



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ  
ÚSTAV FYZIKÁLNÍHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING  
INSTITUTE OF PHYSICAL ENGINEERING

# STANOVENÍ OPTIMÁLNÍCH EXPERIMENTÁLNÍCH PARAMETRŮ PRO LASEROVOU SPEKTROMETRII (LIBS) VYBRANÝCH VZORKŮ ROSTLIN

OPTIMIZATION OF THE EXPERIMENTAL PARAMETERS FOR LASER INDUCED BREAKDOWN  
SPECTROSCOPY (LIBS) OF SELECTED PLANT SAMPLES

DIPLOMOVÁ PRÁCE

DIPLOMA THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

DAVID PROCHAZKA

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. JOZEF KAISER, Ph.D.

BRNO 2008



Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství

Ústav fyzikálního inženýrství

Akademický rok: 2007/08

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

student(ka): Prochazka David

který/která studuje v **magisterském studijním programu**

obor: **Fyzikální inženýrství (3901T012)**

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

### **Stanovení optimálních experimentálních parametrů pro laserovou spektrometrii (LIBS) vybraných vzorků rostlin**

v anglickém jazyce:

### **Optimization of the experimental parameters for laser induced breakdown spectroscopy (LIBS) of selected plant samples**

Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Technika LIBS využívá intenzivní záření (řádově jednotky  $\text{GW}/\text{cm}^2$ ), vytvořené fokusováním laserového svazku z pulzního laseru na generaci svítící mikroplazmy (z pevných, kapalných nebo plyných vzorků) v ohniskové vzdálenosti fokusující čočky. Složení plazmy odpovídá složení analyzovaného materiálu.

Pracoviště na ÚFI FSI VUT disponuje laboratorní LIBS aparaturou sestávající ze dvou vysokovýkonných Nd:YAG pulzních laserů (Quantel Brilliant B, Solar LQ 916), Ti:Sa laseru (Solar LX325), pulzního generátoru (Stanford Research System DG535), spektrografu s CCD detektorem (LOT Oriel MS260i) a vakuovou komorou. Při řešení různých vědeckých i průmyslových zadání kromě zahraničních partnerů (Institute of Analytical Sciences, Dortmund, Germany; University of Wales, Swansea, UK; Applied Photonics Limited, New Yorkshire, UK; University of L'Aquila, L'Aquila, Italy) úzce spolupracujeme i s Laboratoří atomové spektroskopie (LAS) Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity.

Cíle diplomové práce:

Úkolem diplomanta je stanovení experimentálních parametrů, jako jsou energie ablačního pulzu, rozměr ablačního kráteru, zpoždění a délka trvání pozorovacího okénka, popř. druh a tlak inertního plynu použitého při analýze, pro analýzu stopových prvků ve vybraných částech zkoumaných rostlin (list, stonek, kořen). Diplomová práce bude obsahovat i návrh postupu a dílčí úpravy LIBS aparatury pro analýzu rozměrných vzorků (řádově několik  $\text{cm} \times \text{cm}$ ) s vysokým prostorovým rozlišením.

Seznam odborné literatury:

[1] MIZIOLEK, A.; PALLESCHI, V.; SCHECTER, I.: Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) Fundamentals and Applications. Cambridge University Press, 2006, ISBN:978-0-521-85274-6


Vedoucí diplomové práce: doc. Ing. Jozef Kaiser, Ph.D.

Termín odevzdání diplomové práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2007/08.

V Brně, dne 3.12.2007



  
\_\_\_\_\_  
prof. RNDr. Tomáš Šikola, CSc.  
Ředitel ústavu

  
\_\_\_\_\_  
doc. RNDr. Miroslav Doupovec, CSc.  
Děkan fakulty

# LICENČNÍ SMLOUVA

## POSKYTOVANÁ K VÝKONU PRÁVA UŽÍT ŠKOLNÍ DÍLO

uzavřená mezi smluvními stranami:

### 1. Pan/paní

Jméno a příjmení: David Prochazka  
Bytem: Jugoslávská 4, 66902, Znojmo  
Narozen/a (datum a místo): 5.11.1983, Znojmo

(dále jen "autor")

a

### 2. Vysoké učení technické v Brně

Fakulta strojního inženýrství  
se sídlem Technická 2896/2, 61669 FSI VUT v Brně  
jejímž jménem jedná na základě písemného pověření děkanem fakulty:  
doc. Ing. Jozef Kaiser, Ph.D.

(dále jen "nabyvatel")

## Článek 1

### Specifikace školního díla

1. Předmětem této smlouvy je vysokoškolská kvalifikační práce (VŠKP):

- disertační práce
- diplomová práce
- bakalářská práce

jiná práce, jejíž druh je specifikován jako .....

(dále jen VŠKP nebo dílo)

Název VŠKP: Stanovení optimálních experimentálních parametrů pro  
laserovou spektrometrii  
(LIBS) vybraných vzorků rostlin

Vedoucí/školitel VŠKP: doc. Ing. Jozef Kaiser, Ph.D.

Ústav: Ústav fyzikálního inženýrství

Datum obhajoby VŠKP: .....

VŠKP odevzdal autor nabyvateli v:

- tištěné formě - počet exemplářů .....
- elektronické formě - počet exemplářů .....

2. Autor prohlašuje, že vytvořil samostatnou vlastní tvůrčí činností dílo shora popsané a specifikované. Autor dále prohlašuje, že při zpracování díla se sám nedostal do rozporu s autorským zákonem a předpisy souvisejícími a že je dílo dílem původním.

3. Dílo je chráněno jako dílo dle autorského zákona v platném znění.
4. Autor potvrzuje, že listinná a elektronická verze díla je identická.

## Článek 2

### Udělení licenčního oprávnění

1. Autor touto smlouvou poskytuje nabyvateli oprávnění (licenci) k výkonu práva uvedené dílo nevýdělečně užit, archivovat a zpřístupnit ke studijním, výukovým a výzkumným účelům včetně pořizování výpisů, opisů a rozmnoženin.
2. Licence je poskytována celosvětově, pro celou dobu trvání autorských a majetkových práv k dílu.
3. Autor souhlasí se zveřejněním díla v databázi přístupné v mezinárodní síti
  - ihned po uzavření této smlouvy
  - 1 rok po uzavření této smlouvy
  - 3 roky po uzavření této smlouvy
  - 5 let po uzavření této smlouvy
  - 10 let po uzavření této smlouvy(z důvodu utajení v něm obsažených informací)
4. Nevýdělečné zveřejňování díla nabyvatelem v souladu s ustanovením § 47b zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění, nevyžaduje licenci a nabyvatel je k němu povinen a oprávněn ze zákona.

## Článek 3

### Závěrečná ustanovení

1. Smlouva je sepsána ve třech vyhotoveních s platností originálu, přičemž po jednom vyhotovení obdrží autor a nabyvatel, další vyhotovení je vloženo do VŠKP.
2. Vztahy mezi smluvními stranami vzniklé a neupravené touto smlouvou se řídí autorským zákonem, občanským zákoníkem, vysokoškolským zákonem, zákonem o archivnictví, v platném znění a popř. dalšími právními předpisy.
3. Licenční smlouva byla uzavřena na základě svobodné a pravé vůle smluvních stran, s plným porozuměním jejímu textu i důsledkům, nikoliv v tísní a za nápadně nevýhodných podmínek.
4. Licenční smlouva nabývá platnosti a účinnosti dnem jejího podpisu oběma smluvními stranami.

V Brně dne: .....

.....

Nabyvatel

.....

Autor

## **Abstrakt**

Diplomová práce popisuje proces zjišťování optimálních experimentálních parametrů, pro spektrometrická měření vybraných vzorků rostlin, pomocí metody LIBS. První část se věnuje teoretickému popisu metody a vysvětluje základní principy a vztahy. Dále je popsána aparatura, pomocí které bylo měření prováděno. Velká část diplomové práce je věnována vývoji programu pro automatizaci měření. Hlavním úkolem programu bylo vyřešit spojení automatického ostření na vzorek a automatického posuvu vzorku. Dále jsou popsána a zpracována konkrétní měření, pomocí kterých byly určeny optimální experimentální parametry, pro spektroskopická měření pomocí metody LIBS.

## **Summary**

This diploma thesis describes optimization of the experimental parameters for Laser-induced breakdown spectroscopy of plant samples. First part deals with the theoretical method of LIBS and explains the principles and terms. In the next part there is described device which was used for measurements. Main part of diploma thesis describes creation of program for measurement-automation. Main task of program was to solve the connection of autofocus on the sample with the sample automatic movement. Furthermore are described and elaborated specific measurements for optimization of the experimental parameters for Laser-induced breakdown spectroscopy of plant samples.

## **Klíčová slova**

LIBS, plazma, automatické ostření, automatický posuv, spektrální čáry

## **Keywords**

LIBS, plasma, autofocus, auto movement, spectral lines

PROCHAZKA, D. *Stanovení optimálních experimentálních parametrů pro laserovou spektrometrii (LIBS) vybraných vzorků rostlin*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojího inženýrství, 2008. 45 s. Vedoucí diplomové práce doc. Ing. Jozef Kaiser, Ph.D.





Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracoval samostatně pod vedením doc. Ing. Jozefa Kaisera, Ph.D. a že veškerá použitá literatura je uvedena v seznamu zdrojů.

David Prochazka



Děkuji vedoucímu mé diplomové práce doc. Ing. Jozefu Kaiserovi, Ph.D. za odborné vedení a konzultace, Ing. Radomíru Malinovi, Ph.D. za podnětné připomínky a korekce a Ing. Janu Novotnému za užitečné rady při vytváření programu.

Dále pak své přítelkyni za trpělivost a svým rodičům za plnou podporu během mého studia.

David Prochazka

---

# Obsah

<b>Obsah .....</b>	<b>1</b>
<b>1. Úvod .....</b>	<b>3</b>
1.1 Motivace .....	3
1.2 Historie spektrální analýzy .....	3
<b>2. Popis metody LIBS .....</b>	<b>5</b>
2.1 Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) .....	5
2.2 Základní informace o plazmatu pro LIBS .....	6
2.2.1 Plazma .....	6
2.2.2 Spektrální čáry a čárové profily .....	7
2.2.3 Určení elektronové hustoty z šířek spektrálních čar .....	8
2.2.4 Optická hustota plazmatu .....	9
2.2.5 Teplota a termodynamická rovnováha .....	10
2.3 Průraz vlivem záření laseru (Laser-Induced Breakdown) .....	11
2.3.1 Průraz v pevných látkách, aerosolech a kapalinách .....	11
2.3.2 Poprůrazové jevy na površích pevných látek .....	12
2.3.3 Ablace .....	13
2.4 Kvalitativní analýza LIBS .....	14
2.4.1 Určení prvků .....	14
<b>3. Použité zařízení .....</b>	<b>17</b>
3.1 Použitá aparatura LIBS .....	17
3.1.1 Sestava .....	17
3.1.2 Laser .....	17
3.1.3 Interakční komora .....	18
3.1.4 Analyzátor .....	19
3.1.5 Nastavení vzorku do ohniskové vzdálenosti čočky fokusující laserové záření .....	19
3.2 Softwarové vybavení .....	19
3.2.1 Nutné úpravy .....	19
3.2.2 O programu LIBS3D .....	20
3.2.3 O Programu Solis .....	25
3.3 Testování programu LIBS3D .....	26
3.3.1 Změna průměru kráteru v závislosti na rozostření .....	26
3.3.2 Automatické ostření na povrchy vzorků s různými drsnostmi .....	28
3.3.3 Rastrování po povrchu s konstantní drsností .....	28
<b>4. Stanovení optimálních experimentálních parametrů pro laserovou spektrometrii vybraných vzorků rostlin .....</b>	<b>31</b>
4.1 Příprava vzorku .....	31
4.2 Energie ablačního pulzu .....	31
4.2.1 Závislost rozměru ablačního kráteru na energii ablačního pulzu .....	32
4.2.2 Vliv energie ablačního pulzu na intenzity spektrálních čar .....	34
4.3 Zpoždění a délka trvání pozorovacího okénka .....	36
4.3.1 Závislost intenzity spektrálních čar na zpoždění pozorovacího okénka .....	36
4.3.2 Závislost intenzity spektrálních čar na délce pozorovacího okénka .....	37
4.4 Mapa rozložení zkoumaného prvku .....	38

---

4.4.1	Návrh postupu pro analýzu rozměrných vzorků s vysokým prostorovým rozlišením.....	38
4.4.2	Vytvoření mapy zkoumaného prvku.....	39
<b>5. Závěr</b>	.....	<b>43</b>
<b>Literatura</b>	.....	<b>45</b>

---

# Kapitola 1

## Úvod

Analýza materiálu je důležitá pro širokou škálu oborů, ať už se jedná o fyziku tenkých vrstev, chemii, medicínu, biologii či strojírenství. Metod analýzy materiálu je celá řada, v chemii se testují vzorky na přítomnost různých látek, ve fyzice tenkých vrstev a v optice můžeme jmenovat za všechny například metody APM (Atomic Probe Microscopy), XPS (X-Ray Photoelectron Spectroscopy), EELS (Elektron Energy Loss Spectroscopy), LEED (Low Energy Elektron Diffraction) a další. Blíže jsou tyto metody popsány například v [1] a [2].

Podle konkrétních požadavků pak volíme vhodnou metodu. Chceme-li rychlou interpretaci výsledků, minimální požadavky na přípravu vzorku a nemůžeme-li dosáhnout ideálních laboratorních podmínek, výběr se značně zúží. Jednou z metod, které všechny tyto požadavky splňují je LIBS (Laser Induced Breakdown Spectroscopy).

### 1.1 Motivace

Jedním z důvodů proč zjišťovat obsah stopových prvků, zejména těžkých kovů, v rostlinách je například zamezení přenosu toxických látek na člověka přes potravinový řetězec. Dalším důvodem může být určení, případně vyšetření, vhodného druhu určeného k hyperakumulaci vybraných látek. Taková rostlina pak může sloužit k dekontaminaci půdy. Získání takové rostliny představuje komplexní problém a vyžaduje mezioborovou spolupráci odborníků z různých oblastí (biologů, genetických inženýrů, chemiků, fyziků atd.). Mimo jiné je důležité určit mechanismy přenosu pozorované látky do rostliny a místa v rostlině, kde dochází ke kumulaci. Pro takováto zjištění je nutné určit obsah sledované látky v jednotlivých částech rostliny (kořen, stonk, list), to znamená získat mapu rozložení sledovaného prvku. Jako vhodný nástroj pro mapování akumulace vybraných prvků se ukázala metoda LIBS, a to zejména díky nenáročnosti přípravy vzorku, okamžitému získání výsledků, a relativně velkému prostorovému rozlišení (rozlišení v podstatě závisí pouze na velikosti ablačního kráteru).

### 1.2 Historie spektrální analýzy

Za zakladatele spektrální analýzy se považuje Joseph von Fraunhofer (6.3.1787 – 7.6.1826), který jako první sestrojil difrakční mřížku, pomocí které změřil vlnové délky ve spektru sodíku. Spojením dalekohledu s difrakční mřížkou započal studium slunečního spektra a spektra hvězd. Zjistilo se, že tyto barvy, vlnové délky nebo frekvence, jsou jedinečným popisem pro každý atom a iont. Proto se spektra stala „otisky prstů“ emitujících prvků. Dřívějším zdrojem spekter bylo slunce, plameny a výboje v plynu. Toto byly zdroje plazmatu s různým stupněm ionizace v závislosti na podmínkách zdroje.

Okamžitě po objevení laseru, počátkem šedesátých let dvacátého století, začal výzkum možností jeho využití při spektrochemické analýze. Od roku 1960 do roku 1980 byla analytická schopnost sice nižší než u konvenčních metod<sup>1</sup>, ale výzkum vedl k příbuzné

---

<sup>1</sup> Konvenční metodou míníme například pozorování spekter plynů zahřátých na vysoké teploty, nebo spekter plynů ve výbojových trubicích.

technologii – laserové ablaci pro klasický zdroj plazmatu. Zde se použil laser k odpaření malého množství vzorku pro konvenční analýzu.

Vývoj laseru s nastavitelnou vlnovou délkou znamenal další krok k jeho využití pro spektrochemickou analýzu. Laserem mohl být ozářen připravený zdroj atomů zářením o energii odpovídající přechodům jednotlivých atomových druhů. Jako analytický signál byla pak využita buď absorpce laserového paprsku nebo laserem vyvolané světélkování tedy LIF (Laser-induced fluorescence).

Přestože se absorpce i fluorescence užívají v mnoha aplikacích, kvůli nutnosti nastavit laser na specifický posuv pro specifickou látku, není využití tak široké jako u horkého plazmatu, ve kterém je excitováno a zároveň pozorováno mnoho různých prvků.

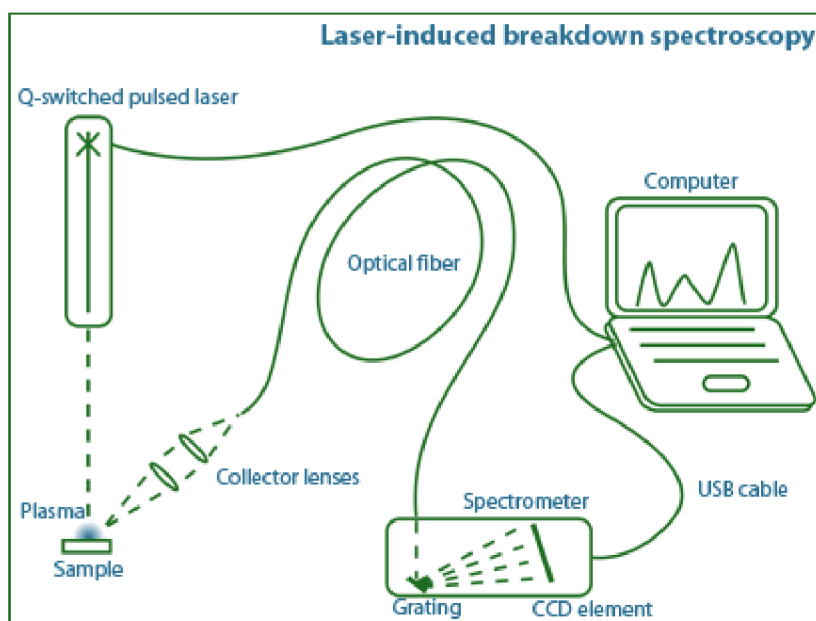
Tento problém vyřešilo až objevení metody LIBS [3] - [5].

## Kapitola 2

### Popis metody LIBS

#### 2.1 Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS)

LIBS, tedy spektrometrie laserem indukovaného plazmatu, se jako analytická metoda rozvinula v průběhu posledních tří desetiletí. Nejčastěji užívané zapojení je znázorněno na obr. 1.



Obr. 1: Běžné uspořádání aparatury pro LIBS. Převzato z [4]

LIBS využívá k vytvoření plazmatu většinou pulzní laser o nízké energii (nejčastěji desítky až stovky mJ na jeden pulz) a spojnou čočku. Jistá část světla emitovaného plazmatem je vedena optickým vláknem do spektrometru. Signál je pak zpracován a zobrazen počítačem.

