

MOŽNOSTI A VYUŽITÍ LASEROVÉ ŘÁDKOVACÍ KONFOKÁLNÍ MIKROSKOPIE POSSIBILITIES AND APPLICATIONS OF LASER SCANNING CONFOCAL MICROSCOPY

Ludmila Skálová – Hana Staňková – Bohuslav Mašek

**Západočeská univerzita v Plzni, Výzkumné centrum FORTECH, Univerzitní 8,
306 14 Plzeň**

Abstrakt

V příspěvku jsou popsány různé aplikace laserového řádkovacího konfokálního mikroskopu Olympus LEXT OLS 3000. Výhody konfokálního mikroskopu byly využity pro charakterizaci mikrostruktury velmi jemných multifázových ocelí s vysokou pevností. Z těchto ocelí byly vyrobeny miniaturní zkušební vzorky pro zkoušku rázem v ohybu, jejichž tvar a rozměry byly kontrolovány pomocí trojrozměrného modelu povrchu získaného na LEXTu. Díky trojrozměrnému obrazu skutečného reliéfu povrchu bylo možné sledovat také lomovou plochu těchto vzorků po destrukci. Software konfokálního mikroskopu umožňuje rovněž stanovení drsnosti povrchu. Tato možnost byla využita na příkladu srovnávacího měření drsnosti plechů s různou úpravou povrchu.

1. Úvod

Mikroskopy a mikroskopické techniky prošly dlouhým vývojem, který se v posledních letech výrazně zrychluje. Možnosti mikrostrukturní analýzy byly v nedávné době rozšířeny s nástupem nové generace moderních mikroskopů, mezi něž patří také laserový řádkovací konfokální mikroskop (LSCM). První konfokální mikroskop byl sestaven pro biologické aplikace již v roce 1967, ale až s nástupem laserových zdrojů bylo možné zkombinovat konfokální princip s dostatečně výkonným zdrojem osvětlení a vytvořit tak mikroskop, který kombinuje některé výhody světelné a elektronové mikroskopie. Konfokální mikroskopy nachází v současné době široké uplatnění nejen v biologii, ale také v celé řadě dalších oborů jako je např. textilní průmysl, hutnictví, elektrotechnika nebo strojírenství. Tento článek je věnován příkladům několika materiálových problémů, které byly řešeny s pomocí konfokálního mikroskopu OLYMPUS LEXT OLS 3000.

Mikroskop LEXT umožňuje pozorování v režimu světelného mikroskopu se zvětšením do 2400x, nebo v konfokálním režimu se zvětšením do 14400x. V režimu světelného mikroskopu lze získat klasické dvourozměrné snímky ve skutečných barvách, zatímco v konfokálním režimu lze získat i trojrozměrné zobrazení povrchu, ale pouze ve stupních šedi. Do zvětšení 2400x lze přes sebe přeložit barevný obraz získaný světelným mikroskopem a konfokální obraz. Trojrozměrné obrazy povrchu lze vytvářet díky tomu, že laserový paprsek v konfokálním režimu proskenováá sadu optických řezů v ose „z“ a tyto řezy jsou potom softwarově poskládány. LEXT je rovněž vybaven softwarem pro vyhodnocování obrazu, který umožňuje aplikaci většiny základních funkcí obrazové analýzy na dvourozměrné snímky. Pomocí softwaru lze provádět různá stereometrická měření na trojrozměrných obrazech povrchu. Tyto 3D rekonstrukce povrchu lze zobrazovat buď ve formě drátěného modelu nebo sdruženého prostorového zobrazení.

Ve srovnání s již zmiňovanou řádkovací elektronovou mikroskopií je výhodou LSCM, že nevyžaduje speciální přípravu vzorků. S pomocí konfokálních mikroskopů lze pozorovat metalografické výbrusy, lomové plochy a neupravené povrchy. Pozorované vzorky nemusí být vodivé, a je proto možné přímo zkoumat i plasty, jíly, pórovité materiály atd.

