



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION

## ÚSTAV ELEKTROTECHNOLOGIE

DEPARTMENT OF ELECTRICAL AND ELECTRONIC TECHNOLOGY

## RAMANOVA SPEKTROSKOPIE PRO VÝUKU

RAMAN SPECTROSCOPY TEACHING EQUIPMENT

### DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Zdeněk Indra

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Pavel Škarvada, Ph.D.

BRNO 2021

# Diplomová práce

magisterský navazující studijní program **Elektrotechnická výroba a management**

Ústav elektrotechnologie

**Student:** Bc. Zdeněk Indra

**ID:** 197642

**Ročník:** 2

**Akademický rok:** 2020/21

**NÁZEV TÉMATU:**

## Ramanova spektroskopie pro výuku

**POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:**

Cílem práce je navržení a sestavení systému nízkorozpočtové varianty Ramanovy spektroskopie pro účely laboratorní výuky magisterského předmětu. V rámci studentského systému je důležitá primárně jednoduchost, bezpečnost a schopnost demonstrace Stokesova rozptylu na tekutých vzorcích.

**DOPORUČENÁ LITERATURA:**

Literatura – dle pokynů vedoucího

**Termín zadání:** 8.2.2021

**Termín odevzdání:** 24.5.2021

**Vedoucí práce:** Ing. Pavel Škarvada, Ph.D.

**doc. Ing. Petr Bača, Ph.D.**  
předseda rady studijního programu

**UPOZORNĚNÍ:**

Autor diplomové práce nesmí při vytváření diplomové práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

## **Abstrakt**

Tato diplomová práce se zabývá principem Ramanova jevu a funkcí Ramanova spektrometru za účelem sestavení nízkorozpočtové sestavy Ramanova spektrometru pro školní laboratorní výuku. V práci jsou uvedeny jednotlivé důležité části zařízení a jsou popsány jejich klíčové vlastnosti. Následně je diskutován výběr jednotlivých komponent a je proveden základní experiment ověřující princip tohoto spektrometru. Ve finální části je díky získaným poznatkům sestaven a otestován nízkorozpočtový Ramanův spektrometr.

## **Klíčová slova**

Raman, Ramanova spektroskopie, spektrometrie, analýza, laser, světlo

## **Abstract**

This thesis examines the principle of the Raman phenomenon and the function of the Raman spectrometer in order to build a low-cost Raman spectrometer assembly for school laboratory teaching. The thesis lists the important parts of the device and describes their key features. Subsequently, the selection of each component is discussed and a basic experiment is performed to verify the principle of this spectrometer. In the final part, a low-cost Raman spectrometer is constructed and tested thanks to the knowledge gained.

## **Keywords**

Raman, Raman spectroscopy, spectrometry, analysis, laser, light

## **Bibliografická citace**

INDRA, Zdeněk. *Ramanova spektroskopie pro výuku* [online]. Brno, 2021 [cit. 2021-5-21]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/134498>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Ústav elektrotechnologie. Vedoucí práce Ing. Pavel Škarvada, Ph.D.

# Prohlášení autora o původnosti díla

<b>Jméno a příjmení studenta:</b>	<i>Bc. Zdeněk Indra</i>
<b>VUT ID studenta:</b>	<i>197642</i>
<b>Typ práce:</b>	<i>Diplomová práce</i>
<b>Akademický rok:</b>	<i>2020/21</i>
<b>Téma závěrečné práce:</b>	<i>Ramanova spektroskopie pro výuku</i>

Prohlašuji, že svou závěrečnou práci jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucí/ho závěrečné práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedené závěrečné práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této závěrečné práce jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

V Brně dne: 21. květen 2021

-----  
podpis autora

## **Poděkování**

Děkuji vedoucímu práce Ing. Pavlovi Škarvadovi, Ph.D. za výbornou metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a další cenné rady při zpracování této diplomové práce.

V Brně dne: 21. května 2021

-----  
podpis autora

# Obsah

<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>8</b>
<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>9</b>
<b>ÚVOD .....</b>	<b>10</b>
<b>1. RAMANŮV JEV .....</b>	<b>11</b>
1.1 PRINCIP RAMANOVA JEVU.....	11
1.2 VYUŽITÍ RAMANOVA JEVU.....	14
<b>2. RAMANŮV SPEKTROMETR.....</b>	<b>15</b>
2.1 ZÁKLADNÍ SCHÉMA A FUNKCE .....	16
2.2 ZDROJE EXCITAČNÍHO ZÁŘENÍ.....	17
2.3 OPTICKÉ FILTRY .....	18
2.4 DETEKTORY .....	21
<b>3. ZKOUŠKA SESTAVY RAMANOVA SPEKTROMETRU.....</b>	<b>24</b>
3.1 ZDROJ EXCITAČNÍHO ZÁŘENÍ.....	24
3.2 USPOŘÁDÁNÍ.....	26
3.3 FILTRY .....	27
3.4 DETEKTOR.....	28
3.5 VHODNÉ VZORKY .....	30
3.6 CENOVÝ ODHAD.....	30
3.7 EXPERIMENT .....	31
3.8 EXPERIMENT Č.2 .....	35
<b>4. NÁVRH A KONSTRUKCE RAMANOVA SPEKTROMETRU .....</b>	<b>37</b>
4.1 CHLADÍCÍ BOX.....	38
4.2 SOFTWARE RAŠPEC.....	41
4.3 OPTICKÝ SYSTÉM .....	47
<b>5. TESTOVACÍ MĚŘENÍ VZORKŮ.....</b>	<b>52</b>
<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>57</b>
<b>ZDROJE .....</b>	<b>58</b>
<b>SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>60</b>

# SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 - Ukázka spektra ze Stokesova rozptylu roztoku naftalenu, benzenu a tetrachlormetanu [1] ...	11
Obrázek 2 - Druhy rozptýlení záření ve hmotě [2] .....	13
Obrázek 3 - Ukázka výsledného grafu Ramanova posunu [3] .....	14
Obrázek 4 - C. V. Raman se svým spektrometrem [4] .....	15
Obrázek 5 - Zjednodušené schéma Ramanova spektrometru v 90° uspořádání [5] .....	16
Obrázek 6 - Schéma Ramanova spektrometru v 180° uspořádání [6] .....	17
Obrázek 7 - Příklad filtrů pro měření Stokesova i anti-Stokesova rozptylu [5] .....	19
Obrázek 8 - Příklad filtrů pro měření anti-Stokesova rozptylu [5] .....	19
Obrázek 9 - jakostní filtr FELH0550 [7] .....	20
Obrázek 10 - Filtr FGL550 [7] .....	20
Obrázek 11 - Zjednodušené schéma fotonásobiče [8] .....	21
Obrázek 12 - Fotografie kamerového CCD čipu [9] .....	23
Obrázek 13 - Modulový laser G50A .....	25
Obrázek 14 - Uspořádání spektrometru .....	26
Obrázek 15 - Vzorková část s filtrem a sběrnou optikou .....	27
Obrázek 16 - Naměřené spektrum .....	32
Obrázek 17 - Vyznačený Ramanův posun .....	33
Obrázek 18 - Sběrná čočka nad vzorkem .....	35
Obrázek 19 - Ramanovo spektrum acetonu z experimentu č.2 .....	36
Obrázek 20 - Ramanovo spektrum vody z experimentu č.2 .....	36
Obrázek 21 - Hotová sestava .....	37
Obrázek 22 - Chladicí systém spektrometru v rámu .....	39
Obrázek 23 - Porovnání vlivu teploty na termoelektrický šum .....	40
Obrázek 24 - Funkční blokové schéma programu .....	41
Obrázek 25 - Část uživatelského prostředí RaSpec .....	42
Obrázek 26 - Funkce výpočtu průměru .....	43
Obrázek 27 - Test funkce averaging .....	43
Obrázek 28 - Test vyhlazování .....	44
Obrázek 29 - Test vlivu integrační doby .....	45
Obrázek 30 - Část programu pro odečtení temného spektra .....	47
Obrázek 31 - Vliv odečtení temného spektra .....	47
Obrázek 32 - Pohled řezem optické soustavy .....	48
Obrázek 33 - Paprsek laseru ve vzorkovém prostoru .....	49
Obrázek 34 - Rozptyl laseru v černém tělese .....	50
Obrázek 35 - Vzorková komora s příslušenstvím .....	50
Obrázek 36 - Vzor spektra vody [12] .....	53
Obrázek 37 - Změřené spektrum vody .....	53
Obrázek 38 - Vzor spektra acetonu [13] .....	54
Obrázek 39 - Změřené spektrum acetonu .....	54
Obrázek 40 - Vzorové spektrum ethanolu [14] .....	55
Obrázek 41 - Změřené spektrum ethanolu .....	55
Obrázek 42 - Vzorové spektrum methanolu [15] .....	56
Obrázek 43 - Změřené spektrum methanolu .....	56



# SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1 - Cenový odhad projektu</i> .....	30
<i>Tabulka 2 - Vibrační a energetické stavy acetonu</i> .....	31

# ÚVOD

Ramanova spektroskopie je hojně využívanou spektroskopickou metodou analýzy materiálů. Tato metoda se řadí mezi elektromagnetické spektroskopie a ke své funkci využívá Ramanova jevu. Samotné zařízení využívající Ramanův jev se nazývá Ramanův spektrometr a existuje v mnoha formách od malých ručních přístrojů až po velká vědecká zařízení, která umožňují nedestruktivně zkoumat přesná složení a další vlastnosti nejrůznějších látek. Najdou využití například ve forenzní chemii, při analýze drog a farmaceutik, historických barev a inkoustů, ale obecně kdekoli, kde je třeba znát přesné složení zkoumaného vzorku, nebo je zkoumán chemický proces.

Takové zařízení ale bývá finančně velmi nákladné kvůli komplexní konstrukci a využití specializovaných optických systémů k dosažení co nejvyšší přesnosti měření vzorků. Ceny špičkového spektrometru se pak běžně pohybují od stovek tisíc až do několika milionů korun. Samotná funkce Ramanova spektrometru je ale v základním principiálním pojetí jednoduchá, a pokud se vzdáme analytické přesnosti a pokusíme se přístroj zjednodušit na minimum částí, pak je teoreticky možné sestrojít relativně levný Ramanův spektrometr jakožto demonstrátor fyzikálního principu Ramanova jevu například pro účely školní laboratorní výuky.

Hlavními body této práce je seznámit čtenáře s objevem Ramanova jevu a s jeho fyzikálními principy. Dále popsat funkce kritických částí spektrometru a zjistit, jaké jsou používány kritické součásti a návrhy v daném zařízení, a jak je takový spektrometr konstruován. Získané poznatky jsou pak dále aplikovány pro experiment, teoretický návrh a konstrukci nízkorozpočtového Ramanova spektrometru, kde je popsána samotná stavba, pracovní úkony potřebné pro realizaci zařízení, a i odhadovaný rozpočet.

# 1. RAMANŮV JEV

Chandrasekhara Venkata Raman by indickým vědcem, který se zasloužil o Nobelovu cenu v roce 1930 díky jeho průkopnické práci v oblasti rozptylování světla. Spolu se svým studentem Sirem Kariamanikkamem Srinivasa Krishnanem v roce 1928 totiž zjistil fakt, že pokud světlo dopadne na povrch, nebo prostoupí materiálem, tak malá část rozptýleného světla změní svou vlnovou délku a amplitudu. Tento fenomén byl novým a neznámým typem rozptýlení světelných paprsků a zásadně formoval další vývoj vědy. Existenci tohoto jevu předpověděl rakouský fyzik Adolf Smekal již v roce 1923, ale jeho práce zůstala tehdy bez povšimnutí. Stejný jev byl potvrzen sovětskými fyziky G. S. Landsbergem a L. I. Mandelštamem při rozptylu světla v krystalech. Raman tento efekt původně nazval „modifikované rozptýlení“, ale později se ujal název po jeho objeviteli – Ramanův jev, nebo také rozptyl. Systematickou teorii Ramanova rozptylu pak vypracoval v letech 1930-1934 československý fyzik Georg Placzek nedávno po Ramanově experimentálním objevu. Placzkova práce z roku 1934 je považována za klasickou literaturu v oblasti spektroskopie. Den nalezení tohoto jevu, tedy 28. února 1928, je v Indii každoročně oslavován jako Národní Den vědy.

V praxi se ale Ramanova spektrometrie příliš nevyužívala po dobu sedmdesáti let od objevu kvůli nedostatku vhodné instrumentace. Však s vynálezem laseru kolem roku 1960 a obecně s technologickým pokrokem konce 20. století se Ramanova spektrometrie těšila urychlenému růstu a dnes je jednou z nejpoužívanějších metod analýzy materiálů.

## 1.1 Princip Ramanova jevu

Samotný Ramanův jev, nebo také Ramanův rozptyl vzniká při interakci fotonů dopadajícího světla s vibračními stavy částic v látce, kdy malá část (1 z 10 milionů fotonů) odraženého světla má jinou barvu, vlnovou délku, resp. energii oproti původnímu dopadajícímu záření, viz. *obrázek 1*. Tato část odraženého světla je pak v Ramanově spektrometrii zkoumána a z ní jsou použita užitečná data jako vlnová délka a amplituda, která popisují zkoumané vlastnosti látky. Jako excitační záření běžně používá světlo ve viditelném, až infračerveném spektru.



*Obrázek 1 - Ukázka spektra ze Stokesova rozptylu roztoku naftalenu, benzenu a tetrachlormetanu [1]*

Molekuly se mohou běžně nacházet v různých energetických vibračních hladinách, jejichž nejnižší možný stav je označován vibračním stavem  $\nu = 0$ . Mohou tedy existovat i na několika excitačních vibračních hladinách, označovaných  $\nu = 1, \nu = 2$ , atd. Tyto hladiny jsou u každého prvku na jiných úrovních a lze je používat právě k identifikaci prvku podle energie hladin.

Dopadem světla na vzorek  $\nu_L$ , se molekuly excitují do takzvané virtuální energetické hladiny. Tato virtuální vibrační hladina není skutečný stacionární stav molekuly a její energie odpovídá energii dopadajícího excitačního fotonu. Díky tomu že se nejedná o stacionární vibrační hladinu molekuly, tak má částice tendence spadnout opět na původní energetickou hladinu pomocí vyzáření sekundárního fotonu. Zde je ale více možností, jak snížení energetické hladiny molekuly může proběhnout.

První a nejčastější možností je vyzáření stejného množství energie, jakou molekula obdržela z excitačního fotonu. Tedy pokud se molekula nacházela na hladině  $\nu = 0$  a byla excitována, tak při vyzáření fotonu identického tomu excitačnímu se molekula octne opět na  $\nu = 0$ . Tyto sekundární fotony se označují  $\nu_R$ . V tomto případě tedy platí že  $\nu_R$  představuje stejné množství energie jako  $\nu_L$ . Nedochází zde k žádné ztrátě nebo nabytí energie v systému. Takový rozptyl se nazývá Rayleighův neboli pružný rozptyl a v odraženém světle od vzorku je zastoupen z více než 99,99 % z veškerého rozptýleného záření.

Může se ale stát, že molekula ve virtuálním excitačním stavu ztratí část energie dodané excitačním fotonem. V tomto případě pak molekula nespadne na původní energetickou hladinu  $\nu = 0$ , protože vyzářený sekundární foton má menší energii než foton excitační. Molekula zůstane v některém ze stacionárních excitovaných stavů  $\nu$ . Sekundární fotony s menší energií jsou označovány jako  $\nu_S$  a tvoří tzv. Stokesův rozptyl. Pro Stokesův rozptyl platí rovnice 1.1:

$$\nu_S = \nu_L - \nu_{0-1} \quad (1.1)$$

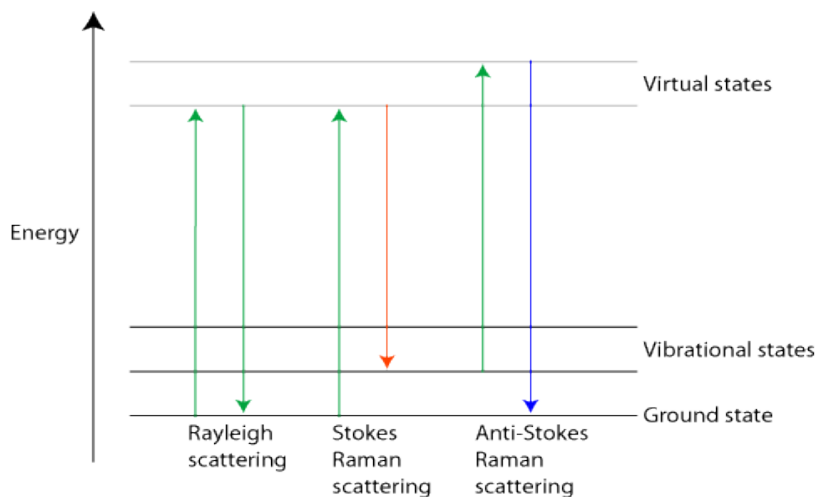
kde  $\nu_{0-1}$  je rozdíl mezi energetickou hladinou  $\nu = 0$  a novou excitovanou hladinou molekuly.

Pokud je molekula ve výchozím stavu již v nějaké vyšší energetické hladině, nikoli ve  $\nu = 0$ , pak se excitací světlem dostává na virtuální energetickou hladinu, která je ale vyšší než u výše popsaných rozptylů. Samotná energie excitace této molekuly je stále stejná, ale jelikož molekula byla již v excitované hladině, tyto energie se sečtou. Vyzářený sekundární foton má pak větší energii jak foton excitační a molekula spadne na nižší energetickou hladinu, než na které se nacházela před excitací. Tyto sekundární fotony se označují frekvencí  $\nu_{AS}$  a tvoří anti-Stokesův rozptyl s rovnicí 1.2.