V porovnání s ostatními technikami zkoumajícími složení vzorků je LIBS zajímavý pro svou jednoduchost a širokou využitelnost. Analyzovat můžeme látky v plynném, kapalném i pevném skupenství. Avšak samotné fyzikální a chemické procesy probíhající při analýze nejsou tak jednoduché. Vznik, formace a rozpad plazmatu je komplexní proces. Absorpce dopadajícího laserového záření probíhá mechanismy inverzního brzděného záření zahrnujícího srážky mezi fotony, elektrony a atomy nebo molekulami. Provádíme-li experiment na povrchu vzorku ve vakuu, plazma a tavenina expanduje z povrchu vzorku s různými rychlostmi. Excitace o určitou energiovou hladinu v různých atomech je také komplexní proces, který závisí na faktorech jako je termodynamická rovnováha a interakce s ostatními atomy a molekulami. Po ukončení laserového pulzu (běžně do 10 ns) nastane chladnutí plazmatu v intervalu od jedné do několika mikrosekund, v závislosti na energii laseru. Vývoj pozorovaného spektra je zobrazen na obr. 2. Spojité spektrum je „bílé světlo“, plazma v této fázi obsahuje jen velmi málo spektroskopických informací. Jak plazma chladne objevují se spektra od neutrálních atomů a eventuálně jednoduchých molekul, která vznikla rekombinací atomů. S dalším chladnutím dochází ke snížení kontinuálního pozadí, můžeme



## 2. Popis metody LIBS

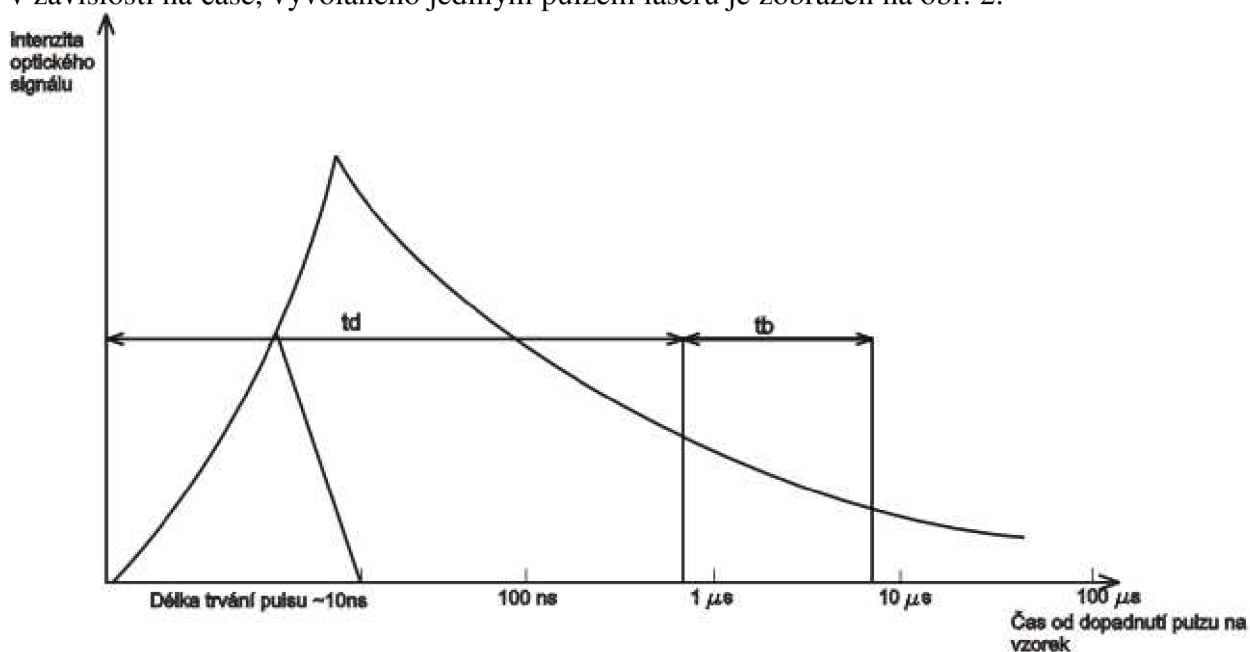
pozorovat výrazné ostré píky. Analýzou spektra LIBSu získáme okamžitě kvalitativní informaci o složení vzorku. Po kalibraci můžeme dostat i kvantitativní informace.

### 2.2 Základní informace o plazmatu pro LIBS

#### 2.2.1 Plazma

V literatuře je plazma definováno jako lokální seskupení atomů, iontů a volných elektronů vykazující kolektivní chování a kvazineutralitu pomocí Debyeovi stínící délky. Debyeovo stínění je jev, při kterém dojde k odstínění nepohyblivého náboje v plazmatu. Ve vzdálenosti od nepohyblivého náboje, označované jako Debyeova stínící délka, je již plazma opět kvazineutrální. Kvazineutralitou míníme přibližnou rovnost koncentrací kladně nabitých iontů a elektronů v oblasti plazmatu, kde všechny tři lineární rozměry jsou podstatně větší než Debyeova stínící délka.

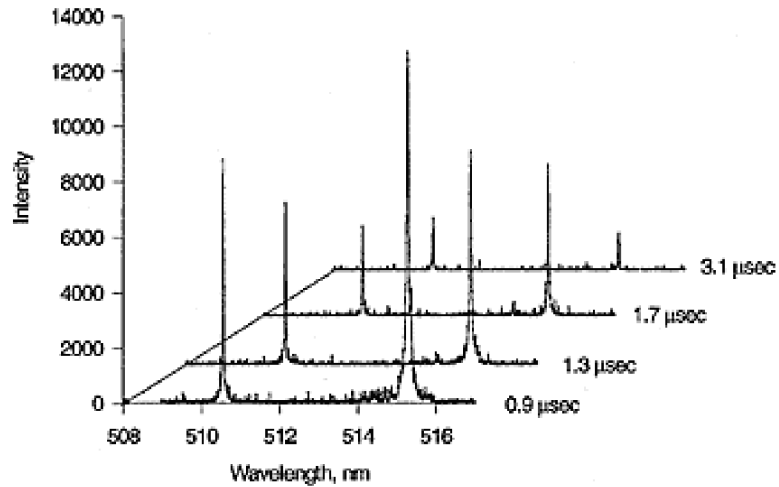
Plazma je charakterizováno množstvím různých parametrů, základním je stupeň ionizace. Slabě ionizované plazma je takové, ve kterém je poměr ionizovaných částic ke koncentraci neutrálních molekul nižší než 10%. Na druhou stranu silně ionizované plazma může mít atomy zbavené velkého množství elektronů. Plazma pro LIBS je typicky pouze slabě ionizované. Průběh ionizace plazmatu, vyjádřený pomocí intenzity optického signálu v závislosti na čase, vyvolaného jediným pulzem laseru je zobrazen na obr. 2.



**Obr. 2:** Závislost intenzity optického signálu plazmatu, vyvolaného jediným pulzem laseru, na čase. Převzato z [3].

Jak je z obr. 2 patrné, ze začátku je ionizace vysoká. Jakmile proběhne rekombinace elektron-iont, vzniknou neutrální atomy a neutrální molekuly. Během tohoto procesu je kontinuální pozadí velmi výrazné, ale v průběhu času slábne mnohem rychleji než spektrální čáry. Kontinuální pozadí je způsobeno hlavně brzděním zářením a rekombinací. V procesu brzděného záření dochází k emisi fotonů v důsledku interakcí elektron-iont a iont-iont. Rekombinace nastane, pokud je volný elektron zachycen na iontové nebo atomové energiové hladině a vydá nadbytečnou energii ve formě fotonu. Jedním z důležitých faktorů nastavení LIBSu je tedy zpoždění takzvaného pozorovacího okénka. Tedy čas od vypálení pulzu

k počátku snímání optického signálu. Na obr. 2 je toto zpoždění označeno symbolem  $t_d$ . Symbol  $t_b$  potom představuje délku trvání tohoto okénka. Na obr. 3 jsou vidět pouze emisní čáry jednou ionizovaných atomů. Tohoto stavu dosáhneme po čase řádově v mikrosekundách.



Obr. 3: Emisní čáry jednou ionizovaných atomů. Převzato z [4].

S klesajícím tlakem v okolí plazmatu se zkracuje i životnost plazmatu. Cílem metody LIBS je vytvoření opticky tenkého plazmatu, ve kterém je v daném čase pozorování lokální termodynamická rovnováha a jehož složení odpovídá vzorku. Pokud jsou tyto podmínky splněny, vztahy diskutované dále spojují intenzity pozorovaných spektrálních čar s relativní koncentrací prvků.

### 2.2.2 Spektrální čáry a čarové profily

Hlavní metoda zkoumání plazmatu se zabývá vztahy mezi vlastnostmi plazmatu a charakteristikou spektrálních čar. Šířka čar souvisí s teplotou plazmatu a elektronovou hustotou. Tvary a posunutí spektrálních čar mohou sloužit k určení rozšiřujících mechanismů. Jsou však i další diagnostické metody. K měření elektronové hustoty může být použita Langmuirova zkouška a Thompsonův rozptyl. Šlírová nebo jiná interferometrická metoda může odhalit změny indexu lomu. Při zkoumání vlastností plazmatu lze dokonce použít akustickou emisi. Podrobněji jsou tyto metody diskutovány v [3] a [5].

Profily spektrálních čar určuje dominantní rozšiřující mechanismus. Samotné Dopplerovo rozšíření vede na gausovský profil. Dle [6] pro intenzitu platí:

$$I(\Delta\lambda) = \frac{I_t}{\pi^2 \Delta\lambda_D} \exp\left[-\left(\frac{\Delta\lambda}{\Delta\lambda_D}\right)^2\right], \quad (2)$$

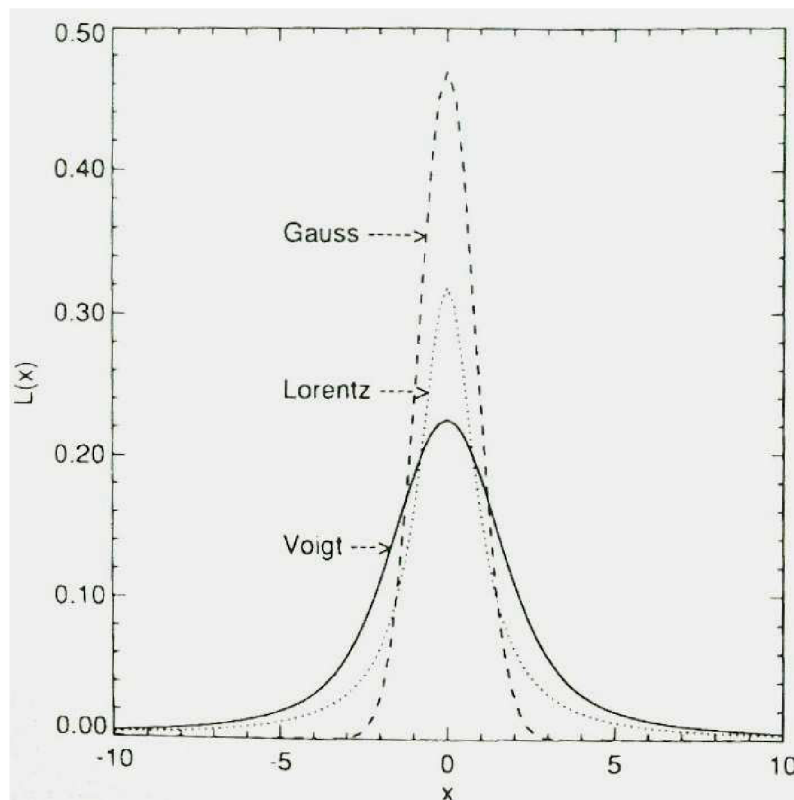
kde  $I_t$  představuje celkovou intenzitu čáry,  $\Delta\lambda = \pm \frac{v_s}{c} \lambda_0$  je posun spektrálních čar vlivem Dopplerova jevu ( $v_s$  je rychlost částice rovnoběžná se směrem pozorování,  $\lambda_0$  je střední vlnová délka spektrální čáry) a  $\Delta\lambda_D$  je změna vlnové délky pro plnou šířku v polovině maxima.

## 2. Popis metody LIBS

Další jevy způsobující rozšiřování spektrálních čar, například kolizní rozšíření, jsou způsobeny kolizemi s neutrálními částicemi. Tyto jevy pak způsobují symetrický Lorentzův profil [6]:

$$I(\Delta\lambda) = \left[ 1 + \left( \frac{\Delta\lambda}{\Delta\lambda_D} \right)^2 \right]^{-1}. \quad (4)$$

Často mají oba jevy srovnatelnou hodnotu, výsledný profil vzniklý konvolucí těchto dvou se pak nazývá Voigtův profil. Gaussův, Lorentzův a Voigtův profil jsou zobrazeny na obr. 4.



Obr. 4: Gaussův, Lorentzův a Voigtův profil. Převzato z [6].

Srážky neutrálních částic s ionty a elektrony vedou na Starkovo rozšíření [3]. Energetické hladiny v elektrickém poli jsou rozštěpeny do podhladin podle absolutní hodnoty kvantového čísla  $m_J$  představujícího z-tovou složku totálního momentu hybnosti  $J$ . Není-li rozštěpení hladin příliš velké, může být výsledné rozšíření symetrické.

### 2.2.3 Určení elektronové hustoty z šířek spektrálních čar

Při standardní LIBS analýze mají největší vliv na šířku spektrálních čar dva jevy – Dopplerův efekt a Starkův jev. Dopplerův efekt závisí pouze na absolutní teplotě  $T$  a atomové hmotnosti  $M$  vyzařující látky. Změna vlnové délky pro plnou šířku v polovině maxima je tedy [3]:

$$\Delta\lambda_D = 7,2 \times 10^{-7} \left( \frac{T}{M} \right)^{\frac{1}{2}} \lambda_0, \quad (5)$$

kde  $\lambda_0$  je střední vlnová délka spektrální čáry.

Ve Starkově jevu, jsou degenerované stavy určené kvantovým číslem  $m_J$ , buď úplně, nebo částečně rozštěpeny. Z toho plynou dvě možnosti:

- 1) neurčité rozšíření a často posunuté těžiště,
- 2) určité množství podhladin.

Elektrické pole způsobující Starkův efekt v plazmatu LIBSu je způsobeno hlavně srážkami neutrálních částic s elektrony s malými příspěvky způsobenými srážkami s ionty. Starkovo rozšíření spektrálních čar může být použito pro výpočet elektronové hustoty v plazmatu. Následující rovnice [3] uvádí vztah mezi šířkami čar a elektronovou a iontovou hustotou:

$$w_{total} \sim [1 + 1,75A(1 - 0,75r)] \left( \frac{n_e}{10^{16}} \right) w, \quad (6)$$

kde  $w_{total}$  je celková pološířka spektrální čáry,  $A$  je v tomto případě parametr určující iontový příspěvek,  $r$  je střední vzdálenost mezi ionty a  $w$  je pološířka Starkova rozšíření závislého na elektronové hustotě. Hodnoty  $A$  a  $r$  jsou pro řadu prvků tabelovány.

#### 2.2.4 Optická hustota plazmatu

Plazma je opticky tenké, pokud emitované záření prochází plazmatem a vychází z plazmatu bez významné absorpce nebo rozptylu. Intenzita záření emitovaného z plazmatu je dána vztahem [3]:

$$I(\lambda) = \left[ \frac{\varepsilon(\lambda)}{\alpha(\lambda)} \right] \{1 - \exp[-\alpha(\lambda)L]\}, \quad (7)$$

kde  $\varepsilon(\lambda)$  je emisivita plazmatu,  $\alpha(\lambda)$  je koeficient absorpce ( $cm^{-1}$ ) a  $L$  je délka plazmatu podél linie pozorování. Pro malé  $\alpha(\lambda)$  z rovnice 7 plyne:

$$I(\lambda) = \left[ \frac{\varepsilon(\lambda)}{\alpha(\lambda)} \right] [\alpha(\lambda)L] \sim \varepsilon(\lambda)L, \quad (8)$$

což je podmínka pro opticky tenké plazma.

Jsou dvě relativně jednoduché možnosti jak zjistit, jestli je plazma opticky tenké. Výrazné spektrální čáry prvků mají dobře známé relativní intenzity, některé zjištěné atomově fyzikální teorií, jiné byly zjištěny experimentálně. Je-li absorpce znatelná, pozorované intenzity se budou odchylovat od očekávaných hodnot. Ploché vrcholy výrazných spektrálních pík dokazují absorpci. V extrémních případech se zobrazí pouze čára centrální frekvence. Další z metod může být umístění sférického zrcadla za plazma a porovnání intenzity čar se zrcadlem a bez něj. Při použití této metody musíme dbát na řádné osvětlení spektrometru. O této metodě více v [3].

### 2.2.5 Teplota a termodynamická rovnováha

Popis plazmatu se snaží určit spíše vlastnosti seskupení atomů, molekul, elektronů a iontů než jednotlivých částic. Pokud je v plazmatu termodynamická rovnováha, můžeme její vlastnosti, jako například relativní populace energetických hladin a rozdělení rychlosti částic, popsat pomocí teploty. Ve skutečnosti je však termodynamická rovnováha zřídka kompletní, proto se využívá aproximace – lokální termodynamická rovnováha. Jediným požadavkem je, aby termodynamická rovnováha byla v malých oblastech prostoru, ačkoli může být oblast od oblasti jiná.

Použitelná aproximace většinou nastane až po dostatečném počtu srážek, kdy dojde k rozšíření energie v plazmatu napříč objemem a částicemi. Pro těžké částice (atomy a ionty) a lehké částice (elektrony) dojde k vyrovnání energii mnohem rychleji zvláště a až později mezi sebou. Základním důvodem je, že k vyrovnání energie dojde mnohem lépe, čím blíže je hmotnost částic zúčastněných na srážkách.

Pokud experimenty prokážou přítomnost lokální termodynamické rovnováhy, rozdělení veličin, včetně rychlosti elektronů a populace energetických hladin nebo ionizačních stavů, je závislé pouze na jedné veličině, teplotě. Funkce pro Maxwellovo rozdělení rychlosti je potom [3]:

$$f_M = \left( \frac{m}{2\pi kT} \right)^{\frac{3}{2}} \exp\left( \frac{-mv^2}{2kT} \right), \quad (9)$$

kde  $m$  je hmotnost elektronu,  $k$  je Boltzmannova konstanta a  $v$  je rychlost elektronu. Relativní populace energetických hladin, ať atomového nebo molekulárního původu, jsou určeny Boltzmannovým rozdělením. S ohledem na základní stav [3]:

$$\frac{N_j}{N_0} = \left( \frac{g_j}{Z} \right) \exp\left( \frac{-E_j}{kT} \right). \quad (10)$$

Nebo pro relativní populaci [3]:

$$\frac{N_j}{N_i} = \left( \frac{g_j}{g_i} \right) \exp\left[ -\frac{(E_j - E_i)}{kT} \right], \quad (11)$$

kde  $i$  a  $j$  označují dvě hladiny,  $N_0$  je celková populace,  $N_{i,j}$  je populace hladiny  $E_{i,j}$ ,  $g_{i,j}$  je statistická váha hladiny ( $2J_{i,j}+1$ ),  $J$  je totální moment hybnosti kvantového čísla,  $Z$  je partiční funkce obvykle brána jako statistická váha základního stavu.

Pro dvě spektrální čáry ze stejného ionizačního stavu jsou obě partiční funkce totožné. Stejně tak jsou si rovny i populace v základních stavech. Intenzita spektrální čáry je dána rovnicí [3]:

$$I = \frac{h\nu gAN}{4\pi} = \left( \frac{hcN_0 gA}{4\pi\lambda Z} \right) \exp\left( \frac{-E}{kT} \right), \quad (12)$$

kde  $\nu$  je frekvence čáry a  $A$  je pravděpodobnost přechodu (Einsteinův koeficient).

Z Boltzmannova vztahu pak dostaneme rovnici pomocí které můžeme určit excitační teplotu [3]:

$$kT = (E_j - E_i) \ln \left( \frac{I_i \lambda_i^3 g_j A_j}{I_j \lambda_j^3 g_i A_i} \right). \quad (13)$$

Ze vztahu je zřejmé, že přesnost měření teploty závisí na rozdílu energií stavů. Tento rozdíl by proto měl být nejméně 1 eV.

Zvolíme-li spektrální čáry, pro které známe  $g$ ,  $A$ ,  $E$  a vlnovou délku, měření relativních intenzit umožňuje určit  $T$  metodou dvou čar.

Měřit relativní intenzity přesně je ale obtížné. Způsob jak zpřesnit hodnoty teplot je použít větší množství čar současně a provést grafickou analýzu. Získáme tak rovnici přímky se směrnicí  $-1/kT$ . Odtud pak můžeme určit  $T$  (tzv. Boltzmannova závislost).

Relativní populace iontových stavů v lokální termodynamické rovnováze je vyjádřena Sahovou rovnicí [3]. K získání iontové teploty z této rovnice, měříme intenzity spektrálních čar stejného atomu v různých stavech ionizace. Elektronová hustota musí být již známa z jiných experimentů.

$$\frac{N(Z,0)n_e}{N(Z-1,0)} = \frac{2g(Z,0)}{g(Z-1,0) \left( \frac{mkT}{2\pi\hbar^2} \right)^{\frac{3}{2}} \exp\left( \frac{-\Delta E}{kT} \right)}, \quad (14)$$

kde  $N(Z,0)$  je populace základního iontového stavu na stupni ionizace  $Z$ ,  $N(Z-1,0)$  je populace základního iontového stavu na stupni ionizace  $Z-1$ ,  $m$  je hmotnost elektronu,  $n_e$  je elektronová hustota a  $\Delta E$  je energie ve stavu ionizace  $Z$  vztažená k  $Z-1$ . Vyjádřeno v relativních intenzitách je to pak [3]:

$$\frac{I'}{I} = \frac{\lambda g' A' N(Z)}{\lambda' g A N(Z-1)}. \quad (15)$$

Teploty dosažené v plazmatu pro LIBS jsou samozřejmě závislé na energii deposice.

## 2.3 Průraz vlivem záření laseru (Laser-Induced Breakdown)

### 2.3.1 Průraz v pevných látkách, aerosolech a kapalinách

Většina aplikací metody LIBS je spojena s pevnými látkami na vzduchu. Dostupnost piko- a femtosekundového laseru osvětlila některé procesy ablace. Pozorováním ablace můžeme získat odhad prahové hodnoty průrazu. Pro některé typy laserů a materiálů jsou prahové hodnoty průrazu naměřené a tabelované. Je-li však tato hodnota důležitá, měla by být měřena s laserem a vzorkem, který bude použit pro experiment.