2.1. Příklady využití konfokální mikroskopie

Jedním z nejdůležitějších úkolů mikroskopie je charakterizace a analýza mikrostruktury, kde lze při větších zvětšeních využít i prostorových snímků naleptaných metalografických výbrusů. Tyto 3D snímky pomáhají v identifikaci fází, protože různá výška jednotlivých oblastí výbrusu vypovídá o leptatelnosti jednotlivých fází a strukturních složek. Například u komplexní mikrostruktury nízko legovaných, vysoce pevných TRIP (transformation induced plasticity) ocelí, lze takto po vhodném leptání zviditelnit zbytkový austenit (Obr. 1). Vhodný podíl zbytkového austenitu ve struktuře je přitom velmi důležitý pro dosažení dobrých mechanických vlastností těchto ocelí. Software konfokálního mikroskopu umožňuje označit oblasti s definovanou výškou nad rovinou výbrusu a přímo stanovit plošný podíl těchto oblastí. Tento software však neumožňuje ruční úpravy označených oblastí, ani použití funkcí běžných v programech obrazové analýzy (eroze, dilatace, apod.)

V případě problémů s jednoznačným definováním vybraných oblastí lze kombinovat konfokální mikroskopii se specializovanými softwary obrazové analýzy. V uvedeném případě TRIP oceli byl použit program Lucia, ve kterém byl vyhodnocován plošný podíl zbytkového austenitu TRIP oceli na snímcích získaných konfokálním mikroskopem. Oproti světelné mikroskopii bylo možno vyhodnocovat snímky zcela ostré a s dostatečným rozlišením, přestože velikost vyhodnocovaných ostrůvků se pohybovala v řádech jen několika mikronů. Konfokální mikroskop umožňuje pracovat s intenzitním nebo výškovým obrazem mikrostruktury. Oby typy obrazu byly využity k vyhodnocování v programu Lucia (Obr. 2, Obr. 3). Ukázalo se, že výškový obraz je pro tento typ úkolů vhodnější, protože díky většímu barevnému kontrastu mezi vystupujícími ostrůvkami a matricí bylo dosaženo vyšší přesnosti prahování [1]. Intenzitní obraz je na druhé straně lépe čitelný a vhodnější pro dokumentaci mikrostruktury.

Prostorové zobrazení pozorovaných povrchů lze využít pro velkou řadu aplikací. Jako příklad lze uvést kontrolu geometrie a kvality povrchu vrubu na miniaturním vzorku pro zkoušku rázem v ohybu. Vzorek byl vyroben z vysoce pevné oceli a bylo nutné ověřit, zda byly při výrobě dodrženy rozměry a jakost požadované normou. Po proskenování vrubu byla na trojrozměrném zobrazení (Obr. 4) kontrolována jeho hloubka, radius dna a drsnost stěn. Po přeražení vzorku byla na konfokálním mikroskopu analyzována i lomová plocha (Obr. 5, Obr. 6).

Na konfokálním mikroskopu lze pozorovat i nekovové povrchy, které nejsou zcela tuhé, jak dokazuje analýza vrstvy maziva naneseného na povrch tvářecího nástroje (Obr. 7). Několik druhů maziva bylo nanášeno štětcem různým způsobem a v různém počtu vrstev. Na prostorových modelech povrchu pak byl vyhodnocován charakter, výška vrstvy a profil vrstvy.

Software konfokálního mikroskopu má i speciální modul pro vyhodnocování drsnosti povrchů. Pomocí něho bylo provedeno srovnávací měření drsnosti povrchu dvou různě zpracovaných plechů [2]. Drsnost byla u obou plechů vyhodnocena klasickým mechanickým a optickým profilometrem a poté pomocí konfokálního mikroskopu (Obr. 8). Z výsledků vyplývá, že konfokální mikroskopie je vhodná i pro

určování drsnosti. Podmínkou je však správná volba objektivu vzhledem k absolutnímu stupni drsnosti měřené plochy.