Pro anti-Stokesův rozptyl platí:

$$\nu_{AS} = \nu_L + \nu_{0-1} \quad (1.2)$$

Jelikož jsou známy parametry excitačního světla a spektrometr dokáže změřit energii fotonů  $\nu_s$  a  $\nu_{as}$ , pak je možné určit jaká je energie  $\nu_{0-1}$ .



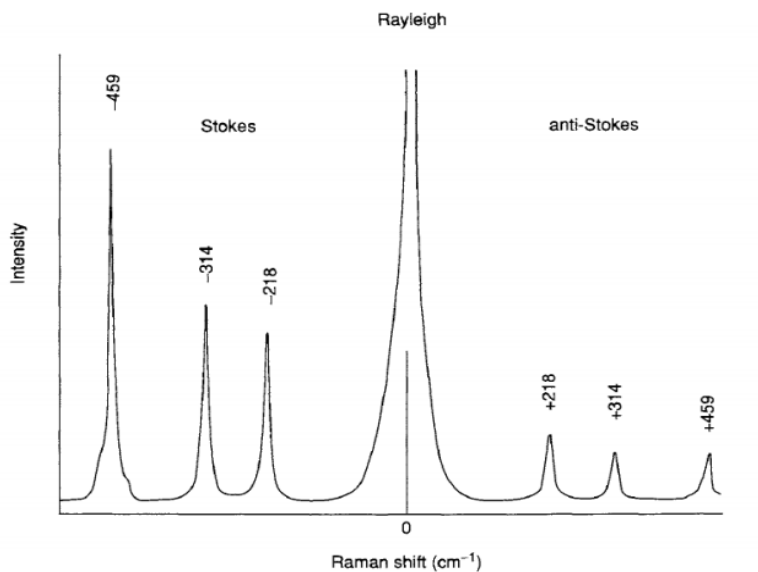
Obrázek 2 - Druhy rozptýlení záření ve hmotě [2]

Stokesův a anti-Stokesův rozptyl (obrázek 2) jsou součástí Ramanova jevu, který pak souhrnně popisuje proces tzv. Ramanova posunu udávaného v  $\text{cm}^{-1}$  vlnové délky rozptýleného záření od excitačního záření (obrázek 3). Tento posun vlnové délky zároveň popisuje nárůst nebo úbytek energie uvolněné z excitovaných částic vůči energii excitačního záření. Tato energie opouštějící částici je dána energií vyzářeného fotonu, vypočitatelnou dle rovnice 1.3. Jelikož jsou u jednotlivých prvků pevně dány tyto energie, pak u jedné látky bude Ramanův posun vždy stejný vůči excitačnímu záření, nezávisle na vlnové délce excitace. Tedy vzhledem k tomu, že každá látka vykazuje charakteristický posun vlnové délky, je možné tento jev využít k nedestruktivní identifikaci chemického složení vzorku.

$$E = \frac{hc}{\lambda} [eV] \quad (1.3)$$

Kde  $\lambda$  je vlnová délka,  $c$  rychlost světla a  $h$  je Planckova konstanta.

Základní podmínkou vzniku Ramanova záření je, aby se při vibraci vazby ve studované molekule měnila její polarizovatelnost. Polarizovatelnost molekuly je v podstatě mírou schopnosti posouvat v molekule náboje působením elektrického pole a vytvářet indukovaný dipól. Polarizovatelnost molekuly má úzký vztah k charakteru molekulových orbitalů. Změna polarizovatelnosti je způsobena jejich deformací a tato deformace je vyvolána právě interakcí s excitačními fotony, které musí mít dostatečnou energii k přechodu elektronů na excitované energetické stavy.



Obrázek 3 - Ukázka výsledného grafu Ramanova posunu [3]

## 1.2 Využití Ramanova jevu

Ramanova spektroskopie bývá z hlediska strukturní chemické analýzy doplňkem infračervené absorpční spektroskopie. Ramanova spektroskopie totiž detekuje vibrace, při kterých nedochází ke změně dipólového momentu zkoumané vazby. Změnu dipólového momentu zkoumá právě infračervená absorpční spektroskopie. Ramanova spektroskopie také dovoluje zjišťovat frekvence vibrací molekul pomocí záření v oblasti viditelné nebo ultrafialové, popř. blízké infračervené, což umožňuje používat přístrojovou optiku z dostupných materiálů jako je běžné křemenné sklo.

Původním využitím Ramanova jevu byla analýza látek, tedy zjištění množství prvků ve vzorku. Výsledné spektrum Ramanova posunu by se dalo označit jako „otisk prstu“ pro zkoumanou látku, jelikož každý materiál má toto spektrum unikátní. Tímto lze i určit čistotu látek, nebo např. ověřit pravost historických nebo cenných předmětů a materiálů. Moderní instrumentace Ramanova spektrometru ale dokáže pozorovat i vnitřní jevy, jako krystalizace látek, polymerační reakce, hydrogenační reakce, chemické syntézy, biologické procesy a mnoho dalších. Ramanův spektrometr tedy nalezne využití ve všech odvětvích průmyslu i výzkumu.

## 2. RAMANŮV SPEKTROMETR

První Ramanův spektrometr sestavený samotným C. V. Ramanem v roce 1928 byl jednoduchým systémem propojených dřevěných krabic obsahujících potřebnou světelnou filtraci a zkoumaný vzorek, jako excitační světlo využíval kolimovaný sluneční svit a k zaznamenání zjištěných dat sloužil buď ostrý zrak a paměť pozorovatele, nebo později fotocitlivé tabulky spektrografů, viz. *obrázek 4*. S nástupem moderní vědy a technologií se podoba Ramanova spektrometru změnila, ale jeho základní princip funkce je stále stejný.

Moderní Ramanův spektrometr může existovat v mnoha formách. Často je používán jako součást složitých vědeckých přístrojů, které obsahují i více různých instrumentů pro komplexní analýzu vzorků, jako např. mikroskop, IR spektrometr, UV spektrometr apod. Klasickou kategorií jsou stolní spektrometry, které mají méně funkcí než jejich velké multifunkční skříňové alternativy, ale za obecně lepší pořizovací ceny. Však díky miniaturizaci a integraci technologií mají čím dál menší zařízení více různých nástrojů pro provedení spolehlivé a obsáhlé analýzy. Můžeme se tedy setkat i s malými ručními spektrometry velikosti mobilního telefonu, ať už pro použití v laboratořích, nebo pro venkovní práce bezpečnostních složek, restaurátorů, kvalitářů atd. Ramanův spektrometr je používán i jako součást optických mikroskopů k analýze pozorovaného materiálu.

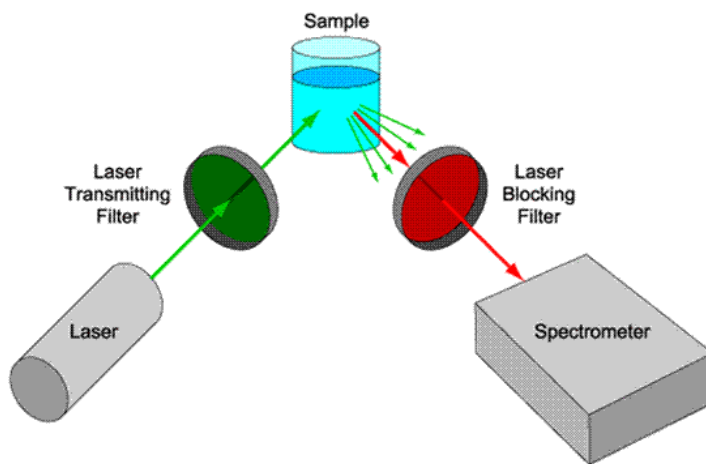
Je důležité poznamenat, že jednodušší typy Ramanových spektrometrů měří pouze Stokesův rozptyl, jelikož kvůli Boltzmannově distribuci mají spektra v anti-Stokesově části rozptylu mnohem menší intenzitu než při Stokesově rozptylu. Anti-Stokesův rozptyl je měřitelný, ale vyžaduje citlivý detektor. Pro vysvětlení funkce tohoto spektrometru si tedy předvedeme pouze Ramanův spektrometr měřící Stokesův rozptyl.



*Obrázek 4 - C. V. Raman se svým spektrometrem [4]*

## 2.1 Základní schéma a funkce

Ramanův spektrometr má dvě základní uspořádání co do interakce světelného paprsku se vzorkem. Těmi jsou uspořádání  $90^\circ$ , viz. *obrázek 5* nebo  $180^\circ$ , *obrázek 6*. Pravoúhlé uspořádání bylo originálním návrhem C. V. Ramana a starší, či jednodušší typy spektrometrů toto uspořádání stále používají. Nevýhodou  $90^\circ$  uspořádání je fakt, že zkoumaný vzorek musí být transparentní, nebo alespoň musí částečně propouštět světlo. Toto je užitečné zejména pro zkoumání různých roztoků v kyvetách, například organických rozpouštědel, ropných paliv, vodných roztoků, ale i pevných látek jako skel, krystalů a dalších materiálů propouštějících světlo.

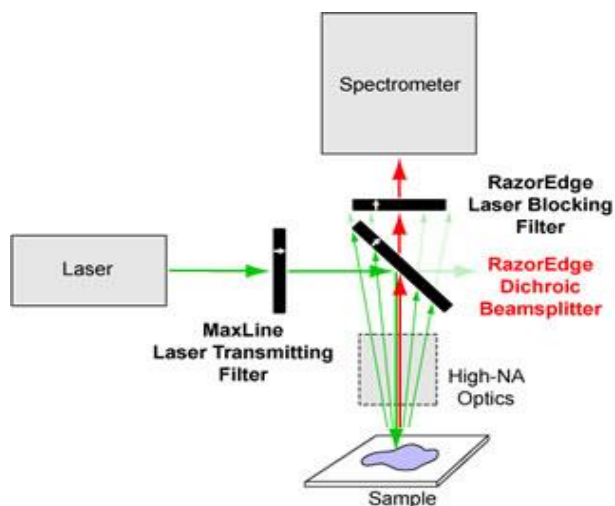


Obrázek 5 - Zjednodušené schéma Ramanova spektrometru v  $90^\circ$  uspořádání [5]

Funkce zařízení je jednoduchá. Skutečné moderní spektrometry mívají složitější optický systém, zde je ale k účelům vysvětlení principu použito zjednodušeného modelu. Excitační světlo laseru prochází optickým filtrem, který propustí pouze danou vlnovou délku laseru a odfiltruje jakékoli nežádoucí vlnové délky. Excitační světlo má potom konkrétní šířku spektrální čáry, což napomáhá přesnému měření. Laser dále prochází transparentním vzorkem, v němž se vytváří Rayleighův (na obrázku zelený) a Ramanův (na obrázku červený) rozptyl, zachycovaný v pravém úhlu od paprsku laseru. Rozptýlené světlo má podíl zhruba  $10^{-5}$  z intenzity laseru a pouze 1 % z toho je Ramanův rozptyl. Zde je tedy třeba odfiltrovat samotnou barvu laseru, a tedy i Rayleighův rozptyl, jelikož laser má oproti Ramanově rozptylu příliš velkou intenzitu a detektor by byl zahlcen jeho excitačním zářením. Z rozptýleného světla je tedy odfiltrována excitační vlnová délka a k detektoru prostoupí pouze světlo s pozměněnou barvou, tedy Ramanův rozptyl, který je vyhodnocován. Detektorem je nějaký druh spektrometru, například fotonásobič, fotodioda, CCD senzory, CMOS apod. Filtrace barvy světla lze řešit několika způsoby, které budou popsány dále v podkapitole 2.3 Optické filtry.



Uspořádání  $180^\circ$  je principově totožné, jen poskytuje výhody v měření téměř jakéhokoli materiálu, který může, ale nemusí být transparentní. Rozložení zároveň dovoluje integrovat spektrometr do zařízení jako jsou optické mikroskopy a jiné spektrometry. Je zde však nevýhoda větší komplikovanost celého optického systému, kde se používá složitější filtrace pomocí např. dichroického zrcadla a dalších filtrů.



Obrázek 6 - Schéma Ramanova spektrometru v  $180^\circ$  uspořádání [6]

## 2.2 Zdroje excitačního záření

Nejpoužívanějším zdrojem světla u Ramanovy spektrometrie je přesný laser, kde je využíváno různých vlnových délek, tedy energií, od hlubokého ultrafialového až po blízké infračervené spektrum. Dle již zmiňované rovnice 1.3 je infračervené spektrum nízkoenergetické s dlouhou vlnovou délkou, a naopak ultrafialové záření má energii vysokou a krátkou vlnovou délku.

Každá excitační vlnová délka má jiné vlastnosti a používá se pro různé vzorky v různých systémech. Citlivosti detektorů a rozlišení spíše směřuje k použití laserů s krátkou vlnovou délkou (UV a viditelné světlo) než k typům s dlouhou vlnovou délkou (IR). Při UV a viditelném světle ale vzniká problém způsobený fotoluminiscencí vzorků. Mnoho materiálů má tendenci zářit silnou fotoluminiscencí, když jsou excitovány UV nebo viditelným světlem. Tato fotoluminiscence znesnadňuje měření Ramanova rozptylu, jelikož se detektor může zahltit jejím silným zářením a slabý rozptyl nebude zaznamenán.

Pro některé materiály vzorků může být řešením použít ještě kratší vlnovou délku v UV spektru (např. 245 nm). Silná fotoluminiscence sice vzniká při UV excitačním záření, ale je typicky emitována nad 300 nm. Tím se otevírá příležitost zároveň excitovat i měřit Ramanův rozptyl pod 300 nm a vyhnout se silné fotoluminiscenci, jelikož

Ramanův rozptyl se objeví velmi blízko excitační vlnové délce. UV fotony mají ale velkou energii a díky nim může dojít ke znehodnocení vzorku. Navíc s vysokou cenou UV detektorů a příslušných zrcadel a filtrů je použití UV laserů omezené. Z tohoto důvodu se stále používají viditelné a IR lasery s vlnovou délkou 532 až 830 nm, u kterých nevzniká tak silná fotoluminiscence vzorku. Ramanův rozptyl je však s IR excitačním světlem velmi slabý a jeho detekce vyžaduje citlivé a přesné přístroje, respektive úměrně vyšší excitační výkon laseru, což je nevýhoda použití IR zdroje světla.

Pokud jsou brány všechny tyto aspekty v potaz, pak je patrné, proč je nejpoužívanější vlnovou délkou 785 nm. Tato vlnová délka poskytuje nejlepší poměr mezi efektivitou rozptýlení, vlivu fotoluminiscence a spektrální citlivostí snadno dostupných elektronických detektorů a spektrometrů. Použití modrých a zelených laserů (zejména 532 nm) je také možné a stále více populární. Tento iluminační rozsah je vhodný zejména pro materiály obsahující například uhlík – jako jsou grafit, uhlíkové nanotrubičky a fullereny, ale je použitelný i pro další prvky a organické sloučeniny.

UV lasery v Ramanově spektrometrii jsou atraktivní zvláště pro výzkum biomolekul, jako jsou proteiny, DNA a RNA. Pro aplikace s fluorescentními materiály se používají naopak IR lasery s typickou vlnovou délkou až 1064 nm.

Nejčastěji jsou používány zdroje ve formě laserových diod. Jejich výkon se vybírá s ohledem na složitost optického aparátu, požadované intenzity rozptýleného záření i s ohledem na velikost, tepelnou emisi a chlazení diody. I levné laserové diody mají pro experimentální měření dostatečně úzkou šířku spektrální čáry a jsou uspokojivě výkonné, a tedy cenově výhodné. Méně často se používají VBG frekvenčně stabilizované diodové lasery, které se vyznačují vysokou přesností a čistotou emitovaného spektra. Jejich cena je pochopitelně znatelně vyšší a jsou složitější na provoz.

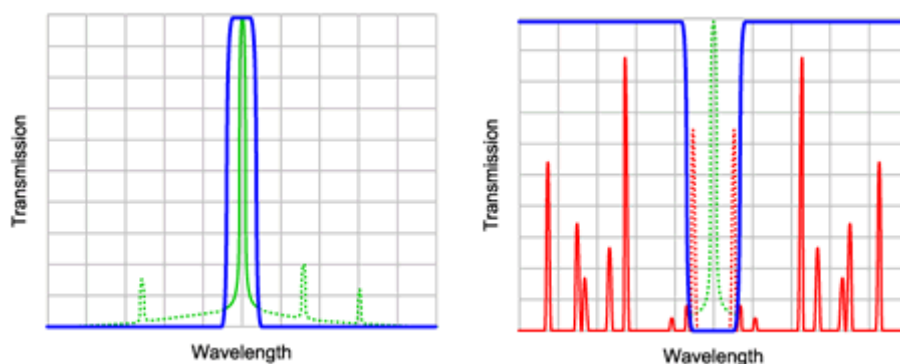
## 2.3 Optické filtry

Jak již bylo zmíněno, v Ramanově spektrometrii se využívá intenzivního laserového paprsku k excitaci vzorku, který nadále produkuje slabá spektra Ramanova rozptylu měřená detektorem. V zařízení jsou používány optické filtry, které zabraňují vlnové délce excitačního záření proniknout až k detektoru (spektrometru), kde by přehltily tento citlivý instrument. Filtry samotné se skládají ze skel se speciální povrchovou úpravou, nebo z průsvitných materiálů se specifickým zabarvením.