Pro transparentní materiály, například materiály, ze kterých jsou vyrobeny čočky nebo okénka, může dojít k průrazu na povrchu nebo uvnitř materiálu. Nejčastější poškození nastane pokud je laserový svazek fokusován čočkou na sklo okénka.

Průraz v aerosolu je samostatné téma, protože spojuje mnoho parametrů. Mezi významné patří, složení částic, forma, hustota, materiály, atmosféra a obsah vody. Všeobecně lze říct, že tyto faktory snižují prahovou hodnotu průrazu.

## 2. Popis metody LIBS

Prahová hodnota průrazu ve vodě a v ostatních kapalinách byla zkoumána zejména pro oblast laserové chirurgie oka. Cílem těchto měření bylo zjistit možný vliv průrazu zářením laseru na poškození očí. Více o této problematice v [3] a [5].

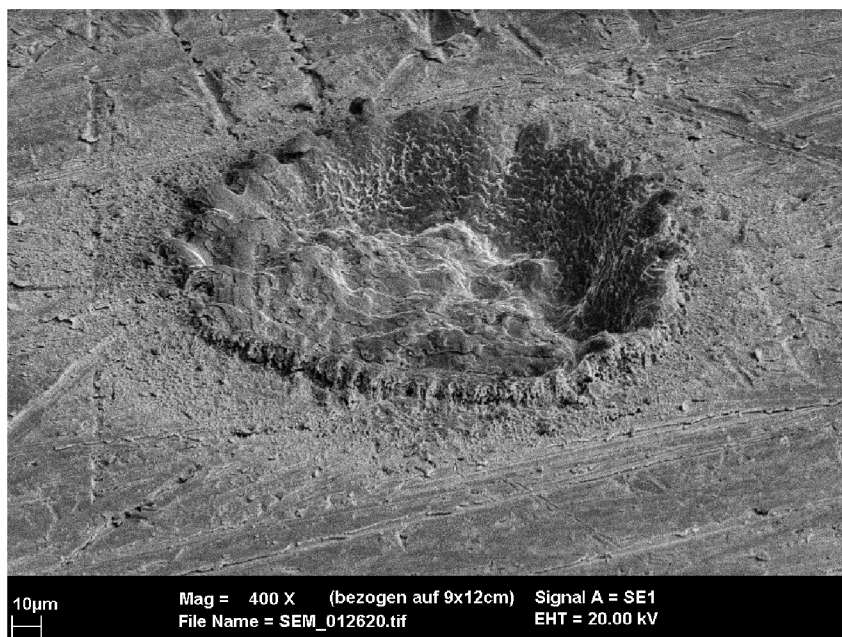
### 2.3.2 Poprůrazové jevy na površích pevných látek

Pokud je ozáření laserem dostatečné, aby způsobilo vznik plazmatu, přední hrana pulzu velmi rychle zahřeje, roztaví a odpaří materiál v tenké vrstvičce na povrchu vzorku. Energie laseru potom dále ohřívá odpařený materiál. Protože plazma je pouze slabě ionizovaná, část energie laseru pokračuje skrz na povrch vzorku a část je absorbována plazmatem. Je-li energie dostatečně velká, stane se plazma pro laserový paprsek neprůsvitnou a povrch vzorku je zakrytý. To nastane v případě, že frekvence plazmatu bude vyšší než frekvence laseru, nebo v případě kritické elektronové hustoty [3]  $n_c$ :

$$n_c \sim \left( \frac{10^{21}}{\lambda^2} \right) / \text{cm}^3, \quad (16)$$

kde  $\lambda$  je vlnová délka laseru v mikronech. Zastínění pro vlnovou délku okolo 10  $\mu\text{m}$  nastává pro elektronovou hustotu  $10^{19}/\text{cm}^3$ , pro 1000 nm je to  $10^{21}/\text{cm}^3$  a pro 250 nm je to  $1,6 \times 10^{22}/\text{cm}^3$ . Záření laseru je absorbováno v parách mechanismem inverzního brzděného záření, to způsobí ohřev plazmatu, jeho rozpínání a tím i snížení jeho hustoty. Laser tedy opět dopadá na povrch a odpaří další materiál. Tím dojde opět ke zvýšení hustoty plazmatu. Tento děj se opakuje a dochází k rozpínání plazmatu rychlostí až  $10 \text{ km s}^{-1}$  po dobu trvání laserového pulzu.

Tyto velké expanzní rychlosti působí na povrchu vzorku vysoké tlaky o hodnotách až 10 GPa. K odpařování materiálu dochází za teplot, které výrazně převyšují normální bod varu materiálu. Dochází k tvorbě kráteru o hloubce řádově několika mikrometrů. Příklad kráteru je zobrazen na obr. 5.



Obr. 5: Kráter vytvořený laserovou ablací. Převzato z [7].

### 2.3.3 Ablace

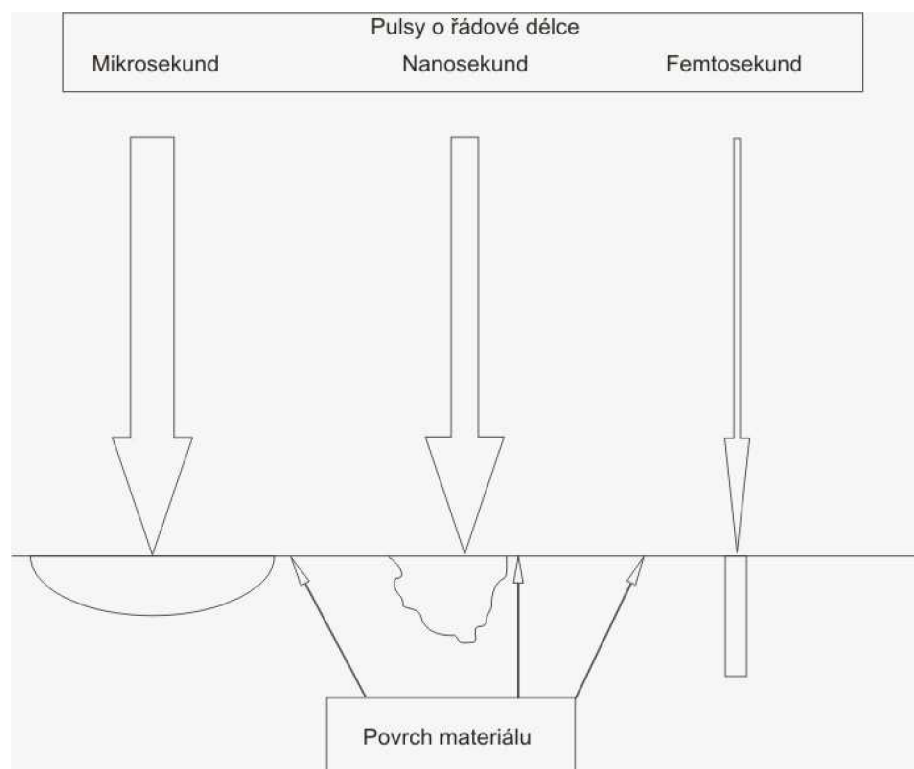
Způsoby odpařování jsou závislé na mnoha parametrech, včetně vlastností materiálu a laseru. Působení laseru o hustotě zářivého výkonu řádově v  $\text{GW}/\text{cm}^2$  může způsobit desorpci atomů a iontů s ne zcela zřejmými fyzikálními změnami na povrchu. Při silném záření nastávají různé mechanismy, protože pro následující pulzy laserová energie dopadá na již jednou roztavený a rekondenzovaný materiál. Mění se odrazivost povrchu a vznikají ablační krátery s nebo bez vystouplého materiálu kolem kráteru. Prvky původního vzorku mohou být jednotlivě napařeny, takže redeponovaný materiál neodpovídá původnímu složení. Důležité otázky pro odpařování jsou: minimální energie pro odpařování; vliv délky laserového pulzu; hodnota při které nastane ablace; a cílem je získat po ablaci plazmu, která odpovídá složením vzorku.

Určení minimální intenzity laseru potřebné k odpaření vzorku je dáno rovnicí [3]:

$$I_{\min} = \rho L_v \sqrt{\frac{\kappa}{\Delta t}}, \quad (17)$$

kde  $\rho$  je hustota zkoumaného materiálu,  $L_v$  je měrné skupenské teplo varu,  $\kappa$  je koeficient termodifúze a  $\Delta t$  je délka laserového pulzu.

Vliv vlnové délky laseru je částečně popsán přes kritickou elektronovou hustotu rovnicí 16. Nicméně pro kompletní představu musíme počítat ještě s délkou pulzu. Na obr. 6 je zobrazena reakce povrchu na různou délku laserového pulzu.



**Obr. 6:** Schéma interakce laserového záření pulzních laserů s povrchem pevného vzorku. Převzato z [3].

Pro pulzy o řádové délce mikro- a nanosekund způsobí ohřev, tavení a odpařování materiálu. Kratší pulzy způsobí přímé odpaření materiálu.

U energií řádově v terawatech může být materiál na povrchu silně ionizován a od povrchu odmrštěn Coulombovskou odpudivou silou spíše než tepelnými efekty.



## 2. Popis metody LIBS

---

Maximální hmota materiálu  $M$ , která může být odpařena laserovým pulzem o energii  $E$  je dána rovnicí [3]:

$$M = \frac{E(1-R)}{[C_p(T_b - T_0) + L_v]}, \quad (18)$$

kde  $R$  je odrazivost povrchu,  $C_p$  je tepelná kapacita,  $T_b$  je teplota varu v K,  $T_0$  je teplota okolí (K) a  $L_v$  je měrné skupenské teplo varu.

Vliv stínění plazmatu na ablaci materiálu na čistých kovech byl detailně zkoumán. Výsledkem bylo sestavení tabulky fyzikálních konstant. Po vypočtení teoretických hodnot z rovnice (18) a porovnání s touto tabulkou bylo zjištěno, že pro některé kovy teoretické a pozorované hodnoty souhlasí v rozmezí 20% pro intenzitu záření  $5,3 \text{ J/cm}^2$ , ale pro nižší nebo vyšší intenzity se odchyluje. Ukázalo se, že závisí také na geometrickém uspořádání pokusu, jako například vzdálenost čočky od povrchu a úhel dopadu na povrch.

Materiál odstraněný ablací může mít formu částic, atomů či molekul. Kvůli různým energetickým závislostem prvků a jejich sloučenin, odpařené plazma nemusí vždy odpovídat složení vzorku. Je jasné, že selektivní odpařování je nežádoucí a snažíme se ho co nejvíce omezit. Jedním způsobem jak dosáhnout odpaření všech prvků je působit na vzorek takovou energií, která bude mnohem vyšší než skupenské teplo varu všech obsažených prvků. Stejného efektu můžeme dosáhnout desorpcí atomů i jinými než tepelnými procesy, jako například přerušением vazeb a fotochemickými procesy, které proběhnou rychleji než na povrchu nastane relaxace. Bylo experimentálně prokázáno, že pro delší mikrosekundové laserové pulzy a nižší ozáření  $<10^6 \text{ W/cm}^2$ , dojde k selektivnímu odpařování. Pro ozáření  $>10^9 \text{ W/cm}^2$  a nanosekundové laserové pulzy tlak na povrchu zabrání odpaření, dokud substrát nedosáhne kritické teploty.

Většina ablačních modelů popsaných v literatuře předpokládá pro laserové pulzy o délce několika nanosekund, že interakce s povrchem probíhá ohřátím pevné látky následované jejím roztavením a odpařením. Obzvláště pro kovy, kde je uvolnění elektronů excitovaných fotony velmi rychlé, je to velmi dobrý předpoklad. Při detailním shlednutí obr. 5 je patrné, že látka prošla i kapalným skupenstvím.

## 2.4 Kvalitativní analýza LIBS

### 2.4.1 Určení prvků

Kvalitativní analýza zjišťuje přítomnost daného prvku ve vzorku. Pomocí kvalitativní analýzy můžeme určit i složení vzorku. Můžeme však určit pouze limitované množství materiálů. Například spektrum na obr. 7 má velkou hustotu spektrálních čar. Díky velkému rozlišení spektrometru použitému pro záznam můžeme rozlišit i blízké čáry a identifikovat jednotlivé prvky. Určení jednotlivých čar není exaktní disciplína. Důležitou roli zde hrají i zkušenosti. Při identifikaci spektrálních čar je vhodné vzít v úvahu následující fakta:

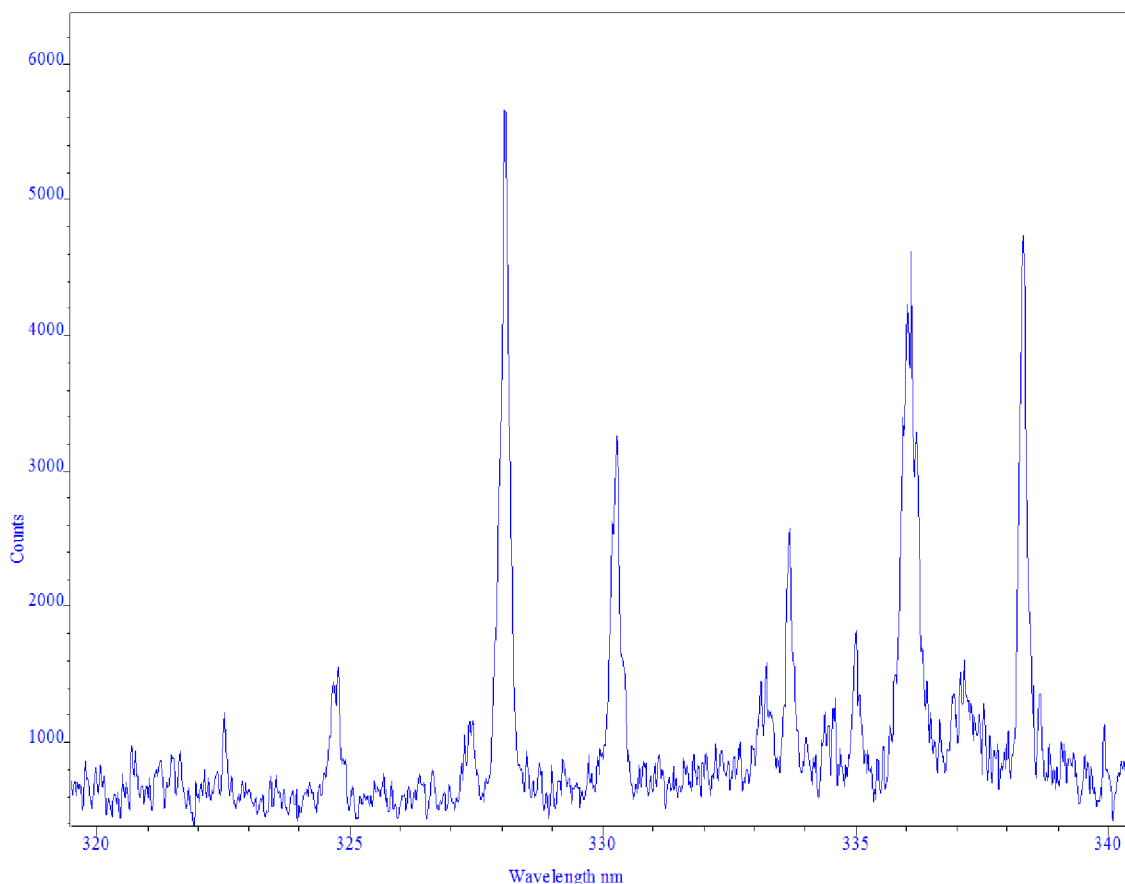
- 1) *Znalost vzorku.* U některých vzorků známe přibližné složení. Je-li však ve vzorku stopové množství prvků, jejichž spektrální čáry leží blízko mnohem výraznějších čar prvků zastoupených výrazněji, je těžké je nalézt a určit.
- 2) *Určení relativních intenzit čar z tabulek vlnových délek.* Tabulky vlnových délek lze použít. Je ale třeba pamatovat na to, že relativní intenzita čar závisí

na zdroji a aktuální tabulky vlnových délek nebyly většinou vytvořeny za pomoci laseru.

3) *Stupeň ionizace prvku.* Předpokládejme, že dva prvky nalezneme ve vzorku se stejnou pravděpodobností. Pokud tyto dva prvky mají spektrální čáry, které vzájemně interferují a jedna čára náleží neutrální látce a druhá náleží dvakrát nebo třikrát ionizované látce, je pravděpodobnější že čára náleží neutrální látce.

4) *Podmínky experimentu.* Jisté experimentální podmínky mohou pomoci určit pozorovanou látku. Například záření od Fe(I) a Fe(II) je na vzduchu pozorováno s ionizačním potenciálem Fe(I) 7,87 eV. Ve vakuu může být pozorováno i Fe(III), i když ionizační potenciál je 16,18 eV.

5) *Pozorování vícenásobných spektrálních čar.* Mnoho prvků má několik výrazných spektrálních čar a zjistíme-li jednu, měli bychom pozorovat i ostatní. Například pozorujeme-li silné spektrální čáry Al(I) na 394,4 a 396,1 nm měli bychom pozorovat také silné spektrální čáry Al(I) na 308,2 a 309,3 nm.



**Obr. 7:** Spektrum z listu kukuřice s vysokou hustotou spektrálních čar. Výstup z programu Solis.



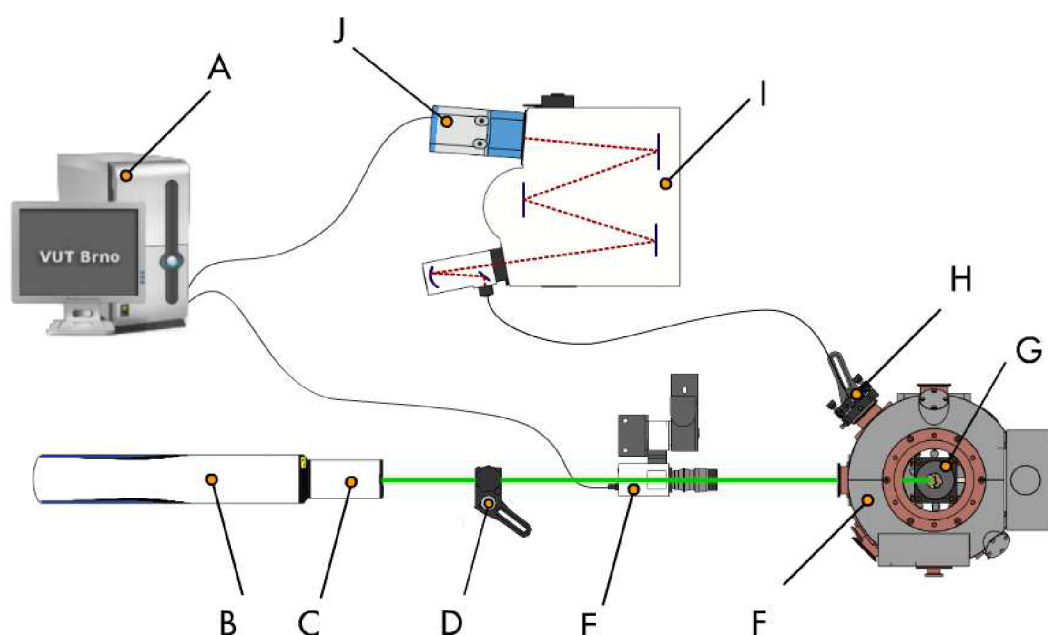
## Kapitola 3

### Použité zařízení

#### 3.1 Použitá aparatura LIBS

##### 3.1.1 Sestava

Na obr. 8 je zobrazena aparatura LIBS použitá pro měření na Ústavu fyzikálního inženýrství FSI VUT v Brně. Jednotlivé prvky sestavy jsou popsány níže.