3. Závěr

Konfokální mikroskop je vhodným nástrojem pro mikrostrukturní analýzu strojírenských materiálů. Při kvantifikaci mikrostruktury je vhodné kombinovat jeho možnosti se speciálním softwarem pro obrazovou analýzu. Díky trojrozměrným obrazům povrchu lze konfokální mikroskop využít také pro kontrolu geometrie a kvality velmi malých předmětů, k analýze lomových ploch a povrchů, a to i u nekovových materiálů. K dalším výhodám konfokální mikroskopie patří jednoduché ovládání mikroskopu a snadná příprava vzorků. Určitou nevýhodou na druhé straně je, že nelze zobrazovat oblasti rovnoběžné s dopadajícím laserovým svazkem a že je obtížné pozorovat zcela průhledné materiály.

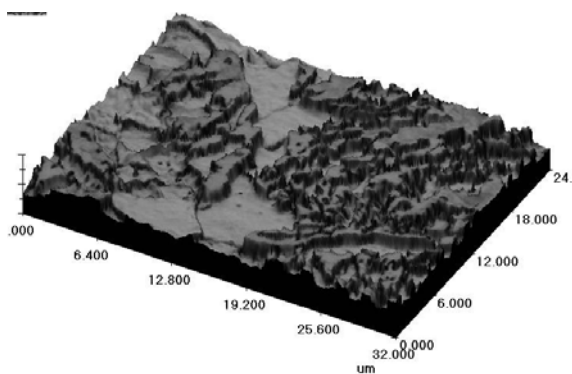
Literatura

[1] Skálová, Ludmila; Staňková, Hana; Mašek, Bohuslav: Advantages of laser confocal microscopy in microstructure analysis of TRIP steel. Focus on Microscopy - FOM 2007, Valencia, Spain, April 2007, s.199.

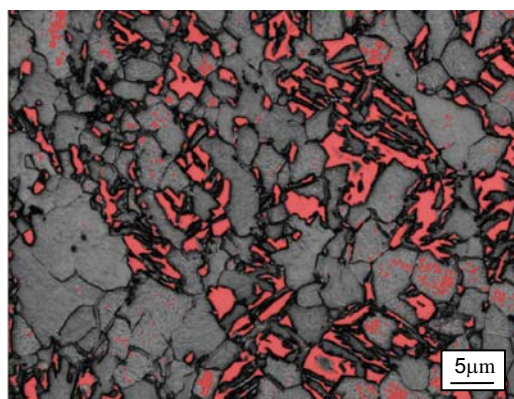
[2] Mašek, Bohuslav; Skálová, Ludmila; Staňková, Hana; Lampke, Thomas: Měření drsnosti pomocí laserového konfokálního mikroskopu Olympus LEXT OLS 3000, Kovárenství, 2007.

Poděkování

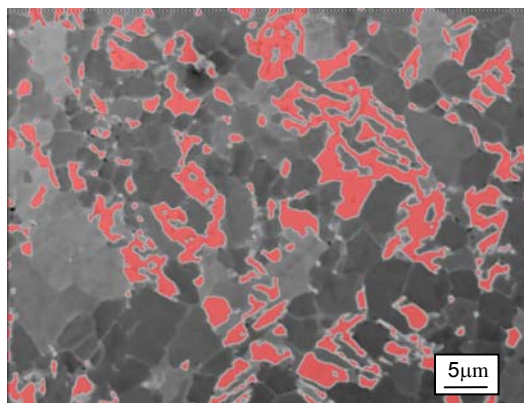
Tento článek obsahuje výsledky získané v rámci grantu 1M06032 Výzkumného centra tvářecích technologií.



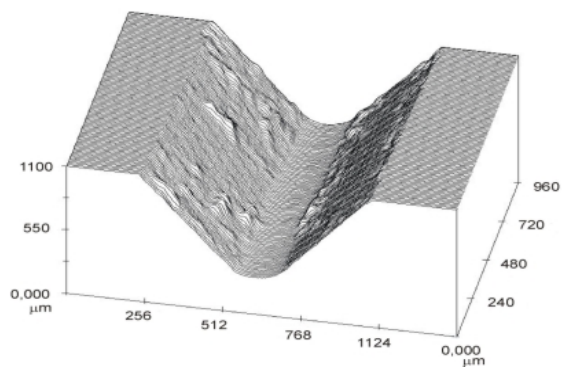
Obr. 1 3D sdružený prostorový model na příkladu feriticko-bainitické mikrostruktury.



