



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING

ÚSTAV MECHANIKY TĚLES, MECHATRONIKY A BIOMECHANIKY

INSTITUTE OF SOLID MECHANICS, MECHATRONICS AND BIOMECHANICS

AUTOMATICKÁ KOMPENZACE NÁKLONU VZORKU PŘI CHEMICKÉM MAPOVÁNÍ METODOU LIBS

AUTOMATIC SAMPLE TILT COMPENSATION FOR CHEMICAL MAPPING BY LIBS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Klára Stříbrná

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. David Prochazka, Ph.D.

BRNO 2021

Zadání bakalářské práce

Ústav:	Ústav mechaniky těles, mechatroniky a biomechaniky
Studentka:	Klára Stříbrná
Studijní program:	Aplikované vědy v inženýrství
Studijní obor:	Mechatronika
Vedoucí práce:	Ing. David Prochazka, Ph.D.
Akademický rok:	2021/22

Ředitel ústavu Vám v souladu se zákonem č.111/1998 o vysokých školách a se Studijníma zkušebníma řádem VUT v Brně určuje následující téma bakalářské práce:

Automatická kompenzace náklonu vzorku při chemickém mapování metodou LIBS

Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Metoda spektroskopie laserem buzeného plazmatu (LIBS) využívá laserového pulzu o vysoké intenzitě zaostřeného na povrch vzorku. Následkem interakce vzorku s laserovým zářením vzniká plazma. Pomocí analýzy záření plazmatu je možné stanovit kompletní prvkové složení a relativní obsah jednotlivých prvků. Výhodami metody je mimo jiné vysoká rychlost, možnost prostorově rozlišené analýzy a relativně vysoká citlivost. Díky výše popsaným výhodám se metoda LIBS začíná využívat pro analýzu měkkých tkání, kde přináší dodatečné informace ke konvenčnímu histologickému zkoumání.

Technické provedení chemického mapování pomocí metody LIBS spočívá v umístění vzorku na 3-osý manipulátor, který nastaví zkoumaný povrch do ohniska fokusační čočky. Manipulátor se následně pohybuje vybraným směrem konstantní rychlostí a ve chvíli, kdy dosáhne měřené oblasti spustí se laserové pulzy s pevnou opakovací frekvencí. Plošné rozlišení (vzájemná vzdálenost ablačních kráterů) se řídí rychlostí pohybu vzorku. Při tvorbě vzorků z měkkých tkání se využívá mikrotomu, který dokáže zaručit vysokou rovinnost povrchu vzorku, avšak nedokáže zaručit rovnoběžnost spodní a horní plochy vzorku. Tato klínovitost vzorku a z ní plynoucí změna vzdálenosti povrchu od čočky pro různé polohy má významný vliv na přesnost měření a interpretaci výsledných chemických map. Vzhledem k požadavkům na vysokou rychlost měření není možné provádět kontrolu polohy vzorku v každém měřeném bodě. Jako nejvhodnější řešení se jeví vytvoření modelu plochy povrchu vzorku a následně nastavení kompenzace v závislosti na měřené oblasti a požadovaném rozlišení.

Cíle bakalářské práce:

Student se seznámí s principem měření pomocí metody LIBS a s faktory, které ovlivňují kvalitu výsledků. Zejména se bude soustředit na analýzu měkkých tkání. Dále se student seznámí s instrumentací používanou v laboratoři laserové spektroskopie. S použitím dostupného vybavení navrhne způsob, jak vytvořit model roviny povrchu vzorku a způsob kompenzace klínovitosti vzorku.

Seznam doporučené literatury:

LIMBECK, A., L. BRUNNBAUER, H. LOHNINGER, et al. Methodology and applications of elemental mapping by laser induced breakdown spectroscopy. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2021, 1147, 72-98 [cit. 2021-10-20]. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2020.12.054

CREMERS, David A.; RADZIEMSKI, Leon J. *Handbook of laser-induced breakdown spectroscopy*. John Wiley & Sons, 2013.

Termín odevzdání bakalářské práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2021/22

V Brně, dne

L. S.

prof. Ing. Jindřich Petruška, CSc.
ředitel ústavu

doc. Ing. Jaroslav Katolický, Ph.D.
děkan fakulty

Abstrakt

Tato práce se zabývá návrhem algoritmu pro kompenzaci klínovitosti vzorku zkoumaného metodou LIBS (Laser-induced breakdown spectroscopy), a to především za účelem chemického mapování. Klínovitost vzorku má nezanedbatelný vliv na kvalitu výsledků měření, a proto vznikl požadavek na jednoduché a levné řešení tohoto problému, které by se dalo aplikovat i v komerčních aplikacích metody LIBS.

Abstract

This thesis deals with designing an algorithm for slope compensation of a sample examined using the LIBS (Laser-induced breakdown spectroscopy) method. It mainly focuses on the purpose of elemental mapping. The sample slope noticeably affects the result quality and therefore a demand for a simple and inexpensive solution to this problem appeared that would also be applicable for commercial uses of LIBS.

Klíčová slova

LIBS, spektroskopie, chemické mapování, Fast mapping

Keywords

LIBS, spectroscopy, elemental mapping, Fast mapping

Bibliografická citace

STŘÍBRNÁ, Klára. *Automatická kompenzace náklonu vzorku při chemickém mapování metodou LIBS*. Brno, 2022. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/139927>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, Ústav mechaniky těles, mechatroniky a biomechaniky. Vedoucí práce David Prochazka.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma „Automatická kompenzace náklonu vzorku při chemickém mapování metodou LIBS“ vypracovala samostatně s použitím odborné literatury a pramenů uvedených v seznamu použitých zdrojů na konci dokumentu.

20. května 2022

.....
Klára Stříbrná

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Davidovi Prochazkovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a ochotu v průběhu její tvorby. Dále bych také ráda poděkovala Mgr. Davidovi Myškovi a Ing. Patrikovi Cebo za implementaci navrženého algoritmu a umožnění ověření jeho funkčnosti. V neposlední řadě také děkuji Ing. Jakubovi Budayovi za rady a pomoc při měření v laboratoři laserové spektroskopie na Ústavu fyzikálního inženýrství Fakulty strojního inženýrství VUT v Brně.

Obsah

Úvod.....	10
1 Metoda LIBS.....	11
1.1 Představení metody LIBS.....	11
1.2 Základní princip fungování.....	11
1.3 Hlavní prvky aparatury pro provedení měření metodou LIBS.....	11
1.4 Plazma.....	12
1.4.1 Vznik laserem buzeného plazmatu.....	13
1.4.2 Stavby laserem buzeného plazmatu v čase.....	13
1.5 Výstup měření metodou LIBS.....	14
1.6 Aplikace metody LIBS.....	15
1.6.1 Chemické mapování.....	15
1.6.2 Fast mapping.....	16
1.6.3 Výhody a nevýhody metody LIBS.....	18
2 Faktory ovlivňující kvalitu výsledků.....	19
2.1 Časová synchronizace měřicího procesu.....	19
2.2 Vzdálenost mezi čočkou a vzorkem.....	20
2.3 Úhel dopadu laserového svazku na povrch vzorku.....	21
2.4 Energie laserového pulzu.....	23
3 Kompenzace klínovitosti vzorku.....	24
3.1 Vliv klínovitosti vzorku na výsledky měření.....	24
3.2 Možné způsoby kompenzace klínovitosti.....	24
3.3 Problém s kompenzací klínovitosti u Fast mappingu.....	25
3.4 Lineární regrese.....	25
3.5 Popis algoritmu kompenzace klínovitosti vzorku.....	26
3.5.1 Trajektorie Laseru.....	27
3.5.2 Výpočet rychlosti změny souřadnice z.....	27
4 Experimentální ověření navržené metody kompenzace klínovitosti.....	29
4.1 Popis aparatury.....	29
4.2 Průběh experimentu.....	29
4.3 Měření s pořizováním snímků povrchu vzorku.....	30
4.3.1 Bez kompenzace klínovitosti.....	30
4.3.2 S kompenzací klínovitosti.....	31
4.4 Měření s použitím laseru.....	32
4.4.1 Bez kompenzace klínovitosti.....	32
4.4.2 S kompenzací klínovitosti.....	33

4.4.3	Další porovnání výsledků měření.....	34
	Závěr	36
	Zdroje.....	37
	Seznam příloh.....	39

Úvod

Metoda LIBS (Laser-induced breakdown spectroscopy) je v současnosti velice rozvíjená metoda prvkové analýzy, a to zejména díky tomu, že poskytuje kompromis mezi citlivostí, rozlišením a rychlostí měření. Zároveň je pomocí ní, narozdíl od jiných konkurenčních metod, možné detekovat téměř všechny prvky periodické tabulky. Metoda si své uplatnění našla v mnoha oborech od strojního a stavebního průmyslu přes geologii a environmentalistiku až po biologický výzkum, forenzní vědy, nebo restaurátorství. Mimo již zmíněné benefity je další výhodou i nenáročnost přípravy vzorku, nebo možnost provádět měření na dálku bez kontaktu se vzorkem a mimo laboratoř. Jednou z aplikací metody LIBS, které se věnuje i tato práce, je chemické mapování.

Tato práce se zaměřuje na využití metody LIBS pro histologická zkoumání měkkých tkání živočichů, které jsou silně chemicky heterogenní, a proto je právě chemické mapování velice užitečným nástrojem pro jejich výzkum. U přípravy vzorku živočišných tkání však není možné zajistit jeho klínovitost, tedy rovnoběžnost horní a spodní podstavy. To má významný vliv na kvalitu výsledků měření. Z tohoto důvodu vznikl požadavek na navržení algoritmu pro automatickou kompenzaci této klínovitosti, jehož implementace by byla snadná a levná a dala by se aplikovat i do komerčních systémů pro měření metodou LIBS.

V následujících kapitolách budou vysvětleny základní principy metody LIBS a její využití pro chemické mapování. Další část práce se bude podrobněji věnovat některým faktorům ovlivňujícím kvalitu výsledků, které přímo souvisejí s tématem práce. Dále zde bude navrhnout a popsán algoritmus pro automatickou kompenzaci klínovitosti vzorku, který bude následně experimentálně otestován. Závěrem práce bude analýza výsledků experimentu.

1 Metoda LIBS

1.1 Představení metody LIBS

LIBS je zkratkou pro Laser-induced breakdown spectroscopy, tedy v překladu Spektroskopie laserem buzeného plazmatu. Jak již název napovídá, tato metoda využívá spektrální analýzu laserem buzeného plazmatu k získání informací o chemickém složení vzorku. Výsledkem měření je emisní spektrum s kompletní informací o chemickém složení ablatované části vzorku. Metoda LIBS si našla své uplatnění v široké škále odvětví. Tato práce se zabývá zejména využitím pro prostorově rozlišenou analýzu (tzv. chemické mapování) se zaměřením na měkké tkáně a jejich histologické zkoumání.

1.2 Základní princip fungování

Metoda využívá pulzní laser, jehož svazek paprsků je fokusován pomocí spojné čočky (případně objektivu) do konkrétního bodu na povrchu vzorku. Jeden pulz dokáže ohřát povrch vzorku v okolí bodu natolik, že dojde k roztavení, odpaření, atomizaci a ionizaci malého množství povrchu vzorku. Vzniklé plazma emituje světlo, které je např. pomocí optického vlákna vedeno do spektrometru, kde je dále analyzováno [1]. Jednotlivé části procesu a aparatury jsou podrobněji popsány v následujících kapitolách.

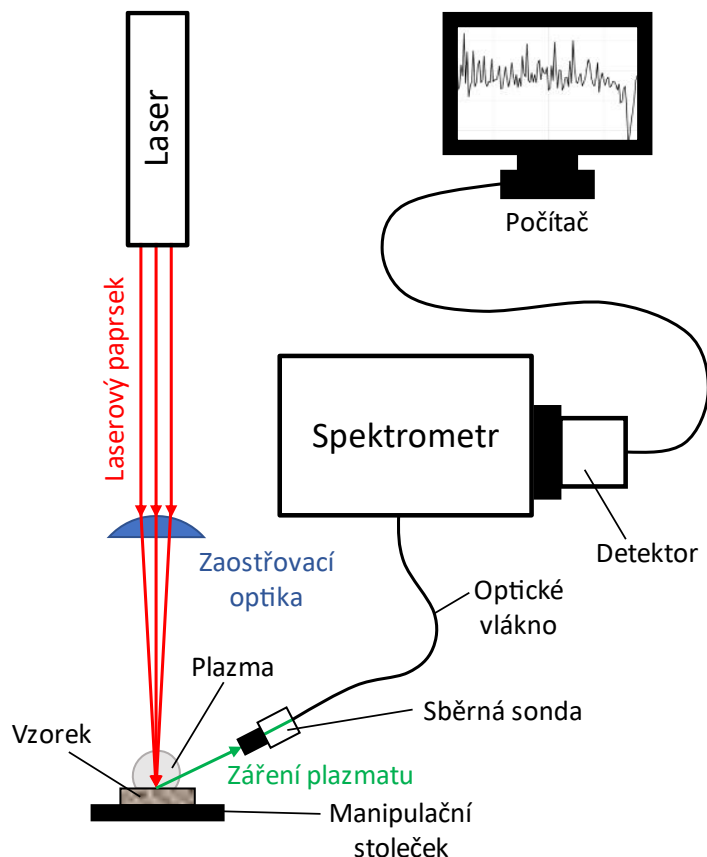
1.3 Hlavní prvky aparatury pro provedení měření metodou LIBS

Aparatura pro měření metodou LIBS je poměrně jednoduchá a flexibilní. Pro sestavení aparatury je zapotřebí pulzní laser, zaostřovací a sběrná optika, spektrometr s detektorem a počítač pro zobrazení a analýzu měření. Schématické zobrazení aparatury je na obrázku 1.

