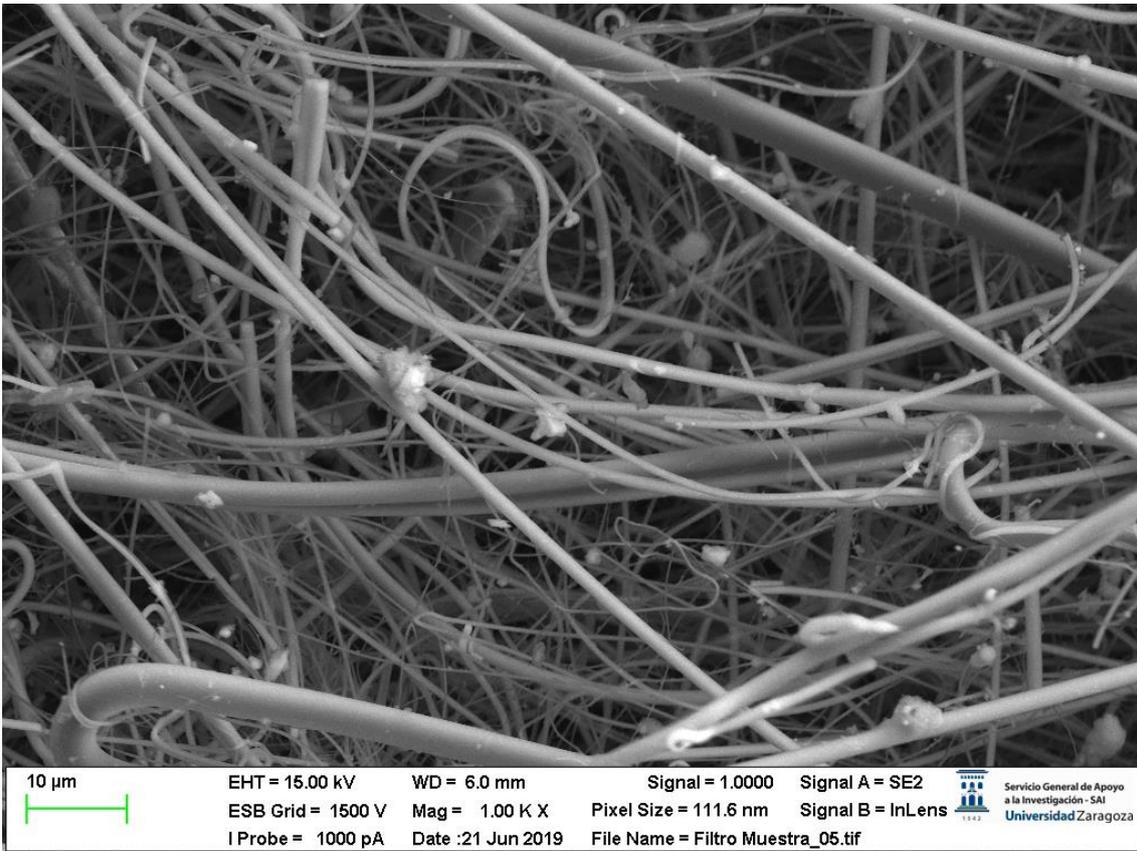