Existují čtyři základní typy optických filtrů pro Ramanovu spektrometrii:

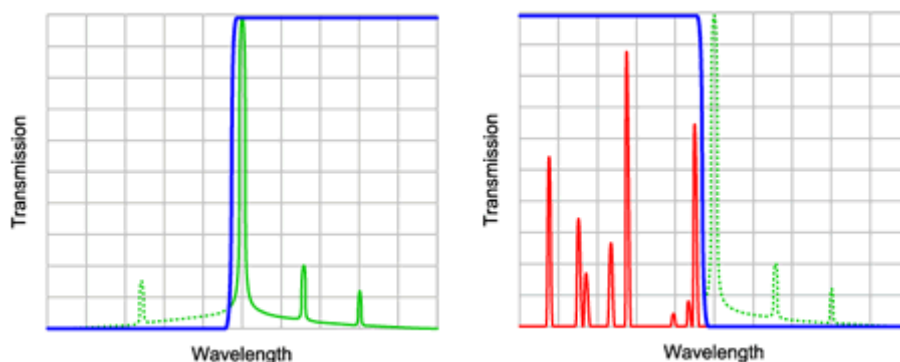
- Propust pro dlouhé vlnové délky (anglicky *long wave pass* – LWP)
- Propust pro krátké vlnové délky (*short wave pass* – SWP)
- Pásmová propust (*band pass*, nebo také *laser line filter* dle strmosti a šířky pásma)
- Pásmová zádrž (*band stop*, nebo *notch filter* dle strmosti a šířky pásma)

Pásmovou propustí prostoupí pouze vlnová délka laseru v požadovaném rozsahu a zablokuje všechny ostatní vlnové délky, zatímco pásmová zadrž má přesně opačnou funkci, tedy blokuje světlo laseru i většinu rozptýleného světla a propustí pouze světlo neshodující se s barvou excitačního laseru. Použitím těchto dvou filtrů lze pozorovat Stokesův i anti-Stokesův rozptyl, viz. *obrázek 7*. Bohužel tyto jakostní filtry jsou složité na výrobu a jejich cena je díky tomu vysoká.



*Obrázek 7 - Příklad filtrů pro měření Stokesova i anti-Stokesova rozptylu [5]*

Propusti pro dlouhou i krátkou vlnovou délku jsou při správném nastavení a kombinaci použitelné zvláště pro Stokesův a anti-Stokesův rozptyl, viz. *obrázek 8*. Díky nižším pořizovacím cenám oproti pásmovým propustím a zádržím lze těchto filtrů použít několik sad v jednom spektrometru a tím rozšířit jeho funkce.

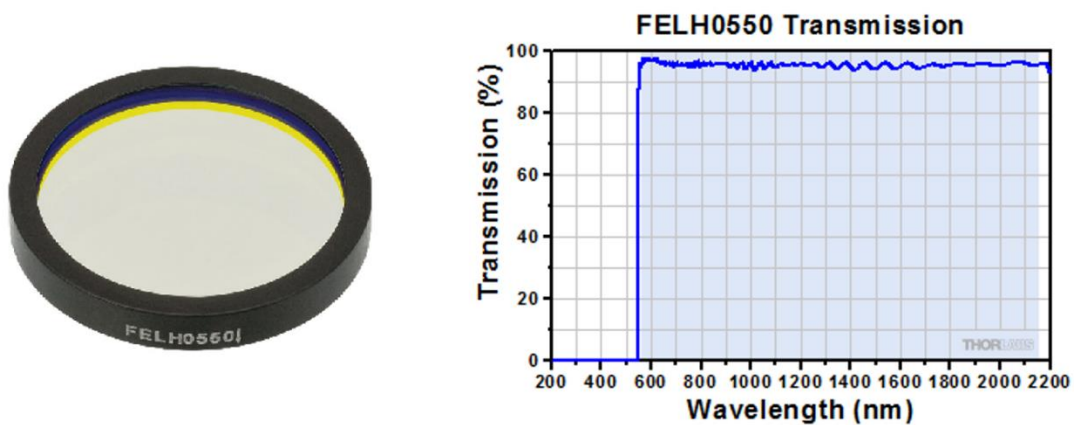


*Obrázek 8 - Příklad filtrů pro měření anti-Stokesova rozptylu [5]*

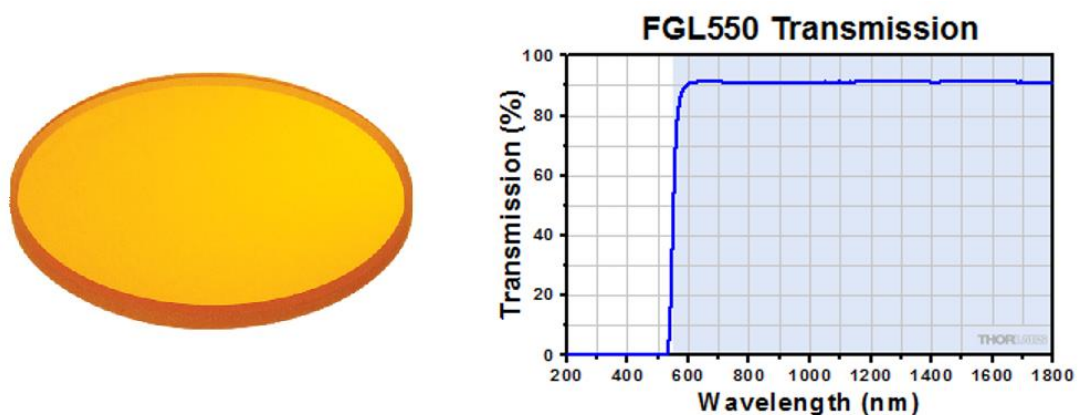
Zmíněné filtrace však nejsou jediné vhodné pro Ramanovu spektrometrii, ale spíše jsou nejpoužívanější v profesionálních laboratorních zařízeních. Kombinace a použití filtrů nejsou nijak pevně dány a liší se v různých zařízeních od různých výrobců, kteří

vyvíjejí vlastní optické systémy a přicházejí na trh s vlastním originálním řešením. Konkrétní složení optické filtrace tedy může být prakticky jakékoli, pokud je zachována funkce celku.

Obecně je v profesionálním prostředí používáno drahých vysoce jakostních filtrů, které mají vysokou strmost. Tyto filtry se označují jako hranové a mají charakteristiky jako u výše uvedených příkladů filtrů, kde je jejich přechod mezi propustnou a potlačující částí charakteristiky velmi strmý. Extrémně ostré hrany zajišťují čisté oddělení potřebného spektra blízko laseru. Dalším důležitým parametrem je propustnost filtru v rozsahu propouštěných vlnových délek. Z pochopitelných důvodů je žádoucí, aby filtr v propustné části spektra neubíral na intenzitě průchozího světla a aby co nejvíce potlačil nežádoucí vlnové délky. Levnější variantou filtrace vlnových délek jsou filtry z barevného skla, které mají horší parametry jako např. menší strmost a propustnost. Níže jsou uvedeny dva příklady (obrázek 10, 11) filtrů horní propusti nad 550 nm z internetového obchodu Thorlabs.com, z nichž první je jakostní hranový filtr FELH0550 (4199 Kč) a druhý je filtr pouze z barevného skla FGL550 (869 Kč) [7].



Obrázek 9 - jakostní filtr FELH0550 [7]

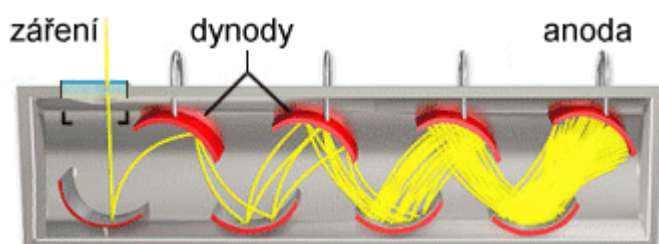


Obrázek 10 - Filtr FGL550 [7]

## 2.4 Detektory

V Ramanově spektrometrii se měří vlnová délka a intenzita záření. Pro zjištění jednotlivých barevných složek ve světle se musí filtrovaný světelný paprsek přicházející od vzorku rozložit na jednotlivá spektra například difrakční mřížkou nebo optickým hranolem. K zachycení slabého světla Ramanova rozptylu pro zpracování dat se používají detektory různých typů. Pokud pomineme pozorování okem, pak jedním z prvních způsobů zaznamenání spektra světla byly fotografické tabulky, tedy fotocitlivá vrstva nanesená na pevném podkladu. Takový detektor je při dlouhé expozici citlivý, ale fotocitlivá vrstva se musí podobně jako fotografie vyvolávat a změřená data se musí nadále zpracovávat ručním odměřováním. Je to tedy metoda pomalá a nepřesná, však v minulosti hojně a úspěšně využívaná v mnoha oborech vědy.

Historicky dalším milníkem v detektorech záření byl fotonásobič, který napomohl nejen Ramanově spektroskopii, aby se stala populární a v praxi používanou metodou analýzy materiálů. Fotonásobič je vakuová elektronka, která přeměňuje velmi slabé elektromagnetické záření na elektrický proud. Byl vynalezen v polovině 20. století a od té doby je stále používán a zdokonalován.



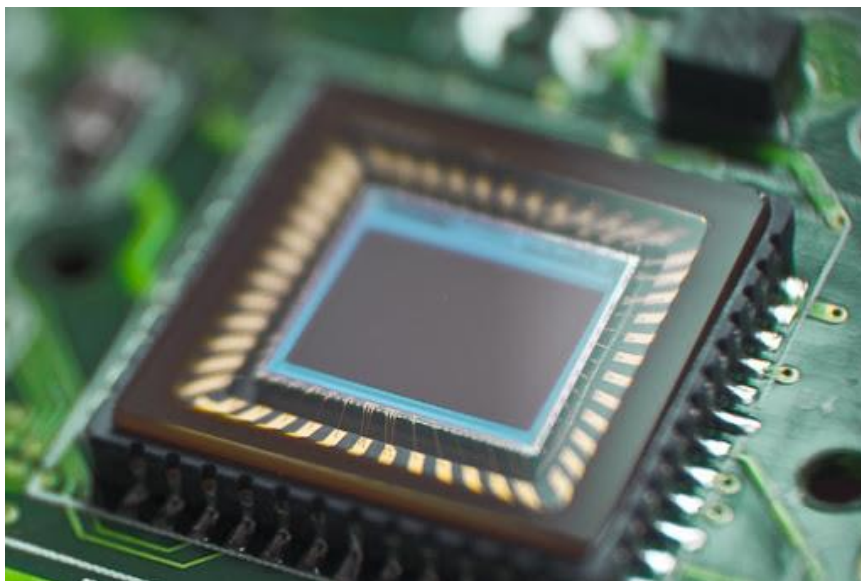
Obrázek 11 - Zjednodušené schéma fotonásobiče [8]

Samotný fotonásobič obsahuje řadu elektrod zvaných dynody, které jsou zakončeny sběrnou anodou, viz. obrázek 11. Princip funkce je následující. Fotony z měřeného záření dopadnou na první elektrodu, ze které se emitují elektrony. Elektrony jsou postupně urychlovány mezi jednotlivými dynodami. Dopad urychlených elektronů pak způsobí emisi ještě většího počtu elektronů, které jsou směřovány k další dynodě. Tímto způsobem se násobí počet elektronů mezi dynodami a jsou pak shromažďovány na anodě, kde takto vzniká tok elektronů, tedy proud. Celkové zesílení může dosáhnout až  $10^8$ , díky čemuž lze pozorovat i jednotlivé fotony. Fotonásobič je stále používán jako velmi citlivý detektor elektromagnetického záření v mnoha aplikacích. Nevýhodou fotonásobiče je nízká reakční rychlost, velikost, cena a nutnost použití vysokého napětí pro provoz. Zároveň se jedná o bodový detektor, který má jako vstup pouze malé okénko. Při Ramanově spektrometrii tedy není možné měřit celé rozložené spektrum světla najednou,

ale musí se buď pohybovat difrakční mřížkou či hranolem, nebo detektorem samotným, aby změřil jednotlivé vlnové délky.

S příchodem polovodičových součástek se i detektory světla začaly konstruovat z polovodičů. Nejčastěji používanými materiály pro fotocitlivé detektory jsou Si a InGaAs. Světlocitlivé polovodičové prvky mohou být obecně bodové, nebo seskupené v čipových maticích. Typickým bodovým detektorem je fotodioda, která je konstruována tak, že její PN přechod je plošný a v průsvitném pouzdře. Při dopadu záření na plochu PN přechodu některé fotony narazí do valenčních elektronů v atomech polovodiče a předají elektronům svou energii. Tímto elektrony získají dostatek energie k vyskočení do vodivostního pásu polovodiče a vzniká proud diodou v závěrném směru. Tento jev se nazývá fotoelektrický. Fotodiody mají reakční rychlost řádově  $10^{-6}$  až  $10^{-9}$  s. Pro účely velmi přesného měření záření existují SPAD fotodiody (*single-photon avalanche diode*) schopné zjistit i dopad jednotlivých fotonů. Jak již bylo zmíněno, fotodioda je bodovým detektorem, ale díky malým rozměrům a možnosti miniaturizace se jich může integrovat veliké množství na jeden čip. Takový čip pak již není bodovým detektorem a díky jednotlivým diodám je schopen zaznamenat celý obraz rozloženého spektra najednou. Počet diod zde určuje rozlišovací schopnost čipu a je tedy žádoucí mít fotodiody co nejmenší a jejich počet co největší.

S objevem CCD (*charge-coupled device*) čipu v roce 1969 se ve světě široce rozšířilo užití polovodičů zaznamenávajících celý obraz (ukázka čipu v *obrázku 12*). Začaly vznikat první elektronické fotoaparáty, kamery a samozřejmě došlo k použití CCD i ve vědeckých instrumentech. Například dobře známý Hubbleův teleskop použil několik CCD snímačů ke zaznamenání slabého záření přicházejícího ze vzdálených galaxií. Vynálezci Williard Boyle a George E. Smith získali za CCD v roce 2009 Nobelovu cenu za fyziku. Jako ostatní polovodičové světlocitlivé součástky používá i CCD fotoelektrického jevu, kde elektrony ve valenčním pásu polovodiče získávají energii z fotonů k dosažení vodivostního pásu. U CCD jsou ale elektrony izolovány velmi tenkou vrstvou oxidu křemičitého  $\text{SiO}_2$ , který má výborné izolační vlastnosti. CCD snímač operuje v cyklech. Kvanta elektronů jsou při expozici shromažďována v jednotlivých bodech, tedy pixelech CCD čipu a po dokončení expozice jsou elektrony hodinovým signálem posouvány k výstupu čipu po jednotlivých pixelech nebo řádcích, podobně jako u klasického digitálního shift registru. Po vyprázdnění všech pixelů od volných elektronů se může čip opět vystavit záření. V moderních spektrometrech se využívá speciálních CCD s lavinovým elektronovým násobičem pro vyšší citlivost, tzv. EMCCD (*electron multiplying charge-coupled device*).



*Obrázek 12 - Fotografie kamerového CCD čipu [9]*

Obecně pro všechny polovodičové detektory slabého záření platí, že jejich měření jsou negativně ovlivňována šumem způsobeným například Johnsonovým tepelným šumem, generačně-rekombinačním šumem a dalšími kvantovými jevy v materiálu detektoru a v cestě signálu. Při měření opravdu malých veličin může být hladina šumu detektoru velmi blízko hladině detekovaného signálu a takové měření je pak nepřesné. Ke snížení většiny druhů šumu se proto detektory chladí pod pokojovou teplotu, typicky na teploty kolem  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ , například pomocí Peltierova článku. Při  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  je například tepelný šum zhruba dvojnásobně menší jak při teplotě  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Čím nižší je ale teplota, tím lepších výsledků lze dosáhnout. Velmi citlivé pokročilé detektory mohou operovat v kryogenických teplotách  $-110$  až  $-160\text{ }^{\circ}\text{C}$ , kde se ke chlazení používají kapalné plyny.

### 3. ZKOUŠKA SESTAVY RAMANOVA SPEKTROMETRU

Komerční Ramanův spektrometr pro analýzu je zařízení poměrně drahé. Podle použití a požadovaných parametrů se ceny mohou pohybovat od desítek tisíc do stovek tisíc a v krajních případech i milionů Kč. Pro školní laboratorní výuku, kde není potřeba měřit malé energie fotonů s vysokou přesností, nemusí být taková investice nutná. Jak již bylo zmíněno, první Ramanovy spektrometry se skládaly z poměrně jednoduché sestavy čoček, barevných skel jako filtrů a optického hranolu pro rozložení spektra rozptylu.

S využitím spotřebitelsky dostupných elektronických součástek, standartního diodového laseru a optických laboratorních pomůcek je teoreticky možné sestavit funkční Ramanův spektrometr, který by mohl mít dostatečnou přesnost pro základní identifikaci různých vzorků. Zároveň by spektrometr sloužil jako výuková pomůcka například pro laboratorní úlohy, kde by žák viděl jednotlivé součásti v provozu a měl by příležitost pochopit jejich funkci i s fyzikálními principy stojícími za celým měřením na tomto přístroji. Následující kapitoly se věnují výběru vhodných součástí s následným návrhem rozložení komponent a konzultují jaké jsou vhodné vzorky pro použití v tomto spektrometru.