Laser je zdrojem tenkého rovinného svazku paprsků monochromatického, koherentního a polarizovaného záření o konkrétní vlnové délce. Výhodou pulzního laseru, oproti jiným zdrojům záření, je jeho vysoký výkon, který dokáže odpařit povrch vzorku během zlomku vteřiny. Kromě toho lze energii z laseru snadno přenést na konkrétní velmi malou plochu na povrchu vzorku, což metodě LIBS propůjčuje schopnost relativně vysokého prostorového rozlišení. Důležitým parametrem laserového pulzu, spíše než jeho absolutní energie, je plošná hustota zářivého výkonu (viz kap. 1.4.1). Další klíčové parametry laserového pulzu pro metodu LIBS jsou prostorová kvalita laserového pulzu a vlnová délka záření. Tyto parametry určují, zda bude generované plazma vhodné pro spektrální analýzu. Základní principy fungování laseru a charakteristické vlastnosti laserového záření jsou detailněji popsány v této knize [2, s. 70].

Laserový paprsek je obvykle na povrch vzorku zaostřován pomocí čočky, nebo případně soustavou čoček, pokud je zapotřebí ohnisko soustavy měnit. V některých případech se k přenosu laserového záření používá i optické vlákno. Světlo emitované plazmatem je zaostřeno na vstup spektrometru obdobným způsobem a volba konkrétní sestavy (kombinace čoček a optických vláken) pro přenos obou signálů vždy závisí na konkrétní aplikaci. Optických vláken je v praxi často využíváno, protože přináší řadu výhod, jako je například snadná manipulace

a nenáročnost na rozladění. Vstupní úhel do optického vlákna se pohybuje kolem 26° , proto bývá často jeho konec ještě opatřen čočkou, aby bylo možné snímat signál ze všech částí plazmatu. Použití optického vlákna zároveň přináší možnost provádět měření i na těžko dostupných místech, jako je třeba vnitřek jaderného reaktoru (viz kap. 1.6.3). Více se principu fungování optického vlákna věnuje kniha [3].



Obrázek 1 Schéma aparatury pro provedení měření metodou LIBS.

1.4 Plazma

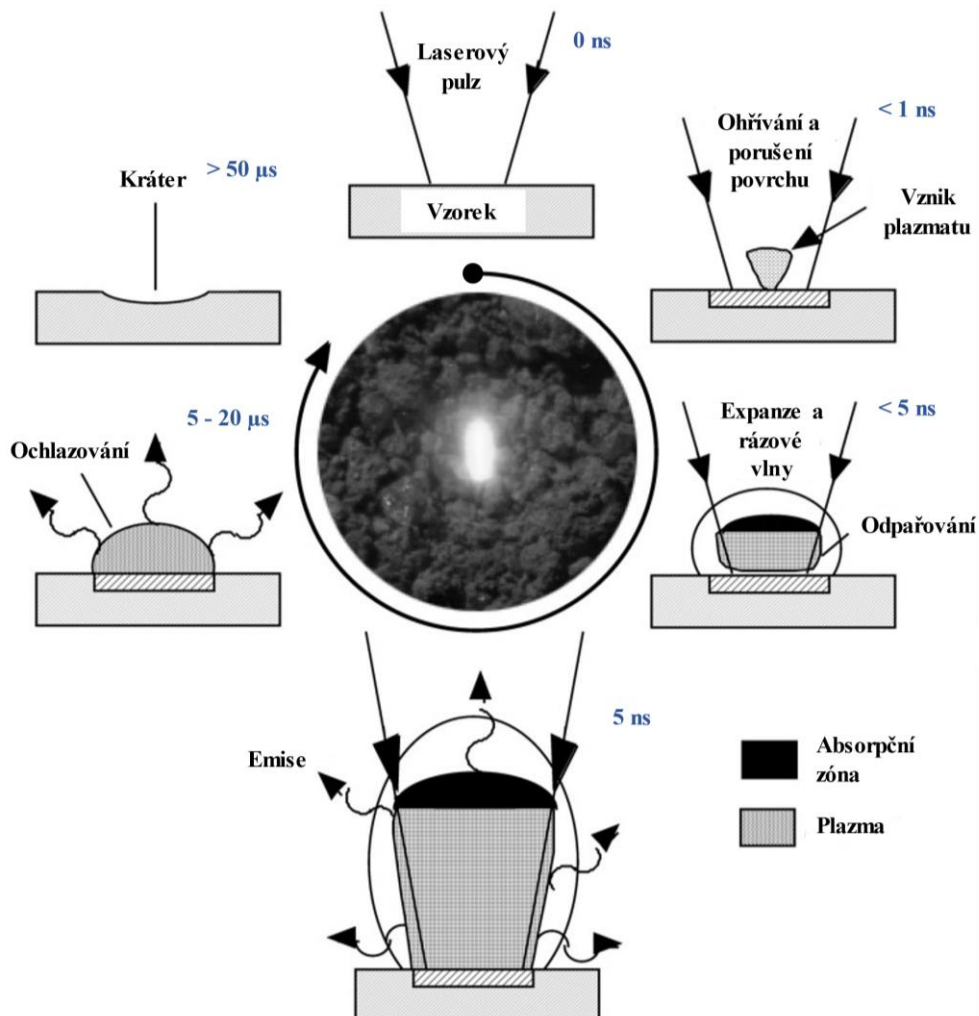
Plazma bývá často popisováno jako čtvrté skupenství látky vedle pevných látek, kapalin a plynů. Vzniká ionizací plynu, tedy odtržením elektronu z elektronového obalu atomu. Skládá se tedy z volně pohybujících iontů a elektronů, případně také neutrálních atomů nebo molekul. I přesto, že se v plazmatu volně pohybují elektrony a ionty, jejich celkové hustoty náboje se vzájemně vyruší a jsou v rovnováze. Takovému chování říkáme kvazineutrální. Dále také plazma vykazuje kolektivní chování. To znamená, že se jednotlivé nabitě částice plazmatu nechovají jako nezávislé částice, ale interagují s mnoha dalšími částicemi ve svém okolí najednou [4]. Plazma může vznikat řadou způsobů, jedním z nich je například buzení laserem, který je pro metodu LIBS nejvýznamnější a dále se mu bude věnováno v následujících kapitolách. Ostatní způsoby, stejně jako další charakteristiky plazmatu, jsou detailněji popsány v této knize [5].

1.4.1 Vznik laserem buzeného plazmatu

Ke vzniku laserem buzeného plazmatu se používá krátkého laserového pulsu, který se pomocí optické soustavy zaostří do konkrétního bodu – ohniska. To samotné ale ke vzniku plazmatu nestačí. Je zapotřebí překročit určitou mezní hodnotu plošné hustoty zářivého výkonu laseru. Tato prahová hustota je specifická pro každý materiál a udává množství energie na jednotku plochy za jednotku času. Plazma při této hodnotě plošné hustoty zářivého výkonu expanduje nadzvukovou rychlostí a emituje mimo jiné i fotony ve viditelném spektru [6] [1].

1.4.2 Stav laserem buzeného plazmatu v čase

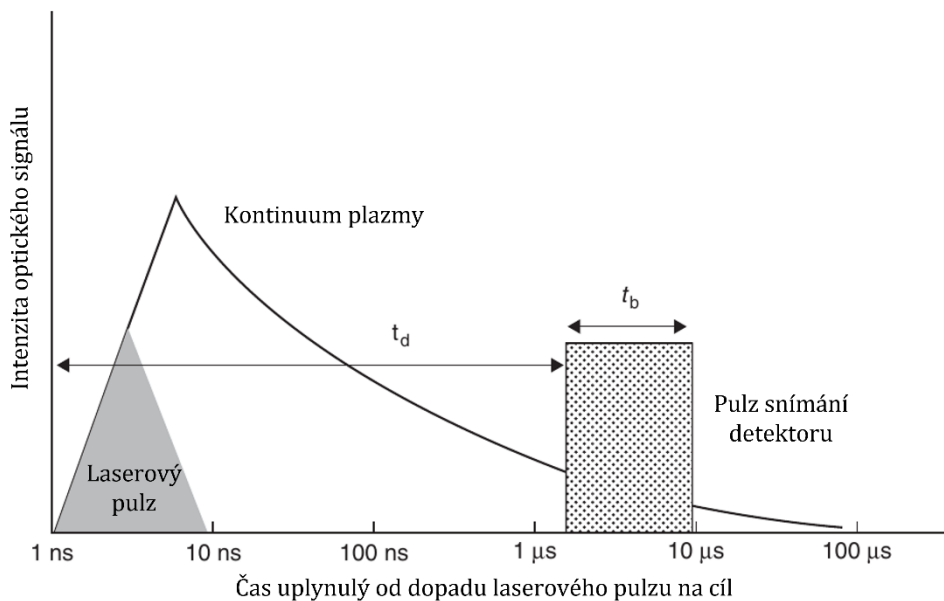
V procesu vzniku plazmatu v důsledku optické excitace jsou důležité dva hlavní kroky vedoucí k porušení povrchu vzorku. V první řadě se generuje několik volných elektronů, které se začnou srážet s fotony a neutrály. V druhé řadě dochází k lavinové ionizaci v ohnisku dopadu laserového paprsku. Elektrony jsou v čase mezi srážkami urychlovány elektrickým polem optického pulzu. Energie elektronů roste a postupně přibývá počet srážek, které uvolňují další elektrony (lavinová reakce). Tím také roste teplota plazmatu [1].



Obrázek 2 Cyklus vzniku a existence plazmatu při procesu LIBS. Převzato z [1], přeloženo a doplněno o časové intervaly podle [7].

Vývoj laserem buzeného plazmatu v čase je znázorněn na obrázku 2. Laserový paprsek dopadá na povrch vzorku, který se začne zahřívát, v důsledku čehož dochází k ablaci (odpařování) materiálu. Vzniklý plyn reaguje s okolní atmosférou za vzniku plazmatu, které následně expanduje do všech směrů kolem ohniska laserového paprsku. V průběhu jednoho pulzu, který trvá kolem 5 ns, roste hustota a energie elektronů, která nakonec vzroste natolik, že se samotné plazma stane pro laserový paprsek neprůhledné a laser začne předávat energii svrchní vrstvě plazmatu. Dojde tedy ke tvorbě absorpční vrstvy plazmatu. Plazma v této vrstvě se začne šířit ve směru zdroje laserového paprsku za vzniku rázové vlny doprovázené zvukovým efektem.

Počáteční fáze plazmatu je doprovázena intenzivním spojitým zářením způsobeným brzdným zářením a rekombinací elektron-iont a pro prvkovou analýzu je bezcenná, měření proto provádíme se zpožděním, tzv. gate delay [6]. Částice při svém návratu z vyšších energetických hladin do svých základních stavů, tedy při chladnutí plazmatu, emitují charakteristické spektrální záření. Toto emisní záření zaznamenáváme a je pro nás z hlediska spektrální analýzy nejvýznamnější. Na obrázku 3 je znázorněn průběh intenzity optického signálu v čase. Kóta t_d reprezentuje gate delay a t_b reprezentuje čas, po který se zaznamenává optický signál.

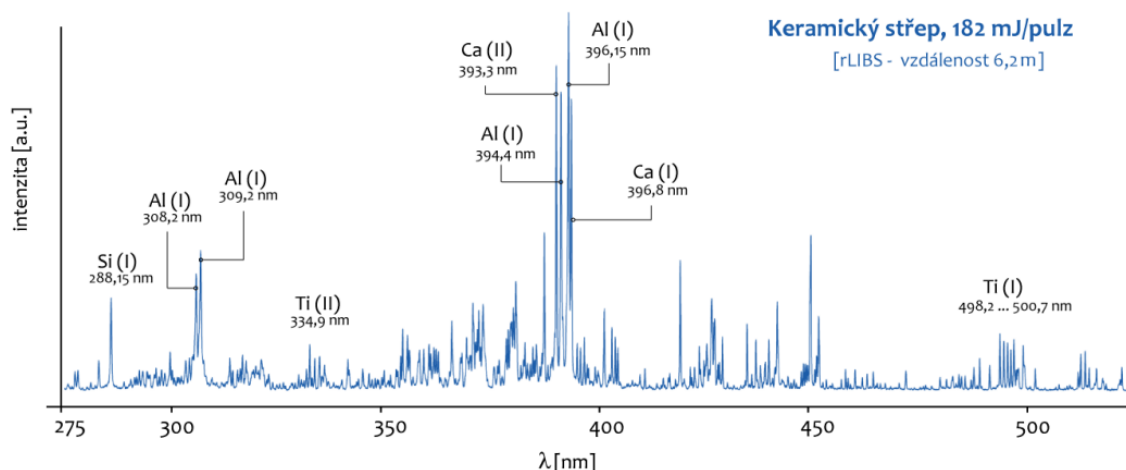


Obrázek 3 Vývoj intenzity optického signálu v čase, převzato a přeloženo z [2]

1.5 Výstup měření metodou LIBS

Výstupem metody LIBS je charakteristické spektrum, které v sobě nese informaci o prvkovém složení vzorku. Jedná se o závislost intenzity záření plazmatu na vlnové délce. Výsledné hodnoty jsou poté porovnávány s tabelovanými hodnotami, které jsou k dispozici například v online databázi NIST [8]. Každý prvek má svojí charakteristickou spektrální čáru, která je určena specifickou vlnovou délkou, která se pohybuje v oblasti od ultra-fialového (UV) přes viditelnou část spektra až po oblast infra-červeného záření (IR). Výsledky měření jsou odvislé od konkrétních podmínek experimentu. Obecně lze ale říci, že při konstantních experimentálních

podmínkách a matici vzorku platí, že čím vyšších hodnot intenzity dosahují konkrétní spektrální čáry, tím vyšší je zastoupení daného prvku ve vzorku. Výstupem měření metodou LIBS jsou tedy vlnové délky a jejich příslušné intenzity. Tato data se před finálním vykreslením upravují (odstranění šumu, kalibrace...) a třídí různými metodami popsanými v této závěrečné práci [6].