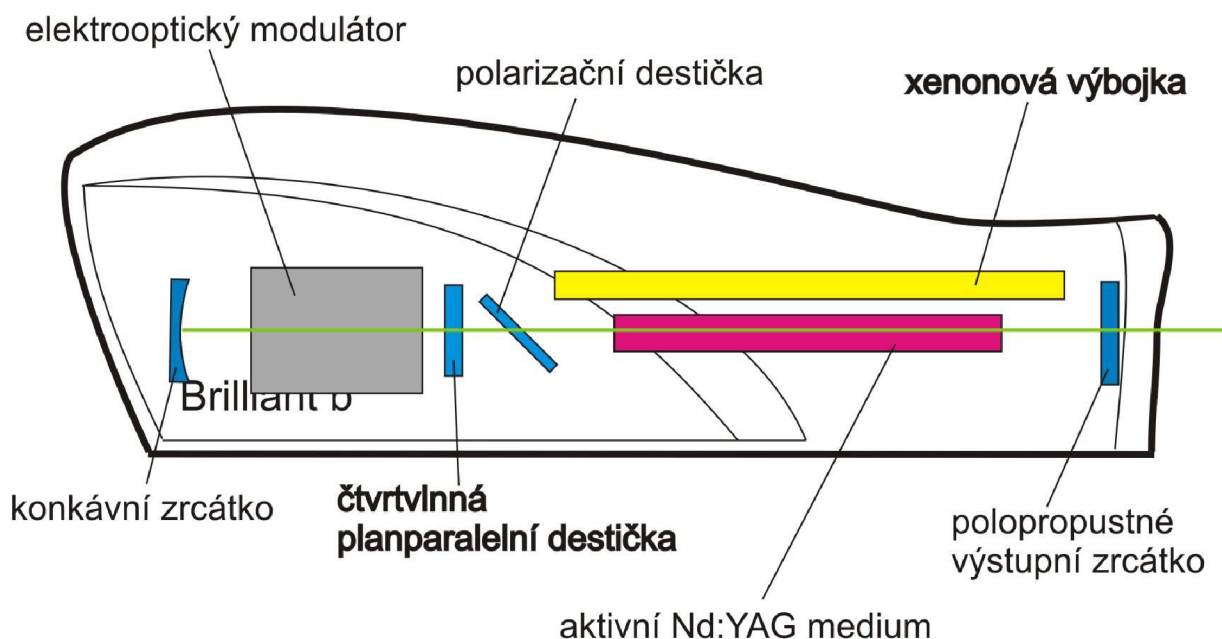
**Obr. 8:** Použitá aparatura LIBS na Ústavu fyzikálního inženýrství. A – Počítač, B - Nd:YAG laser o vlnové délce 1064 nm, C - modul  $2\omega$  pro vlnovou délku 532 nm, D – periskop, E - CCD kamera, F – komora, G - compucentrický stoleček, H - sběrná optika, I – analyzátor, J - ICCD detektor. Převzato z [9].

##### 3.1.2 Laser

Na Ústavu fyzikálního inženýrství je v LIBS aparatuře využíván pulzní laser Brilliant B francouzské firmy Quantel. Jako aktivní prostředí laseru slouží Nd:YAG krystal o průměru 9,5 mm buzený externě xenonovou výbojkou. Základní vlnová délka laseru je 1064 nm, lze ji však zkrátit využitím speciálních modulů (harmonických oscilátorů) na hodnoty 532 nm, 355 nm, 266 nm a 213 nm. V experimentech se většinou využívá modul pro druhou harmonickou ( $2\omega$ ) tj. 532 nm. Při analýze se užívá aktivní Q-switch režim. To znamená, že laser využívá elektrooptický modulátor, který polarizuje světlo a polarizační destička brání světlu vrátit se zpět do aktivního prostředí. Aktivní prostředí je ale nadále buzeno výbojkou, dochází ke vzniku inverzní populace a k akumulaci energie (zvyšuje se množství excitovaných atomů), a to až do chvíle, kdy naakumulovaná energie dosáhne kritické

### 3. Použité zařízení

hodnoty, pak je tlumení vypnuto a dojde k vypálení jednoho intenzivního laserového pulzu. Vnitřní uspořádání laseru zobrazuje obr. 9.

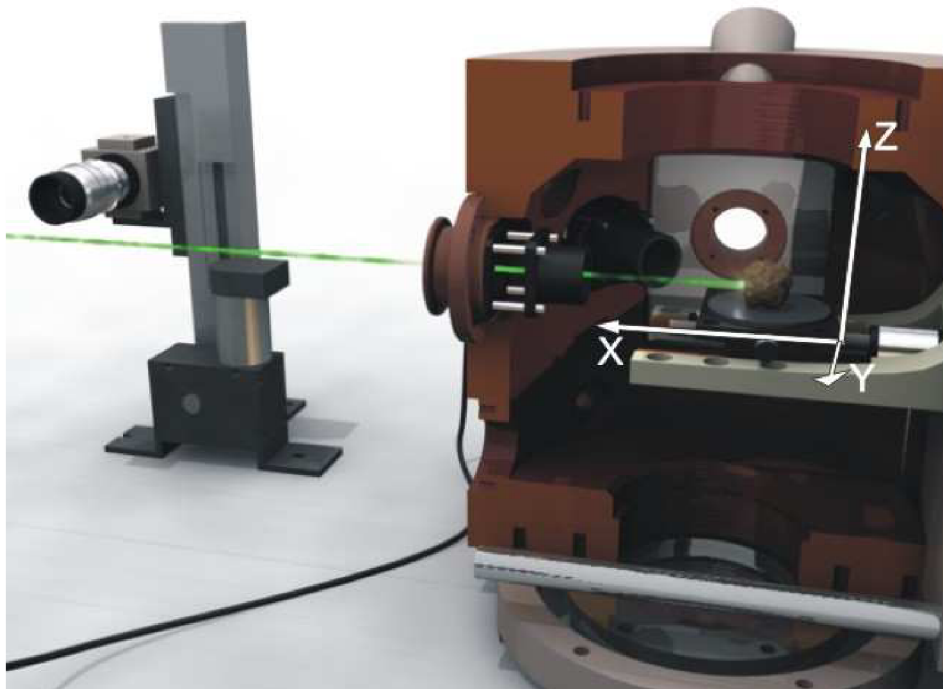


Obr. 9: Vnitřní uspořádání Nd:YAG laseru Brilliant b.

#### 3.1.3 Interakční komora

Interakční komora pochází z brněnské firmy Tescan – jedná se o modifikovanou verzi komory LM používané v rastrovacích elektronových mikroskopech řady Vega.

Komora obsahuje compucentrický stolek a pohyb vzorku je řešen motorizovaným manipulátorem se čtyřmi krokovými elektromotorky Phytron. Manipulátor je posazený na zadní výsuvné stěně komory. Laser vstupuje do komory otvorem v přední stěně. Manipulátor umožňuje posun vzorku ve směru  $X$  v rozsahu 80 mm, ve směru  $Y$  v rozsahu 60 mm, ve směru  $Z$  v rozsahu 47 mm a plnou rotaci o  $360^\circ$ . Manipulátor umožňuje minimální pohyb o  $2 \mu\text{m}$ . Směry os jsou vyznačeny na obr. 10. Veškerá elektronika komory včetně elektromotorků je ovládána softwarem Vega.



Obr. 10: Pohled do komory s vyznačenými osami posuvu stolku. Převzato z [9].

### 3.1.4 Analyzátor

Analyzátor se skládá ze spektrometru LOT Oriol 260i a ICCD detektoru Andor Istar, 734D. Šířka vstupu spektrometru je regulovatelná v rozsahu 0 - 45  $\mu\text{m}$ . Spektrometr je vybaven třemi mřížkami s 300, 1200 a 2400 vrypů/mm. ICCD detektor je vybaven MCP (microchannel plate) zařízením, což je vlastně matice skládající se z miniaturních fotonásobičů [6]. Pro transport záření plazmatu do analyzátoru je použit optický systém vyvinutý na ÚFI FSI VUT v Brně.

### 3.1.5 Nastavení vzorku do ohniskové vzdálenosti čočky fokusující laserové záření

K nastavení slouží klasická kamera s 1/3" CCD čipem Sony, která je připojena na televizní kartu v počítači. Objektiv kamery je zaostřen do nekonečna a obraz z komory je snímán přes čočku, která zároveň slouží k fokusaci laseru na vzorek. V pozici, kdy je obraz snímán kamerou ostrý, je tedy vzorek v ohniskové rovině čočky.

Ve stávajícím uspořádání je kamera umístěna na pohyblivém držáku a před vypálením pulzu musí být sesunuta mimo palebnou zónu.

## 3.2 Softwarové vybavení

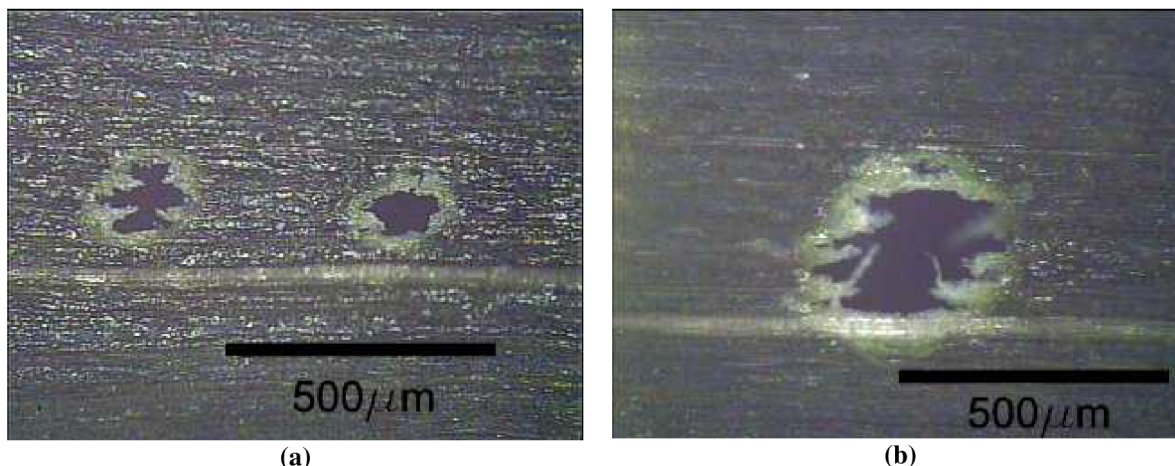
### 3.2.1 Nutné úpravy

Chceme-li zkoumat plošné rozložení látek v rozměrnějších vzorcích (řádově několik  $\text{cm}^2$ ) s vysokým prostorovým rozlišením, jako například rozložení látek v listech rostlin, narážíme na dva problémy:

- 1) Z výše uvedených principů metody LIBS vyplývá, že zkoumaný vzorek je třeba umístit do ohniskové roviny čočky. Nalezení správné polohy, tedy polohy, kdy se nám obraz jeví subjektivně nejostřejší, je zdlouhavé a navíc takovýto postup nemusí být přesný. Na obr. 11a) je pro představu kráter v listu kukuřice v pozici, kdy byl list

### 3. Použité zařízení

umístěn v ohniskové rovině čočky. Na obr. 11b) byl pro ilustraci kráter pořízen v pozici o 1,5 mm vychýlené z ohniskové roviny čočky. Jak je z obrázku patrné je kráter v „rozostřené“ pozici přibližně 5x větší. Chceme-li navíc prozkoumat rozsáhlejší oblast a předpokládáme-li, že všechny body vzorku neleží ve stejné rovině, je třeba zaostřit na každé pozici.



Obr. 11: Porovnání velikostí kráterů v listu kukuřice pro zaostřenou a rozostřenou polohu.

- 2) Prostorové rozlišení je omezeno pouze zaostřením. Je-li vzorek správně zaostřen můžeme udělat i několik kráterů na 1 mm vzorku. Chceme-li prozkoumat plochu vzorku řádově v  $\text{cm}^2$ , je snadné si spočítat o jaké množství kráterů se bude jednat. Přitom před každým vypálením pulzu musíme provést několik úkonů – vysunutí kamery do polohy snímání obrazu, zaostření, sesunutí kamery z palebné zóny, výstřel laseru, posun na další pozici. Celý tento proces je časově náročný.

Chceme-li takovýto měření provádět větší množství, je téměř nutné tento proces automatizovat. Za tímto účelem byl v rámci mé diplomové práce vytvořen program s pracovním názvem LIBS3D.

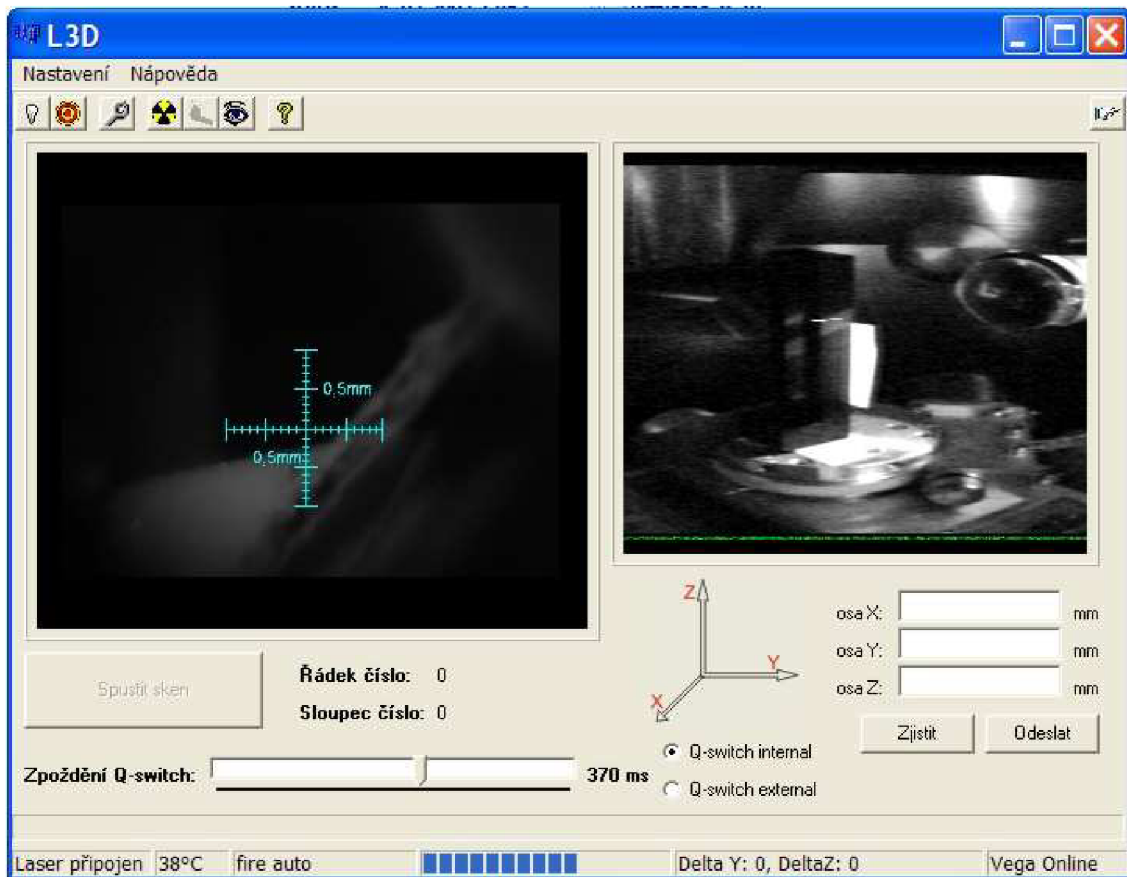
#### 3.2.2 O programu LIBS3D

Základním požadavkem na program bylo spojení automatického ostření, ovládání laseru a automatického posuvu vzorku. Jako vývojové prostředí jsem zvolil C++ Builder od firmy Borland. Velkou výhodou tohoto prostředí je snadná implementace tříd<sup>2</sup>. V programu jsem využil třídu pro ovládání laseru vytvořenou Ing. Radomírem Malinou, Ph.D. a třídu pro vyhodnocení ostrosti vytvořenou Ing. Janem Novotným. Zpracování obrazu jsem prováděl pomocí komponenty VideoLab<sup>3</sup>.

Většina níže popsaných vlastností programu je funkční pouze ve spojení s popsaným hardwarem (tedy manipulátorem, laserem a CCD kamerou).

<sup>2</sup> Třída je nástroj programovacího jazyka, který obsahuje členské funkce a proměnné a jde použít v libovolném programu daného programovacího prostředí. Třidu si lze představit jako balík volně přenosných funkcí a proměnných.

<sup>3</sup> VideoLab je komponenta pro zpracování videa ve vývojovém prostředí Borland Delphi nebo C++ Builderu, autorem je Boian Mitov. VideoLab je volně ke stažení na internetových stránkách <http://www.mitov.com>.



Obr. 12: Panel programu LIBS3D.

Na obr. 12 je hlavní panel programu LIBS3D. Náhled vlevo se záměrným křížem je pohled CCD kamery na vzorek přes čočku sloužící k fokusaci laseru, délka záměrného kříže odpovídá 2 mm, náhled vpravo je z CCD kamery umístěné uvnitř komory. Tlačítka v horní části slouží (zleva) k připojení/odpojení serveru, připojení/odpojení laseru, spuštění okna nastavení, spuštění/vypnutí výbojky, vypálení jednoho pulzu, zaostření a spuštění nápovědy k programu. Tlačítko pod hlavním náhledem slouží ke spuštění rastrování vzorku, posuvník slouží k nastavení zpoždění Q-switchu. Dále zde můžeme manuálně zadat pozici manipulátoru a přepnout ovládání Q-switchu (ovládání může být interní, tedy z programu, nebo externí pomocí ovládacího panelu připojeného k laseru).

### 3.2.2.1 Kalibrace záměrného kříže

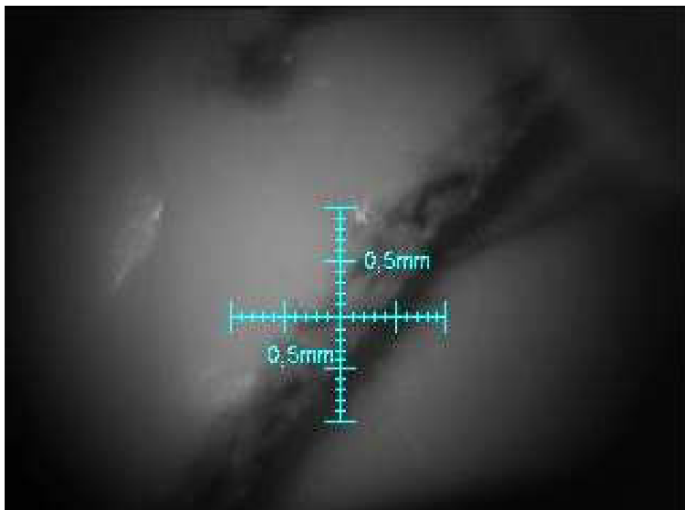
Základním krokem při prvním spuštění programu je kalibrace záměrného kříže. Záměrný kříž se nachází v poli zobrazení kamery pro ostření. Po kalibraci svým středem určuje místo dopadu laseru na vzorek. Kalibrace se skládá z několika základních kroků: Připojení k serveru Vega; Zaostření obrazu kamery, buď manuálně, změnou rozměru x-ové souřadnice, nebo spuštěním automatického ostření; Připojení laseru a spuštění výbojky, po dosažení 80 výbojů je možné provést výstřel laseru; Sesunutí kamery a výstřel jednoho nebo více pulzů laseru na vzorek (Ideální je zvolit místo na vzorku, které nebudeme později chtít použít pro měření.); Vysunutí kamery zpět do polohy snímání obrazu (na vzorku by měl být patrný kráter). Na klávesnici stiskneme Ctrl a současně myší klikneme co nejvíce do středu kráteru. Záměrný kříž se nastavil svým středem na střed kráteru. Chceme-li nyní vypálit pulz do určitého místa, stačí na něj kliknout myší a vzorek se automaticky přesune.

Program pozici záměrného kříže uloží do inicializačního souboru a při každém dalším spuštění programu provede nastavení automaticky. Kalibraci provedeme znovu pouze pokud



### 3. Použité zařízení

pozorujeme, že střed kráteru se neshoduje se středem záměrného kříže, případně pokud provádíme úpravy na aparatuře, které by na nastavení záměrného kříže mohly mít vliv (například změna polohy laseru, či komory, vložení nových optických prvků do dráhy laseru a podobně). Na obr. 13 je pohled do komory přes čočku sloužící k fokusaci laseru, záměrný kříž označuje místo dopadu laserového paprsku.



Obr. 13: Záměrný kříž.

#### 3.2.2.2 Automatické ostření

Ostrost se nevyhodnocuje z celé oblasti snímané kamerou, ale pouze ze čtverce jehož střed je totožný se středem záměrného kříže (ostříme tedy vždy na oblast kam bude dopadat laserový paprsek) a jehož strana má velikost nastavenou uživatelem. Pro vyhodnocení ostrosti na jedné pozici lze využít průměru z více snímků. Počet snímků je také součástí uživatelského nastavení. Z dalších možností ostření lze ještě nastavit druh a velikost frekvenčního filtru, velikost počátečního kroku, konstantu konvergence a přesnost s jakou má být obraz zaostřen. Frekvenčních filtrů je k dispozici pět:

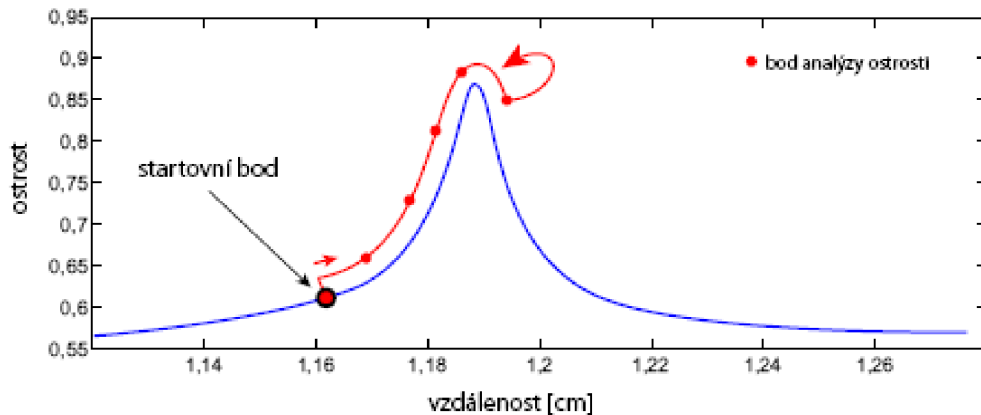
- 1) Pearsonův, ten užívá referenční matici získanou na počáteční pozici pro porovnání s maticemi na následujících pozicích, čím méně korelují tím větší se předpokládá ostrost.
- 2) Gaussův filtr osekávající vysoké frekvence.
- 3) Gaussův filtr osekávající nízké frekvence.
- 4) Skokový filtr pro vysoké frekvence.
- 5) Skokový filtr pro nízké frekvence.