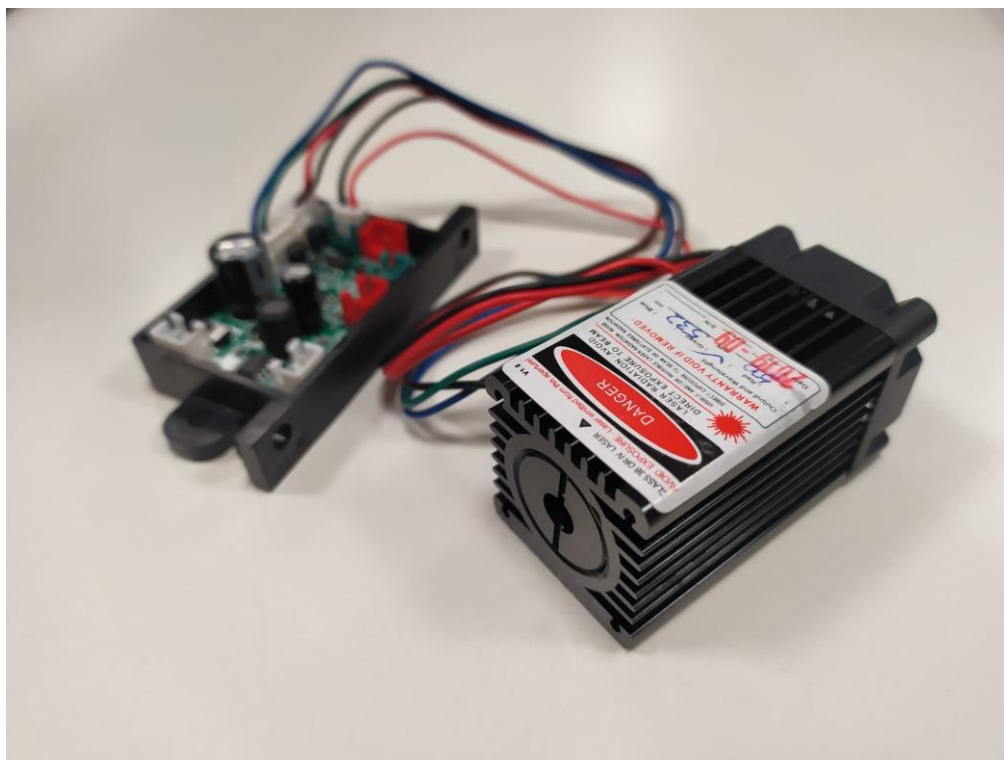
#### 3.1 Zdroj excitačního záření

Díky obecné dostupnosti a nízké ceně diodových laserů bylo patrné, že takový zdroj světla bude vhodným kandidátem. Jelikož bude celá sestava umístována na stůl a vyžaduje se kontinuální stabilní provoz, pak modulové řešení laseru s aktivním chlazením a externím nastavitelným zdrojem bylo vybráno jako nejlepší volba pro tuto aplikaci. Obecně se vybrané laserové moduly pohybují v cenách od několika stovek do tisíců korun a používají se například jako zdroj laseru pro efektová zrcadla na koncertech, nebo pro nenáročné experimentální aplikace. Tvar modulů a montážní možnosti zároveň dovolují laser použít v uvažovaném modulárním systému. Známa přednášková a astronomická laserová ukazovátka jsou sice menší a levnější, ale kvůli jejich bateriovému provozu a riziku přehřívání při vyšších výkonech byla ukazovátka zavrhnuta.

Laserové moduly se osazují diodami v mnoha různých vlnových délkách, proto bylo nutné vybrat tu nejvhodnější pro popsané účely s ohledem na co nejnížší cenu a dostatečný výkon. UV a modré lasery jsou nejdražší variantou a byly vyloučeny také díky jejich schopnosti vyvolat silný fotoluminiscenční efekt ze vzorku. Běžné fotocitlivé součástky a spektrometry navíc ztrácí svoji citlivost pod 400 nm, takže by zde bylo riziko nedostatečně citlivého snímače pro detekci Ramanova rozptylu v těchto spektrech. Kvůli omezení fotoluminiscence a s citlivostí vybíraných detektorů vzatou v potaz byl vybrán



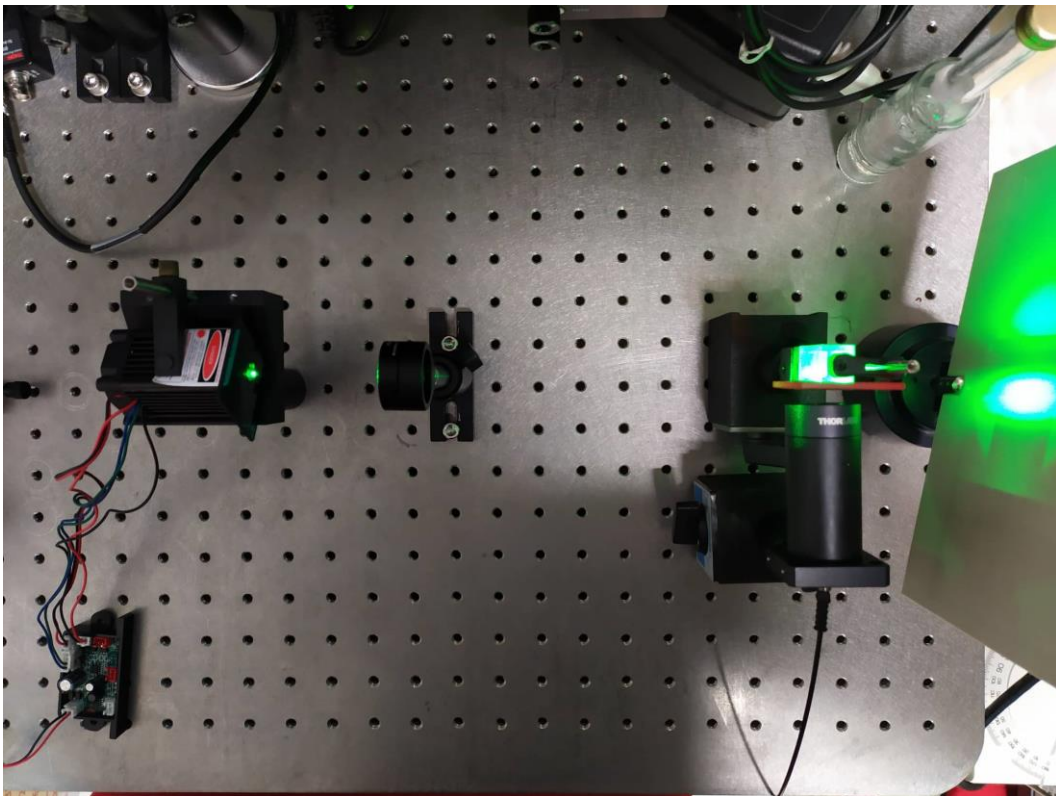
zelený 532 nm laser, viz. *obrázek 13*. Jednak je již v praxi ověřen v mnoha spektrometrech, ale je také levnější oproti UV a modrým laserům ve stejných modulech a výkonech. Vyšší vlnové délky sice potlačují fotoluminiscenci lépe, ale na druhou stranu je u nich slabší Ramanův rozptyl, respektive vyžadují řádově vyšší světelný výkon laseru pro snadnou detekci rozptylu a s tím pak roste cena laseru a nároky na provoz a bezpečnost.



*Obrázek 13 - Modulový laser G50A*

## 3.2 Uspořádání

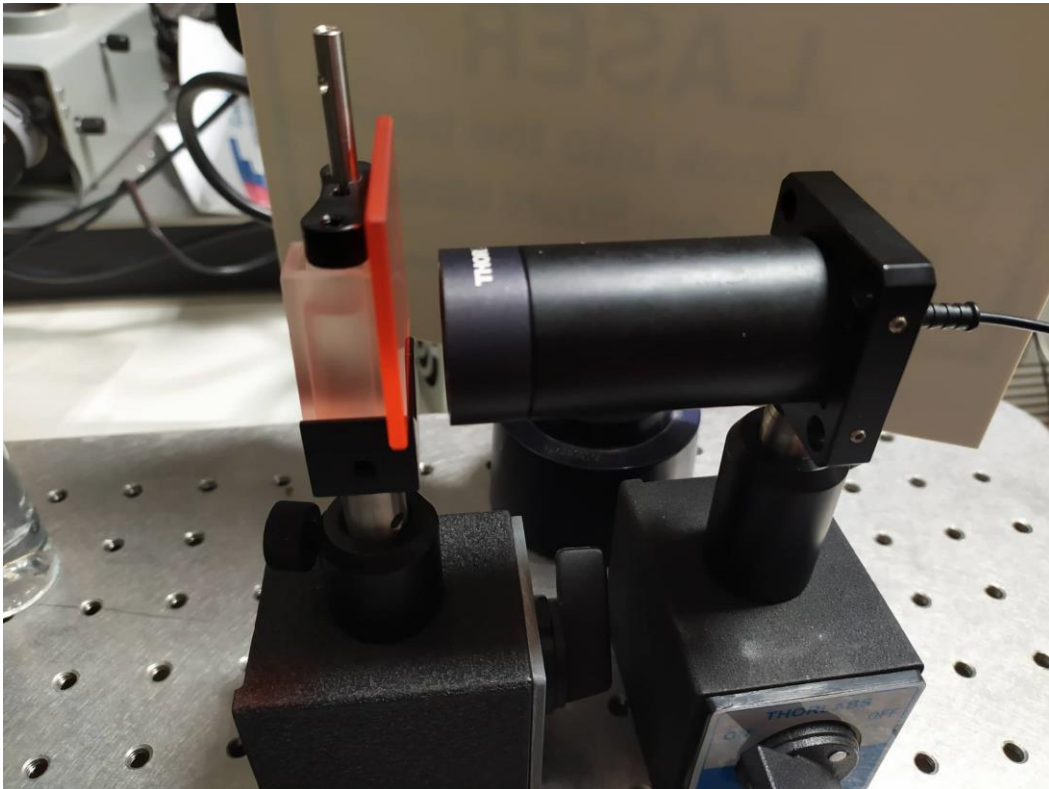
Základními požadavky spektrometru byla jednoduchost, tedy minimum součástek a nízká cena. Taková kritéria splňuje vývojově starší pravoúhlé uspořádání lépe, než přímé ( $180^\circ$ ) uspořádání (*obrázek 14*). Nevýhoda nutnosti použití pouze průsvitných vzorků a kapalin v kyvetách je zde kompenzována malým počtem součástí a potenciálně jednodušším filtrováním spektra excitačního laseru a jeho odrazu. Detektor zde není postaven přímo v cestě excitačního světla, takže nároky na filtraci by mohly být teoreticky nižší a mohlo by se použít levnějších filtrů, nebo dokonce žádných filtrů, pokud bude vliv excitačního záření odstraněn jiným způsobem. Tento předpoklad však bylo nutné v praxi ověřit při konstrukci spektrometru.



*Obrázek 14 - Uspořádání spektrometru*

### 3.3 Filtry

S použitím vysoce jakostních filtrů s velkou strmostí popsaných v úvodu kapitoly 2.3 se pro tento projekt příliš nepočítalo. Hlavním důvodem byla vysoká cena přístrojových optických filtrů, kde se i střední kvalitativní třídy filtrů pohybují v rozsahu od tisíců do desítek tisíc korun za jeden kus. Díky pravoúhlému uspořádání měřicí sestavy a níže popsanému skenovacímu detektoru bylo teoreticky možné, že se tento low-cost Ramanův spektrometr obejde i bez filtrů. Tuto úvahu bylo nutno ověřit pokusem. V případě že by se nepodařilo dostatečně eliminovat negativní účinky excitačního záření a rozptylu o stejné vlnové délce bez filtrů, pak připadalo v úvahu využití levných filtrů jako jsou barevná skla, viz. *obrázek 15*. Cenově se pohybují ve stovkách Kč. Jejich přesnost, propustnost i strmosti jsou nízké kvality a pro přístroje tohoto typu se většinou nehodí. Pokud ale vezmeme v potaz, že nejstarší funkční Ramanovy spektrometry používaly právě pouhá barevná skla jako filtry, pak je jejich použití pro alespoň částečné filtrování možné.



*Obrázek 15 - Vzorková část s filtrem a sběrnou optikou*

### 3.4 Detektor

Bez nutnosti měřit velmi přesné údaje se nabízelo použití standartních fotocitlivých součástek. CCD a CMOS čipy z kamer a fotoaparátů by v tomto řešení vyžadovaly složitý digitální obvod pro zpracování celého obrazu a k tomu i příslušný software. Cena těchto čipů je také relativně vysoká, přičemž nejlevnější typy mají nízkou kvalitu obrazu, a často velký šum při slabém osvětlení. Naskytovala se zde i možnost použití celého fotoaparátu nebo kamery jako detektoru, tím by ale opět rostla cena sestavy. Konečnou možností bylo využití kompaktního spektrometru, který byl k dispozici ve školních laboratořích.

Úkolem prvních experimentů bylo ověřit, zdali jednodušší součástka jako je fotodioda může plnit funkci detektoru v této aplikaci. Konkrétní vybraný model byla fotodioda BWP34 vyznačující se nízkým šumem a vysokou citlivostí. Je velmi jednoduše dostupná, citlivá ve viditelném spektru a její signál je dobře zpracovatelný zesilovačem a A/D převodníkem podporovaným mikrokontrolérem. Fotodioda je ale bodový detektor a nerozlišuje jednotlivé vlnové délky, pouze energii dopadajících fotonů. V případě využití fotodiody jako spektrometru by se muselo rotovat optickým hranolem, nebo difrakční mřížkou tak, aby na fotodiodu dopadající rozložené spektrum přeběhlo postupně ve všech barvách a dioda by kontinuálně zaznamenávala dopadající fotony ve vlnových délkách od cca 400 nm po 1100 nm dle vybraného modelu diody. V případě měření pouze Stokesova rozptylu by byl rozsah od 550 nm po 1100 nm. Alternativním řešením je ponechat hranol nebo mřížku statickou a posouvat samotnou detekční fotodiodou po vytvořeném obrazu spektra. Zaznamenané záření je přiřazeno ke konkrétní poloze hranolu, respektive diody a tím je získána informace o intenzitě v konkrétní vlnové délce. Jednoduchým počítačovým programem komunikujícím s řídicím mikrokontrolérem a A/D převodníkem by pak mohla být na počítači vykreslována data ve formě tabulky a grafu Ramanova posunu. Podobně řešeny jsou systémy s fotonásobičem, který je také bodovým detektorem. Dalším možným řešením ke změně spektra na detektoru je laboratorní monochromátor.

Bodový detektor by měl v tomto případě i potenciální výhodu toho, že při skenování by mohl zcela vynechat oblast spektra (kolem 532 nm), kde se nachází silné excitační záření ať už ignorováním výstupních dat v dané poloze, nebo prostým přeskočením vytyčené oblasti spektra. Detektory se záznamem celého obrazu tuto možnost nemají a musí se spoléhat na kvalitnější filtry.

Na začátku skenovacího pohybu by ale také bylo nutné skenovací detektor mechanicky a opticky zkalibrovat, tedy nastavit polohu pohyblivé části tak, aby na diodě byla přesná očekávaná vlnová délka během měření a ideálně s lineární odezvou na různé vlnové délky. Mechanickou kalibraci by bylo možné řešit například spínačem nebo optickou závorou na jednom nebo obou koncích pohyblivé osy. Je to řešení levné a jednoduché. To by ale znamenalo že vzdálenost hranolu nebo mřížky od detektoru musí být fixní a vždy stejná, jelikož zde chybí reference hranolu vůči detektoru. Navíc při

poškození, nebo vychýlení spínače bude polohování osy nepřesné a může se posunout celé světelné spektrum, aniž by to samotný detektor nějak rozpoznal. Dalším teoretickým řešením mechanické kalibrace je svícením excitačního světla 532 nm laseru přímo na hranol bez vzorku a filtrů vložených do spektrometru. Různé vlnové délky mají totiž v hranolu různé vyzařovací úhly, jelikož index lomu optického prostředí v hranolu závisí na frekvenci světla a při normální disperzi se s rostoucí frekvencí zvětšuje. Každá barva světla má tedy konkrétní úhel výstupu z hranolu. Mechanismus by se pak nastavil do takové polohy, kde by bylo záření nejintenzivnější a tato poloha by byla uložena jako výchozí bod odpovídající 532 nm. Další pozice by byly určeny inkrementálně od tohoto bodu. Kalibrace by se mohla opakovat s různými známými vlnovými délkami laseru, kde by docházelo k ukládání poloh pro konkrétní barvy ve spektru. Takový systém ale neřeší nelineární odezvu fotodiody na světelné spektrum. Místo jednotlivých barev laseru by se dal použít i zdroj záření se známou spektrální charakteristikou (výbojka, zářivka), kde by se softwarem připojeného počítače nebo kontroléru porovnával tvar spektra naměřeného detektorem se známým spektrem světelného zdroje a korigovala by se vlnová délka i amplituda grafu. Tento kalibrační systém by byl imunní na nepřesné polohování hranolu / mřížky vůči detektoru.

Rozlišení vlnové délky u tohoto detektoru by bylo závislé na několika faktorech. Samotná fotodioda má velkou plochu a pro zaznamenání co nejužšího spektra záření najednou bude nutné diodu zaslepit a v jejím středu ponechat malou štěrbinu pro průnik světla. Pokud by byla štěrbinu příliš široká, pak zvětšení vzdálenosti od hranolu by mělo pozitivní efekt na rozlišení, ale zvětšila by se i délka skenovací dráhy. Dalším faktorem bude mechanické rozlišení osy, kde by se o posun či rotaci staral malý a levný krokový motor případně i s převodovkou, nebo skrze závitový šroub pro lineární posun. Moderní čipy dokážou krokové motory řídit v polohách s tolerancí v setinách milimetru i bez použití převodovky. Příkladem jsou motorové drivery používané na populárních 3D tiskárnách, které se vyznačují vysokou přesností polohování a efektivním, velmi plynulým chodem řízených motorů. Plynulý chod mechanické části detektoru je důležitý, jelikož jakékoli otřesy sestavy by byly zachyceny ve výstupních datech.

Délka expozice fotodiody pro spolehlivé zaznamenání slabého záření se teoreticky určuje jen velmi těžko bez sestavení spektrometru, a tedy nelze přesně říct, jak rychle by skenování mělo probíhat. Dostatečná rychlost by mohla být určena budoucími praktickými experimenty. Odhadují se ale řády sekund, v horším případě minut. Pokud by byla doba potřebné expozice příliš dlouhá pro praktické užití, bude nutné použít jiný typ snímače jako např. CCD čip, nebo rovnou kompaktní spektrometr.