Obrázek 4 Ukázka LIBS spektra keramického střepu. Převzato z [9].

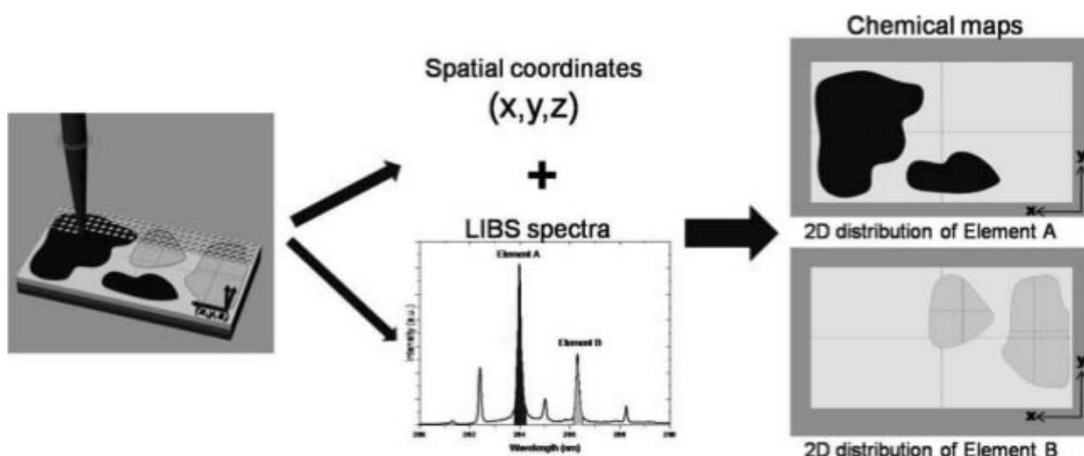
1.6 Aplikace metody LIBS

Díky mnohačetným výhodám, které LIBS přináší při prvkové analýze, si tato metoda našla své uplatnění v mnoha oborech od materiálových věd přes forenzní vědy a biologický a environmentální výzkum až po archeologii a zkoumání fosilií nebo uměleckých děl. Díky schopnosti provádět měření i za jiných, než atmosférických podmínek Země je LIBS i součástí vesmírného výzkumu v rámci sady nástrojů SuperCam na vozítku Perseverance, které zkoumá od roku 2020 povrch Marsu.

1.6.1 Chemické mapování

Jednou z aplikací metody LIBS je chemické mapování povrchu vzorku. Jak už bylo popsáno výše, LIBS získává informaci o chemickém složení jednoho bodu vzorku, respektive malé plošky, na kterou je zaostřen laser. V případě homogenních materiálů je tenhle přístup dostačující, nicméně v případě heterogenních materiálů, kterými jsou například betonové matrice nebo vzorky měkkých tkání živočichů, LIBS umožňuje daleko praktičtější využití. Chemické mapování dokáže poskytnout velmi přesnou vizuální formu informace o prostorovém rozmístění jednotlivých chemických prvků v analyzované oblasti vzorku. Výsledná chemická mapa obsahuje spektroskopické stopy všech chemických prvků, které jsou přítomné ve vrchní vrstvě vzorku. Prostorové rozlišení může dosahovat až stovek μm .

Praktické provedení mapování se stává z vytyčení zkoumané oblasti, která je následně pokryta sítí bodů o zvolené hustotě. Jedna z částí aparatury, laser nebo manipulační stolek, na kterém je uchycen vzorek, se pak pohybuje a postupně analyzuje všechny předem určené body. Dochází k vytvoření souboru dat – emisních spekter, které jsou navíc prostorově vázány – chemické mapy. Ty je pak možné vizualizovat. Tato kapitola čerpá z [10].



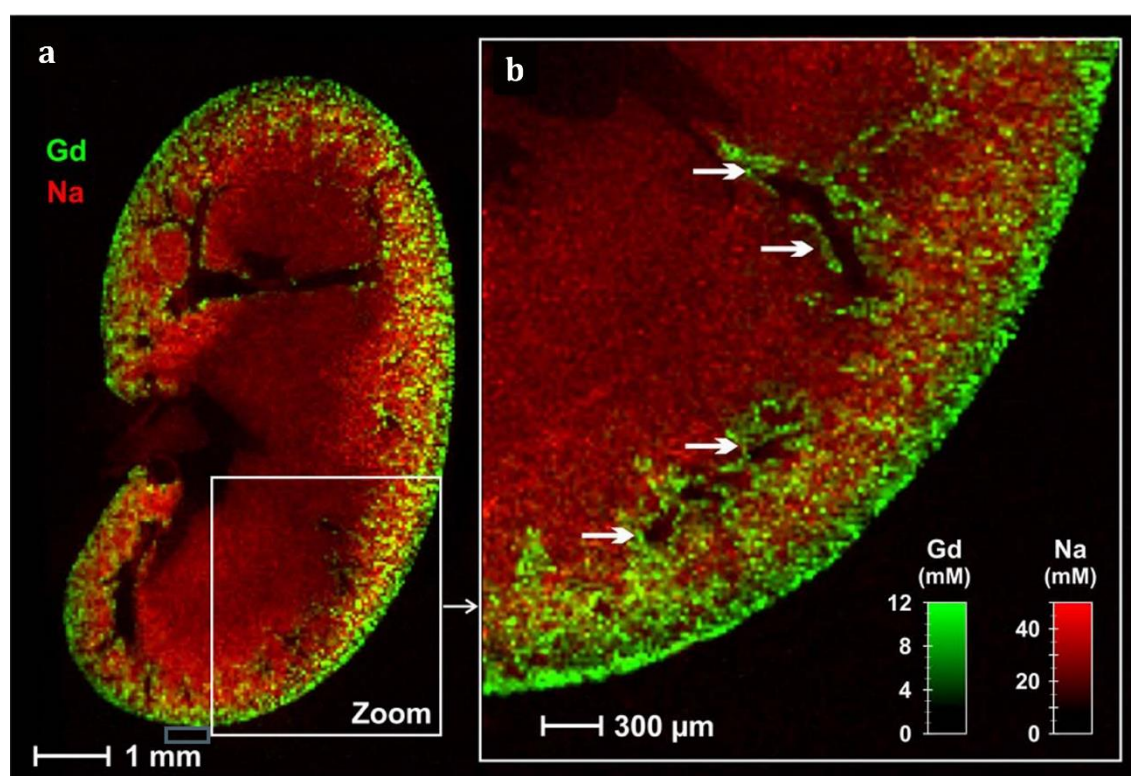
Obrázek 5 Schéma procesu tvorby chemické mapy pomocí LIBS. Převzato z [10].

LIBS metodě chemického mapování přináší řadu benefitů, kterými jsou například vysoká rychlost sběru a projekce dat, nebo minimální nároky na přípravu vzorku. Zejména však oproti jiným metodám, jako je například SXRF (synchrotron radiation microanalysis) nebo LA-ICP-MS (laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry), LIBS poskytuje kompromis mezi citlivostí, rozlišením a rychlostí měření. Přednost LA-ICP-MS je vysoká citlivost, která u některých prvků, zejména kovů, stále předčí metodu LIBS. Na druhou stranu však pomocí této metody není možné detekovat všechny prvky periodické tabulky, a to zejména vodík, uhlík, dusík a kyslík, které jsou hlavními složkami všech organických sloučenin, a tedy všech druhů biologických materiálů. Rozlišná metoda LIBS je omezené velikostí ablačního kráteru a v tomto aspektu ji předchází metoda SXRF, která ale zase výrazně zaostává, co se týká rychlosti měření. I přesto, že se metody vyjímají samostatně v konkrétních aspektech, metoda LIBS poskytuje dobrý kompromis mezi všemi třemi, což z ní dělá nejuniverzálnější metodu pro chemické mapování. V tomto článku [12] se L. Sancey a V. Motto-Ros věnují výhodám použití metody LIBS pro chemické mapování měkkých tkání živočichů za účelem histologického zkoumání. Ty jsou totiž chemicky silně heterogenní, a proto je prostorově rozlišená chemická analýza vhodným nástrojem pro jejich zkoumání. Zároveň jsou také histologické řezy vždy rovinné, což jejich mapování metodou LIBS velice usnadňuje. Tato kapitola čerpá především z článku [11].

1.6.2 Fast mapping

Standardní metoda chemického mapování popsaná v předchozí kapitole je vhodná v případech, kdy je zapotřebí zmapovat jen malou plochu nebo nejsou kladeny velké nároky na rozlišení výsledné mapy. Naproti tomu u aplikací, kdy je zapotřebí mapovat velkou plochu s vysokým rozlišením, by metodou klasického chemického mapování měření trvalo v řádech hodin až dnů. Máme-li totiž například plochu o rozměru 1×1 cm a požadujeme-li rozlišení $100 \mu\text{m}$, výsledná mapa bude obsahovat 10 tisíc bodů. U metody Fast mappingu se je pak možné dostat pro takové množství bodů na čas v řádech jednotek nebo nižších desítek minut [10]. Při klasickém mapování se stolek (případně laser) pohybují krokově bod po bodu, přičemž je každý dílčí krok měření (požadavek na přesun na danou pozici, výstřel

laseru, zahájení snímání signálu detektorem atp.) doprovázen neustálou komunikací mezi elektronikou a řídicím softwarem, což celý proces výrazně zpomaluje. Na rozdíl od toho se u Fast mappingu manipulační stolek pohybuje kontinuálně v řadách konstantní rychlosti. Laser generuje pulzy s konstantní frekvencí a pomocí regulace rychlosti pohybu manipulačního stolku je možné měnit vzdálenosti mezi jednotlivými krátery a tím určit rozlišení výsledné mapy. Celý proces měření je dopředu přesně naplánovaný a načasovaný a v průběhu pohybu laseru již nedochází ke komunikaci s řídicím softwarem. Výhodou tohoto přístupu je obrovské zrychlení měřícího procesu, na druhou stranu je ale poloha jednotlivých kráterů jen odhadnutá na základě rychlosti manipulátoru, frekvence laseru a výchozí pozice, kdežto u klasických metod mapování je každá poloha kráteru přesně definovaná.



Obrázek 6 Příklad snímků z chemického mapování metodou LIBS pro měkké tkáně. Konkrétně se jedná o distribuci gadolinia (zelená) a sodíku (červená) v koronálním řezu myší ledviny. Měření bylo provedeno 24 hodin po podání nanočástic gadolinia. a) Prostorové rozlišení 40 µm. b) Zvětšení obrazu (a) s prostorovým rozlišením 20 µm. Bílé šipky označují oblasti, ve kterých tkáň chybí, což odpovídá krevním cévám a sběrným kanálkům. Převzato z [12].

Při tomto způsobu chemického mapování je potřeba brát v úvahu charakteristické vlastnosti použitých motorků, které pohybují manipulačním stolcem. Aby byla udržena konstantní vzájemná vzdálenost kráterů, musí být konstantní i rychlost pohybu manipulačního stolku. Je tedy zapotřebí uvažovat rozjezdovou dráhu, kterou musí manipulační stolek urazit, než dosáhne zvolené rychlosti, a proto stolek musí svůj pohyb začínat vždy z polohy lehce mimo vytyčenou mapovanou plochu. Obdobně je tomu i u brzdové dráhy, kterou musí stolek urazit při brždění ze zvolené rychlosti do úplného zastavení, aby mohl změnit

směr a pokračovat na další řadu bodů. Díky tomuto způsobu chemického mapování je celý proces měření sice výrazně rychlejší, nicméně také náročnější na synchronizaci, použité prvky aparatury, zpracování výsledků a v důsledku i na finance. Metoda Fast mappingu v LIBS má široké uplatnění v mnoha odvětvích, jedním z nichž je i histologické zkoumání měkkých tkání zmíněné v předchozí kapitole. Oproti jiným metodám používaným pro biologický výzkum (např. LA-ICP-MS nebo SXRF) LIBS poskytuje srovnatelné výsledky v podstatně kratším čase [12].

1.6.3 Výhody a nevýhody metody LIBS

Jak už bylo zmíněno, LIBS umožňuje velmi rychlé zobrazování s rychlostí získávání pixelů v rozsahu kHz a prostorovým rozlišením v řádech μm . Mimo to se jedná o kvazi-nedestruktivní metodu, protože je z povrchu vzorku odpařena jen nepatrná vrstva materiálu. Vzorek navíc nevyžaduje prakticky žádnou přípravu a měření lze provádět na vzduchu za atmosférického tlaku, díky čemuž lze metodu použít i mimo laboratorních prostor. Měření je také možné provádět na velké vzdálenosti, což umožňuje přístup do těžko přístupných míst. Měření na velké vzdálenosti lze provádět buď vzduchem, nebo optickým vláknem. V prvním případě je laserový paprsek i detektor světelného signálu po ablaci materiálu směřován přímo na povrch vzorku a oba signály jsou přenášeny vzduchem. Ve druhém případě jsou oba signály vedeny buď jedním společným, nebo dvěma separátními optickými vlákny k místu měření. Oproti stolním aparaturám jsou ty dálkové náročnější na návrh fokusační a sběrné optiky a na citlivost detektorů, nicméně v průmyslových aplikacích jsou výsledky často zcela dostačující a ocení se spíše nízká cena, vysoká rychlost a možnost provádět měření přímo na místě mimo laboratoř [1] [9]. Další z výhod je umožnění analýzy vzorků jakéhokoliv skupenství a nezávisle na vodivosti materiálu. Samotné provedení experimentu navíc není příliš nákladné. Jak už bylo zmíněno dříve, LIBS poskytuje dobrý kompromis mezi rozlišením, citlivostí a rychlostí měření, díky čemuž má metoda univerzální použití pro chemické mapování.