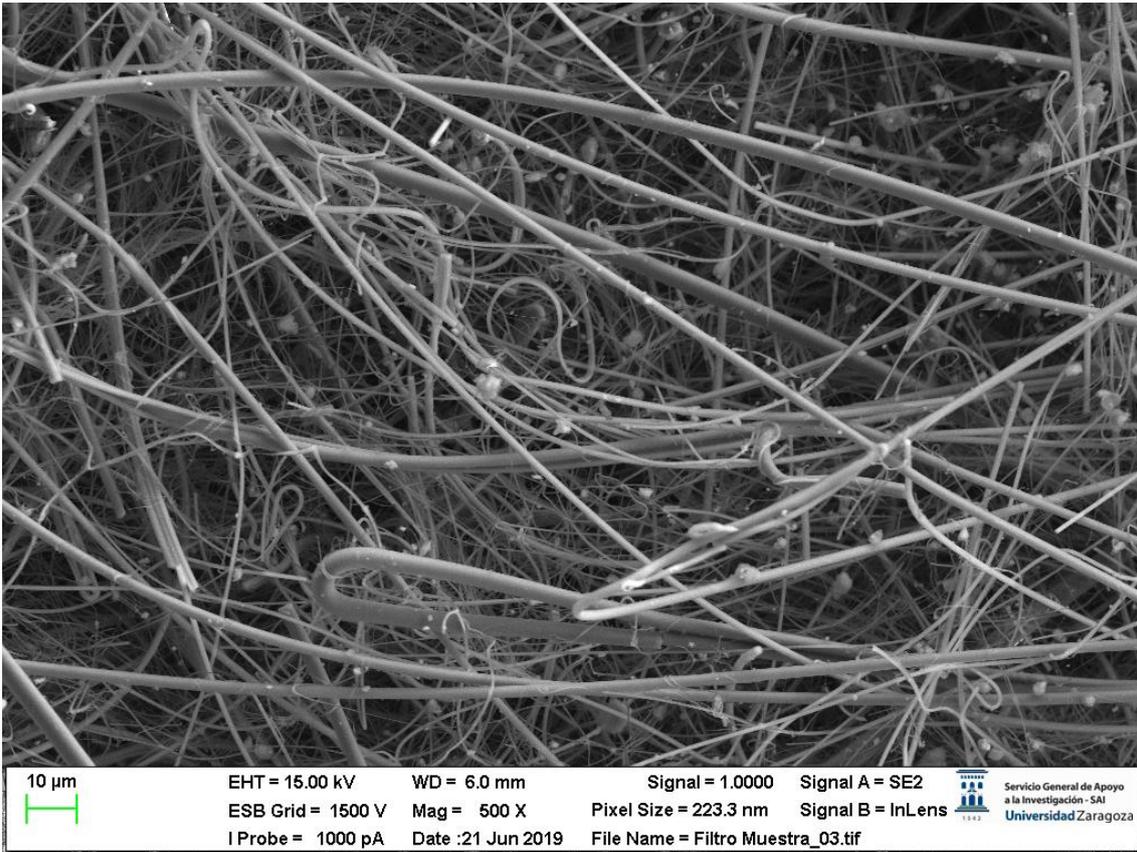
Imágenes del filtro blanco:

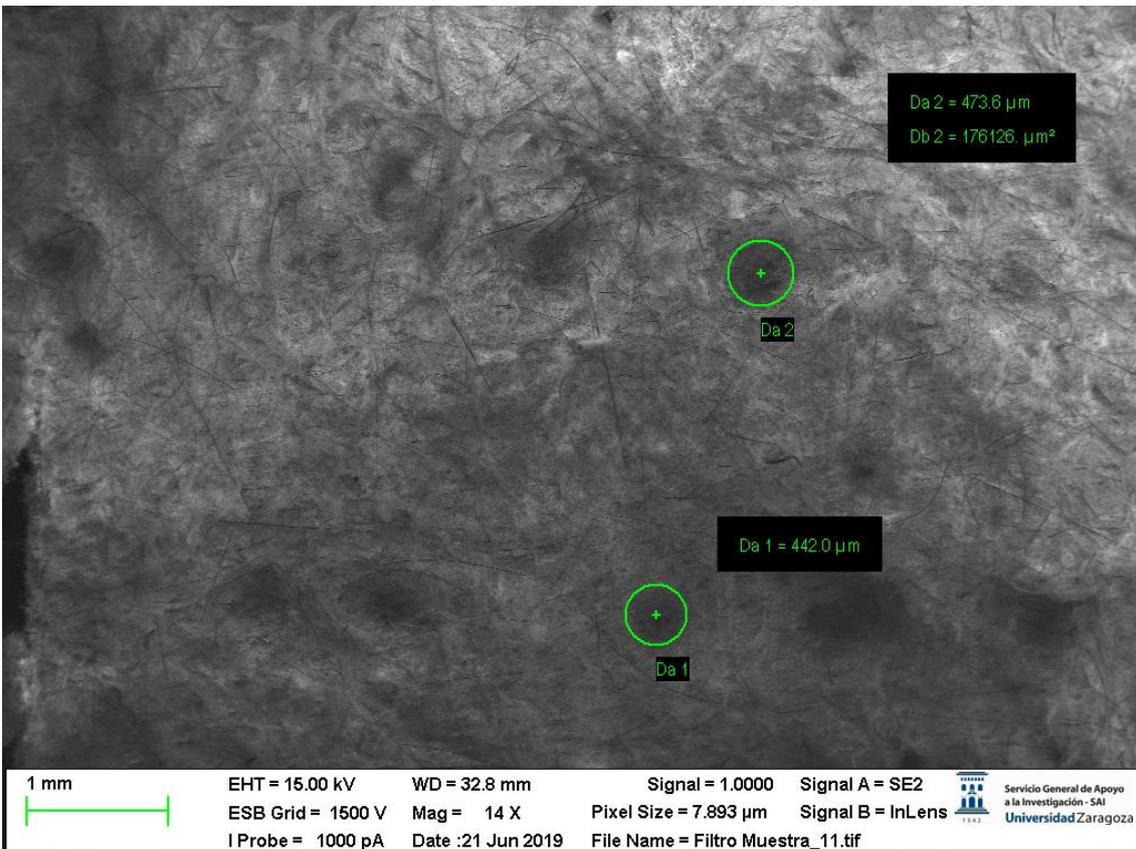
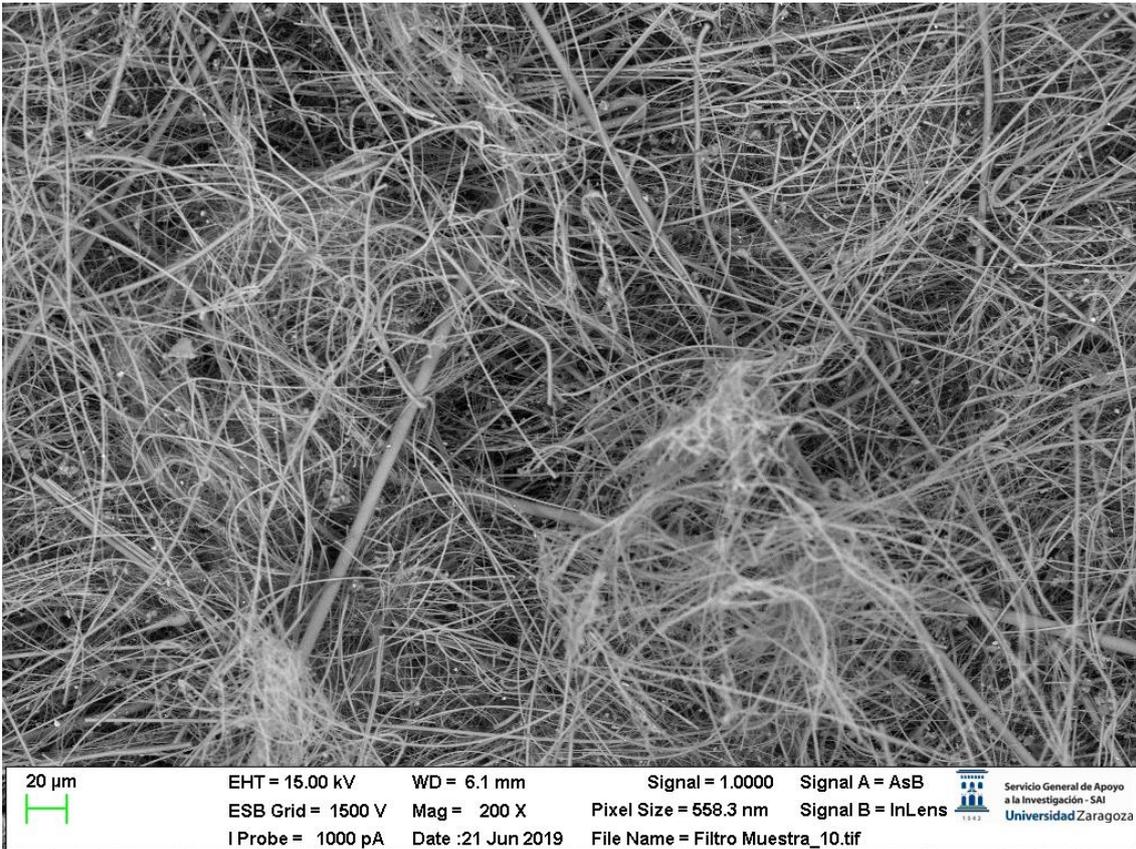