### 3.5 Vhodné vzorky

Pro Ramanovu spektrometrii s excitační vlnovou délkou 532 nm jsou obecně vhodné anorganické materiály, které se pod touto excitací vyznačují relativně silným Ramanovým rozptylem. Nejběžněji používanými jsou uhlíkové materiály a nanočástice, polovodičové materiály, minerály, drahokamy a oxidy kovů. Použitelné jsou ale i organické roztoky s uhlíkem, jako benzen, naftalen, aceton, atd. Pro tyto vzorky je ale vhodnější použít laserů s vlnovou délkou 633-830 nm, které se používají spíše pro analýzu biologických vzorků a většiny chemických sloučenin.

### 3.6 Cenový odhad

Níže uvedený cenový odhad je velmi hrubý. Tomu je tak z toho důvodu, že většina dílů musela být nejprve ověřena experimenty a bylo nutné určit, zdali jsou vhodné pro dané použití, nebo nikoli. V tabulce nejsou uvedeny ceny položek, které jsou dodány z vybavení laboratoří. Cenový rozsah filtrů je široký, jelikož v této fázi nebylo určeno, jak kvalitní filtraci bude nutné použít. Na konci *tabulky 1* jsou proto ceny nejlevnější a pak nejdražší možné uvažované konfigurace. Do tabulky byly zaznamenány i pomůcky potřebné k experimentům.

*Tabulka 1 – cenový odhad projektu*

Položky	Poznámka	Cena od	Cena do
Laser	Laserový modul 532 nm	1 500 Kč	4 500 Kč
Filtr laseru	Filtr pro odstranění IR z laseru	500 Kč	4 000 Kč
Filtr detektoru	Filtr pro odstranění exc. záření	500 Kč	4 500 Kč
Doplňky	Spojovací materiál, doplňky	200 Kč	500 Kč
3D tisk	Dle váhy materiálu bez ceny energie	700 Kč	1 500 Kč
Detektor	Fotodioda, čip, nebo školní spektrometr	-	1 500 Kč
Kyveta pro vzorek		300 Kč	500 Kč
Difrakční člen	Difrakční mřížka / hranol	-	2 500 Kč
Chladicí box		500 Kč	1 000 Kč
Čočky	Optiky různých typů	-	2 000 Kč
Montážní prvky	Stojany, upevnění dílů ke stolku	-	-
Bezpečnostní prvky	Stínítka, brýle	-	-
Laboratorní zdroj		-	-
	Nejlevnější možná konfigurace	4 200 Kč	
	Nejdražší možná konfigurace		22 500 Kč

### 3.7 Experiment

Při získání laserového modulu a základním návrhu komponent bylo vhodné otestovat zvolené díly. Jak již bylo zmíněno, bylo použito pravouhlé uspořádání s excitačním laserem 535 nm a jako pokusný vzorek v kyvetě byl využit aceton. Aceton nebyl vybrán jako příliš vhodný pro dobrou viditelnost Ramanova posunu v tomto spektru, bylo ale nutno pracovat s omezenými zdroji. Očekávané Ramanovo spektrum acetonu při Stokesově rozptylu bylo předem zjištěno z *tabulky č. 2*, která udává krom Ramanova posunu a vlnové délky také sílu rozptylu v daném maximu. VS a S znamená velmi silné a silné, M střední a W slabé.

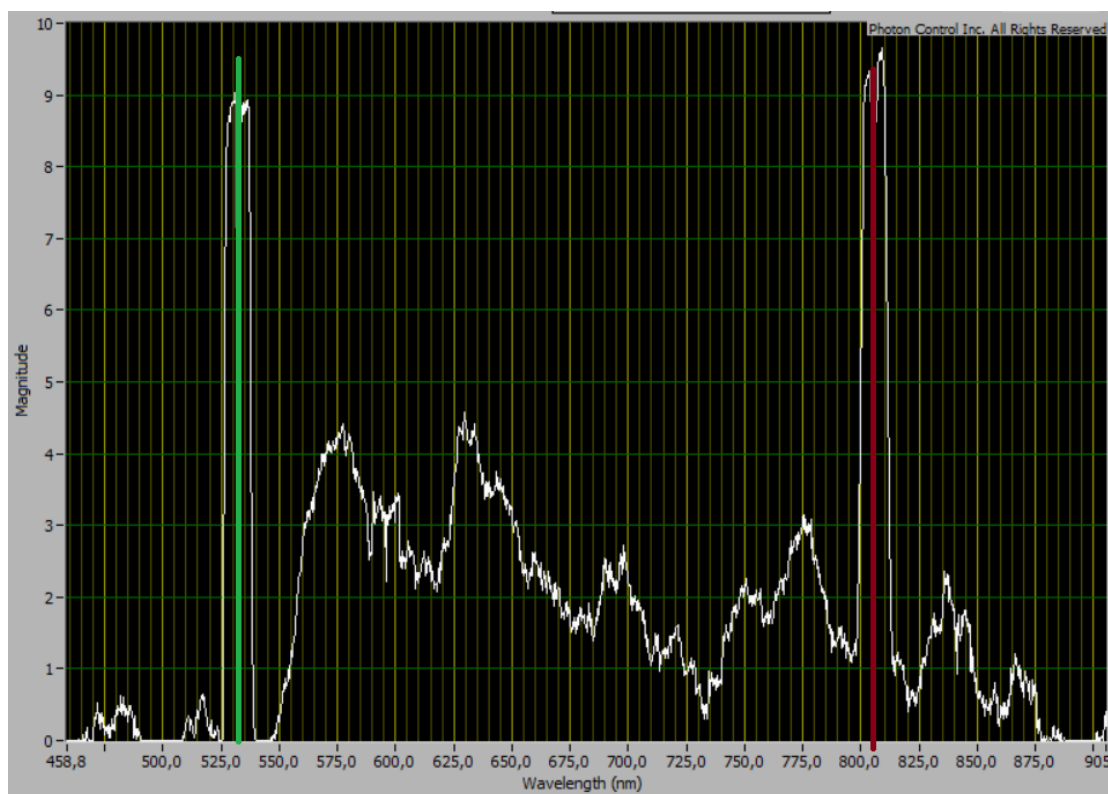
*Tabulka 1 - Vibrační energetické stavy acetonu [10]*

Sym. Species	No	Approximate type of mode	Selected Freq.		Infrared		Raman		Comments
			Value	Rating	Value	Phase	Value	Phase	
a <sub>1</sub>	1	CH3 d-str	3019	C	3018.5	S gas	3005.5	S liq.	SF(v <sub>13</sub> )
a <sub>1</sub>	2	CH3 s-str	2937	D	2937	S gas	2922	VS p liq.	SF(v <sub>14</sub> )
a <sub>1</sub>	3	CO str	1731	C	1731	VS gas	1710.5	S p liq.	
a <sub>1</sub>	4	CH3 d-deform	1435	C	1435	S gas	1430	S liq.	
a <sub>1</sub>	5	CH3 s-deform	1364	C	1363.5	VS gas	1356	W liq.	SF(v <sub>16</sub> )
a <sub>1</sub>	6	CH3 rock	1066	C			1066	M p liq.	
a <sub>1</sub>	7	CC str	777	C	777	W gas	787	VS p liq.	
a <sub>1</sub>	8	CCC deform	385	C	385	W gas	393	W dp liq.	
a <sub>2</sub>	9	CH3 d-str	2963	E		ia			CF
a <sub>2</sub>	10	CH3 d-deform	1426	E		ia			CF
a <sub>2</sub>	11	CH3 rock	877	E		ia			CF
a <sub>2</sub>	12	Torsion	105	D		ia			CF, MW: v <sub>102</sub>
b <sub>1</sub>	13	CH3 d-str	3019	C	3018.5	S gas	3005.5	S dp liq.	SF(v <sub>1</sub> )
b <sub>1</sub>	14	CH3 s-str	2937	D	2937	S gas	2922	VS liq.	SF(v <sub>2</sub> )
b <sub>1</sub>	15	CH3 d-deform	1410	C	1410	S gas			
b <sub>1</sub>	16	CH3 s-deform	1364	C	1363.5	VS gas			SF(v <sub>5</sub> )
b <sub>1</sub>	17	CC str	1216	C	1215.5	VS gas	1221	M dp liq.	
b <sub>1</sub>	18	CH3 rock	891	C	891	M gas	902.5	W dp liq.	
b <sub>1</sub>	19	CO ip-bend	530	C	530	S gas	531	M dp liq.	
b <sub>2</sub>	20	CH3 d-str	2972	C	2972	S gas	2967	S liq.	
b <sub>2</sub>	21	CH3 d-deform	1454	C	1454	S gas			
b <sub>2</sub>	22	CH3 rock	1091	C	1090.5	M gas			
b <sub>2</sub>	23	CO op-bend	484	C	484	W gas	493	W dp liq.	
b <sub>2</sub>	24	Torsion	109	D	109	gas			MW: v <sub>102</sub>



Prvotní testy ukázaly, že samotné spektrální čáry Ramanova rozptylu byly v tomto případě příliš slabé na to, aby byly zachyceny přímým sledováním proudu fotodiodou. Bylo tedy potřeba použít skutečného detektoru, který byl schopen integračního zesílení měřeného záření. Tohoto ovšem nebyla žádná dostupná laboratorní fotodioda s příslušnou elektronikou schopna, tak byl pro tento pokus využit laboratorní spektrometr Photon Control SPM-002 ochlazený v autolednici na 14.5 °C pro částečné snížení hladiny termoelektrického temného šumu. Tento jev bude objasněn níže v této práci. Pro zaznamenání dat sloužil počítačový program Photon Control SPECSOFT.

Z měření vyplývá, že pravoúhlé uspořádání bylo při použití levnějších filtrů ve formě barevných sklíček skutečně lepším řešením než uspořádání přímé, jelikož se tímto snížily nároky na filtraci excitačního záření před detektorem. Právě s touto sestavou se poté opakovaně podařilo naměřit následující spektrální charakteristiku.



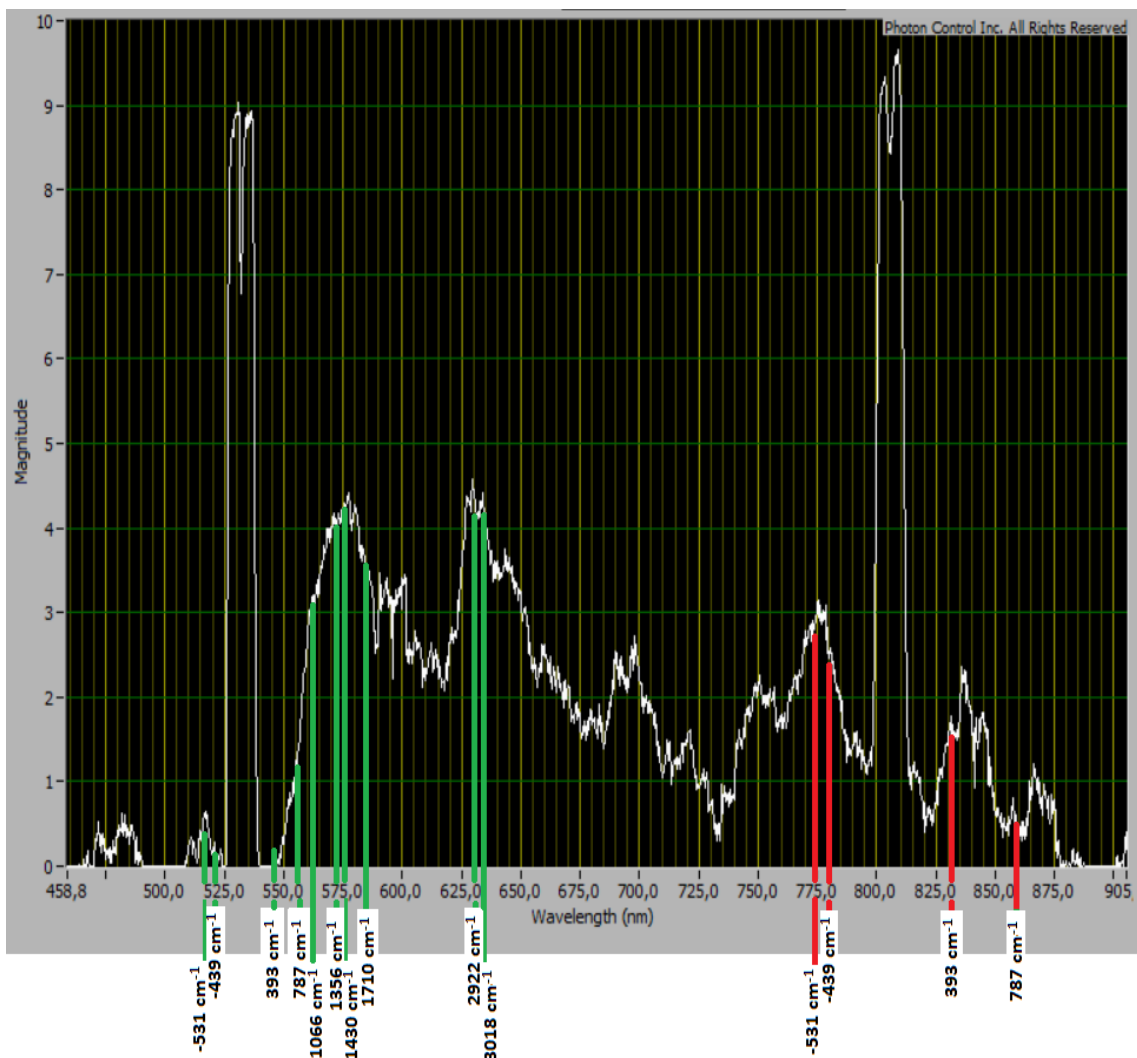
Obrázek 16 - Naměřené spektrum

Ze spektra jsou na první pohled patrná dvě maxima na 532 nm (na obrázku 16 zeleně) a infračervené 808 nm (na obrázku 16 červeně). První maximum bylo očekávané, jelikož se jedná o excitační záření laseru, který buď barevná sklíčka nebyla schopna vyfiltrovat dokonale, nebo šlo o zachycení rozptýleného laseru v nekryté sestavě. Druhé maximum v infračerveném spektru ale také pochází z laseru. Po experimentu bylo zjištěno, že zelené laserové diody ve skutečnosti produkují 808 nm záření, které dopadá na krystal



yttrium orthovandičnanu dopovaného atomy neodymu (Nd:YVO<sub>4</sub>). Tento krystal pak produkuje záření ještě hlouběji v IR, tedy 1064 nm. Toto světlo pak prochází krystalem titanylfosforečnanu draselného (KTP), kde se mění záření na zelených 532 nm. Zelené diodové lasery tedy z principu vyzařují z velké části i v IR spektru. Tento jev byl omezen vložení zeleného filtru před laser, však nebyl úplně odstraněn. Jak již bylo zmíněno, excitační světlo mohlo do spektrometru také pronikat kvůli otevřené konstrukci celého aparátu na antivibračním stolku, kde nebyla dokonale stíněna cesta paprsku. Při měření mohl vznikat Ramanův posun nejen z určeného excitačního svazku, ale pravděpodobně i z vedlejšího záření laseru v IR spektru. Samotná měřená data vykazovala velké množství šumu i přes zchlazení spektrometru a Ramanův posun byl tímto značně ovlivněn.

Byť byla spektrální charakteristika opakovatelná, některá lokální maxima grafu se ztrácela v šumu a byla málo prokazatelná.



Obrázek 17 - Vyznačený Ramanův posun

Použitím vzorce 3.1 lze vypočítat, jakou vlnovou délku by měly mít spektrální čáry Ramanova posunu acetonu z tabulky č. 2. V *obrázku 17* jsou pak naznačeny vypočítané teoretické spektrální čáry acetonu. Zeleně jsou vyznačeny ty způsobeny excitací 532 nm a červeně ty s excitací 808 nm.

$$\lambda [nm] = \frac{1}{\frac{1}{\lambda_{ex}[nm]} - \frac{\text{Ramanův posun [cm}^{-1}\text{]}}{10^7}} \quad (3.1)$$

Je viditelné, že v oblasti vlnové délky těsně nad excitačním laserem byly ořezány vlivem málo strmého filtru. V tomto případě vzorek acetonu měl Ramanovo spektrum příliš blízko excitačnímu záření pro použití s tímto filtrem. Zde se ukazují výhody jakostních hranových filtrů, které oddělují spektrum těsně u laseru a neblokují vlnové délky blízko laseru. Jednotlivá maxima grafu byla dohledatelná, ale bohužel šum detektoru byl příliš velký, nebo laser příliš slabý na to, aby bylo možno Ramanovo spektrum přesně a jednoznačně detekovat v této experimentální sestavě.

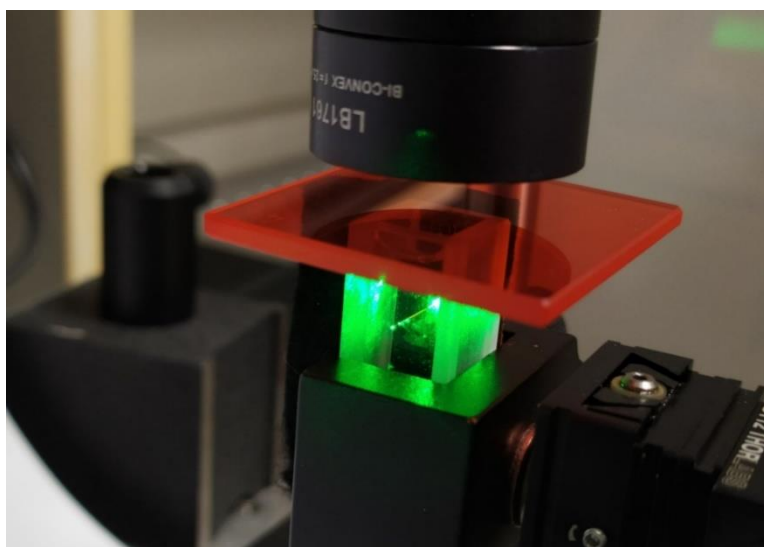
Další iterace návrhu se tedy zaměřovaly na vylepšení poměru signálu vůči šumu vylepšením filtrace, detekce spektra a použití intenzivnějšího zdroje excitačního záření.