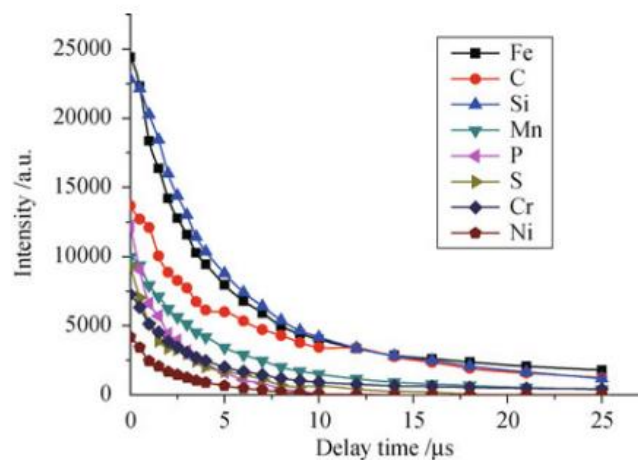
Hlavními nevýhodami metody LIBS jsou relativně nižší citlivost a opakovatelnost měření ve srovnání s jinými metodami chemické analýzy (LA-ICP-MS, SXRF atp.). Jednou z dalších nevýhod jsou vysoké nároky na přesnost časování průběhu měření (blíže popsáno v kapitole 2.1) a také na zaostření laseru. Automatické zaostření laseru nebývá vždy přesné a je zapotřebí manuální kontrola obsluhy přístroje, a to zejména v případě vysoce lesklých materiálů. Další nevýhodou může být samoabsorpce, kterou je však možné různými technikami kompenzovat. V neposlední řadě je také nevýhodou matriční jev a s ním související komplikovaná kvantifikace prvků ve vzorku [1].

2 Faktory ovlivňující kvalitu výsledků

Přesnost a kvalitu výsledků měření metodou LIBS ovlivňuje řada faktorů týkajících se mechanických vlastností vzorku, prostředí, ve kterém měření probíhá, použitá aparatura a její nastavení a kalibrace. Kvalita výsledků závisí zejména na vysoké intenzitě spektrální čáry, a naopak nízké intenzitě pozadí. U měření metodou LIBS je zároveň snaha o co nejmenší míru poškození vzorku a také o opakovatelnost měření. Následující kapitoly se věnují faktorům, jejichž vliv se na kvalitě výsledku projeví nejvíce, nebo které přímo souvisejí s předmětem práce.

2.1 Časová synchronizace měřícího procesu

Z důvodu časové proměnnosti laserem buzeného plazmatu (blíže popsáno v kapitole 1.4.2) je zapotřebí velice přesné synchronizace celé soustavy. Načasování procesu od laserového pulzu až po záznam optického signálu významně ovlivňuje výsledné spektrum záření plazmatu. U některých pulzních laserů dokážeme pomocí zpoždění řídicího pulzu od budícího pulzu zdroje ovládat energii laserového pulzu a tím měnit i intenzitu výsledného elektromagnetického záření plazmatu. Vývoj záření plazmatu se navíc pro různé materiály liší, a proto je zapotřebí načasování s rozlišením minimálně v desítkách ns. Za tímto účelem je součástí soustavy LIBS přesný vícekanálový generátor pulzů, který mimo jiné ovládá frekvenci a intenzitu laserových pulzů a okamžik zahájení a délku sběru optického signálu [13].



Obrázek 7 Závislost intenzity¹ spektrální čáry na zpoždění detektoru, převzato z [14].

Jedním z nejdůležitějších časových rozlišení je zpoždění detektoru – Gate delay. Díky tomuto nástroji lze optimalizovat poměr mezi signálem spektrálních čar a kontinuálním zářením, které ve výsledcích měření figuruje jako pozadí a je potřeba ho následně filtrovat. Ovlivnitelnost tohoto poměru je důsledkem faktu, že kontinuální záření vyhasíná rychleji než signál spektrálních čar. Kontinuu se však bohužel nedá zcela vyhnout, protože pokud by bylo zpoždění detektoru příliš velké, spektrální čáry by neměly potřebnou intenzitu. Pro lepší představu je na

¹ Intenzita je zde uvedena v arbitrárních jednotkách, které slouží k určení poměru mezi jednotlivými naměřenými hodnotami.

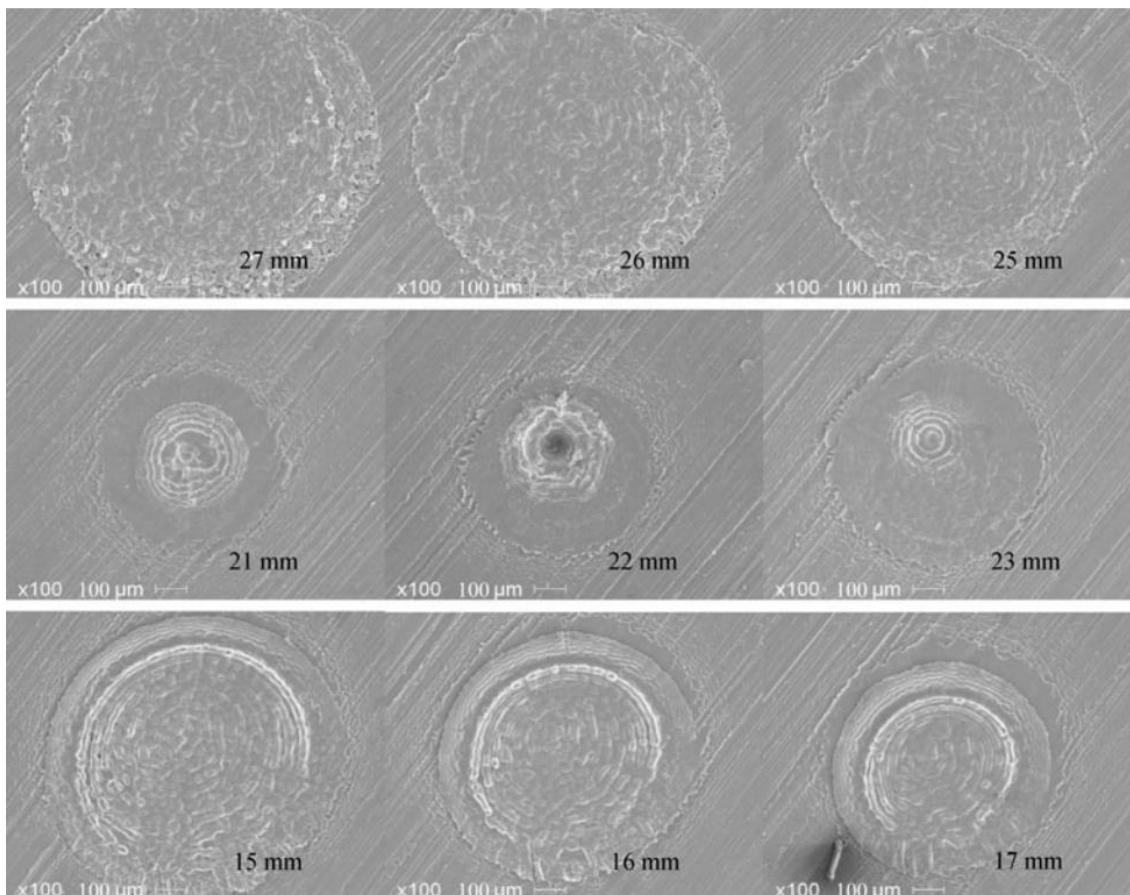
obrázku 3 vykreslen průběh měření v čase. Článek [14] se blíže zabývá vlivem zpoždění detektoru na intenzitu spektrálních čar pro různé prvky. Z obrázku 7 je patrné, že se zvyšujícím se zpožděním výrazně klesá intenzita spektrálních čar. Nicméně pokud by bylo zpoždění příliš malé, kontinuum by bylo příliš intenzivní a ovlivňovalo by přesnost výsledků.

2.2 Vzdálenost mezi čočkou a vzorkem

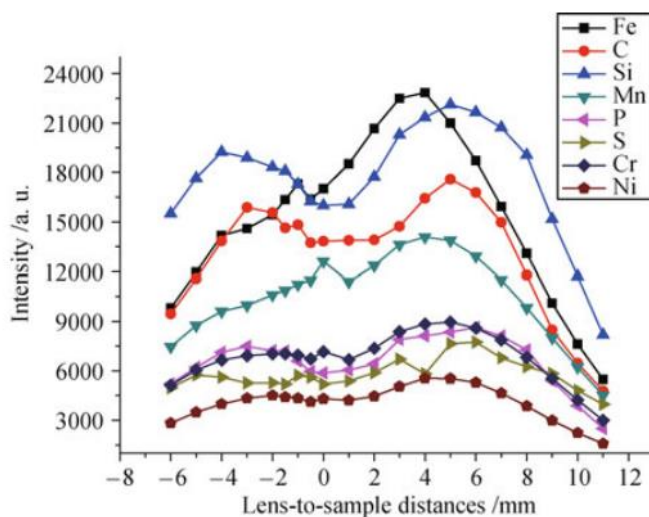
Vzdálenost mezi čočkou a vzorkem, nebo také LTSD (z angl. „lens to sample distance“) významně ovlivňuje vlastnosti vzniklého plazmatu. Jedná se zejména o intenzitu jím vyzařovaného spektra, ale i o množství ablatovaného materiálu a míru poškození vzorku. Nachází-li se povrch vzorku v ohniskové vzdálenosti čočky, vzniklý ablační kráter je menší a hlubší než v případě, kdy se povrch vzorku nachází pod nebo nad touto vzdáleností.

Na obrázku 8 lze pozorovat snímky kráterů po ablaci materiálu na matici železa v různých vzdálenostech čočky od povrchu vzorku. Nejmenší a zároveň nejhlubší kráter odpovídá vzdálenosti 22 mm. Z toho můžeme určit, že ohnisková vzdálenost čočky odpovídá právě 22 mm. Nachází-li se ohnisko čočky pod povrchem vzorku, tedy je-li LTSD menší, než 22 mm, kráter se stává mělkým a roste jeho průměr. Na okraji oblačního kráteru jsou pozorovatelné usazené zbytky materiálu, které se zde objevují vlivem chladnutí plazmatu. Nachází-li se ohnisko čočky nad povrchem vzorku, tedy je-li LTSD větší, než 22 mm, ablační kráter se stává ještě mělkým než v předchozím případě, a jeho průměr se stává ještě větším. Navíc může v tomto případě docházet i k ablaci ve vzduchu, což vyvolá stínící efekt.

Na obrázku 9 je vynesena závislost intenzity spektrální čáry na LTSD. Poloha 0 odpovídá tomu, že je ohnisková rovina čočky shodná s povrchem vzorku. Kladná čísla reprezentují umístění ohniska čočky uvnitř vzorku, záporná zase nad povrchem vzorku. Z obrázku je patrné, že intenzita spektrální čáry dosahuje maxima kolem 4 mm uvnitř vzorku a pak prudce klesá. V blízkosti ohniska intenzita není příliš vysoká a rychle se mění, což může být způsobeno stínícím efektem. Plazma může být v určitou chvíli natolik husté, že se stane pro laser neprůhledné a energie pulzu je absorbována plazmatem, což způsobí, že je ablatováno menší množství materiálu. To vede ke snížení počtu zářících částic a tím i ke snížení signálu. Dalším důvodem poklesu intenzity v oblasti ohniska je fakt, že laser v takovém případě ozařuje menší plochu vzorku a energie laseru je pak absorbována menším množstvím vzorku. To sice způsobí vyšší teplotu plazmatu, ale zároveň menší množství vyzařujících částic. S rostoucí vzdáleností ohniska od povrchu vzorku intenzita obecně klesá, protože se zvětšuje průměr ablačního kráteru a stává se mělkým. Z poznatků z článku [14] vyplývá, že nejvhodnější je umístění ohniskové roviny čočky mírně dovnitř vzorku. Zároveň z nich vyplývá, že správné nastavení fokusační optiky má na výsledky měření nezanedbatelný vliv a hraje také významnou roli v opakovatelnosti experimentů, stabilitě měření a velikosti ablačního kráteru.



Obrázek 8 Snímky ablačních kráterů na povrchu vzorku železa vzniklých při různých vzdálenostech čočky od povrchu vzorku. Pořízeno rastrovacím elektronovým mikroskopem. Převzato z [14].