Podrobnější popis těchto frekvenčních filtrů lze nalézt v [9].

Algoritmus ostření je následující: program vyhodnotí ostrost  $O_1$  na aktuální pozici a provede posun o uživatelem nastavený krok, vyhodnotí ostrost  $O_2$  na nové pozici a porovná ji s předcházející. Do proměnné  $O_1$  nastaví hodnotu  $O_2$  provede posun a opět vyhodnotí ostrost  $O_2$ . Takto postupuje do chvíle než vyhodnotí ostrost  $O_1$  jako vyšší než  $O_2$ . Je-li původní hodnota ostrosti vyšší než hodnota na nové pozici, program změni směr pohybu manipulátoru a krok vynásobí konstantou konvergence, kterou nastavil uživatel. Konstanta konvergence musí být číslo menší než jedna a větší než nula, tím dojde ke zmenšení kroku. Tento cyklus se opakuje dokud není vyhodnocena následující rovnice jako pravdivá:

$$\left| \frac{O_1 - O_2}{O_1} \right| 100 \leq P, \quad (19)$$

kde  $P$  je přesnost nastavená uživatelem. Tato podmínka předpokládá dostatečně velký počáteční krok a pohyb v okolí hlavního maxima. Závislost ostrosti na poloze vzorku je zobrazena na obr. 14. Z podmínky pro ukončení cyklu plyne, že je-li krok dostatečně malý, může být konečná poloha méně ostrá než předcházející, proto po vyhodnocení podmínky (19) jako pravdivé, program ještě otestuje hodnoty posledních dvou ostrostí a přesune se na pozici, kde byla získána vyšší hodnota.



Obr. 14: Průběh ostrosti v závislosti na vzdálenosti vzorku od ohniskové roviny kamery. Převzato z [9].

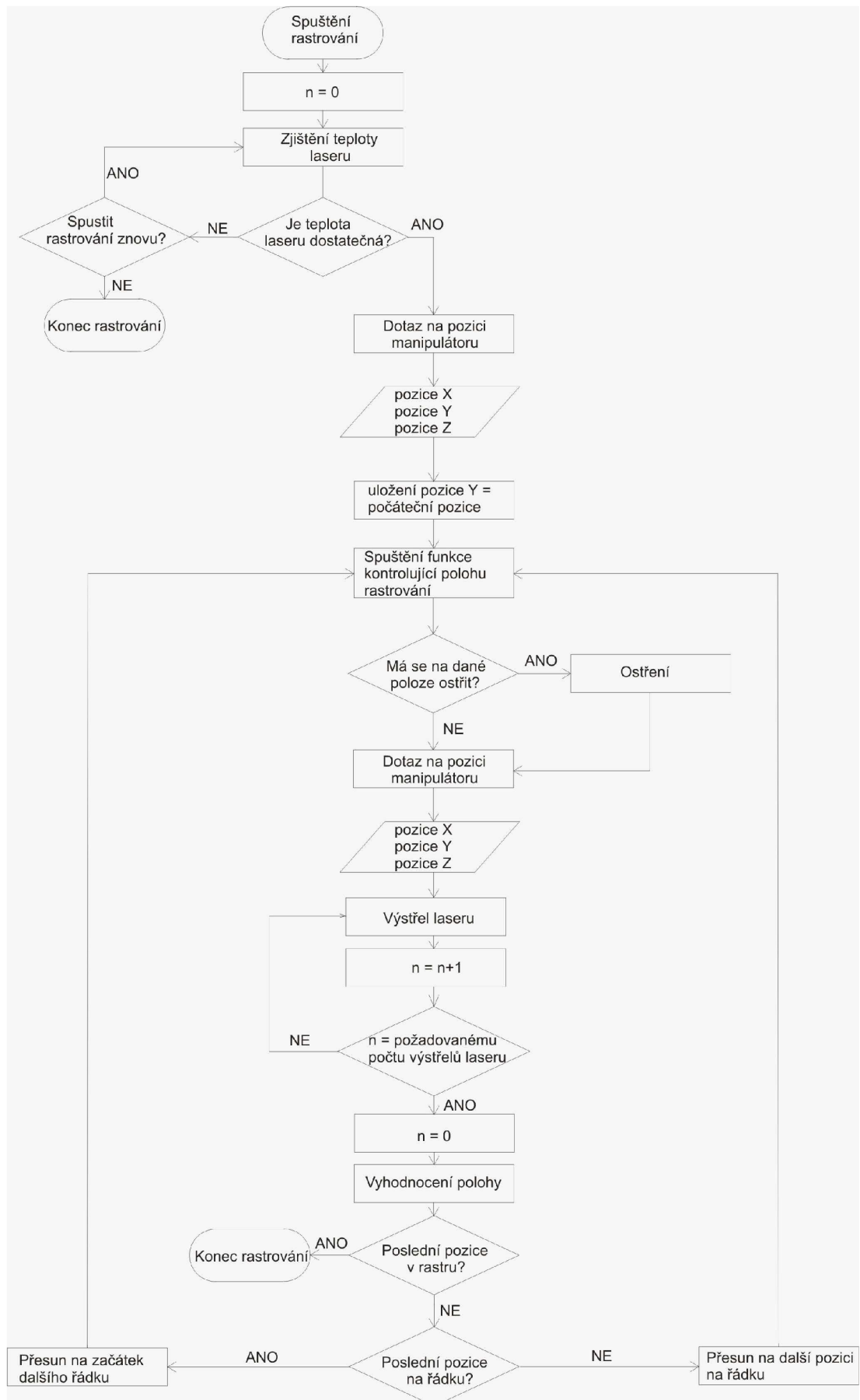
### 3.2.2.3 Automatický posuv vzorku (Rastrování)

Po splnění všech nutných podmínek (připojení k serveru, spuštění laseru, dosažení správného počtu výbojů a dosažení dostatečné teploty laseru) lze spustit rastrování vzorku. Tedy automatický posuv ve směru<sup>4</sup>  $Y$  a  $Z$  o uživatelem nastavený krok a o zvolený počet kroků. Na každé pozici dojde k vypálení pulzu laseru. Počet pulzů na každé pozici a čas mezi výstřely jednotlivých pulzů je součástí uživatelského nastavení programu. Na první pozici provede program zaostření vždy, na dalších pozicích záleží opět na nastavení uživatele. Lze nastavit ostření na každé pozici, každé druhé, třetí atd. Nastavení po kolika posunech se má ostřit závisí na změně  $X$  v závislosti na  $Y$  a  $Z$  ( $X = f(Y, Z)$ ) a pro kolik posunů je tato změna ještě zanedbatelná.

Postup programu pro rastrování je zobrazen ve vývojovém diagramu na obr. 15. Jako  $n$  je označeno počítadlo výstřelů laseru (při každém výstřelu laseru se zvýší o jedničku). Server ovládá manipulátor tak, že řadí příkazy do fronty a teprve po dokončení předcházejícího příkazu se vykoná následující. Provedeme-li tedy dotaz na polohu manipulátoru, víme že v moment, kdy dostaneme od serveru odpověď, manipulátor se nepohybuje. Tím zajistíme, že nedojde k současnému pohybu manipulátoru a výstřelu laseru.

<sup>4</sup> Ve stávajícím uspořádání znamená posuv ve směru  $Y$  přesun na nový sloupec a posuv ve směru  $Z$  na nový řádek.

### 3. Použité zařízení

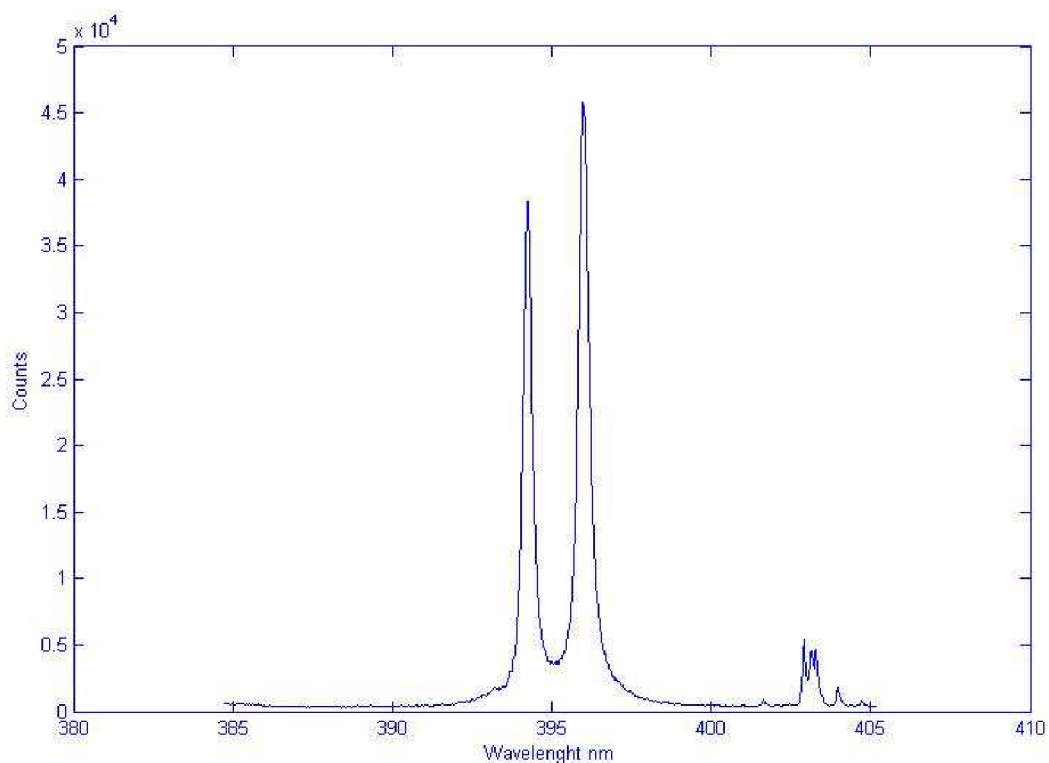


Obr. 15 Vývojový diagram programu LIBS3D – část rastrování.

### 3.2.3 O Programu Solis

Program Solis (Andor, Velká Británie) slouží k ovládání spektrometru, ICCD kamery a k vyhodnocení naměřeného signálu. Program umožňuje nastavit délku a zpoždění pozorovacího okénka  $t_b$  a  $t_d$  (viz.obr. 2), zesílení signálu na ICCD detektoru MCP zesilovačem, rozsah vlnových délek (víme-li, že hledáme určitý prvek, nemusíme zobrazovat celý rozsah zjištěných vlnových délek). Snímání je možné několika způsoby: Základní způsob je zapnutí sledování pro jeden výstřel. Po vypálení laserového pulzu je sejmuto signál ze spektrometru a okamžitě je zobrazeno vyhodnocené spektrum. Sledování zapneme tlačítkem v hlavním panelu. Toto tlačítko musíme stisknout před každým výstřelem laseru, po kterém chceme vyhodnotit spektrum. Chceme-li snímat více výstřelů po sobě, přejdeme do nastavení programu, kde jako volitelný parametr zadáme počet měření, které chceme provést. Sledování pak bude spuštěné dokud neproběhne požadovaný počet výstřelů (samozřejmě lze sledování kdykoliv v průběhu měření vypnout).

Po každém naměřeném spektru program provede grafický výstup na obrazovku. Získané výsledky lze pak uložit jako bitmapu, nebo jako ASCII<sup>5</sup> kód. V ASCII kódu se informace uloží tak, že v prvním sloupci máme vlnové délky a v každém dalším je příslušející intenzita. Pro jedno měření nám tedy vzniknou dva sloupce, jeden sloupec vlnových délek a druhý příslušných intenzit. Díky tomu můžeme získaná data dále zpracovávat v programech typu Origin, Excel nebo Matlab. Ukázka grafického výstupu z programu je na obr. 16.

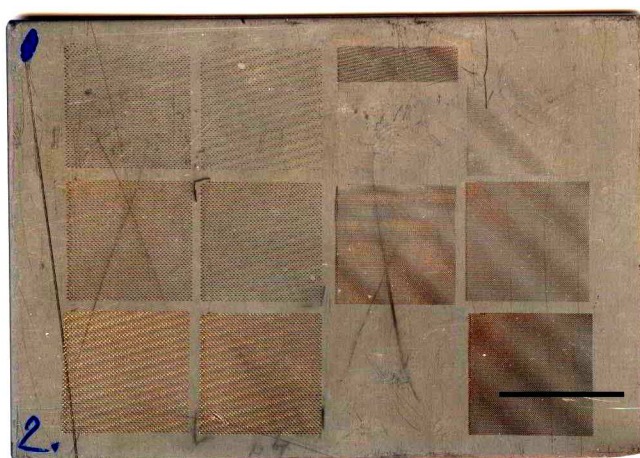


**Obr. 16:** Výstup z programu Solis. Spektrum duralu.

<sup>5</sup> **ASCII** je anglická zkratka pro *American Standard Code for Information Interchange*, tedy *americký standardní kód pro výměnu informací*. V podstatě jde o kódovou tabulku, která definuje znaky anglické abecedy, a jiné znaky používané v informatice. Jedná se vlastně o numerické vyjádření všech znaků. ([www.asciitable.com](http://www.asciitable.com))

#### 3.3 Testování programu LIBS3D

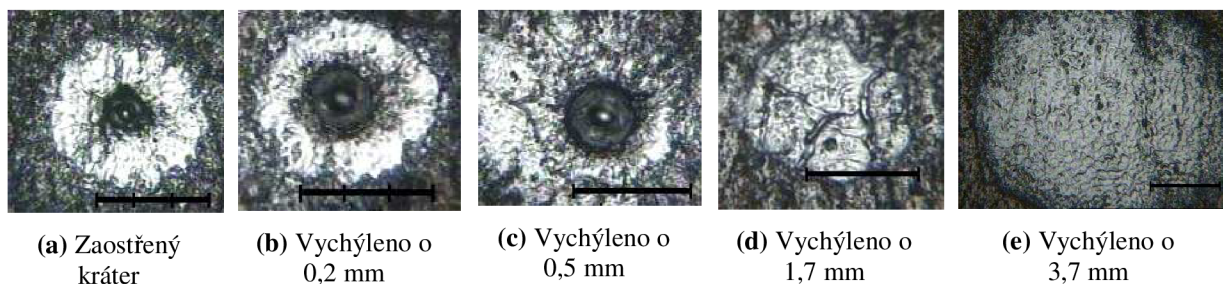
Každý program před uvedením do provozu musí být otestován a odladěn. Tento proces se opakuje dokud program nepracuje na požadované úrovni. U programu LIBS3D bylo nejdůležitější otestovat funkčnost automatického ostření. Pro třídu vyhodnocující ostrost již byly provedeny testy na vzorcích slídy, olova, papíru a zrcadla a bylo zjištěno, že pracují s dostatečnou přesností [9]. My jsme pro testy použili ocelovou destičku s několika různými drsnostmi povrchu, obr. 17. Zdrsnění na povrchu bylo vytvořeno pomocí elektronové litografie. Periodický povrch vytvořený elektronovou litografií působí při vyhodnocování ostrosti určité potíže (periodicita může být vyhodnocena jako digitální šum a podobně) více o této problematice v [9]. K vytvoření všech kráterů byl použit laserový pulz o konstantní ablační energii. Zpoždění Q-switchu bylo optimalizováno pro 60 mJ na 345 ms. Délka pulzu byla 5 ns.



Obr. 17: Ocelová destička s různými drsnostmi povrchu. Značka odpovídá 1 cm.

##### 3.3.1 Změna průměru kráteru v závislosti na rozostření

První fází testování bylo vytvoření řady kráterů na hladkém povrchu, přičemž první kráter byl pořízen v zaostřené pozici a další krátery byly vychýleny ze zaostřené pozice o definovaný rozměr. Tyto krátery jsou vidět na obr. 18a-e. Na obrázcích a)-c) je patrný ablační kráter, na obrázku d) sice došlo k ablaci, ale již nedošlo ke vzniku kráteru a na obrázku e) byl průměr dopadajícího svazku tak velký, že došlo pouze k roztavení materiálu v místě dopadu paprsku. Z tohoto testu si můžeme udělat představu o tom, jak se změní velikost kráteru v závislosti na rozostření. Pro přesné určení změny průměru kráterů v závislosti na vzdálenosti vzorku od ohniskové roviny by bylo třeba udělat větší počet měření a statisticky je zpracovat, pro naše účely, tedy pro účely testování programu, však stačí konstatovat, že se vrůstající vzdáleností vzorku od zaostřené oblasti má průměr kráteru rostoucí tendenci. Tato závislost je přibližně lineární.

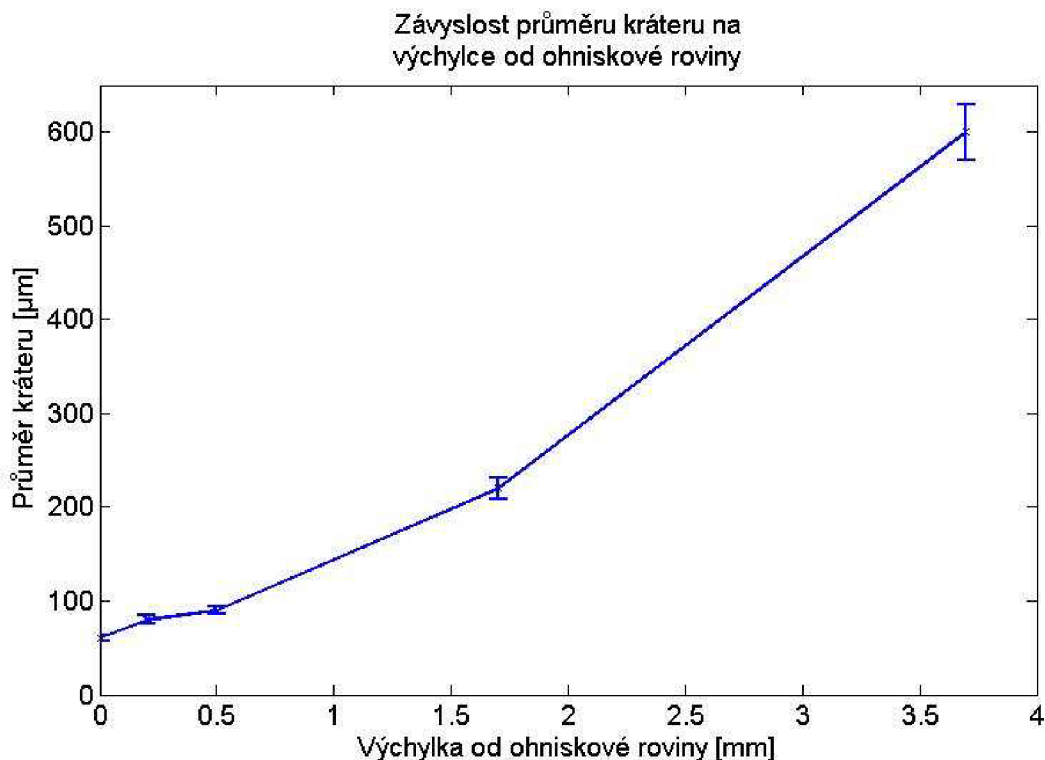


**Obr. 18:** Krátery vytvořené laserem o konstantní intenzitě s různým vychýlením z ohniskové roviny fokusující čočky. Délka značky na obrázcích odpovídá  $150 \mu\text{m}$ .

Závislost průměrů na vzdálenosti vzorku od ohniskové roviny ukazuje tab 1. Závislost je pak vynesena do grafu 1. Průměry kráterů jsou měřeny s chybou 10%. To je způsobeno nerovným okrajem kráteru a omezeným rozlišením kamery, pomocí které byly krátery snímány. Průměrná hustota zářivého toku pro nejmenší kráter optimalizovaná na vzorek je tedy  $106,1 \text{ GW/cm}^2$  (průměr ablačního kráteru  $60 \mu\text{m}$ , energie ablačního pulzu 60 mJ, délka pulzu 5 ns).