## 3.8 Experiment č.2

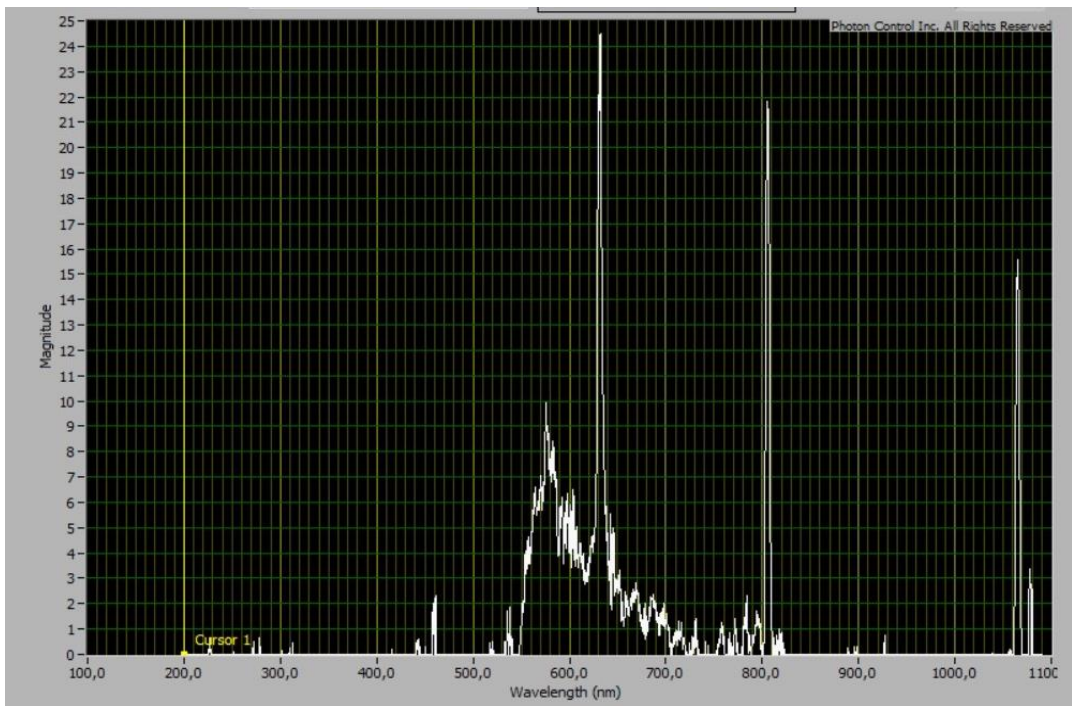
Druhý experiment se soustředil na optimalizaci předešlých testů. Sestava byla přesněji seřízena a bylo použito kvalitnějšího optického kabelu s 400  $\mu\text{m}$  jádrem, které zajišťovalo lepší přenos slabého světelného signálu ze vzorku do spektrometru. Kabel byl vhodně určen na viditelné a blízké infračervené spektrum.

Boční stěny původně použité hranolové kyvety byly broušené a rozptylovaly světlo, tudíž byla vyzkoušena dostupná válcová kyveta bez povrchové úpravy. Po výměně těchto vzorkových nádobek se ale nepodařilo dosáhnout rozeznatelných výsledků. Po změně orientace sběrné čočky nad hladinu vzorku se však podařilo provést několik pokusů s prokazatelně lepšími výstupy, viz. *obrázek 19* a *20*. Zlepšení bylo přikládáno eliminaci vlivu stěn kyvety. Podobných výsledků by bylo teoreticky možné dosáhnout i s hranolovou kyvetou bez povrchové úpravy, při orientaci sběrné čočky ze strany. Taková kyveta nebyla při laboratorních experimentech dostupná a tato úvaha tedy nebyla ověřena. Vzhledem k úspěšnosti druhých experimentálních výsledků bylo ale rozhodnuto orientaci sběrné čočky nad kyvetou ponechat. Ostatní součásti sestavy zůstaly zachovány.

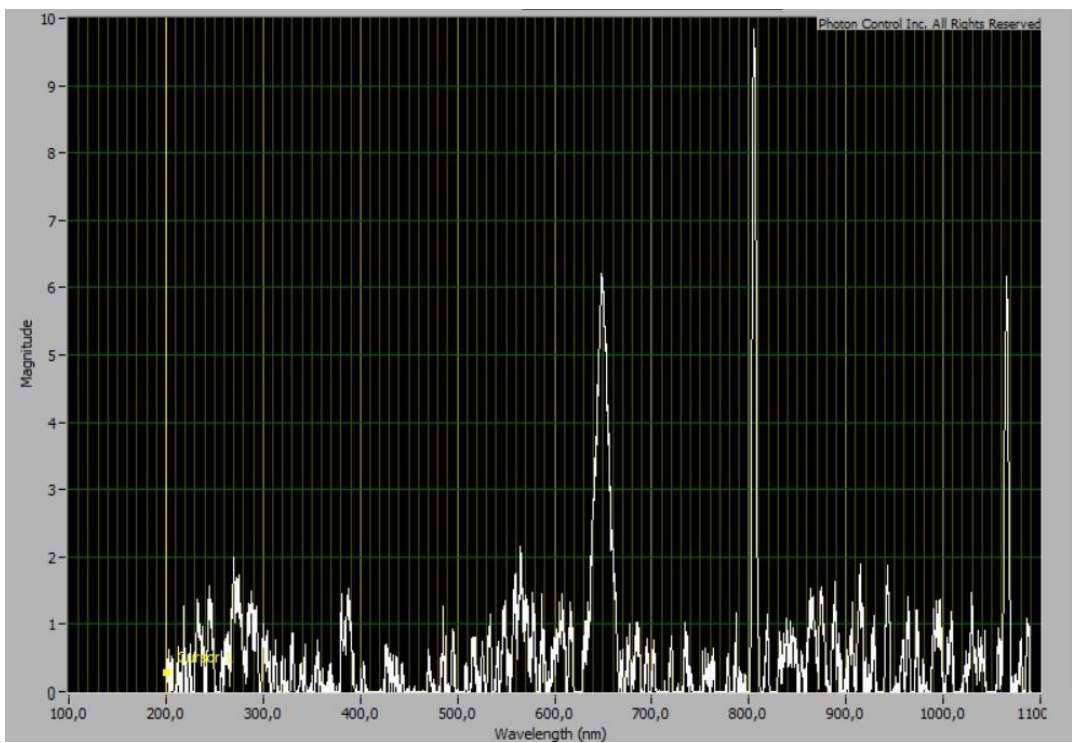
Během druhého experimentu byl opět použit aceton jako vzorek. Tentokrát byly zaznamenány jasně viditelné peaky na vlnové délce 629 až 633 nm, které odpovídaly Ramanově posunu 2922 až 3005  $\text{cm}^{-1}$  pro  $\text{CH}_3$  methylovou funkční skupinu v molekule acetonu. Při zkušebním porovnáním s kohoutkovou vodou tato lokální maxima nevznikala, naopak dle předpokladu vznikala peak při vlnové délce 650 nm, který odpovídá Ramanově posunu 3430  $\text{cm}^{-1}$  pro OH vazbu, která se u vody typicky projevuje. Ve všech měřeních ale byl stále viditelný vliv infračervené složky zeleného laseru, a proto tyto oblasti dat nebyly brány v potaz. V tomto experimentu se nicméně podařilo prokazatelně zachytit Ramanův rozptyl ve vzorku.



Obrázek 18 - Sběrná čočka nad vzorkem



Obrázek 19 - Ramanovo spektrum acetonu z experimentu č.2

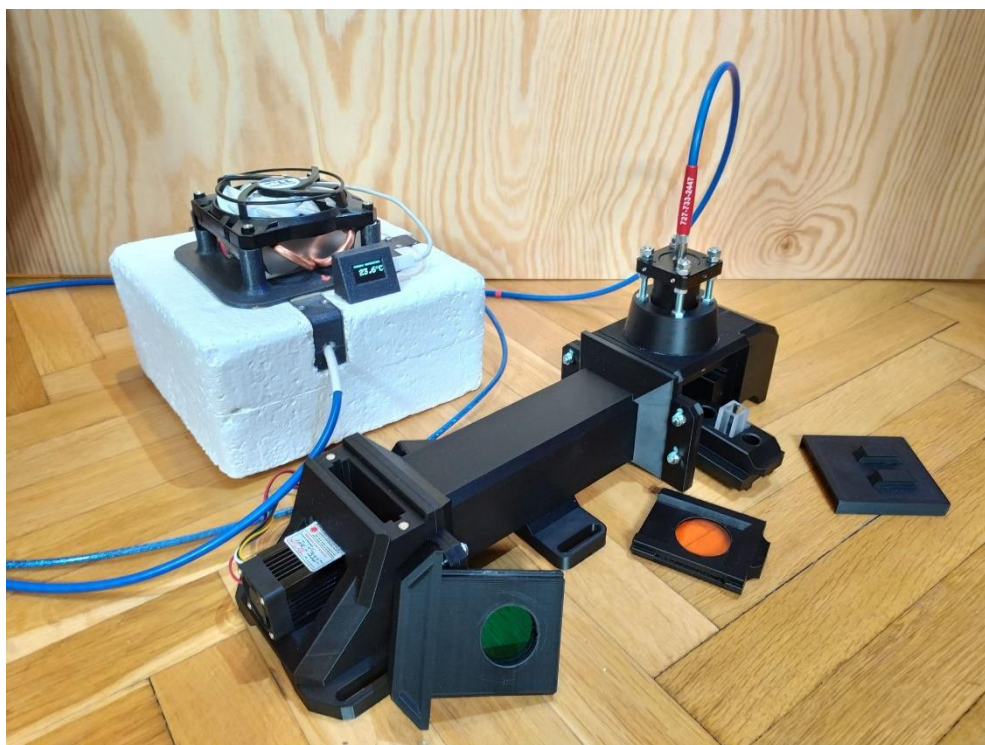


Obrázek 20 - Ramanovo spektrum vody z experimentu č.2

## 4. NÁVRH A KONSTRUKCE RAMANOVA SPEKTROMETRU

Díky poznatkům získaným v experimentální části bylo nyní možné určit, jakým způsobem se bude konstrukce finálního zařízení nadále vyvíjet. Jelikož se podařilo dosáhnout opakovatelných výsledků, bylo usouzeno, že bude ponechán návrh se sběrovou čočkou nad vzorkem a bude se pracovat s levnou experimentální verzí se zabarvenými skly jako filtry. Před stavbou zařízení byl dosud používaný spektrometr Photon Control SPM-002 s příslušným softwarem nahrazen spektrometrem RedTide 650 firmy Ocean Optics. Tento novější spektrometr sice má menší rozsah a rozlišení spektra, ale pro excitační vlnovou délku 532 nm a její blízké okolí, kde se hledaný Ramanův rozptyl nachází, by měl být tento spektrometr dostatečný. K výměně spektrometrů došlo z důvodu využití SPM-002 na jiných laboratorních experimentech. Další změnou bylo použití výkonnějšího laseru, u kterého se dle teorie předpokládalo, že bude lépe excitovat vzorek pro pozorování Ramanova posunu.

Samotná konstrukce byla rozdělena na tři hlavní části. Jednou z částí byl chladicí box, ve kterém je spektrometr umístěn a aktivně chlazen pro optimální výsledky. Druhou částí stavby je návrh programu, který umožňuje sbírat užitečná data ze spektrometru. Třetí částí je optický tunel, kde je umístěn laser, filtry a zaostřovací i sběrná optika. Tento tunel zahrnuje i prostor pro vzorek v kyvetě. Celou sestavu lze vidět na *obrázku 21*.



Obrázek 21 - Hotová sestava

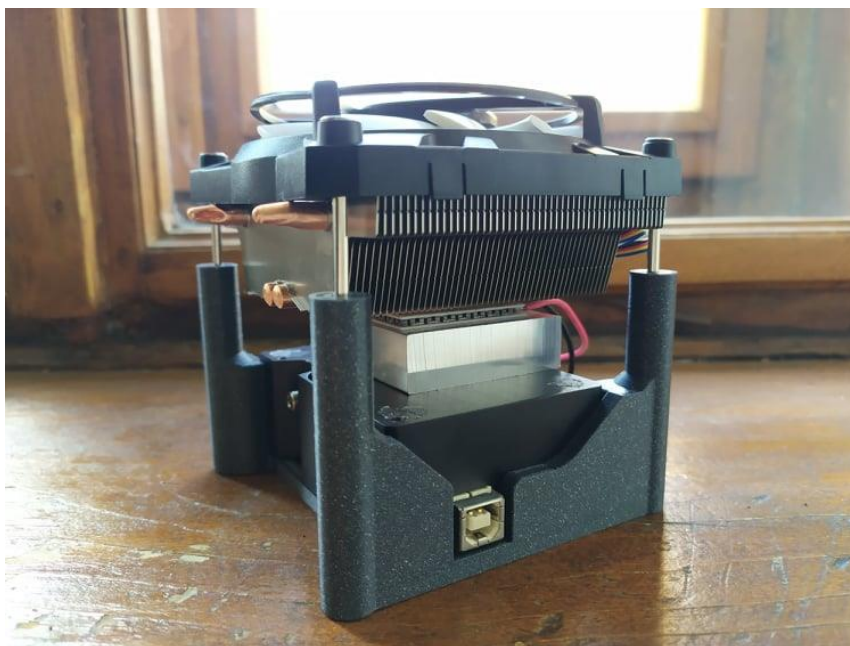
## 4.1 Chladicí box

Během experimentů se vliv chlazení na spektrometru pozitivně ukázal na znatelném snížení hladiny šumu. Bylo tedy patrné, že ochlazovat bude třeba i k hotovému zařízení. Původní umístění spektrometru v autolednici bylo ale neefektivní, tudíž byl spektrometru dedikován vlastní chladicí box. Chladicího efektu bylo dosaženo použitím 80 W Peltierova článku. Hlavními kritérii boxu byly samozřejmě chladicí výkon, ale také možnost nedestruktivně a relativně pohodlně spektrometr z boxu vyjmout v případě potřeby.

Tělo boxu bylo sanitárním silikonem lepeno z několika kusů 5 cm tlustého polystyrenu, který poskytuje dostatečnou tepelnou izolaci spektrometru od okolí. Několika vrstvami bílé akrylátové barvy se povrch boxu zpevnil a zabraňuje se tak drobení polystyrenových kuliček. Díly vnitřního rámu, kabelových krytek a víka byly vyhotoveny na 3D tiskárně z metalicky šedého PLA plastu. Všechny tyto i následně uvedené tisknuté součásti byly navrženy v programu Autodesk Fusion 360 a jsou dostupné v elektronické příloze této práce ve formátech *.stl* a *.f3d*. Spektrometr samotný byl vložen do tisknutého rámu zapuštěného v polystyrenovém boxu. Po připojení periférií výřezy ve stranách boxu byla kabeláž zaizolována minerální vatou, a poté byla uzavřena v boxu zašroubováním kabelových krytek.

Víko boxu ve svém středu přidržuje hliníkový blok, který tepelně spojuje spektrometr s vnějším boxu, ale zároveň poskytuje izolační mezeru oddálením spektrometru od horké strany Peltierova článku s chladičem. Po uzavření víka tento blok vevnitř dosedá na kovové tělo spektrometru a z vnějšku víka je na blok přiložen Peltierův článek. K chlazení horké strany článku byl použit počítačový ventilátor na procesory s chladicím výkonem do 100 W. Šrouby chladiče pak přitahují celou konstrukci rámu a víka s chladičem k sobě. Uvnitř tak vzniká vrstvená konstrukce složená z komponent: spektrometr, hliníkový blok, Peltierův článek a počítačový chladič s ventilátorem, viz. *obrázek 22*. Mezi každými z komponent byla při montáži nanesena teplovodivá pasta.





*Obrázek 22 - Chladicí systém spektrometru v rámu*

K informativnímu měření vnitřní teploty byl vyroben modul s řídicí deskou Arduino Pro Micro s I2C 0.96“ OLED obrazovkou a NTC termistorem zapojeným s rezistorem v děliči napětí. Analogový port řídicí desky snímá napětí na termistoru a následně vypočítává a zobrazuje odpovídající teplotu na obrazovce. Zařízení bylo kalibrováno porovnáním s několika různými teploměry. Termistor je zaveden do chladicího boxu na tělo spektrometru. Tento systém tedy hlásí pouze teplotu v komoře, nikoli teplotu samotného CCD čipu ve spektrometru, ale po dostatečně dlouhém ustálení by se vnitřní teplota měla blížit hlášené teplotě.