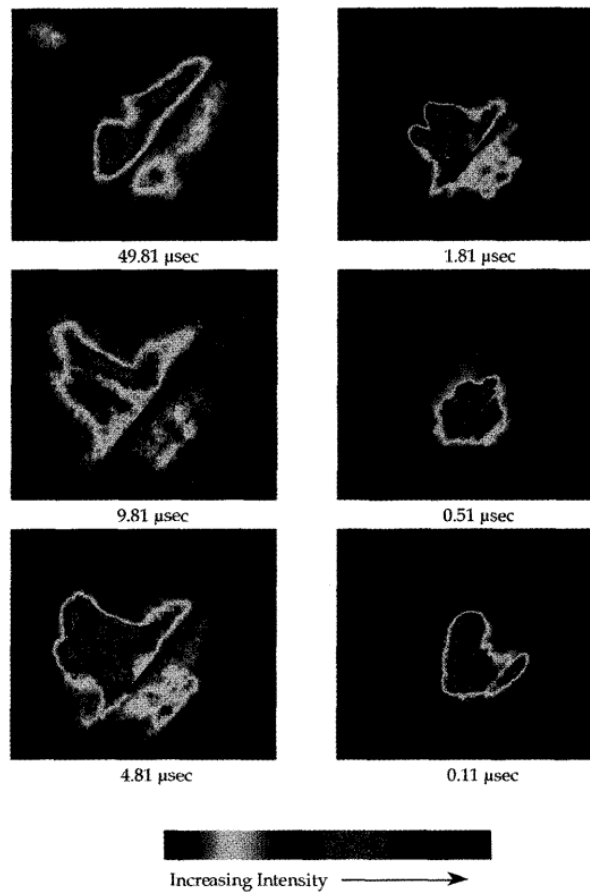


Obrázek 9 Závislost intenzity¹ spektrální čáry na LTSD, převzato z [14].

2.3 Úhel dopadu laserového svazku na povrch vzorku

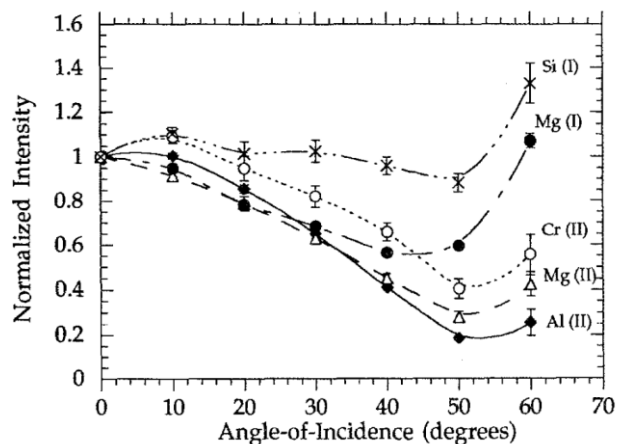
Při studii popsané v článku [15], která se zabývá vlivem úhlu dopadu laserového svazku na povrch vzorku na kvalitu výsledků měření, bylo zjištěno, že od počátku pulzu se plazma šíří ve směru laserového svazku, avšak po určité krátké době se

vyvíjí ve směru normály k rovině povrchu vzorku. Plazma takéjevilo známky symetrie kolem této normály, což je patrné na obrázku 10.



Obrázek 10 Vývoj plazmatu vzniklého na pochromovaném vzorku hliníku při úhlu dopadu laserového svazku odpovídajícímu 50°. Převzato z [15].

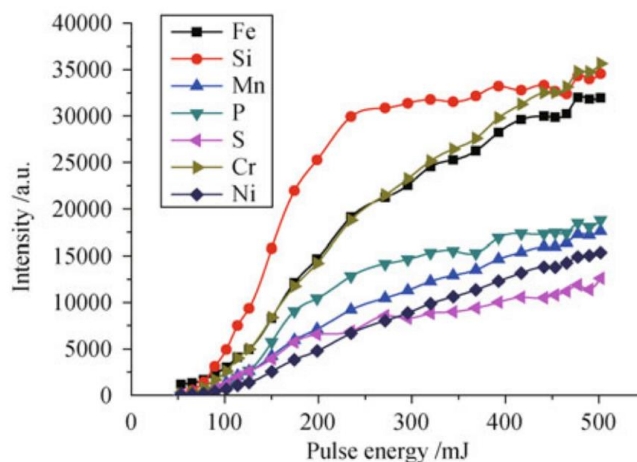
Zároveň bylo zjištěno, že se zvětšujícím se odklonem laserového svazku od normály povrchu vzorku, klesá intenzita spektrální čáry. Měření bylo provedeno pro úhly 0 až 60° a pro každý úhel bylo měření provedeno několikrát pro získání směrodatné odchylky naměřených intenzit spektrálních čar. Na obrázku 11 lze pozorovat naměřenou závislost intenzity spektrální čáry na úhlu dopadu laserového svazku na povrch vzorku. Závislost dosahuje svého minima při 50° a poté prudce narůstá. To lze vysvětlit tím, že do 50° se proud atomů stále méně překrývá s původním plazmatem vybuzeným laserem na povrchu vzorku. Od 50° tento překryv opět začíná narůstat, což má za následek nárůst intenzity. Tento nárůst je však pozorován mnohem méně u ionizovaných druhů v porovnání s těmi neutrálními. S rostoucím úhlem totiž klesá hodnota plošné hustoty zářivého výkonu a s tím i míra buzení plazmy. Důsledkem toho je nárůst směrodatné odchylky naměřených hodnot, což má negativní vliv na opakovatelnost měření.



Obrázek 11 Závislost intenzity spektrální čáry na úhlu dopadu laserového paprsku na povrch vzorku. Převzato z [15].

2.4 Energie laserového pulzu

Energie laserového pulzu má významný vliv zejména na intenzitu spektrální čáry. Se zvyšující se energií laserového pulzu roste hodnota plošné hustoty zářivého výkonu a také intenzita spektrální čáry. Každý prvek má specifickou prahovou hodnotu plošné hustoty zářivého výkonu, kterou je zapotřebí překročit, aby došlo k vypuzení elektronů z vyšších vrstev atomů, viz kapitola 1.4.1. Energie laserového pulzu musí být tedy dostatečně velká na to, aby přesáhla tyto prahové hodnoty prvků. Na obrázku 12 je vidět, že intenzita spektrální čáry se u vyšších hodnot energie laserového pulzu (zhruba od 300 mJ) saturuje. To může být způsobeno tzv. efektem stínění, kdy se plazma stává natolik husté, že odstíní laserový paprsek [16] [14].



Obrázek 12 Závislost intenzity spektrální čáry na energii laserového pulzu. Převzato z [14].

3 Kompenzace klínovitosti vzorku

3.1 Vliv klínovitosti vzorku na výsledky měření

Klínovitostí vzorku se rozumí nerovnoběžnost mezi horní a dolní podstavou vzorku, která může vzniknout při jeho tvorbě. Tato práce se zaměřuje na vzorky z měkkých tkání, při jejichž tvorbě se využívá mikrotomu². Vzorek tkáně (např. myší ledvina) se zalije do pryskyřice a poté je povrch vzorku mikrotomem seříznut do roviny [12]. Ten dokáže zaručit vysokou rovinnost povrchu vzorku, ale nedokáže zaručit rovnoběžnost dolní a horní plochy vzorku. V důsledku toho se při chemickém mapování mění LTSD a zároveň také úhel dopadu laserového svazku na povrch vzorku. Jak bylo zmíněno v kapitolách 2.2 a 2.3, tyto změny mají na výsledky měření významný vliv.

Vzorek je umístěn na trojosý manipulátor a je automaticky zaostřeno na první bod měření. Vzorek se dále pohybuje v rovině a postupně jsou měřeny další body vytyčené oblasti. Vlivem klínovitosti vzorku se vzdálenost povrchu vzorku od čočky postupně mění, což má za následek změnu intenzity záření plazmatu a zvětšení průměru ablačního kráteru, což vede k poklesu plošné hustoty výkonu laserového záření. Tyto fakty přináší omezení související s velikostí mapované plochy a omezení v prostorovém rozlišení. Navržená metoda kompenzace klínovitosti by měla eliminovat nežádoucí jevy s ní spojené.

3.2 Možné způsoby kompenzace klínovitosti

Zaostření na bod na povrchu vzorku je prováděno vizuálně pomocí CCD kamery umístěné nad povrchem vzorku, a to buď manuálně, nebo automaticky. Díky tomu, je možné získat libovolný počet bodů, minimálně však 3, se známými souřadnicemi ve všech třech osách. Z těchto získaných bodů je následně možné vytvořit rovinu, která reprezentuje povrch vzorku. Postup výpočtu roviny je podrobně popsán v následujících kapitolách.

S přesně definovanou rovinou tvořící povrch vzorku je nyní možné vykompenzovat její náklon. Jedním ze způsobů je opatření manipulačního stolku posuvnými šrouby, kterými by byla manuálně rovina povrchu vzorku vyrovnána tak, aby byla rovnoběžná s ohniskovou rovinou fokusační čočky. Tento způsob však vyžaduje dodatečnou práci obsluhy přístroje a může být náročný na přesnost, protože hloubka ostrosti objektivu je velice malá. Jako jednodušší a levnější způsob se jeví zapojení pohybu manipulačního stolku v ose z přímo do procesu měření. V každém bodě je automaticky vypočítána potřebná hodnota kompenzace ve směru osy z a vzorek se pak v průběhu měření pohybuje nahoru a dolů tak, aby byl měřený bod stále ve stejné vzdálenosti od fokusační čočky.

² Nástroj, který umožňuje řezat extrémně tenké vrstvy materiálu např. pro mikroskopická zkoumání.

3.3 Problém s kompenzací klínovitosti u Fast mappingu

Metoda kompenzace klínovitosti pospaná v předchozí kapitole je dostačující u aplikací LIBS, které využívají standardní metodu chemického mapování. U metody Fast mappingu (popsáno v kapitole 1.6.2) je však nedostačující. Laser se pohybuje nad vzorkem konstantní rychlostí, a proto zde z technických a časových důvodů není možné počítat kompenzovanou souřadnici z v každém kroku a ani ji krokově měnit. Z tohoto důvodu bylo zapotřebí navrhnout algoritmus, který by dokázal nejen vypočítat potřebnou kompenzaci výšky, ale zároveň také zajistit její kontinuální změnu konstantní rychlostí pohybu laseru ve směru osy z .

3.4 Lineární regrese

Lineární regrese je statistická metoda sloužící k proložení souboru bodů přímkou. Metodu lze aplikovat i na vícerozměrné úlohy, jako je tomu i v tomto případě, kdy bylo využito lineární regrese k proložení souboru bodů rovinou. Častým typem lineární regrese je metoda nejmenších čtverců.

Mějme rovnici přímky

$$y = \beta_1 x + \beta_0, \quad (1)$$

pak metoda nejmenších čtverců hledá takové hodnoty koeficientů β_0 a β_1 , aby součet čtverců (druhých mocnin) odchylek jejich funkčních hodnot od zadaných bodů byl nejmenší možný. Rovnici přímky a soubor n bodů můžeme zapsat do maticového tvaru následovně:

$$\begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & x_1 \\ 1 & x_2 \\ \vdots & \vdots \\ 1 & x_n \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \beta_0 \\ \beta_1 \end{bmatrix} \quad (2)$$

kde

$$\mathbb{Y} = \begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_n \end{bmatrix}, \mathbb{X} = \begin{bmatrix} 1 & x_1 \\ 1 & x_2 \\ \vdots & \vdots \\ 1 & x_n \end{bmatrix}, \mathbb{B} = \begin{bmatrix} \beta_0 \\ \beta_1 \end{bmatrix}. \quad (3)$$

Maticový zápis (3) lze tedy přepsat do tvaru:

$$\mathbb{Y} = \mathbb{X}\mathbb{B}. \quad (4)$$

Matici koeficientů \mathbb{B} najdeme úpravou rovnice (4), tedy podělením matice \mathbb{X} zleva maticí \mathbb{Y} [17],

$$\mathbb{B} = \mathbb{X} \setminus \mathbb{Y}. \quad (5)$$

3.5 Popis algoritmu kompenzace klínovitosti vzorku

Vstupem do algoritmu je matice souřadnic zaostřených bodů \mathbb{X} získaných pomocí autofokusačního algoritmu, rozsahy x-ových a y-ových souřadnic $x_{poč}, x_{max}, y_{poč}$ a y_{max} , a vzdálenosti mezi krátery v obou směrech Δx a Δy . Výstupem algoritmu je vektor rychlostí ve směru osy z pro jednotlivé řady kráterů. V principu algoritmus pro kompenzaci klínovitosti vzorku využívá lineární regrese, pomocí které proloží zaostřené body rovinou. Tato rovina pak tvoří model povrchu vzorku. Vhodným řezem touto rovinou získáváme přímkou v prostoru, ze které lze vypočítat z-ové souřadnice jednotlivých kráterů. Vzdálenost z-ové souřadnice od ohniskové roviny laseru je automaticky kompenzována.