Imágenes del filtro de muestra







En esta se observan los cráteres hechos con el láser, y sus diámetros que son de 442 y 473 micrómetros.

Anexo 9. Normas específicas de trabajo en el laboratorio láser



Departamento de
Química Analítica
Universidad Zaragoza



NORMAS ESPECÍFICAS DE TRABAJO EN EL LABORATORIO LÁSER

D./Dña.

, con DNI

Soy conocedor de las siguientes normas de seguridad:

- Realizar un curso “on line” de *seguridad láser* facilitado por el laboratorio láser de la Universidad de Zaragoza.
- Avisar al responsable del laboratorio de que se va a utilizar un equipo láser.
- Me comprometo a leer toda la información que se me facilite de seguridad láser.
- Conectar la luz de visualización de funcionamiento láser en la puerta del laboratorio.
- Prestar especial atención al alto voltaje del equipamiento electro-óptico del laboratorio.
- Utilizar siempre gafas especiales dependiendo de la longitud de onda del láser.
- Proteger las manos con guantes especiales.
- Apagar el teléfono cuando se trabaja con el láser.
- Ubicar al láser de manera que el haz no esté a la altura de los ojos.
- Nunca alinear el haz usando el ojo.
- Los blancos donde se dirija el haz deberían ser de un material absorbente de luz, para prevenir reflexiones.
- No use cadenas, relojes u objetos que puedan reflejar un haz indeseadamente.
- Consulte a un oftalmólogo si nota que su ojo ve una "imagen fantasma" en la retina.
- Evitar a "curiosos" en la zona de trabajo.

Y a los efectos expresados manifiesta su conocimiento y suscribe el presente documento en Zaragoza, a de 2019.

Firma de la alumna

Firma del alumno

Anexo 10. Certificado de Participación en la XXII Reunión de la Sociedad Española de Química Analítica (SEQA) celebrada en Valladolid



XXII Reunión de la Sociedad Española de Química Analítica

Valladolid 17-19 de julio de 2019



CERTIFICADO DE PARTICIPACIÓN

El Comité Organizador certifica que la Comunicación

ANÁLISIS MULTIELEMENTAL DE SUELO ANTÁRTICO MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE DESCOMPOSICIÓN INDUCIDA POR LÁSER UTILIZANDO LA METODOLOGÍA DE CALIBRACIÓN LIBRE.

Cuyos autores son

Andrés Cruz, Javier Martínez-Lanciego, Daniel Paulés, Roberto J. Lasheras, Diego V. Babos, Abrahan I. V. Ferrín, Edenir R. Pereira-Filho, Jorge O. Cáceres, Jesús M. Anzano

Ha sido presentada en forma Oral

Y para que conste expide el presente certificado en Valladolid, 19 de julio de 2019

Dr. Enrique Barrado
Presidente del Comité Organizador