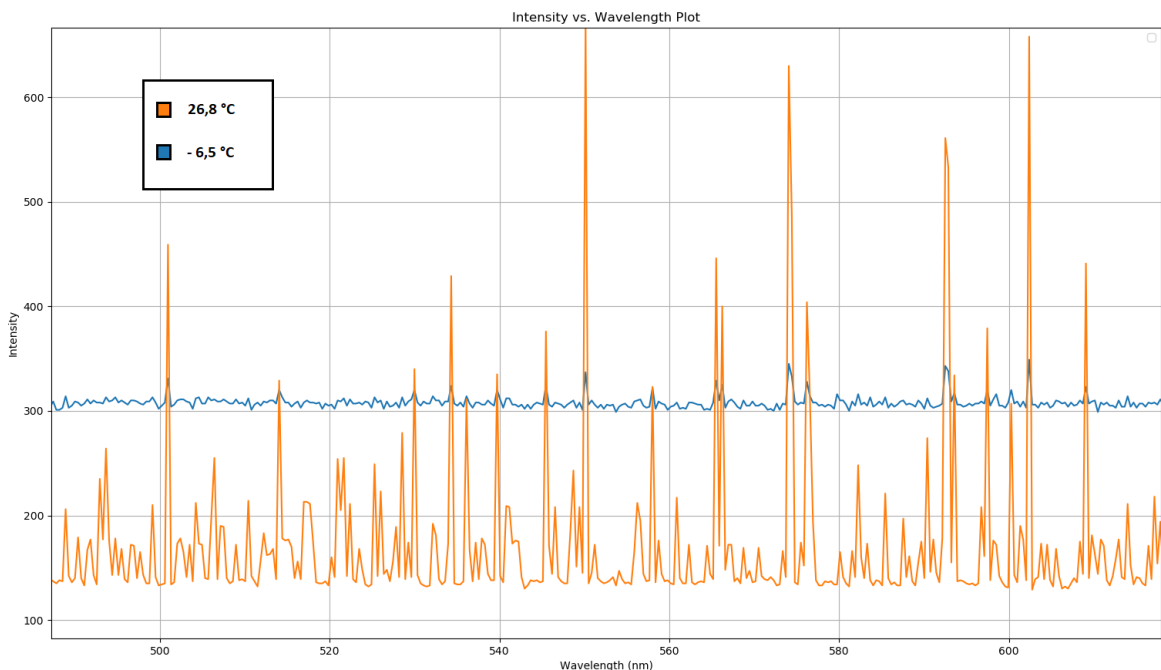
Arduino platforma byla vybrána pro svoji modulárnost, cenu a jednoduché použití. Zde se ale kontrolér s obrazovkou používá pouze pro snímání teploty a chladicí box nemá nastavitelnou teplotu skrze tento zcela samostatný modul. Micro USB port Arduino kontroléru je však zpřístupněn pro napájení modulu, a tedy je i možné do budoucna zařízení vylepšovat a přidávat užitečné funkce. Program pro řídicí desku byl psán v nativním Arduino jazyce Wire v prostředí Arduino IDE a je dodán v elektronické příloze práce.

Jak již bylo zmíněno, chladicí box nemá regulovatelnou teplotu. Je tomu tak z důvodu, že čím nižší teploty je dosaženo, tím nižší bude temný šum CCD čipu ve spektrometru. Pro ověření funkce byl proveden zátěžový test. K provizornímu, avšak výkonnému napájení Peltierova článku byla použita 12V větev počítačového zdroje, která by neomezila výkon článku. Tato napájecí větev byla využita i pro ventilátor na chladiči. Při prvním spuštění se po 40 minutách podařilo dosáhnout ustálené teploty  $-12,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Po tomto chladícím cyklu se ale ukázalo, že při vypnutí chlazení se na těle spektrometru sráží více vody, než bylo předpokládáno. Tento jev byl značně omezen vyložním desikantu do boxu kolem spektrometru.

Kvůli vysušení po předchozím testu byl box rozebrán, a bylo nutno znovu aplikovat teplovodivou pastu mezi části sestavy. Zde se ukázalo, že kvalita a typ pasty hraje značnou roli ve výkonu chladícího boxu. Při použití kvalitní pasty na procesory bylo dosaženo mrazu pod  $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ , levnější typ pasty dosahoval teplotního minima  $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vzhledem k nejnižší doporučené teplotě od výrobce spektrometru, která činí  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ , je dosažený chladící výkon boxu ideální.

Následoval test vlivu chlazení na použitý spektrometr, kde proběhlo měření temného spektra v teple i za studena po ustálení, viz *obrázek 23*.



*Obrázek 23 - Porovnání vlivu teploty na termoelektrický šum*

Během tohoto testu se již využívala prototypová verze programu RaSpec, který je popsán níže v kapitole 4.3. U obou měření nebylo využito vyhlazování, průměrování, ani odečítání pozadí temného spektra ve tmě. Doba integrace byla nastavena na 5 sekund pro zvýraznění vlivu. Teplota v boxu bez spuštěného chlazení byla  $26,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ , což byla vyšší než pokojová teplota. Vzhledem k izolačním vlastnostem boxu je logické usuzovat, že spuštěný spektrometr box vyhřeje. Tento jev je viditelný i při chlazení, kdy se při vypnutí spektrometru podařilo dosahovat nižších teplot. Ze získaných dat je patrné, že aktivní chlazení CCD čipu ve spektrometru skutečně znatelně napomáhá ke snížení hladiny statického temného spektra, a to až desetinásobně. Výsledky testu také potvrzují předpoklady získané z datalistu výrobce čipu.

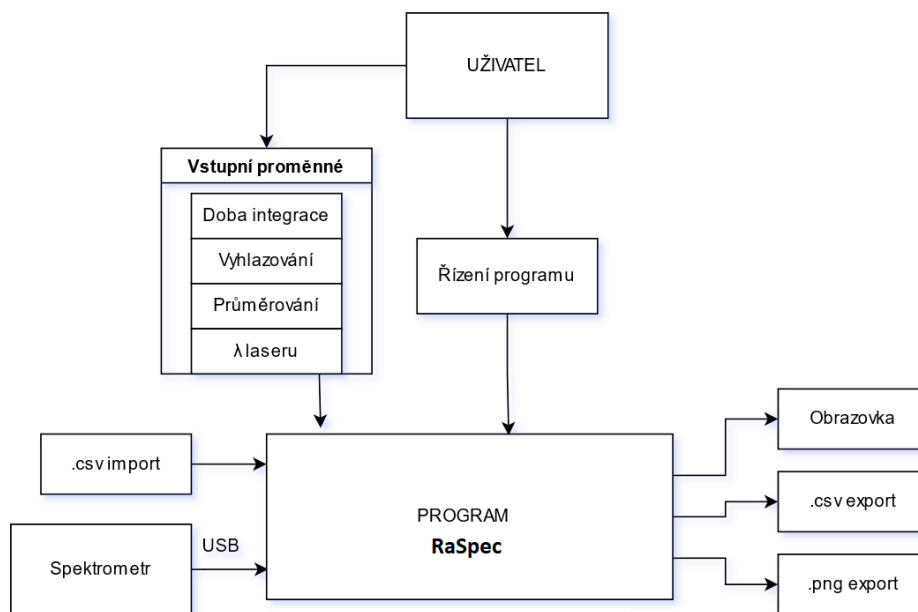


## 4.2 Software RaSpec

Podobně jako hotová zařízení bývají drahá, pak i licence k používání příslušného softwaru jsou často nedostupně drahé. S úvahou k budoucímu využití hlavně v laboratorní výuce bylo rozhodnuto, že k tomuto experimentálnímu nasazení postačí navrhnout ovládací software s několika základními, však užitečnými funkcemi k akvizici potřebných dat.

Tento program byl nazván jednoduše RaSpec a byl sepsán v jazyce Python 2.7 s pomocí několika volně dostupných knihoven. Za zmínku stojí dobře známé a hojně používané knihovny *numpy* a *matplotlib*, které zajišťovaly jednoduchou práci s daty a vykreslování grafů. O uživatelské prostředí se stará *Tkinter* a programově kritické operace se spektrometrem jsou zprostředkovány skrze knihovnu *oceanoptics*. Použitý spektrometr Ocean Optics RedTide 650 bohužel nebyl kompatibilní ze žádnou z nalezených knihoven pro nejnovější Python 3.9, proto byla vybrána poslední funkční verze knihovny *oceanoptics* pro Python verzi 2.7. Díky této knihovně ale program stále podporuje několik dalších modelů spektrometrů. RaSpec byl přiložen v elektronické příloze práce jako spustitelný *.exe* soubor, ale i jako *.py* kód se základními instrukcemi pro spuštění.

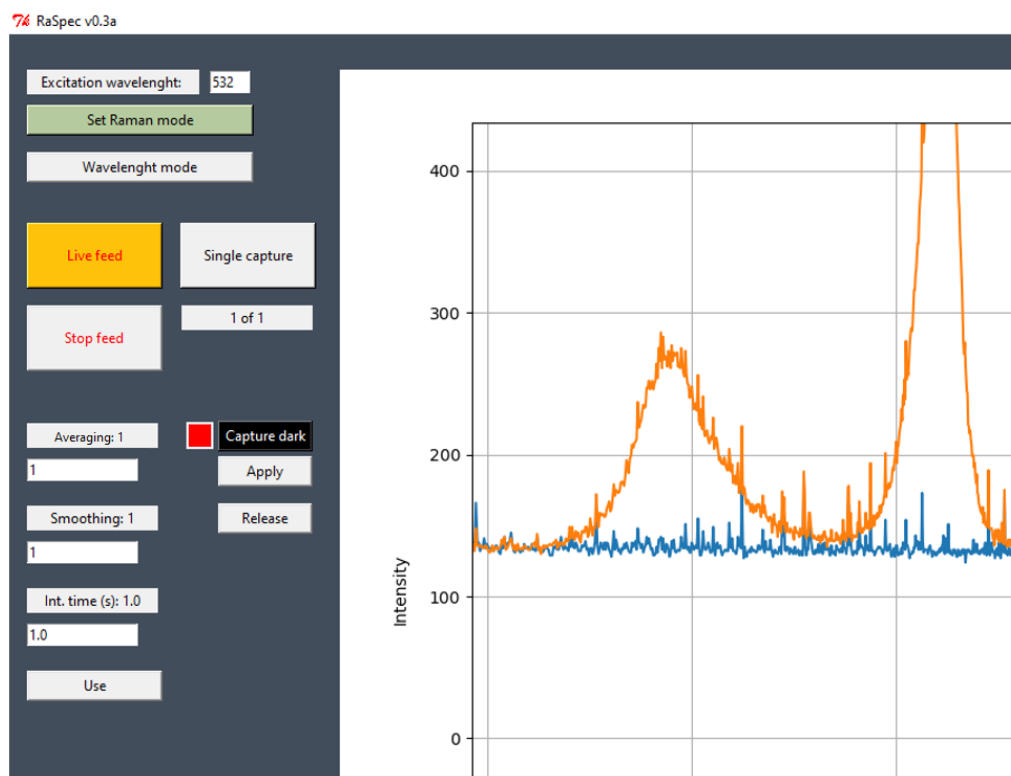
Níže uvedené blokové schéma *obrázek 24* popisuje základní pracovní strukturu programu.



Obrázek 24 - Funkční blokové schéma programu

Uživatelské prostředí RaSpec je řešeno skrze vstupní pole a tlačítka v jednoduchém programovém okně, ve kterém jsou zároveň zobrazována naměřená, či importovaná data, viz. *obrázek 25*. Program je schopen se spektrometrem pracovat v klasickém režimu měření vlnové délky, ale je možné použít i režim pro Ramanovu spektrometrii, kde je

přepočítávána horizontální osa grafu. Pro zpracování dat jsou zde nástroje vyhlazování grafu, průměrování ze série měření a odečítání pozadí temného spektra. Lze také nastavit čas integrace spektrometru od 0,3 ms do 65 s. Tyto časové limity se mohou lišit u jiných modelů spektrometru. Naměřená data je možné kromě přímého zobrazení exportovat buď jako soubor hodnot oddělených čárkou pro další zpracování, tedy .csv, nebo jako obrázek ve formátu .png. Soubory .csv je možné do již vykreslené charakteristiky importovat, což umožňuje jednoduché porovnání vzorků a dat.



Obrázek 25 - Část uživatelského prostředí RaSpec

V horní části uživatelského panelu je možné přepínat mezi zmíněnými režimy vlnové délky nebo Ramanova posunu. Zelené zabarvení tlačítka vyznačuje aktivní režim zobrazování. Při spuštění Ramanova módu je nutné zadat vlnovou délku excitačního záření, jelikož Ramanův posun je vztažený k této hodnotě. K výpočtu v programu bylo opět využito vzorce 3.1.

Výrazná tlačítka níže ovládají sběr dat ze spektrometru. Žlutá barva u těchto tlačítek vyznačuje aktivitu, např. čekání na další snímek ze spektrometru. Levá tlačítka *Live feed* a *Stop feed* spouští a zastavují okamžité vykreslování dat po uběhnutí integrační doby. Při nízkých integračních časech se tato funkce nabízí k použití jako živý přenos ze spektrometru. Tato funkce je dostupná pouze při hodnotě *Averaging* rovno 1.

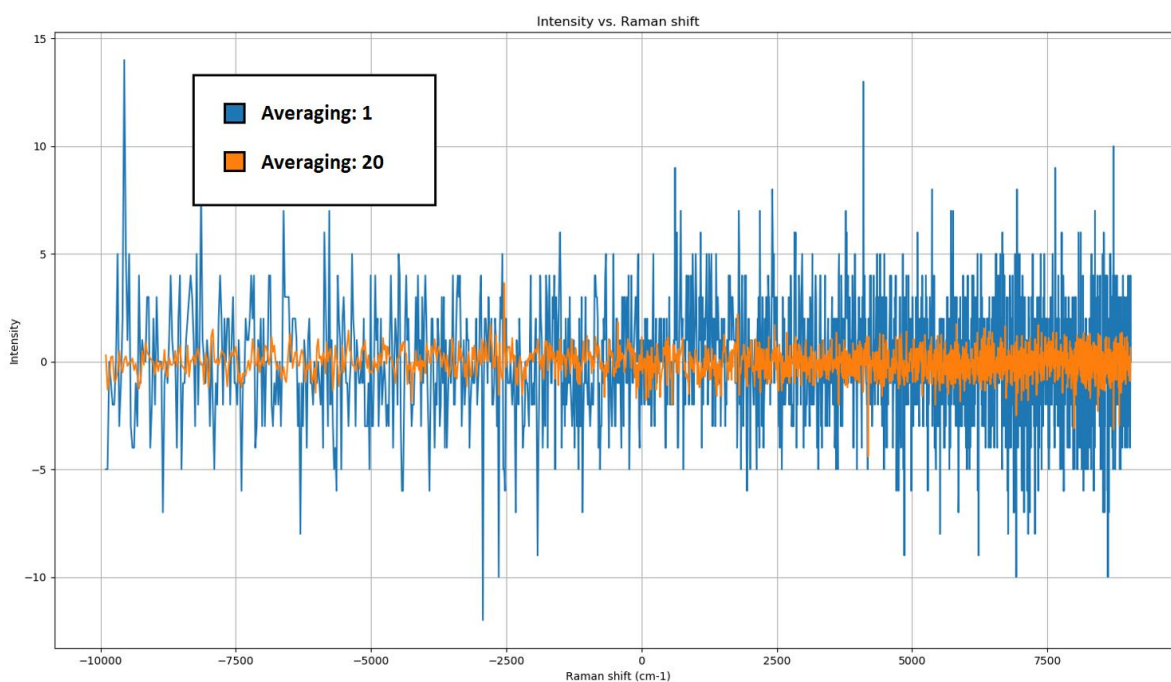
Tlačítko *Single capture* vykreslí pouze jeden snímek po uběhnutí nastavené integrační doby. V případě, že vstup funkce *Averaging* je vyšší než 1, pak tlačítko *Single capture*

pořídí tolik snímků, kolik bylo ve zmíněné funkci číslem nastaveno a následně zobrazí aritmetický průměr sesbíraných dat. Pod tímto ovládacím prvkem je také zobrazen aktuální počet uložených snímků z nastaveného počtu.

Pod akvizičními tlačítky jsou kromě zmíněné funkce *Averaging* také nástroje *Smoothing*, *Integration time* a *Capture dark*. První část *Averaging* zaznamenává data do paměti v počtu zadaném do sloupce a před zobrazením vypočítá jejich průměr. Tato jednoduchá operace zajistí utlumení časově proměnného šumu ve výstupu spektrometru, a tímto je dosaženo lepšího poměru signálu oproti šumu. Jelikož i velmi slabá lokální maxima hledaná v datech jsou více méně statická, jejich průměr se mezi jednotlivými snímky příliš nemění. Náhodný šum naopak v každém snímku nabývá různých hodnot v blízkém okolí měřeného signálu. Průměr šumu ze všech snímků se pak přibližuje reálné hodnotě signálu, a tedy efektivně klesá. Úryvek funkce *Averaging* s komentářem je na obrázku 26 níže. Dále uvedený obrázek 27 ukazuje porovnání šumu kolem nuly ve tmě. Vyhlazování zde nebylo využito a integrační čas byl nastaven na 1 s. Je viditelné, že funkce *Averaging* hladinu nahodilého šumu skutečně snižuje.