Výchylka od ohniskové roviny [mm]	0	0,2	0,5	1,7	3,7
Průměr kráteru [ $\mu\text{m}$ ]	60	80	90	220	600

**tab 1:** Závislost průměru kráterů na výchylce vzorku od ohniskové roviny.



**Graf 1** Závislost průměru kráterů na výchylce od zaostřené oblasti.

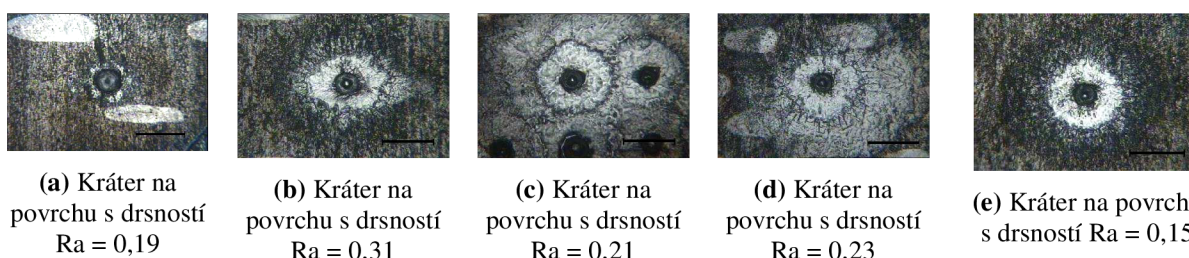
### 3. Použité zařízení

#### 3.3.2 Automatické ostření na povrchy vzorků s různými drsnostmi

Dalším krokem testu bylo automatické ostření na povrchy vzorků o různých drsnostech. Na pěti površích s rozdílnou drsností bylo automaticky zaostřeno a byl vypálen jeden pulz. Porovnáním velikosti kráterů a přihlédnutím k předchozímu testu lze posuzovat úroveň zaostření. Krátery pořízené na površích vzorků o různých drsnostech můžeme vidět na obr. 19a-e. Závislost průměru kráterů na drsnosti povrchu je vynesena v tab 2.

<b>Drsnost povrchu Ra</b>	0,19	0,31	0,21	0,23	0,15
<b>Průměr kráteru [<math>\mu\text{m}</math>]</b>	82	77	73	67	66

tab 2: Závislost průměru kráterů na zaostření na površích s různou drsností.

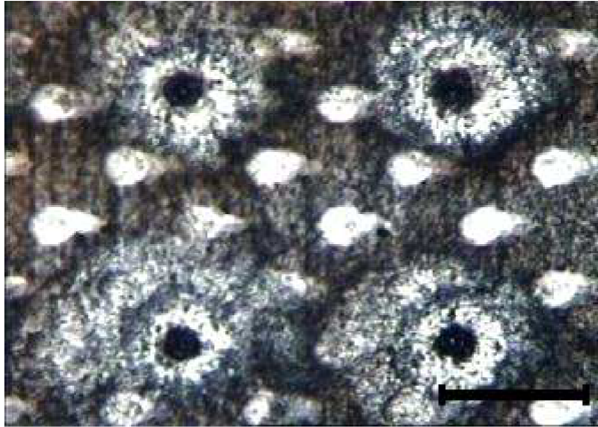


Obr. 19: Krátery vytvořené po zaostření programem LIBS3D na površích o různých drsnostech. Délka značky na obrázcích odpovídá 150  $\mu\text{m}$ .

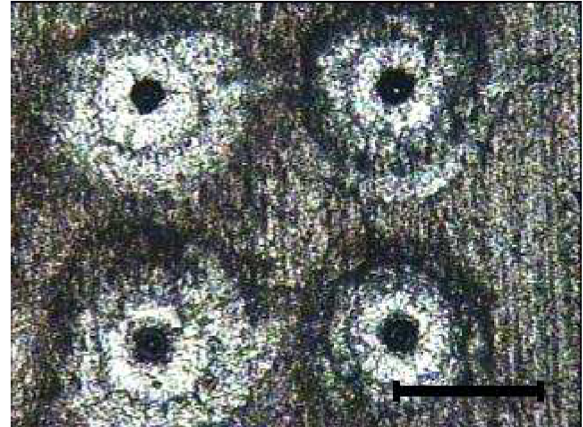
Podmínky měření opět nedovolovaly dosáhnout větší přesnosti při měření průměru kráterů než 10%. Rozdíl mezi největším a nejmenším kráterem je přibližně 15  $\mu\text{m}$ , z předchozího testu víme, že to odpovídá zhruba 0,1 mm odchylky od ohniskové roviny čočky. Můžeme z toho usoudit, že pro různé drsnosti povrchu se ostrost vyhodnotí odlišně. Tento problém můžeme částečně odstranit vhodnou volbou velikosti oblasti pro ostření a vhodným filtrem digitálního šumu. Před začátkem měření, je tedy vhodné ostření otestovat pro několik různých nastavení.

#### 3.3.3 Rastrování po povrchu s konstantní drsností

Dalším testem bylo rastrování po povrchu vzorku s konstantní drsností. Tato činnost bude pro program nejběžnější a je tedy důležité, aby pracovala správně. Ostření probíhalo na každé pozici. Porovnáním velikostí kráterů jsme mohli posoudit úroveň zaostření. V ideálním případě by tedy všechny krátery měly mít stejnou velikost. Na každém povrchu bylo vytvořeno 30 kráterů. Statistické zpracování opět nemá velký význam na vyhodnocení výsledku testu – důležitá informace je průměr nejmenšího a největšího kráteru. Je-li rozdíl mezi těmito dvěma významný můžeme ostření vyhodnotit jako nedostatečné.



(a) Reprezentativní část rastru na povrchu o drsnosti  $R_a = 0,23$



(b) Reprezentativní část rastru na povrchu o drsnosti  $R_a = 0,15$

**Obr. 20:** Část rastru na površích o různých drsnostech. Délka značky na obrázcích odpovídá  $300 \mu\text{m}$ .

Při testu byl průměr nejmenšího kráteru  $65 \mu\text{m}$  a průměr největšího kráteru  $72 \mu\text{m}$ . To znamená rozdíl  $7 \mu\text{m}$ , který je pro naše účely zanedbatelný. Chceme-li dosáhnout co nejlepších výsledků ostření, je vhodné před začátkem měření pro jednotlivé vzorky upravit nastavení. Důležité je také osvětlení vzorku, přesvětlený nebo málo osvětlený vzorek se pravděpodobně nepodaří správně zaostřit.





---

## Kapitola 4

# Stanovení optimálních experimentálních parametrů pro laserovou spektrometrii vybraných vzorků rostlin

### 4.1 Příprava vzorku

Zkoumali jsme hromadění stříbra v listech kukuřice. Vzorky byly připravovány na Mendelově zemědělské a lesnické univerzitě v Brně. Semena kukuřice byla pěstována ve tmě na vlhkém filtračním papíru ve speciálních nádobách při teplotě  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Po deseti dnech byly sazenice kukuřice přemístěny do nádob obsahujících vodu z vodovodu a pěstovány ve Versatilových environmentálních testovacích komorách (MLR-350 H, Sanyo, Japonsko) po dobu jedenácti dní s čtrnácti hodinami světla denně, při teplotě 22 až  $25,0^\circ\text{C}$  a při vlhkosti 65%. Po tomto čase bylo do kultivačního roztoku přidáno stříbro ve formě  $\text{AgNO}_3$  o koncentraci  $1 \text{ mmol l}^{-1}$ . Rostliny kukuřice byly pěstovány dalších pět dnů. Jejich kořeny se po sklizení třikrát propláchly destilovanou vodou a 0,5 M EDTA. Navíc byly sklizené rostliny odděleny od kořenů. Listy i kořeny byly zmrazeny a analýza byla provedena na zmražených vzorcích.

List resp. kořen vzorku byl přilepen oboustrannou lepící páskou k držáku vzorku, který byl umístěn na manipulátor uvnitř komory.

### 4.2 Energie ablačního pulzu

Energie ablačního pulzu je jedním z velmi důležitých parametrů laserové spektroskopie. Bude-li tato energie příliš velká dojde ke vzniku velkých ablačních kráterů, to sníží rozlišovací schopnost metody a poškodí vzorek. Naopak použijeme-li příliš malou energii, nedojde k odpaření dostatečného množství vzorku a pozorovaný signál bude slabý. Maximální hmota materiálu  $M$ , která může být odpařena laserovým pulzem o energii  $E$  je dána rovnicí (18). Množství odstraněného materiálu jedním pulzem Nd:YAG laseru o vlnové délce 1064 nm o délce trvání 8 ns a energii pulzu 13 mJ při tlaku  $2 \cdot 10^7 \text{ Pa}$  je pro několik materiálů v tab 3.

Zkoumaný vzorek	Odstraněná hmotnost [ng]
Hliník	170
Měď	84
Ocel	30
Boraxové sklo ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ )	3
Keramika ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ )	4
Mosaz (Cu 65%, Zn 34,1%)	90

tab 3: Množství odstraněného materiálu jedním laserovým pulzem.  $E = 13 \text{ mJ}$ .

Určení vhodné energie ablačního pulzu u biologických vzorků je velmi důležité, protože většinou hledáme stopová množství látek, je nutné odpařit dostatečné množství vzorku, ale na druhou stranu velmi snadno dochází k poškození vzorku.

## 4. Stanovení optimálních experimentální parametrů pro laserovou spektrometrii vybraných vzorků rostlin

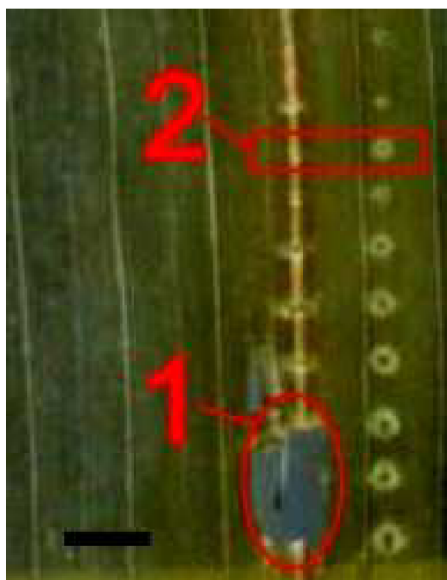
### 4.2.1 Závislost rozměru ablačního kráteru na energii ablačního pulzu

Zpoždění Q-switchu a tomu odpovídající energii optimalizovanou na vzorek vidíme v tab 4 (energie byla pro příslušné zpoždění Q-switchu změřena a byly odečteny ztráty na optických plochách).

Zpoždění Q-switchu [ms]	400	390	370	360	350	345	340	335	330	325
Energie ablačního pulzu [mJ]	24	28	32	42	56	65	75	88	99	111

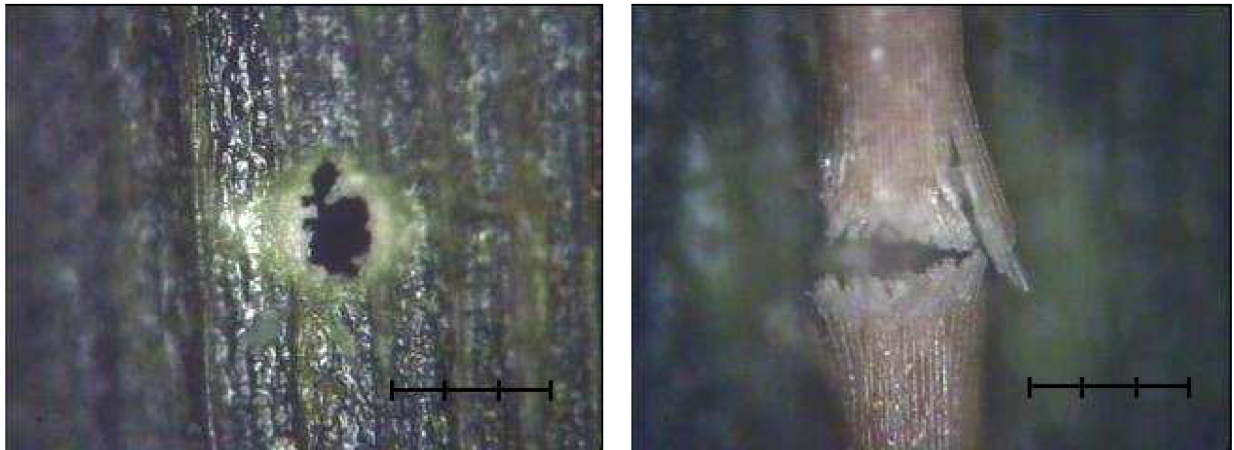
tab 4: Závislost energie ablačního pulzu na zpoždění Q-switchu.

Na obr. 21 jsou dvě řady ablačních kráterů vytvořených různými energiemi pulzu. Sousední krátery jsou vždy vytvořeny pulzem o stejné energii. Jeden kráter byl vždy umístěn na centrální žilce listu a druhý do tkáně listu. Číslem 1 je na obr. 21 označeno místo kde došlo k roztržení listu v důsledku příliš velké energie pulzu. Pokud bychom po vzorku chtěli rastrovat bylo by takovéto poškození zásadní. Vzhledem k poškození vzorku se jeví jako optimální energie ablačního pulzu v rozmezí 28 -56 mJ. Při nižších energiích je ablační kráter příliš malý (dojde k odpaření malého množství vzorku) a laser začne ztrácet stabilitu (pro stejné hodnoty zpoždění Q-switchu naměříme různé energie pulzu). Při vyšších energiích jsou naopak ablační krátery příliš velké a riskujeme poškození vzorku. Chceme-li však zkoumat vzorek s vysokým prostorovým rozlišením požadujeme krátery co nejmenší (to však znamená menší intenzitu naměřených spektrálních čar, viz 4.2.2). Číslem 2 je označena energie pulzu o hodnotě 32 mJ, která se jeví jako nejvýhodnějším kompromisem pro spektrometrická měření.



Obr. 21: Ukázka ablačních kráterů na listu kukuřice vytvořených různou energií pulzu. Značka na obrázku odpovídá 500  $\mu\text{m}$ .

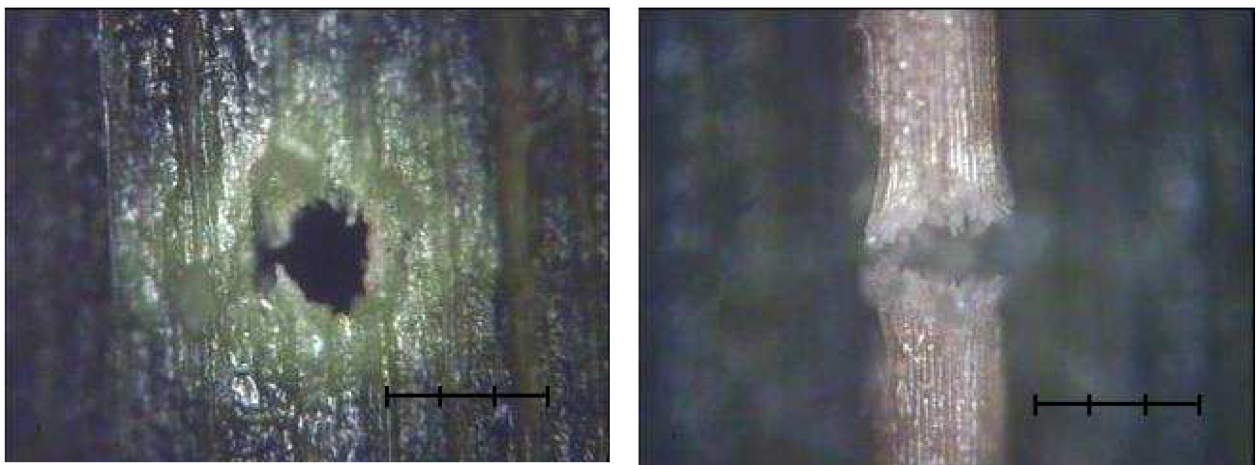
Na obr. 22a je ablační kráter ve tkáni listu kukuřice, energie pulzu byla 28 mJ. Na obr. 22b je ablační kráter vytvořený na centrální žilce listu pro stejnou energii. Na obr. 23 a obr. 24 jsou opět ablační krátery ve tkáni listu a na centrální žilce vytvořené energiemi 32 mJ a 42 mJ. Na obrázcích je jasně patrné, že pro vyšší energie ablačního pulzu dochází ke zvětšování ablačních kráterů.



(a)

(b)

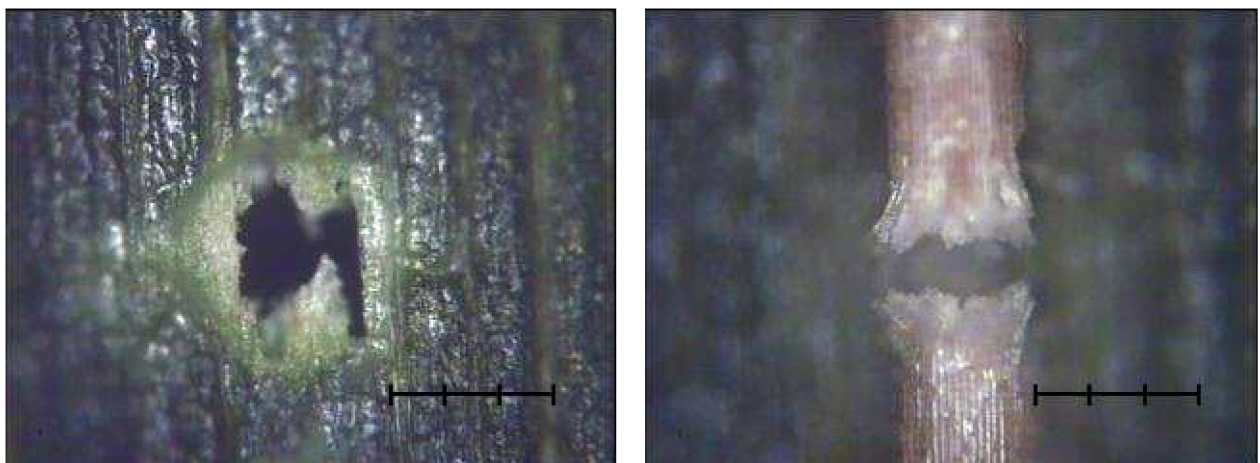
**Obr. 22:** Ablací krátery na listu kukuřice vytvořené energií 28 mJ. Délka značky odpovídá 150  $\mu\text{m}$ .



(a)

(b)

**Obr. 23:** Ablací krátery na listu kukuřice vytvořené energií 32 mJ. Délka značky odpovídá 150  $\mu\text{m}$ .



(a)

(b)

**Obr. 24:** Ablací kráter na listu kukuřice vytvořený energií 42 mJ. Délka značky odpovídá 150  $\mu\text{m}$ .

Pro ablační kráter vytvořený energií 32 mJ vypočteme hustotu zářivého toku. Poloměr ablačního kráteru je 55,5  $\mu\text{m}$ , délka pulzu je 5 ns. Průměrná hustota zářivého toku pro energii 32 mJ (kráter na obr. 23) je potom 41,6  $\text{GW}/\text{cm}^2$ .