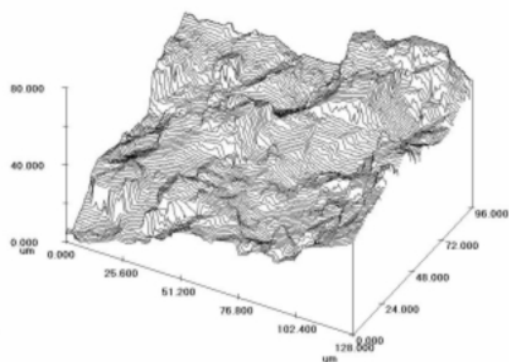
Obr. 2 Intenzitní obraz mikrostruktury TRIP oceli s problematicky prahovatelným zbytkovým austenitem.



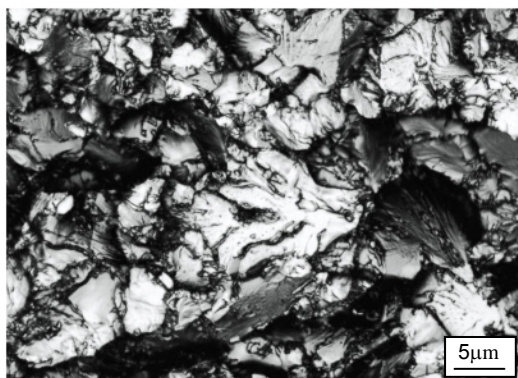
Obr. 3 Výškový obraz mikrostruktury TRIP oceli s čistě naprahaným zbytkovým austenitem.



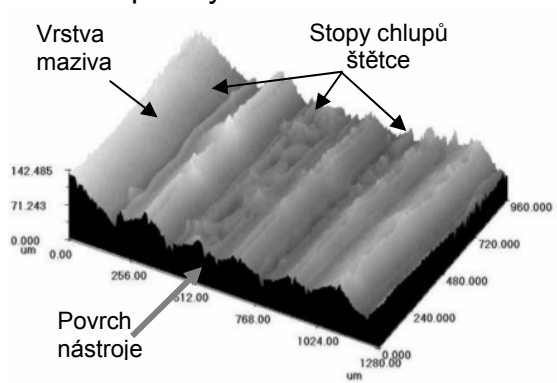
Obr. 4 3D zobrazení detailu vrubu



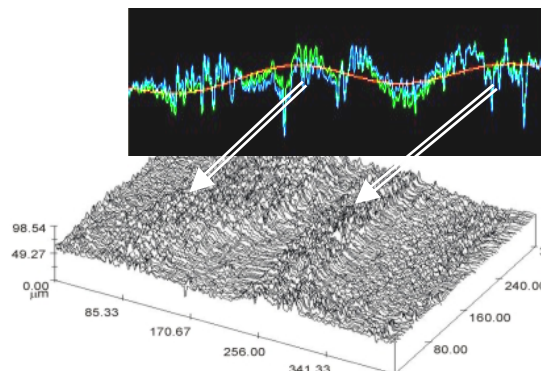
Obr. 5 3D drátěný model reliéfu lomové plochy



Obr. 6 Lomová plocha s detaily křehkých faset.



Obr. 7 Vrstva maziva nanášená štětcem na povrch tvářecího nástroje.



Obr. 8 Válcovaný povrch a jeho povrchový reliéf.

Tab. 1 Hodnoty Ra ze srovnávacího měření drsnosti.

Vzorek	Linie	Optický profilometr	Mechanický profilometr	Konfokální mikroskop / Objektiv		
				10-krát	20-krát	50-krát
Zpracování I.	x	11,77	12,48	12,21	6,04	2,66
	y	9,19	8,27	7,41	5,11	3,95
Zpracování II.	x	9,79	9,76	11,32	3,41	3,63
	y	8,71	9,05	9,14	3,65	2,25