Algoritmus využívá lineární regrese rozšířené o jednu další souřadnici z. Hledá tedy rovnici roviny ve tvaru:

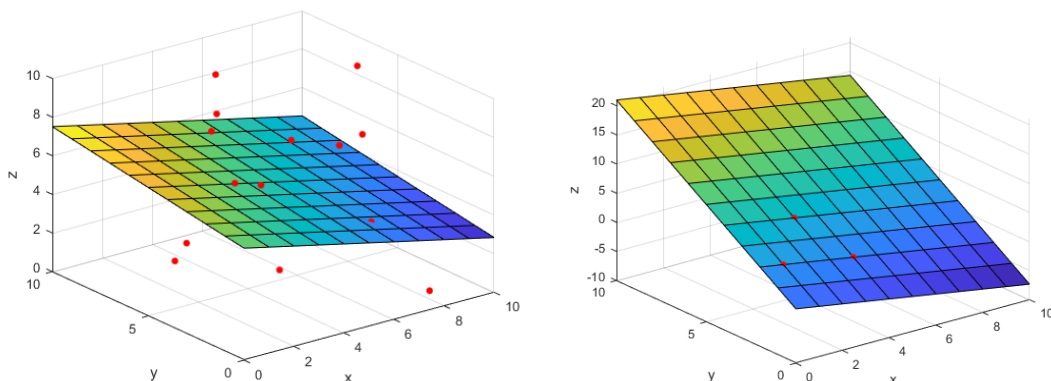
$$z = \beta_1 x + \beta_2 y + \beta_0. \quad (6)$$

Maticový zápis rovnice a jednotlivé jeho členy mají pak podobně jako (4) tvar:

$$\mathbb{Z} = \begin{bmatrix} z_1 \\ z_2 \\ \vdots \\ z_n \end{bmatrix}, \mathbb{X} = \begin{bmatrix} 1 & x_1 & y_1 \\ 1 & x_2 & y_2 \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & x_n & y_n \end{bmatrix}, \mathbb{B} = \begin{bmatrix} \beta_0 \\ \beta_1 \\ \beta_2 \end{bmatrix}.$$

$$\mathbb{Z} = \mathbb{X}\mathbb{B}. \quad (7)$$

V první fázi tedy algoritmus vytvoří z posledního řádku matice souřadnic bodů matici \mathbb{Z} . Matice \mathbb{X} o rozměru $n \times 3$, kde n je počet bodů v prostoru, má první sloupec tvořený jedničkami, druhý x-ovými souřadnicemi bodů a třetí y-ovými souřadnicemi. Pro počet bodů v prostoru platí $n \geq 3$, protože rovina je jednoznačně definována třemi body. Teoreticky by nám tedy stačily tři body roviny a aproximace by byla přesná. V praxi je ale potřeba počítat s chybou automatického zaostření, a proto dosáhneme přesnější aproximace použitím většího množství bodů.



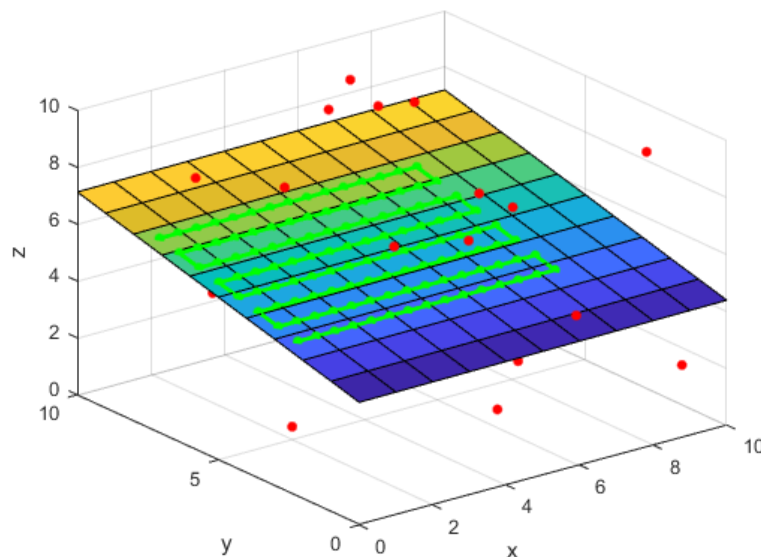
Obrázek 13 Grafické znázornění aproximace roviny pomocí metody nejmenších čtverců pro 20 bodů (vlevo) a pro 3 body (vpravo).

3.5.1 Trajektorie Laseru

Laser se nad vzorkem pohybuje v řadách podél osy x z jedné strany na druhou, jako je znázorněno na obrázku 14. Rychlost změny souřadnice z je tedy potřeba určit pro každou řadu a výsledný vektor rychlostí bude mít tedy velikost $1 \times n_y$, kde n_y je počet kráterů podél osy y. Ve druhé fázi tedy algoritmus ze zadaného rozsahu y-ových souřadnic a vzdálenosti mezi krátery vypočítá n_y , což zároveň odpovídá počtu řad.

$$n_y = \frac{(y_{\max} - y_{\text{poč}})}{\Delta y} + 1 \quad (8)$$

kde y_{\max} je maximální hodnota y-ové souřadnice, $y_{\text{poč}}$ je počáteční hodnota y-ové souřadnice a Δy je vzdálenost mezi krátery podél osy y. Samotný výpočet počtu kráterů (8) není dostatečný a je ještě potřeba ho zaokrouhlit na celá čísla, a to navíc vždy dolů, aby se krátery nenacházely mimo vytyčenou měřenou oblast.



Obrázek 14 Znázornění trajektorie laseru a kráterů.

3.5.2 Výpočet rychlosti změny souřadnice z

Rychlost je definována jako změna polohy za čas, tedy derivace polohy podle času.

$$v = \frac{dz}{dt} \quad (9)$$

Z předchozích kroků algoritmu známe umístění kráterů na rovině. Zároveň také známe frekvenci pulzů laseru a z toho čas, za který se laser přesune z jednoho bodu do druhého při svém pohybu podél osy x. Úpravou a integrací (9) dostaneme

$$v dt = dz$$

$$\int_0^T v dt = \int_{z_1}^{z_2} dz,$$
(10)

kde T je perioda. Body z_1 a z_2 jsou z-ové souřadnice dvou bodů, které jsou od sebe ve směru osy x vzdálené a předem definovanou vzdálenost Δx . Uvažujeme-li, že je rychlost laseru podél osy z konstantní, můžeme (10) upravit do tvaru:

$$v = \frac{z_2 - z_1}{T} = (z_1 - z_2) \cdot f,$$
(11)

kde f , je frekvence laseru a platí, že $f = T^{-1}$.

Výpočet rychlosti probíhá iterativně po jednotlivých řadách, protože se při každé následující řadě otáčí směr rychlosti. Směr rychlosti prvního řádku je určen rozdílem počáteční a koncové z-ové souřadnice. Při každé následující iteraci je směr otočen do opačného směru oproti předchozímu. Příklad implementace algoritmu v prostředí MATLAB se nachází v příloze 1.

4 Experimentální ověření navržené metody kompenzace klínovitosti

4.1 Popis aparatury

Experimentální ověření navržené metody kompenzace klínovitosti bylo provedeno na přístroji FireFly vyvíjeném v laboratoři laserové spektroskopie na Ústavu fyzikálního inženýrství Fakulty strojního inženýrství VUT v Brně. Přístroj disponuje manipulačním stolečkem s rozsahem $100 \times 100 \times 50$ mm, který se může pohybovat ve třech osách s minimálním krokem $1 \mu\text{m}$. Dále je součástí sestavy pulzní laser generující záření o vlnové délce nastavitelné mezi třemi hodnotami (1064, 532 a 266 nm). Délka laserového pulzu je 5 ns a maximální opakovací frekvence 100 Hz. Laserový svazek je na povrch vzorku zaostřen objektivem o ohniskové délce 70 mm. Přístroj je vybaven spektrometry v uspořádání Czerny-Turner (Avantes avacpec) s konfigurovatelným spektrálním rozsahem. Přímé zobrazení plazmatu je možné pomocí CCD kamery s možností externího spouštění expozice (Basler, ace 2). Přístroj je ovládán z počítače přes uživatelské prostředí.

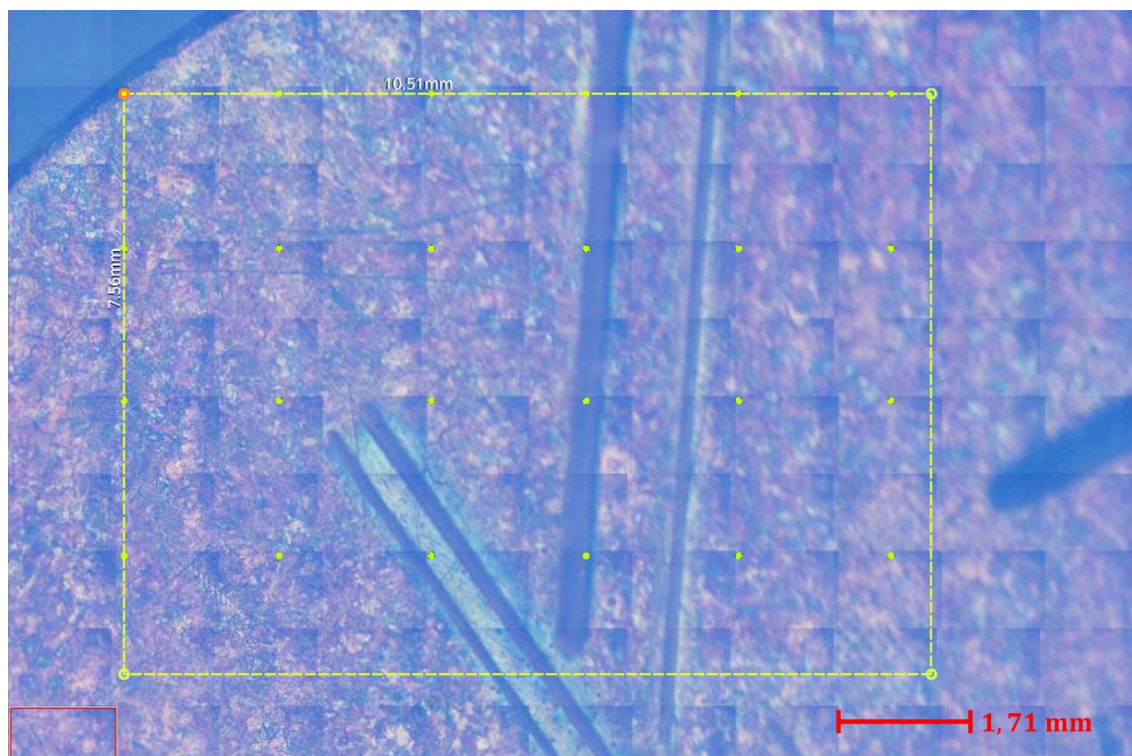


Obrázek 15 Fotografie přístroje FireFly.

4.2 Průběh experimentu

Pro účel ověření funkčnosti navržené metody kompenzace klínovitosti bylo zapotřebí zvolit vhodný vzorek. Vybrán byl vzorek mědi ve tvaru placatého válečku, protože je jeho povrch rovinný a zároveň je z homogenního materiálu, takže je vhodný pro posuzování vlivu kompenzace klínovitosti na výsledky měření. Metoda LIBS je navíc citlivější na kovové materiály. Na povrchu vzorku byla přes uživatelské prostředí vytyčena oblast o rozměrech $10,51 \times 7,56$ mm. Vzdálenost bodů podél os x a y byla shodně zvolena $\Delta x = \Delta y = 2$ mm. Ve vytyčené měřené oblasti byla tedy vytvořena síť 24 bodů, 6 v ose x a 4 v ose y . Jednotlivé body jsou rozlišeny podle pořadí, ve kterém budou měřeny, indexem od 0 do 24. Dále jsou definovány v rámci sítě indexy 0 až 5 v ose x a 0 až 3 v ose y . Indexování bodů začíná v levém horním rohu sítě (viz obrázek 16, počáteční bod označen červeně). Nakonec jsou body také ukotveny v prostoru pomocí souřadnic x , y a z . Vytyčená oblast s označenými měřenými body je graficky znázorněna na

snímku povrchu vzorku (obrázek 16). Tento snímek je složen z řady snímků pořízených kamerou umístěnou nad manipulačním stolem a směřující kolmo na něj, která je zaostřená na první body měření. „Kostičková“ textura celkového snímku je způsobena jednak bočním nasvícením vzorku, ale také tím, že se vzorek svažuje k pravé straně a jeho povrch tedy postupně vyhází ze zaostřené roviny objektivu. Použitý objektiv má velmi malou hloubku ostrosti, a proto i drobné vychýlení z ohniskové vzdálenosti způsobí viditelné rozostření obrazu.

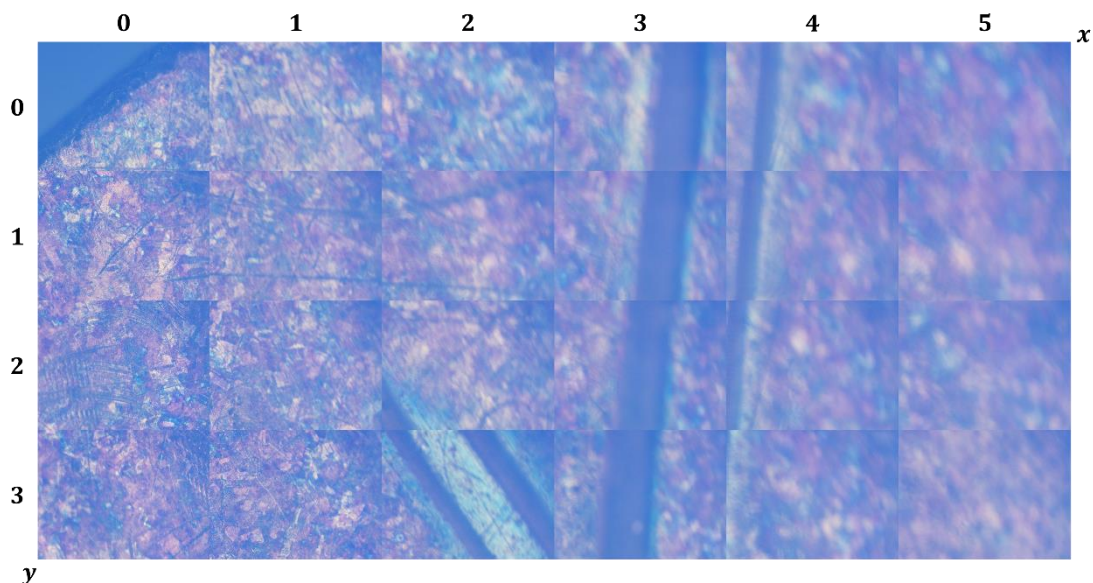


Obrázek 16 Snímek povrchu vzorku s vytyčenou měřenou oblastí a vyznačenými měřnými body.