#### 4. Stanovení optimálních experimentální parametrů pro laserovou spektrometrii vybraných vzorků rostlin

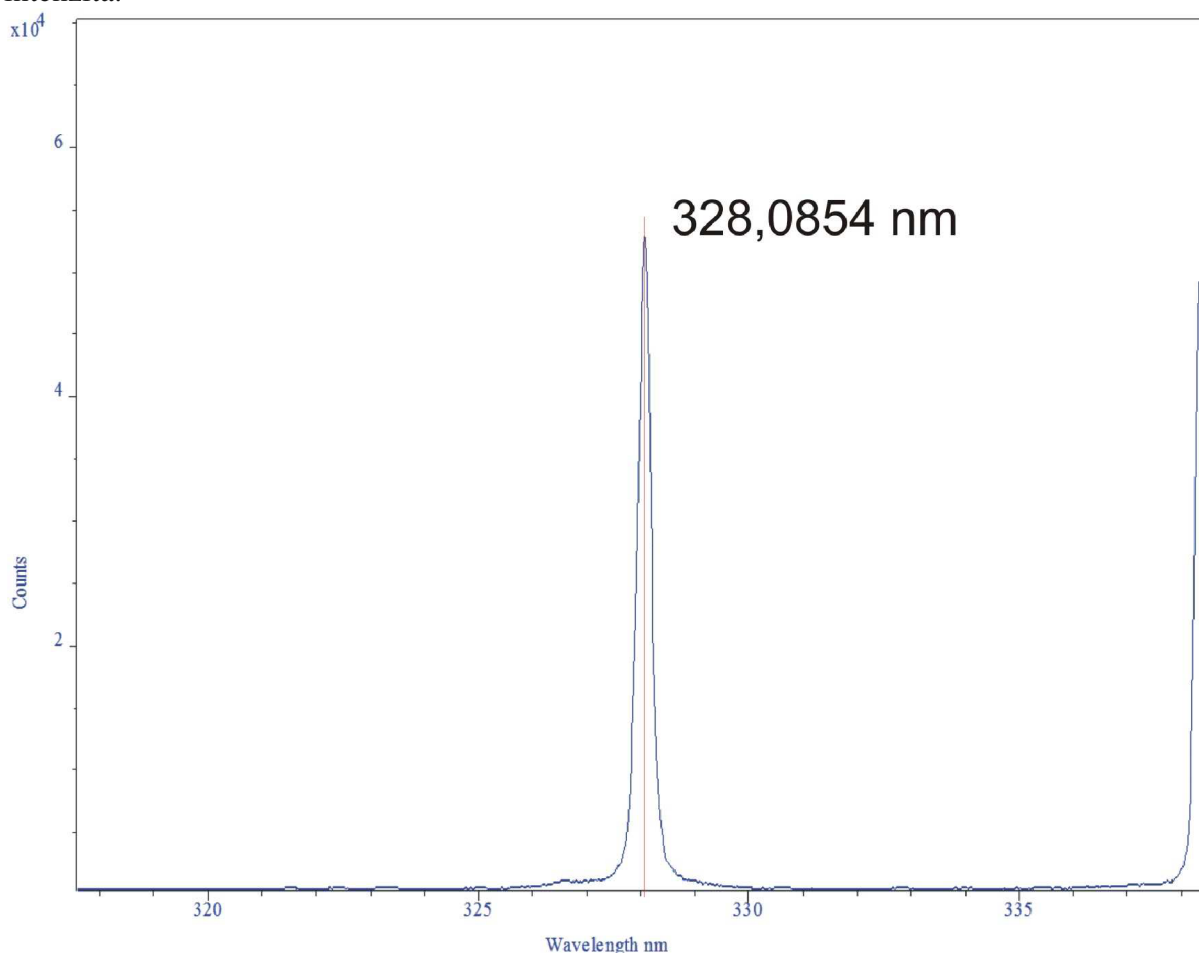
Energie ablačního pulzu [mJ]	24	28	32	42	56	65	75	88	99	111
Průměr kráteru [ $\mu\text{m}$ ]	65	85	111	164	242	291	347	419	480	546

tab 5: Závislost průměru kráteru na energii ablačního pulzu.

V tab 5 jsou průměry kráterů pro jednotlivé energie ablačního pulzu. Rozměry kráterů byly měřeny s chybou 10%.

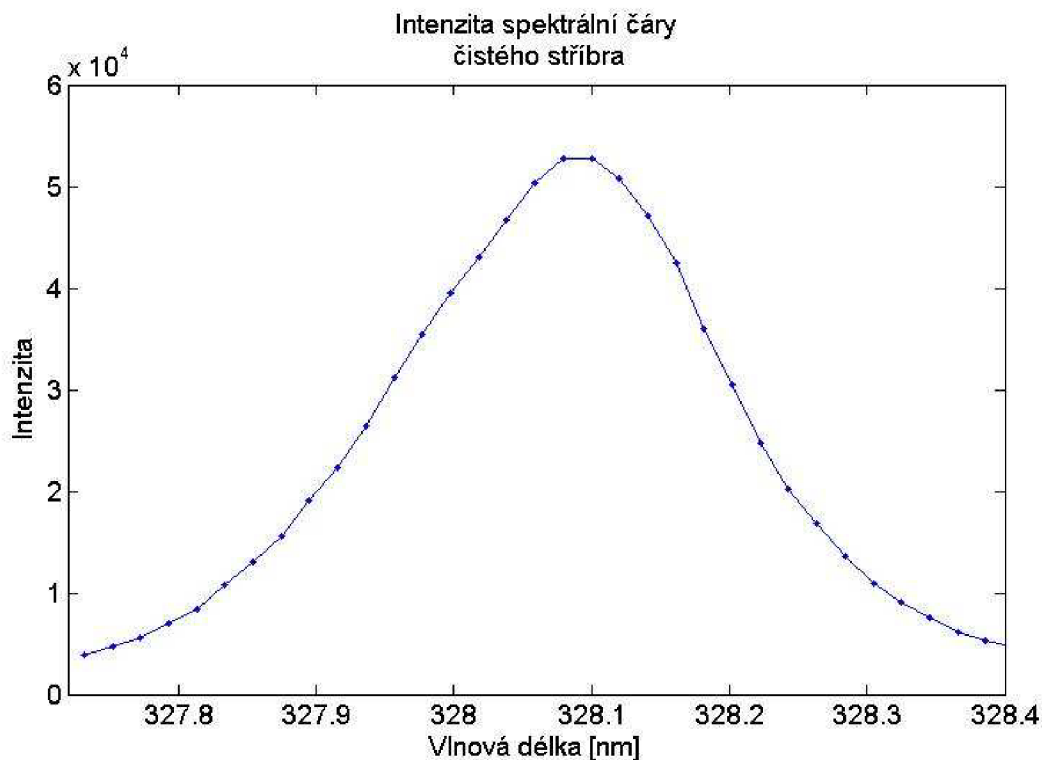
#### 4.2.2 Vliv energie ablačního pulzu na intenzity spektrálních čar

Intenzity spektrálních čar byly měřeny programem Solis. Jako výstup jsme zvolili ASCII soubor. Grafický výstup z programu, s označenou vlnovou délkou stříbra, je na obr. 25. Na horizontální ose jsou vyneseny vlnové délky v nanometrech a na vertikální ose intenzita.



Obr. 25: Spektrální čára čistého stříbra.

Nejdříve bylo provedeno měření intenzity spektrální čáry čistého stříbra. Jako vzorek byl použit stříbrný drátek o čistotě 99,996% od firmy Aldrich. Energie ablačního pulzu byla zvolena 32 mJ. Přiblížení hlavního píku je v grafu 2.



**Graf 2** Přiblížení vrcholu spektrální čáry čistého Ag.

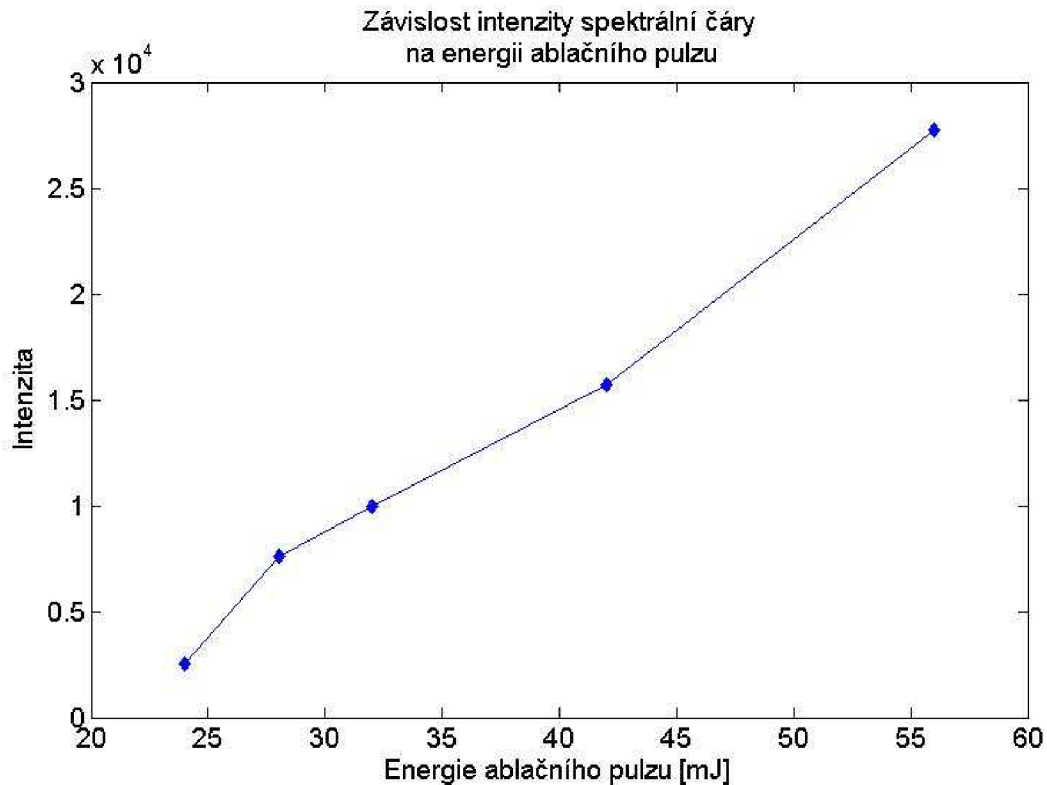
Dvěma vrcholovým bodům o téměř shodné intenzitě odpovídají vlnové délky 328,07955 nm a 328,1 nm. Tabelovaná vlnová délka čistého stříbra je 328,0854 nm. Z tohoto měření určíme polohu a tvar spektrální čáry stříbra

Měřením kořene kukuřice, pěstované za speciálních podmínek, byla získána tabulka závislosti intenzity spektrální čáry na energii ablačního pulzu. Délka zpoždění pozorovacího okénka  $td$  byla nastavena na  $1 \mu s$  a délka pozorovacího okénka  $tb$  byla nastavena na  $10 \mu s$ . Zesílení signálu na ICCD detektoru MCP bylo nastaveno na 100. Ve spektrometru byla použita mřížka s 2400 vrypy/mm a šířka vstupu spektrometru byla nastavena na  $5 \mu m$ . Hodnoty z tab 6 jsou vyneseny v Graf 3.

<b>Energie ablačního pulzu [mJ]</b>	56	42	32	28	24
<b>Intenzita spektrální čáry</b>	27719	15710	2779	7578	2530

**tab 6:** Závislost intenzity spektrální čáry na energii ablačního pulzu.

## 4. Stanovení optimálních experimentálních parametrů pro laserovou spektrometrii vybraných vzorků rostlin



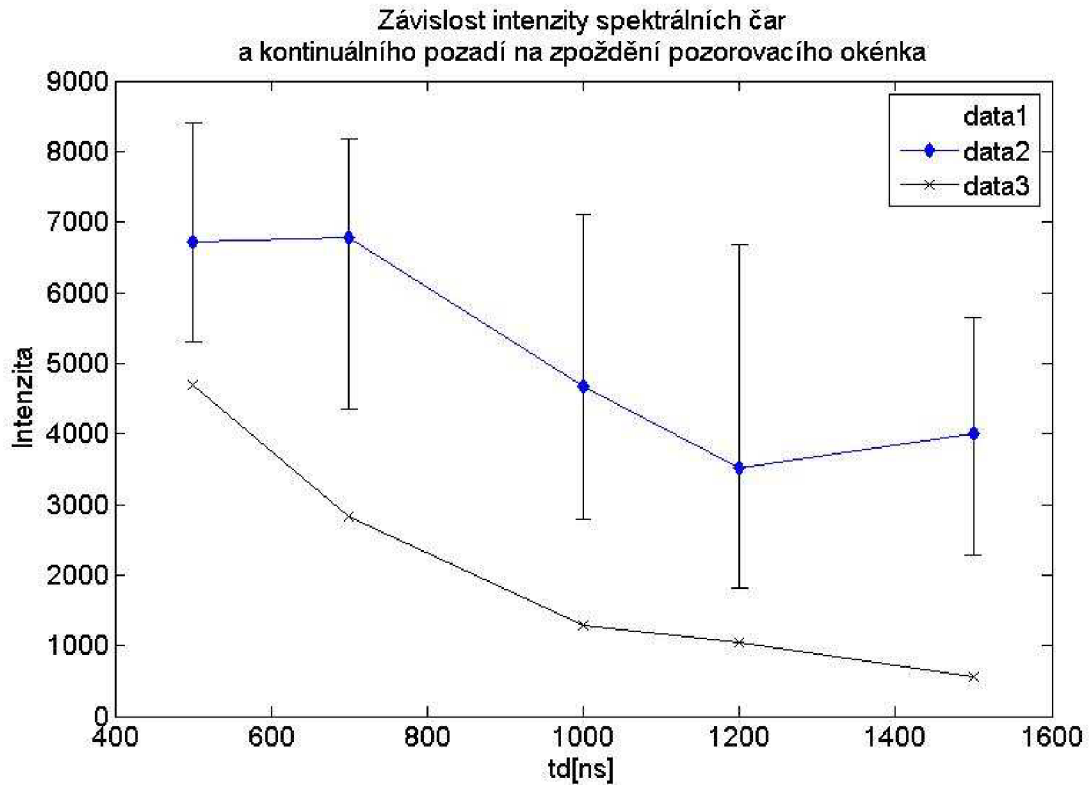
Graf 3 Závislost intenzity spektrální čáry stříbra na energii ablačního pulzu.

### 4.3 Zpoždění a délka trvání pozorovacího okénka

Pojmy zpoždění pozorovacího okénka a délka pozorovacího okénka byly vysvětleny v kapitole 2 Popis metody LIBS a hodnoty  $t_d$  a  $t_b$  jsou znázorněny na obr. 2 na straně 5. Správná volba těchto parametrů je pro měření zásadní.

#### 4.3.1 Závislost intenzity spektrálních čar na zpoždění pozorovacího okénka

Pro zjištění vlivu délky pozorovacího okénka na intenzitu spektrální čáry byl zkoumán stejný vzorek jako v minulém případě, hodnota energie byla nastavena na 32 mJ, délka pozorovacího okénka  $t_b$  byla  $10 \mu\text{s}$ . Pro každou hodnotu  $t_d$  bylo provedeno pět měření a rozptyl byl vyneseno do grafu.



**Graf 4** Závislost intenzity spektrální čáry stříbra a kontinuálního pozadí na zpoždění pozorovacího okénka. Popisek data 1 je pro chybové úsečky, data 2 pro intenzity spektrální čáry stříbra a data 3 pro kontinuální pozadí.

Z grafu 4 je patrné, že pro menší zpoždění pozorovacího okénka získáme vyšší intenzitu spektrálních čar (viz. data2), ale zároveň větší rozptyl naměřených hodnot (viz. data1). Pro tyto měření je také vyšší kontinuální pozadí (viz. data3) způsobené brzdícím zářením a rekombinací. V grafu 4 je vynesena průměrná hodnota kontinuálního pozadí. Pro časy vyšší než  $1 \mu\text{s}$  naopak získáváme příliš slabý signál. Jako ideální se tedy jeví zpoždění pozorovacího okénka  $1 \mu\text{s}$ .

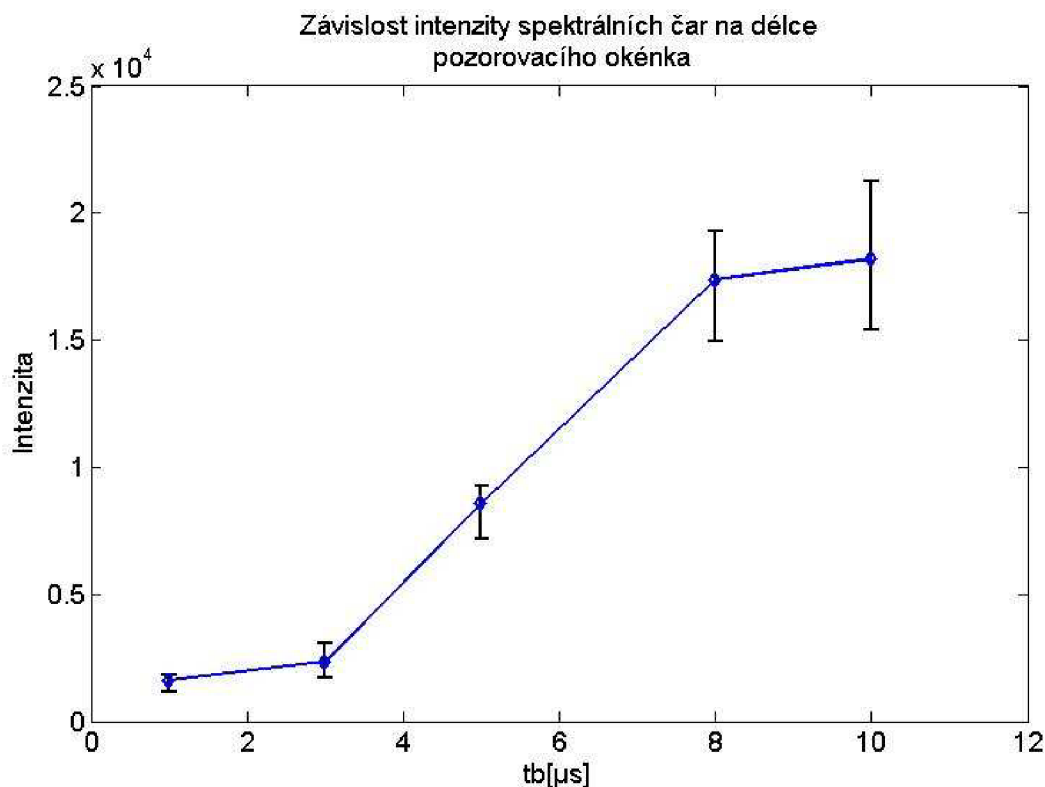
#### 4.3.2 Závislost intenzity spektrálních čar na délce pozorovacího okénka

Pro zkoumání vlivu délky pozorovacího okénka na intenzitu spektrálních čar byl opět použit stejný vzorek jako u předchozích měření. Energie ablačního pulzu byla konstantně nastavena na  $32 \text{ mJ}$ , zpoždění pozorovacího okénka bylo nastaveno na  $1 \mu\text{s}$ , zesílení spektrometru MCP bylo nastaveno na 100. Intenzita čar byla postupně měřena pro délku pozorovacího okénka  $tb = 1, 3, 5, 8$  a  $10 \mu\text{s}$ . Pro každou hodnotu  $tb$  bylo provedeno pět měření a průměrná hodnota s rozptylem je vynesena do grafu 5.

Jak je z grafu patrné pro rostoucí délku pozorovacího okénka se zvyšuje naměřená intenzita. Intenzita, naměřená pro čas  $tb = 10 \mu\text{s}$ , je pro spektroskopická měření rostlin naprosto dostačující.



## 4. Stanovení optimálních experimentální parametrů pro laserovou spektrometrii vybraných vzorků rostlin



Graf 5 Závislost intenzity spektrální čáry na délce pozorovacího okénka.

### 4.4 Mapa rozložení zkoumaného prvku

#### 4.4.1 Návrh postupu pro analýzu rozměrných vzorků s vysokým prostorovým rozlišením

Vzorek, který chceme analyzovat přilepíme na držák vzorku a ten umístíme do interakční komory na manipulátor. Pro samotnou analýzu využijeme program LIBS3D a Solis. Nejprve zvolíme oblast měření, opakovaným klikáním do levého zobrazení z komory v programu LIBS3D posouváme vzorek a máme možnost si prohlédnout jeho povrch. Všíáme si rozsahu použitelné plochy vzorku a rozostření v závislosti na velikosti posunu. Na základě tohoto pozorování zvolíme počet posunů, rozteč mezi nimi a určíme po kolika posunech se má ostřit. Místo, kam klikneme naposledy, bude místem počátku rastrování. Je třeba si uvědomit, že zadáme-li kladná čísla roztečí mezi krátery, vzorek se bude posouvat v kladném směru os. Z pohledu kamery tedy budou vznikat krátery zprava doleva a ze spodu nahoru. Před samotným spuštěním rastrování zkusíme ještě několikrát zaostřit a případně upravit nastavení ostření (velikost oblasti, frekvenční filtr, velikost filtru atd.) a nastavíme energii ablačního pulzu tak, aby byla optimální pro použitý vzorek. V programu Solis nastavíme počet pulzů, pro které chceme provést analýzu, podle vzorku nastavíme zpoždění a délku pozorovacího okénka a zesílení ICCD kamery MCP. Tlačítkem spustit sken spustíme rastrování vzorku. Program Solis na každé pozici zaznamená spektrální čáry. Naměřená data je možné uložit jako ASCII soubor, to nám umožňuje pozdější zpracování a vytvoření mapy rozložení sledovaného prvku ve vzorku.

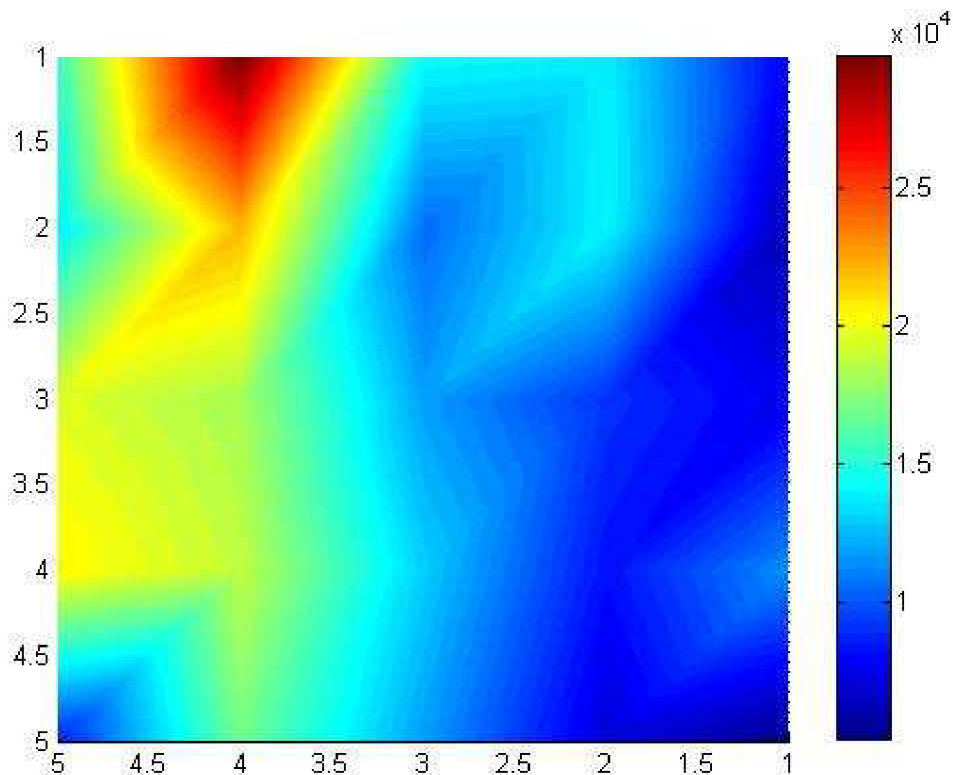
#### 4.4.2 Vytvoření mapy zkoumaného prvku

Pro zjištění rozložení pozorovaného prvku v listu kukuřice využijeme všechny výše zmíněná nastavení. energii ablačního pulzu nastavíme na 32 mJ, zpoždění pozorovacího okénka na 1  $\mu$ s, délku pozorovacího okénka na 10  $\mu$ s. Zesílení spektrometru MPC nastavíme na 150. Program necháme ostřit na každém kráteru. Na obr. 26 vidíme rastr na listu kukuřice. Rozteč mezi krátery je 0,5 mm, rozteč rastru je 5x5 kráterů. Na listu je jasně patrná centrální žilka, za povšimnutí stojí, že žilka neprochází rovnoběžně se sloupci rastru, tento fakt je potom patrný na mapě rozložení intenzit píků stříbra v tomto vzorku.



**Obr. 26:** Rastr 5x5 na listu kukuřice. Značka na obrázku odpovídá 1 mm.

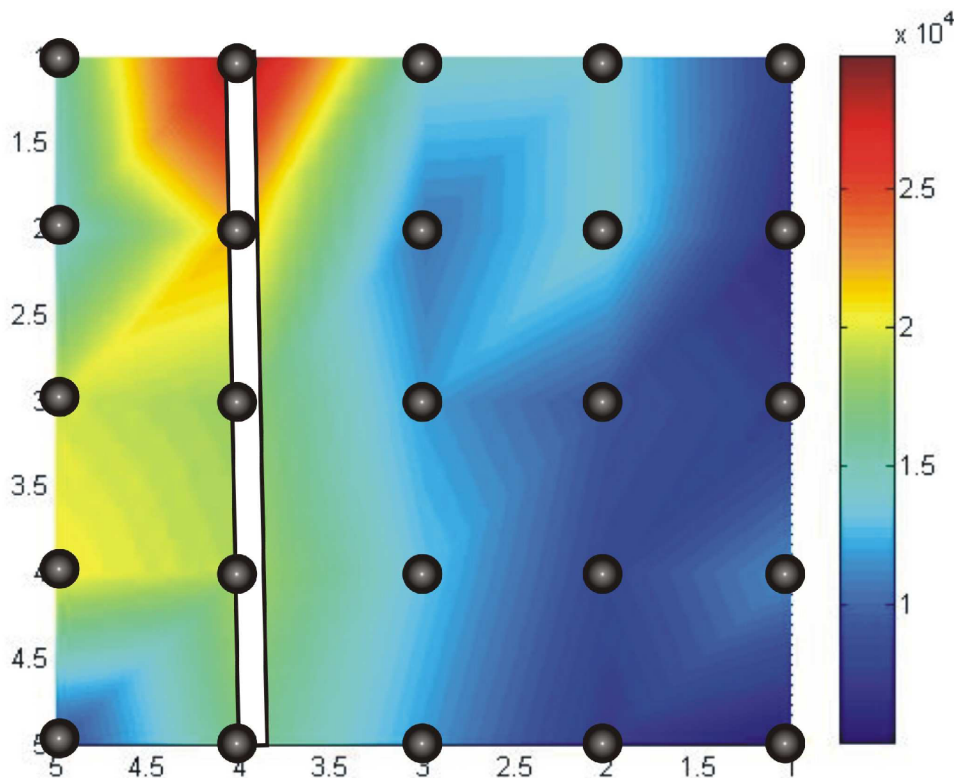
Na obr. 27 je mapa rozložení intenzit stříbra v listu kukuřice. Předpokládáme-li, že vyšší intenzita znamená větší obsah stříbra v dané oblasti, může nám následující obrázek posloužit k určení rozložení stříbra v listu kukuřice. Nezískáme tak sice informace o jeho množství, ale můžeme sledovat relativní změnu oblast od oblastí. Na vertikální i horizontální ose je vynesena vzdálenost, jedna jednotka na osách odpovídá 0,5 mm.



**Obr. 27:** Mapa rozložení stříbra v listu kukuřice. Jedna jednotka na horizontální i vertikální ose odpovídá 0,5 mm.

#### 4. Stanovení optimálních experimentální parametrů pro laserovou spektrometrii vybraných vzorků rostlin

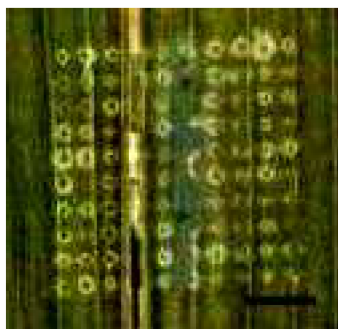
Pozorováním obr. 26 a obr. 27 získáme pro rozložení intenzit vysvětlení. Sledujeme-li polohu centrální žilky a polohy kráterů je patrné, že v místě nejvyšší intenzity došlo ke vzniku ablačního kráteru přímo na centrální žilce. Protože ale centrální žilka není rovnoběžná se sloupci rastru, další krátery ji nezasáhly přímo, ale pouze okrajově, což způsobilo pokles intenzity. Přibližná poloha kráterů a centrální žilky je znázorněna na obr. 28. Je tedy patrné, že v listech kukuřice se stříbro hromadí zejména v žilním systému. Abychom mohli toto tvrzení prokázat, je však nutné provést pokus s větším rozlišením a na větší ploše. Je-li náš předpoklad správný, měla by být na mapě rozložení stříbra v listu kukuřice patrná žilní struktura listu (protože je žilní struktura listu kukuřice velmi jemná, očekáváme že budeme pozorovat alespoň centrální žilku).



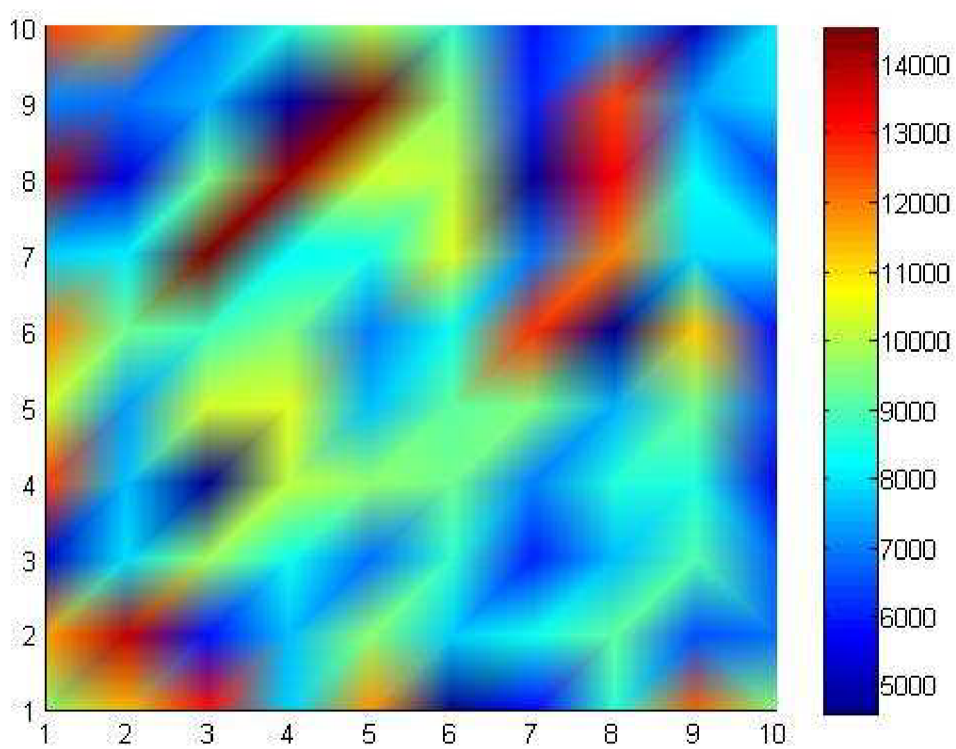
**Obr. 28:** Mapa rozložení stříbra v listu kukuřice s vyznačenými místy měření a centrální žilkou. Jedna jednotka na horizontální i vertikální ose odpovídá 0,5 mm.

Na obr. 29 je rastr na listu kukuřice. Rozteč mezi krátery je 0,4 mm a rozměr rastru je  $10 \times 10$  kráterů. Rozlišení i zkoumaná oblast tedy oproti předchozímu měření vzrostly. Oproti předpokladu však na obr. 30 nepozorujeme výraznou žilní strukturu. To může být způsobeno tím, že došlo k částečnému poškození centrální žilky. Krátery, centrální žilka a dvě vedlejší žilky jsou vyznačeny na obr. 31. Porovnáním obr. 29 s obr. 31 vidíme, že k výrazný pokles intenzity v oblasti centrální žilky pozorujeme na místech, kde došlo k poškození vzorku. Dále si můžeme všimnout vyšší intenzity pro obě vedlejší žilky, které se podařilo zasáhnout.

Toto měření tedy potvrdilo náš předpoklad o hromadění stříbra hlavně v žilním systému kukuřice.



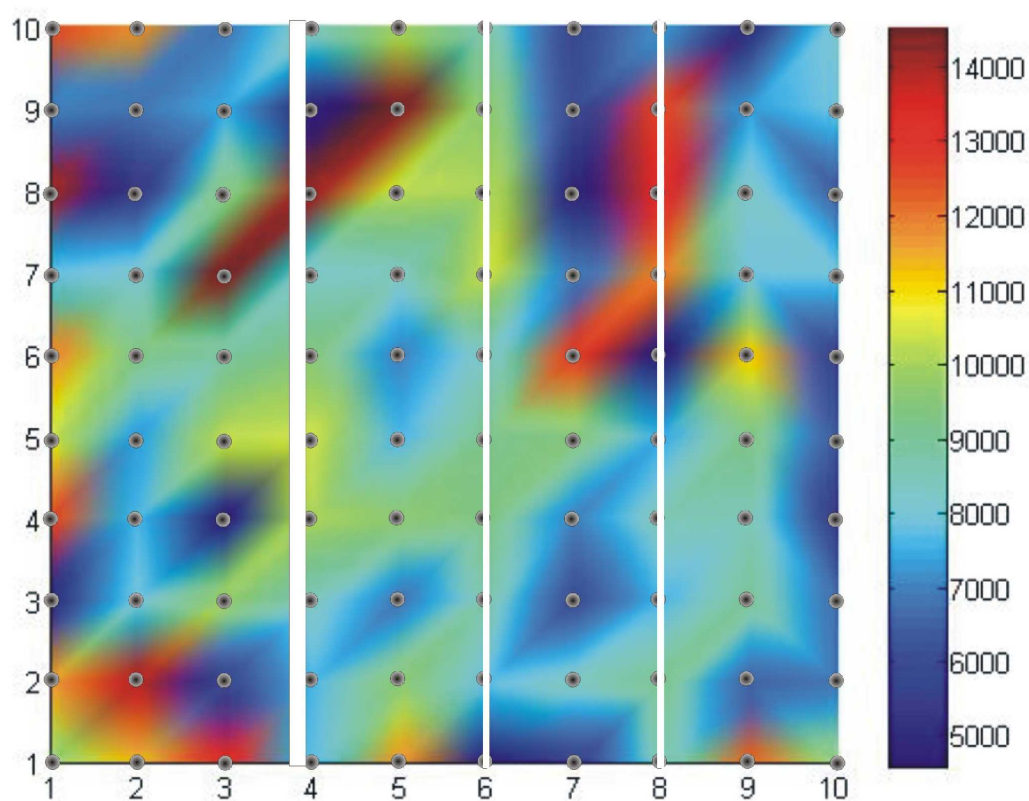
**Obr. 29** Rastr 10x10 na listu kukuřice. Značka na obrázku odpovídá 1 mm.



**Obr. 30** Mapa rozložení stříbra v listu kukuřice. Jedna jednotka na horizontální i vertikální ose odpovídá 0,4 mm.

#### 4. Stanovení optimálních experimentální parametrů pro laserovou spektrometrii vybraných vzorků rostlin

---



**Obr. 31** Mapa rozložení stříbra v listu kukuřice s vyznačenými místy měření a centrální žilkou. Jedna jednotka na horizontální i vertikální ose odpovídá 0,4 mm.

---

## Kapitola 5

### Závěr

Cílem diplomové práce bylo stanovení optimálních experimentálních parametrů pro laserovou spektroskopii vybraných vzorků rostlin a návrh postupu a dílčí úpravy aparatury LIBS pro analýzu rozměrných vzorků (řádově  $\text{cm}^2$ ) s vysokým prostorovým rozlišením.

Určení optimálních parametrů bylo prováděno empiricky. Za účelem urychlení a usnadnění měření (obzvláště rozměrných vzorků) jsem vytvořil program s pracovním názvem LIBS3D pomocí kterého byla všechna měření provedena. Hlavním úkolem programu bylo spojit automatické ostření a automatický posuv vzorku. Tyto úkoly program bez problému plní, navíc označuje místo dopadu laserového svazku na vzorek záměrným křížem a umožňuje jednoduchý posuv vzorku pomocí přímého klikání do obrazu. Ovládání celého programu je velmi intuitivní a program je opatřen přehlednou nápovědou. Optimální experimentální parametry jsou takové, při kterých získáme pokud možno co nejlepší rozlišení (tedy co nejmenší ablační krátery) a přitom co nejsilnější signál. Pro každý parametr, který hraje v laserové spektroskopii roli, byla provedena série měření a na jejím základě byla určena optimální hodnota. Konkrétní zkoumané závislosti:

- 1) Velikosti ablačního kráteru na energii ablačního pulzu.
- 2) Intenzita pozorované spektrální čáry na energii ablačního kráteru.
- 3) Intenzita pozorované spektrální čáry na zpoždění pozorovacího okénka.
- 4) Intenzita pozorované spektrální čáry na délce pozorovacího okénka.

Závislost velikosti ablačního kráteru na energii ablačního pulzu byla testována na listu kukuřice. Byla provedena řada měření s různými energiemi ablačních pulzů a byly vyhodnoceny velikosti vzniklých ablačních kráterů. Bylo zjištěno, že při vysokých energiích ablačních pulzů dochází k poškození vzorku. Zejména na centrální žilce může nepřiměřeně velká energie způsobit devastaci vzorku. Jako optimální se ukázaly energie v rozmezí 24 - 56 mJ.

Závislost intenzity pozorovaného spektra na energii ablačního pulzu je vynesena v grafu 3. Podle očekávání s rostoucí energií ablačního pulzu roste i intenzita spektra. Požadujeme-li co největší prostorové rozlišení, musíme najít kompromis mezi velikostí ablačního kráteru a intenzitou spektra. Hledáme tedy takovou energii ablačního pulzu, pro kterou vznikne co nejmenší kráter, ale intenzita spektra bude dostatečná pro spektrometrická měření. Z měření se jako nejvhodnější jeví energie ablačního pulzu od 28 do 56 mJ.

Dalším faktorem ovlivňujícím intenzitu naměřeného spektra je zpoždění pozorovacího okénka. Z obr. 2 je patrné, že čím menší bude zpoždění pozorovacího okénka, tím silnější získáme signál, ale tím větší bude kontinuální pozadí způsobené brzdným zářením a rekombinací. Chceme-li získat pouze ostré čáry jednou ionizovaných atomů, je nutné zvolit vhodné zpoždění pozorovacího okénka. Byla provedena série měření pro pět různých časů. Jako optimální byl vyhodnocen čas 1  $\mu\text{s}$ .

Závislost intenzity spektrálních čar na délce pozorovacího okénka je vynesena do grafu 5. Je zřejmé, že čím delší bude pozorovací okénko, tím silnější signál získáme. Intenzity jsme měřili pro pět různých délek pozorovacího okénka od 1 do 10  $\mu\text{s}$ . Pro vzorky rostlin, ve kterých zkoumáme pouze stopová množství látek, je vhodné mít co nejdelší čas pozorovacího okénka. Jako vhodný se ukázal čas v rozmezí 8 - 10  $\mu\text{s}$ .

Abychom prokázali, že navržené parametry jsou pro analýzu rostlin opravdu optimální a že program je skutečně funkční, provedli jsme měření rozložení stříbra v listu kukuřice.

Energii ablačního pulzu jsme nastavili na 32 mJ, zpoždění pozorovacího okénka na 1  $\mu\text{s}$  a délku pozorovacího okénka na 10  $\mu\text{s}$ . Počet kráterů ve směru *Y* i *Z* jsme nastavili na 5 resp. 10, rozteč mezi krátery jsme nastavili na 0,5 resp. 0,4 mm. Program jsme nechali ostřit na každé pozici. Výsledkem je mapa rozložení stříbra v listu kukuřice (obr. 27 a obr. 30). Z mapy můžeme usuzovat, že stříbro se ukládá zejména v žilním systému listů kukuřice.

---

## Literatura

- [1] ECKERTO VÁ, Ludmila, et al. *Metody analýzy povrchů: elektronová mikroskopie a difrakce*. 1. vyd. Praha: Academia, 1996. 379 s. ISBN 80-200-0329-0.
- [2] FRANK, Luďek, et al. *Metody analýzy povrchů: iontové, sondové a speciální metody*. Praha: Academia, 2002. 489 s. ISBN 80-200-0594-3.
- [3] CREMERS, David, RADZIEMSKY, Leon. *Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*. 2002. Qualitative LIBS Analysis.
- [4] MIROV, Sergey, PITT, Bob. Novel laser breakdown spectrometer provides multi-element analysis for environmental monitoring. *OE Reports* [online]. 1999, vol. 16, no. 189 [cit. 2008-04-20], s. 1-20. Dostupný z WWW: <[www.phy.uab.edu](http://www.phy.uab.edu)>.
- [5] MIZIOLEK, A.; PALLESCHI, V.; SCHECTER, I.: *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) Fundamentals and Applications*. Cambridge University Press, 2006, ISBN:978-0-521-85274-6
- [6] GRIEM, Hans. *Principles of Plasma Spectroscopy*. Cambridge University Press. Velká Británie : Press Syndicate of the University of Cambridge, 1997. ISBN 0521455049. Rozšíření spektrálních čar, s. 265-273.
- [7] *LASER-INDUCED BREAKDOWN SPECTROSCOPY* [online]. 2000- [cit. 2008-04-29]. Dostupný z WWW: <<http://www.libsresources.com/>>.
- [8] ELTON, R.C.: *X-Ray lasers*. Academic Press Inc., New York, 1990.
- [9] NOVOTNÝ, J. *Návrh systému pro automatické nastavení vzorku do ohniskové vzdálenosti objektivu v sestavě laserové spektroskopie*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2007. 53 s. Vedoucí diplomové práce doc. Ing. Jozef Kaiser, Ph.D.
- [10] GALIOVÁ, M.; KAISER, J.; NOVOTNÝ, K.; NOVOTNÝ, J.; VACULOVÍČ, T.; LIŠKA, M.; MALINA, R.; STEJSKAL, K.; ADAM, V.; KIZEK, R.: *Investigation of heavy-metal accumulation in selected plant samples using Laser Induced Breakdown Spectroscopy and Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*. (Přijato k publikaci v Applied Physics B).
- [11] LIBERTY, Jesse. *C++ za 21 dní*. 1. vyd. Praha: Computer Press, 2002. 757 s. ISBN 80-7226-774-4.