4.3 Měření s pořizováním snímků povrchu vzorku

4.3.1 Bez kompenzace klínovitosti

První měření bylo provedeno bez kompenzace klínovitosti. V průběhu tohoto měření byl v každém bodě pořízen snímek povrchu vzorku. Kamera byla zaostřena na první bod měření, tedy bod $[0; 0]$. Manipulační stolek se od prvního bodu dále pohybuje ze strany na stranu v řadách podél osy x , a tak zmapuje celou vytyčenou oblast. Výsledné snímky jsou popořadě seskládány na obrázku 17. Z obrázku je patrné, že snímky pořízené v pravé části mapované oblasti jsou výrazně méně ostré, než ty pořízené v blízkosti bodu $[0; 0]$.



Obrázek 17 Snímky pořízené v jednotlivých bodech měření bez kompenzace klínovitosti. Povrch vzorku se svažoval směrem k pravé straně.

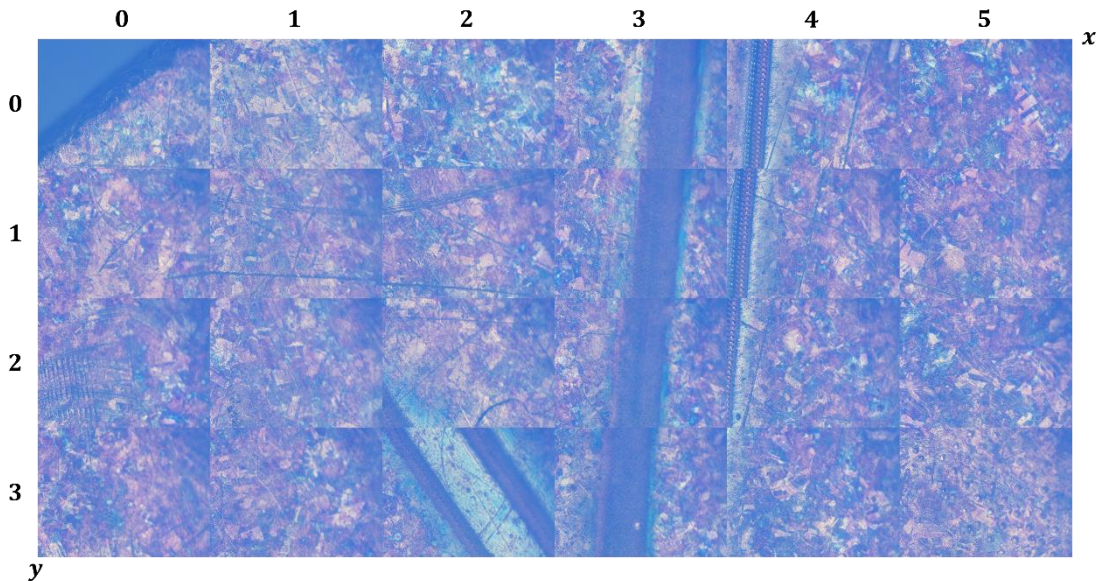
4.3.2 S kompenzací klínovitosti

Druhé měření bylo provedeno se zapnutou kompenzací klínovitosti vzorku. Nejprve však bylo zapotřebí definovat rovinu povrchu vzorku. V uživatelském prostředí bylo zvoleno 5 bodů, na které bylo pak postupně zaostřováno. Díky tomu bylo možné pro každý z těchto bodů určit změnu souřadnice z oproti bodu $[0; 0]$. Ze získaných hodnot korekce osy z je poté automaticky vytvořen model roviny povrchu vzorku a jsou dopočítány korekce ostatních bodů podle algoritmu popsaného v kapitole 3.5. Jednotlivé zvolené body a jejich hodnoty korekce jsou uvedeny v tabulce 1.

Číslo bodu	Indexy		Souřadnice			Korekce souřadnice z
	x	y	x	y	z	
0	0	0	-3,510	12,159	32,158	+0,9
5	5	0	6,490	12,159	32,158	+0,1
15	3	2	2,490	8,195	32,158	+0,5
18	5	3	6,490	6,159	32,158	+0,3
23	0	3	-3,510	6,159	32,158	+1,1

Tabulka 1 Souřadnice a hodnoty korekce souřadnice z bodů zvolených pro výpočet modelu roviny povrchu vzorku při měření s pořizováním snímků povrchu vzorku.

Po provedení výpočtu bylo zahájeno měření, které probíhalo obdobně jako první měření s tím rozdílem, že nyní se manipulační stolek pohyboval i ve směru osy z . Pořízené snímky jsou seřazeny na obrázku 18. Z obrázku je patrné, že v porovnání s předchozím měřením jsou nyní všechny snímky stejně zaostřené.



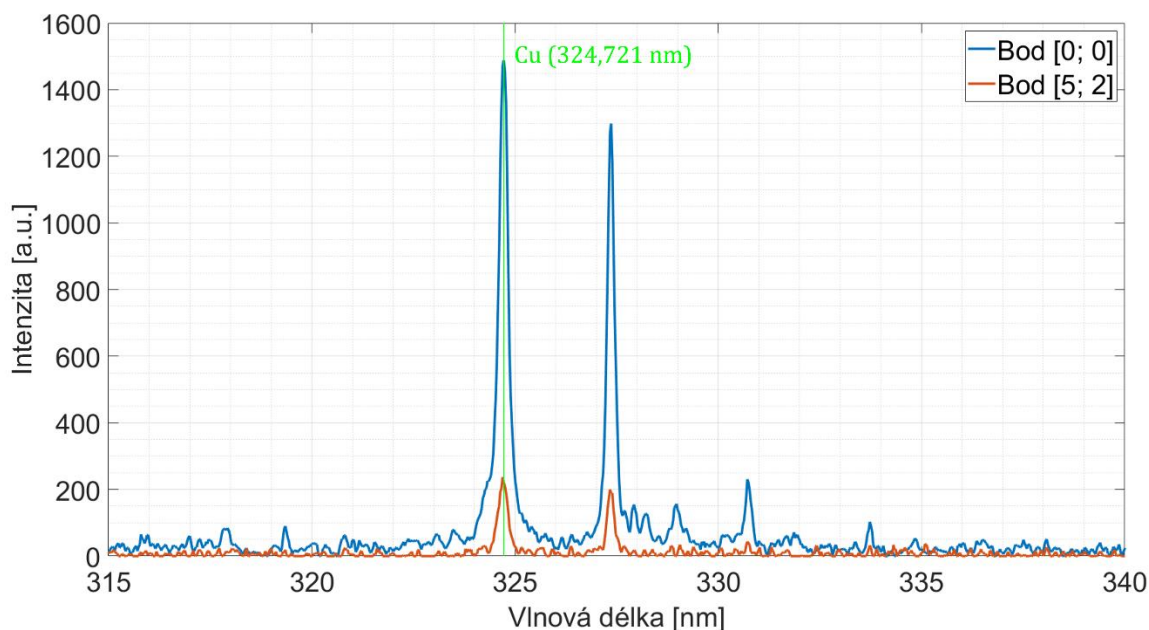
Obrázek 18 Snímky pořízené v jednotlivých bodech měření s kompenzací klínovitosti. Povrch vzorku se svažoval směrem k pravé straně.

4.4 Měření s použitím laseru

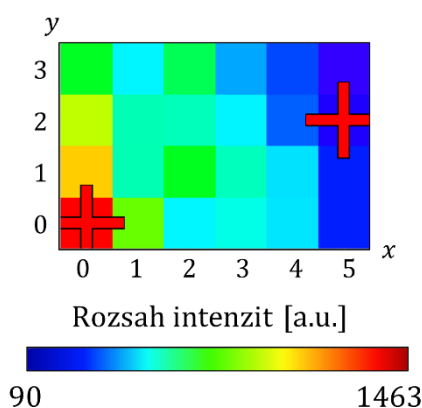
V následujících dvou měřeních byla kamera odkloněna a byl proveden řádný experiment chemického mapování pomocí metody LIBS. Výsledkem těchto měření je spektrum intenzit, chemická mapa mapované oblasti a snímek plazmatu pořízený sekundární kamerou namířenou na vzorek z boku kolmo k laserovému paprsku. Pro účely porovnání výsledků s a bez použití kompenzace klínovitosti bylo zapotřebí zvolit vhodnou spektrální čáru. Jelikož byl použit vzorek mědi, byla k tomuto účelu zvolena jedna ze spektrálních čar mědi odpovídající vlnové délce 324,721 nm.

4.4.1 Bez kompenzace klínovitosti

Další měření bylo provedeno opět s vypnutou kompenzací klínovitosti. Nejprve bylo manuálně zaostřeno na bod s indexy $[0; 0]$ a následně probíhalo měření standardním způsobem popsaným v kapitole 1.2. Na obrázku 19 je vyobrazeno spektrum intenzit záření naměřené ve dvou různých bodech. Tyto body jsou vyznačeny ve výsledné chemické mapě na obrázku 20, jedná se o body $[0; 0]$ a $[5; 2]$. V grafu je zeleně zvýrazněna zvolená spektrální čára mědi. Z grafu i z chemické mapy je patrné, že se povrch vzorku svažoval směrem doprava. Rozsah naměřených intenzit je navíc v případě tohoto měření poměrně velký, od 90 až po 1463 a.u., což nekoresponduje s faktem, že měřený vzorek je homogenní.



Obrázek 19 Část spektra naměřeného v bodech [0; 0] a [5; 2] při měření bez kompenzace klínovitosti. Vzorek se směrem k pravé straně svažoval, laser byl zaostřen na bod [0; 0].

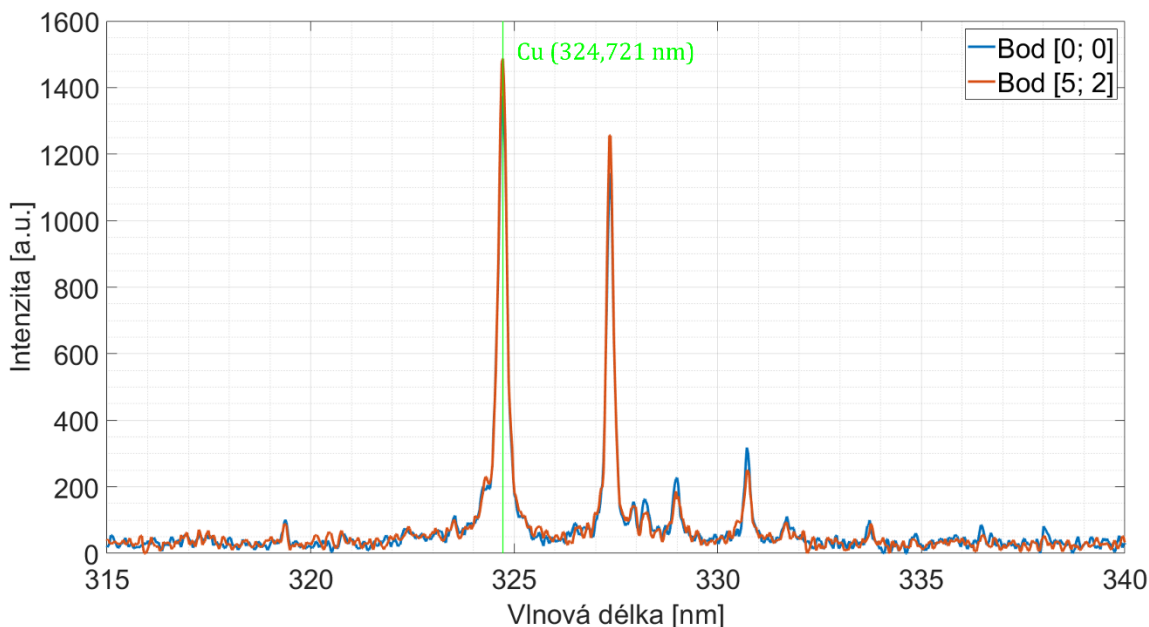


Obrázek 20 Chemická mapa intenzity spektrální čáry mědi (vlnová délka 324,721 nm) naměřená bez kompenzace klínovitosti. Vzorek se směrem k pravé straně svažoval, laser byl zaostřen na bod [0; 0].

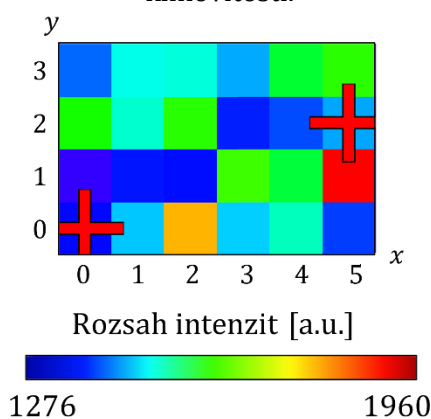
4.4.2 S kompenzací klínovitosti

Poslední měření bylo opět provedeno se zapnutou kompenzací klínovitosti a stejně jako v případě popsaném v kapitole 4.3.2 bylo nejprve zapotřebí definovat rovinou povrchu vzorku. Se vzorkem nebylo v průběhu experimentu manipulováno, a proto bylo možné využít model roviny povrchu vzorku vytvořený pomocí bodů z tabulky 1. Výsledkem měření jsou obrázky 21 a 22 podobně jako u předcházejícího měření. Oproti předchozímu měření si však lze všimnout několika změn. Spektrální čáry v obou bodech mají podobnou intenzitu a celkově se obě spektra překrývají. Z chemické mapy na obrázku 22 je vidět, že nyní intenzita neklesá rovnoměrně směrem doprava, ale spíše skáče v rozsahu od 1276 do 1960 a.u.

Rozsah intenzit je v případě měření s kompenzací klívnosti vzorku podstatně menší než u předchozího měření bez ní. Toto kolísání intenzity spektrální čáry už se dá považovat za standardní chybu měření metodou LIBS a výsledky můžeme považovat za validní.



Obrázek 21 Část spektra naměřeného v bodech [0; 0] a [5; 2] při měření s kompenzací klívnosti.

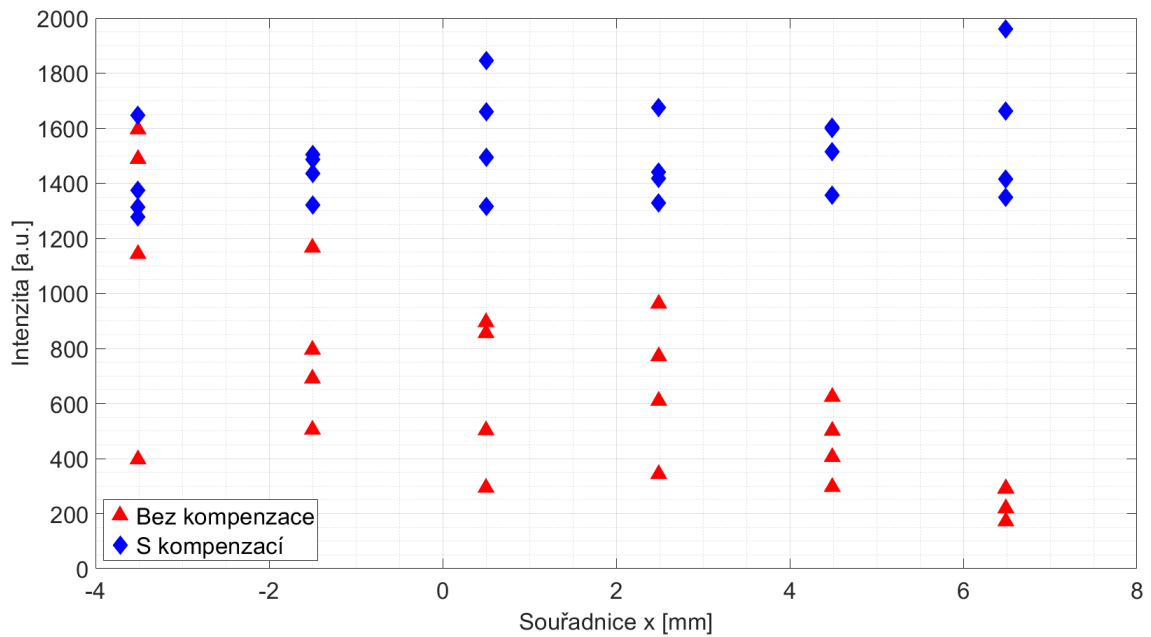


Obrázek 22 Chemická mapa intenzity spektrální čáry mědi (vlnová délka 324,721 nm) naměřená s kompenzací klívnosti.

4.4.3 Další porovnání výsledků měření

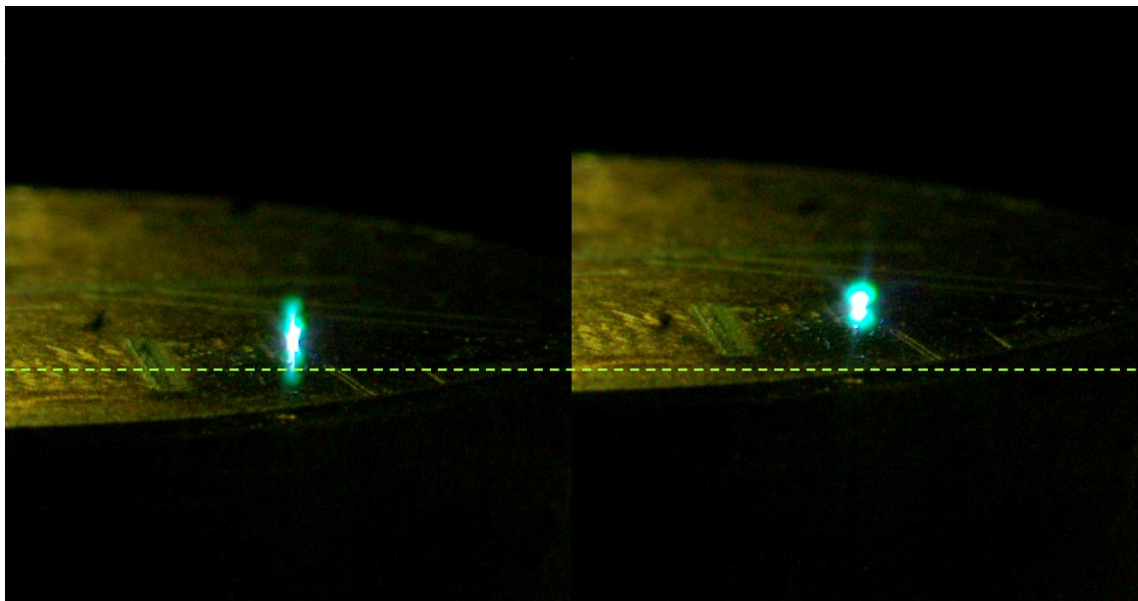
Pro názornější interpretaci rozdílu měření s a bez kompenzace klívnosti vzorku byla do následujícího grafu na obrázku 23 vynesena závislost intenzity zvolené spektrální čáry mědi na souřadnici x jednotlivých bodů měření. Z grafu je patrné, že bez použití kompenzace klívnosti se intenzita spektrální čáry mění v daleko větším rozsahu a obecně dosahuje nižších hodnot. Je vidět, že intenzita klesá se zvyšující se vzdáleností od prvního bodu měření, na který bylo prvotně zaostřeno. Naproti tomu v případě měření s použitím kompenzace klívnosti je změna intenzity spektrální čáry menší a drží se kolem vyšších hodnot. Naměřené intenzity

bodů se stejnou x-ovou souřadnicí se od sebe také vzájemně liší. To je způsobeno tím, že vzorek se mírně svažoval i směrem dolů (při pohledu shora).



Obrázek 23 Graf závislosti intenzity spektrální čáry mědi (vlnová délka 324,721 nm) na souřadnici x měřených bodů. Měřený vzorek se výrazně svažoval k pravé straně a méně výrazně směrem k dolní straně (při pohledu shora). Při měření bez kompenzace klínovitosti bylo zaostřeno na bod se souřadnicí $x = -3,510$ mm.

V průběhu měření s použitím laseru bylo zároveň kamerou snímáno plazma. Na obrázku 24 je vidět, že se při měření se zapnutou kompenzací klínovitosti změnila poloha na ose z oproti stejnému bodu měřenému bez kompenzace klínovitosti.



Obrázek 24 Snímky plazmatu pořízené v bodě [5; 2] bez kompenzace klínovitosti (vlevo) a s kompenzací klínovitosti (vpravo).

Závěr

V předešlých kapitolách byly nejprve popsány základní principy fungování metody LIBS a základní prvky aparatury používané k měření. Dále zde byla vysvětlena aplikace metody pro chemické mapování, a také faktory ovlivňující kvalitu výsledků. Po zhodnocení získaných poznatků a informací o metodě LIBS je zřejmé, že se jedná o univerzálně využitelnou metodu pro prvkovou analýzu materiálů a potenciál jejího využití sahá do mnoha různých oborů. Díky pochopení pospané problematiky bylo možné navrhnout algoritmus pro automatickou kompenzaci klínovitosti vzorku. Navržený algoritmus byl poté za účelem ověření funkčnosti nejprve implementován do prostředí MATLAB (příloha 1) a poté do přístroje FireFly, který je součástí laboratoře laserové spektroskopie na Ústavu fyzikálního inženýrství Fakulty strojního inženýrství VUT v Brně. Na tomto přístroji následně probíhalo i experimentální ověření funkčnosti.

Z výsledků měření je možné stanovit dva závěry. Zaprvé bylo ověřeno, že klínovitost vzorku má na kvalitu výsledků opravdu nezanedbatelný vliv. Druhým závěrem je, že navržený algoritmus pro kompenzaci klínovitosti vzorku je funkční a prokazatelně napomáhá zkvalitnit výsledky měření.

Navržený algoritmus musel být kompatibilní s již dříve navrženými a implementovanými procesy v přístroji, měl tedy přesně stanovené vstupní a výstupní parametry. Zároveň musel být použitelný pro konkrétní hardwarové vybavení přístroje. U implementace algoritmu došlo k jednomu problému. Míra klínovitosti vzorku je často velice malá a posun ve směru osy z je v takovém případě v řádech nízkých jednotek mm nebo nižší. Takto malý posuv způsobí, že by se motorek pohybující s manipulačním stolem měl otočit pouze o část jedné otáčky a může se stát, že nedokáže překonat počáteční moment vlivem mechanických ztrát při rozběhu. Řešením by mohlo být např. navržení vhodné převodovky, což může být předmětem budoucího vývoje.

Zdroje

- [1] MIZIOLEK, Andrzej, Vincenzo PALLESCHI a Israel SCHECHTER. *Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS): fundamentals and applications*. 1st ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2006, 620 s. : il., grafy. ISBN 0-521-85274-9.
- [2] CREMERS, David a Leon RADZIEMSKI. *Handbook of laser-induced breakdown spectroscopy*. Chichester: John Wiley & Sons, 2006, 283 s. : fot., některé barev. ISBN 0-470-09299-8.
- [3] MALÝ, Petr. *Optika*. 2. Prague: Karolinum Press, 2013. ISBN 9788024622460.
- [4] GIBBON, Paul. *Introduction to Plasma Physics* [online]. 2020 [cit. 2022-02-20]. Dostupné z: <https://arxiv.org/abs/2007.04783>
- [5] GOLDSTON, Robert a Paul RUTHERFORD. *Introduction to plasma physics*. Bristol: Institute of Physics Publishing, 1997, 491 s. + 2 diskety. ISBN 0-7503-0183-X.
- [6] ŠRENK, David. *Vizualizace spektroskopických dat pomocí metody analýzy hlavních komponent*. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta strojního inženýrství, 2019.
- [7] VÍTKOVÁ, Gabriela. *Spektrometrie laserem buzeného plazmatu (LIBS) vzdálených objektů*. Brno, 2015. Dostupné také z: <https://is.muni.cz/th/b10me/>. Disertační práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce Karel NOVOTNÝ. Obr. 3.
- [8] NIST. In: *NIST Atomic Spectra Database* [online]. 2015 [cit. 2022-04-17]. Dostupné z: https://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/lines_form.html
- [9] NOVOTNÝ, Jan. *Dálkově řízená laserová spektroskopie (LIBS)*. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta strojního inženýrství, 2012.
- [10] PIŇON, V, M. MATEO a G NICOLAS. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy for Chemical Mapping of Materials. *Applied spectroscopy reviews* [online]. PHILADELPHIA: Taylor & Francis Group, 2013, **48**(5), 357-383 [cit. 2022-04-17]. ISSN 0570-4928. Dostupné z: doi:10.1080/05704928.2012.717569
- [11] LIMBECK, A, L BRUNNBAUER, H LOHNINGER et al. Methodology and applications of elemental mapping by laser induced breakdown spectroscopy. *Analytica chimica acta* [online]. Netherlands: Elsevier B.V, 2021, **1147**, 72-98 [cit. 2022-02-12]. ISSN 0003-2670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2020.12.054
- [12] SANCEY, L., V. MOTTO-ROS, B. BUSSER et al. Laser spectrometry for multi-elemental imaging of biological tissues. *Scientific reports* [online]. LONDON: NATURE PUBLISHING GROUP, 2014, **4**(1), 6065 [cit. 2022-05-18]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/srep06065
- [13] CEBO, Patrik. *Návrh pulzního generátoru pro laserovou spektroskopii*. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2020. Dostupné také z: <https://dspace.vutbr.cz/handle/11012/189137>

- [14] ZHANG, Yong, Yun-hai JIA, Jin-wen CHEN et al. Study on parameters influencing analytical performance of laser-induced breakdown spectroscopy. *Frontiers of physics* [online]. Heidelberg: SP Higher Education Press, 2012, 7(6), 714-720 [cit. 2022-04-17]. ISSN 2095-0462. Dostupné z: doi:10.1007/s11467-012-0267-7
- [15] MULTARI, R.A a D.A CREMERS. A time-resolved imaging study of Cr (I) emissions from a laser plasma formed on a sample at nonnormal incidence. *IEEE transactions on plasma science* [online]. NEW YORK: IEEE, 1996, 24(1), 39-40 [cit. 2022-05-08]. ISSN 0093-3813. Dostupné z: doi:10.1109/27.491680
- [16] AGUILERA, J.A, C ARAGÓN a F PEÑALBA. Plasma shielding effect in laser ablation of metallic samples and its influence on LIBS analysis. *Applied surface science* [online]. Elsevier B.V, 1998, 127, 309-314 [cit. 2022-05-08]. ISSN 0169-4332. Dostupné z: doi:10.1016/S0169-4332(97)00648-X
- [17] Linear Regression. In: *Mathworks.com* [online]. [cit. 2022-03-12]. Dostupné z: https://www.mathworks.com/help/matlab/data_analysis/linear-regression.html

Seznam příloh

Příloha 1 Příklad implementace algoritmu ve vývojovém prostředí MATLAB.