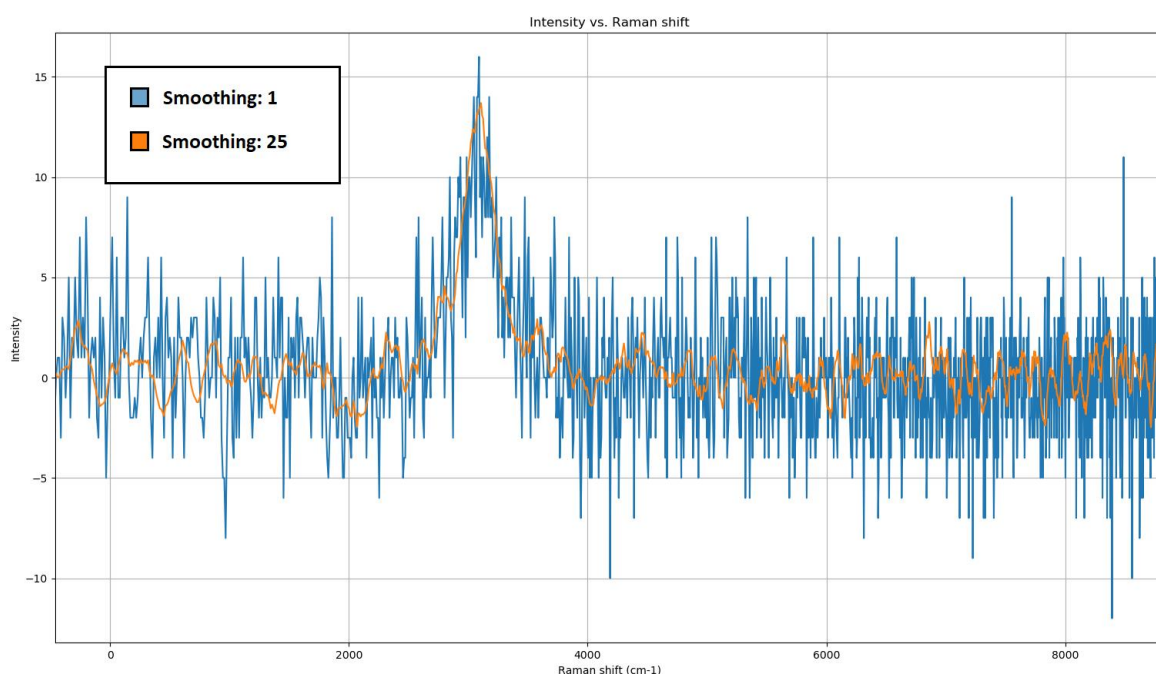
```
sp = np.array(self.spectrometer.intensities())
self.sp[:,self._sample_n] = sp      #vytvoří maticové pole pro sběr dat
self._sample_n += 1                #inkrementuje počet snímků
self._sample_n %= self.sp.shape[1]
if self._sample_n != 0:             #pokud není čítač u konce, nevykresluje
    return
sp = np.mean(self.sp, axis=1)       #výpočet průměru dat knihovnou numpy
```

Obrázek 26 - Funkce výpočtu průměru



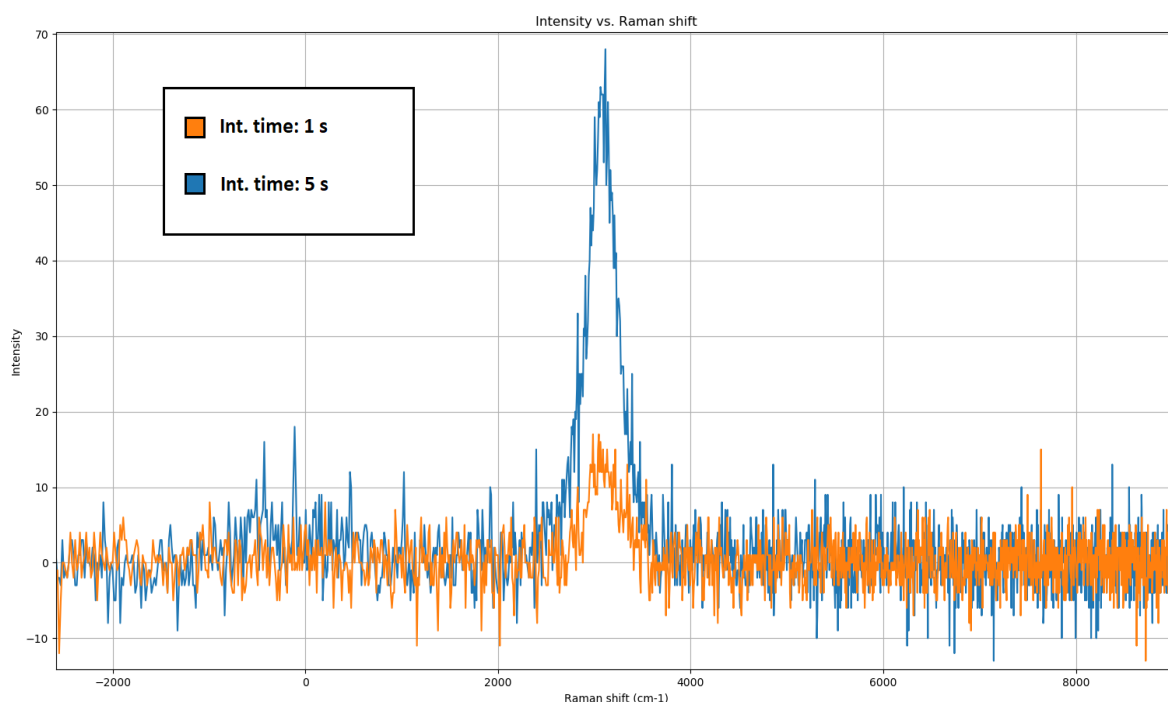
Obrázek 27 - Test funkce averaging

Nástroj *Smoothing* využívá k vyhlazování grafu filtr Savitzky-Golay, který je běžně využíván právě pro vyhlazování kontinuálních řad dat jako jsou spektrálních měření. Tato filtrace poskytuje dobré potlačení šumu s minimální ztrátou užitečných informací. Principově je Savitzky-Golay založen na lokální konvoluci polynomem druhého řádu a následné interpolaci metodou nejmenších čtverců. Vstupní pole v uživatelském prostředí pak číslem udává, po jak dlouhých úsecích z celkové řady bude aproximace probíhat. Při volbě delšího okna dochází k lepšímu vyhlazení, ale také může dojít ke ztrátě hledaných dat při vyhlazení příliš velkým oknem. V *obrázku 28* je ukázka měření proudově omezené LED diody, kde je využito funkce *Smoothing* pro omezení šumu. Integrační čas byl nastaven na 1 s a průměrování dat nebylo použito. Slabé světlo LED diody bez vyhlazování mělo pouze trojnásobně vyšší relativní intenzitu, než šum v pozadí. Při aplikaci vyhlazování s oknem dlouhým 25 datových bodů z celkových 2022 byl ale poměr šumu ku signálu zlepšen o více než polovinu.



*Obrázek 28 - Test vyhlazování*

Integrační čas funkcí *Integration time* nastavuje dobu, po jak dlouho bude CCD detektor ve spektrometru sbírat fotony před následným odesláním akumulovaného náboje do A/D převodníku pro další zpracování. Čím déle senzor čeká, tím více akumuluje náboje. Minimální integrační čas je určen rychlostí spektrometru a v případě RedTide 650 je to 0,3 s. Sekundové až minutové čekací periody se pak u spektrometrů využívají ke měření velmi slabých signálů, kde akumulace náboje v CCD prakticky zvýrazňuje přítomnost peaku v měřených datech. Je nutno podotknout, že dlouhé integrační časy ale mohou podobně jako signál zvýraznit i nežádoucí šum. *Obrázek 29* ukazuje vliv integrační doby spektrometru na velikost detekovaného signálu proudově omezené LED.



Obrázek 29 - Test vlivu integrační doby

Důležitým prvkem nástrojových programů spektrometrů je odečítání pozadí temného spektra. Temné spektrum je výsledkem temného šumu, který vzniká termoelektrickými jevy generace párů díra-elektron v samotném CCD čipu. Rychlost generace párů se označuje jako temný proud a má hodnotu přímo závislou na teplotě čipu. Pokud na detektor nedopadají fotony měřeného světla, tedy je měřena tma, pak je možné ve výsledné charakteristice zaznamenat nenulové temné spektrum.

Malé signály se mohou v tomto spektru ztratit, takže je vhodné tento termoelektrický vliv omezit. Jedním ze způsobů je již popsané chlazení čipu, kde se snížením teploty také snižuje pravděpodobnost generování párů elektron-díra v čipu. Dalším způsobem je odečítání tohoto temného spektra od měřených dat. Jelikož je při stálé teplotě tvar i hodnota temného šumu z velké části statická, pak lze jednoduše spektrum ve tmě zaznamenat a při měření vzorků temné spektrum odečíst.

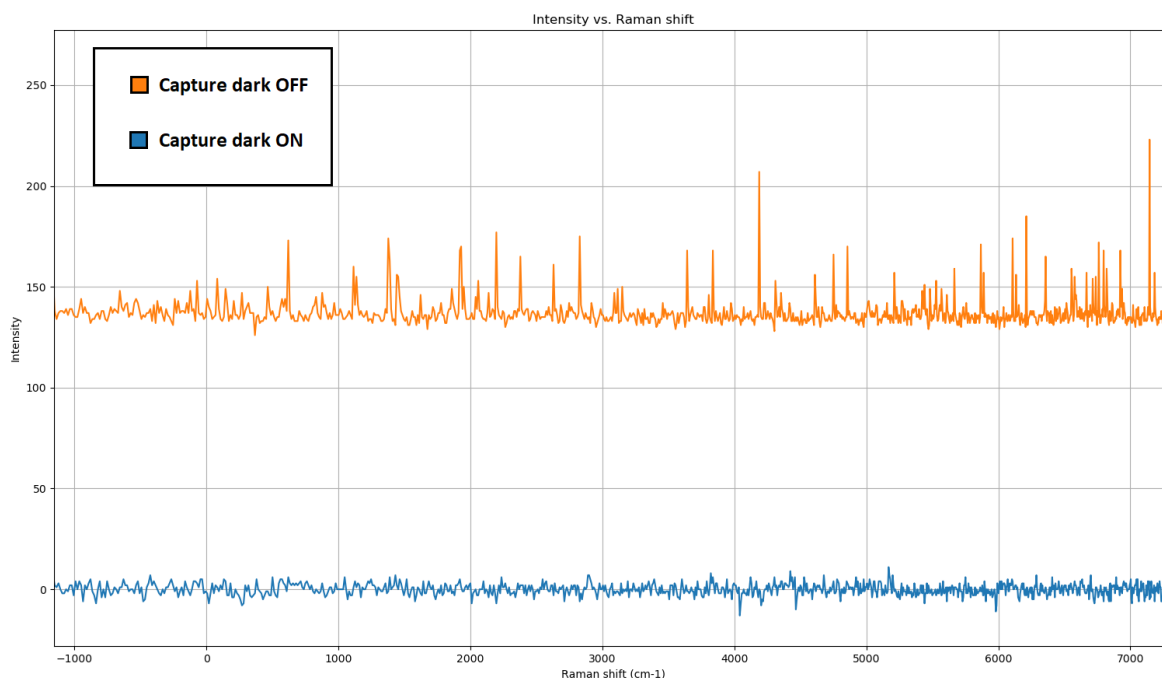
Implementace v programu je jednoduchá, viz. *obrázek 30*. V pracovním okně pak tlačítko *Capture dark* uloží aktuální naměřená data a tlačítko *Apply* spustí odečítání uložených dat od nově příchozích dat. Smazání spektra v mezipaměti je provedeno příkazem *Release*. Pro intuitivní ovládání byla tato funkce opatřena informativním barevným indikátorem, který reprezentuje aktuální stav funkce. Červené zvýraznění znamená, že do paměti nebylo uloženo spektrum k odečtení. Žlutá barva značí uložení spektra, ale spektrum ještě nebylo aplikováno k odečtení, nebo nemohlo být aplikováno. Zelená barva signalizuje úspěšné uložení i odečítání spektra od příchozích dat. Modrý ukazatel informuje uživatele, že bylo uloženo temné spektrum a odečítání je spuštěno, ale bylo změněno nastavení snímání a používané spektrum k odečtení nemusí být souhlasné.

Obrázek 31 ukazuje vliv tohoto odečítání temného spektra na signál ve tmě. Pro obě měření byla ponechána původní nastavení, tedy integrační čas 1 s a vyhlazování s průměrováním na hodnotě 1. Z porovnání spekter vyplývá, že odečtení nenulového temného spektra způsobuje vyrovnaní charakteristiky spektrometru kolem nuly a zároveň jsou v tomto spektru odstraněny silné peaky.

```
# self.dark    jsou uložené intenzity temného spektra
# self.applyD  určuje, zda-li bylo spektrum nastaveno k odečtení
# sp          jsou aktuálně získané intenzity

if self.dark is not None and self.applyD == True:
    sp = np.subtract(sp, self.dark) # odečtení spekter a uložení pomocí numpy
```

Obrázek 30 - Část programu pro odečtení temného spektra



Obrázek 31 - Vliv odečtení temného spektra

Jak již bylo zmíněno, během měření Ramanova rozptylu může u některých vzorků docházet k fluorescenci. V naměřených datech se fluorescence vyznačuje intenzivní širokospektrální odezvou ve formě viditelného širokého maxima, či nelinearitou celé oblasti grafu od vlnové délky laseru až po infračervené spektrum. Relativně drobné peaky Ramanova posunu se pak nachází na této deformaci grafu. K přesnému určení látky je pak třeba vliv fluorescence z dat odstranit, a k tomuto účelu byla do programu přidána sekce linearizace grafu pod názvem *Baseline removal section*. Tato funkce je založena na asymetrickém vyhlazování pomocí metody nejmenších čtverců, kde je algoritmem nalezen a odstraněn zmiňovaný nárůst intenzity. Sekce má dvě vstupní proměnné, a to

asymetrický parametr  $p$  a vyhlazovací parametr  $\lambda$ . Tato část programu RaSpec je funkční, ale její použití na vzorcích je experimentální. Každý vzorek a každé snímací nastavení totiž vyžadují ruční nastavení vstupních parametrů  $p$  a  $\lambda$ , a tedy je potřeba získat jisté zkušenosti i teoretickou znalost uživatele. Pro usnadnění práce s nástrojem se ale v grafu při aktivaci funkce vykresluje křivka, kterou si pomocí vstupních proměnných uživatel tvaruje. Připravená křivka se od naměřených dat odečte obdobným způsobem jako je u odečtení temného spektra a v datech poté zůstane rozdíl odečtení obsahující spektrum Ramanova posunu zkoumané látky.

V dolní oblasti levého uživatelského panelu se pak nachází periferie pro práci s daty. Je zde možnost exportovat a importovat data ve formátu *.cvs*. Tyto soubory mohou být užitečné pro další zpracování dat v programech jako Microsoft Excel, nebo Matlab. Exportovaná data jsou uspořádána jako čárkou oddělené hodnoty vlnové délky, či Ramanova posunu s příslušnou relativní intenzitou. Každý další bod grafu pak v souboru začíná na novém řádku. Tlačítko *Close .cvs* zavře všechny otevřené soubory. Na spodní hraně okna se nachází nástrojový panel pro graf tvořený knihovnou *matplotlib*, který umožňuje přiblížení, posun po grafu a uložení grafu jako *.png*. V protějším dolním rohu pracovního okna jsou souřadnice, které udávají přesnou pozici kurzoru myši ve vykresleném grafu.

### 4.3 Optický systém

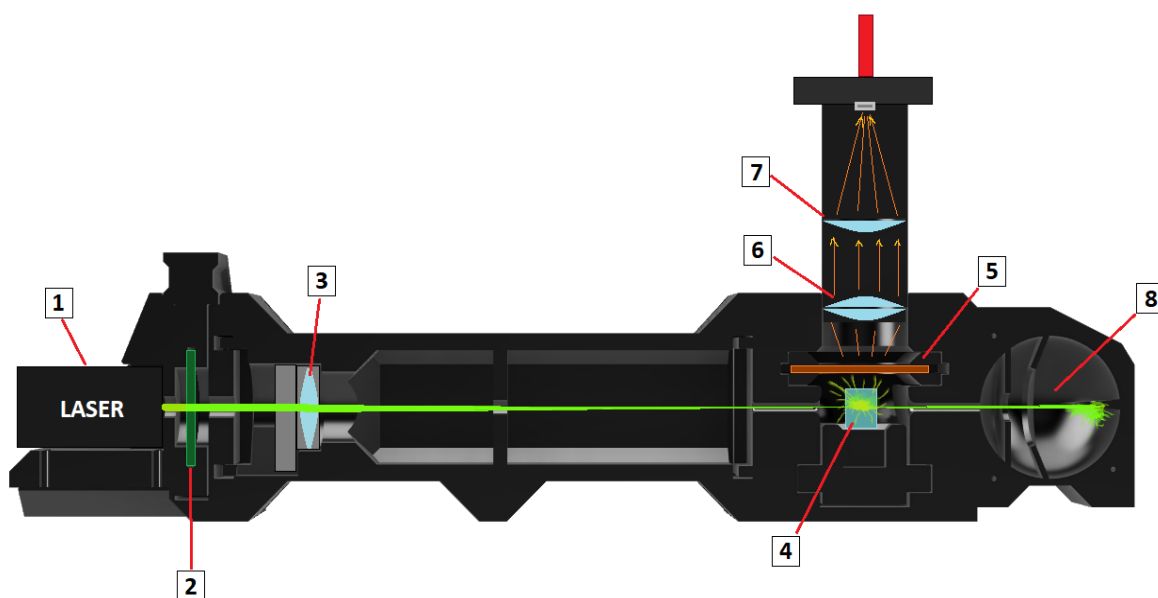
Hlavní myšlenkou optické sestavy bylo její konstrukci řešit návrhem jednoduchého uzavřeného stavebnicového systému, který by umožňoval případné vylepšení jednotlivých komponent. Uzavření a správné zakončení cesty laseru také zaručí bezpečnou práci. Pro relativně levnou a rychlou výrobu aparátu byl opět zvolen 3D tisk. Všechny součásti tohoto zařízení byly tisknuty z černého PLA plastu, který se vyznačuje svou tuhostí a jednoduchým zpracováním. Tuhost vybraného plastu se zde hodí pro udržení geometrie seřazené optické sestavy a černý pigment omezí reflektivitu uvnitř zařízení.

Uspořádání systému se sběrnou optikou umístěnou nad kyvetou se vzorkem se zachovalo pro tento design, viz. *obrázek 32*. Stavebnice se skládá ze tří hlavních dílů. Těmi jsou modul laseru, optický tunel a komora s prostorem na vzorky. Plochy mezi montážními segmenty jsou opatřeny vnitřním obvodovým lemem, který při sešroubování stavebnice zamezuje potenciálnímu úniku světla ve spojích a zároveň uvádí spojované díly na správnou pozici. Během prototypového vývoje se ukázalo jako vhodné ponechat ve spoji drobnou vůli, aby bylo možné při utahování šroubů mezi segmenty vhodně doladit pozici paprsku přesně do osy tunelu i komory. Díly vyrobené 3D tiskem totiž mohou mít zavedenou geometrickou vadu kvůli různým defektům během tisku, nebo kvůli geometrii tiskárny samotné, takže lze tímto způsobem využít i nedokonalé součásti.



Utažení spoje ve vhodné pozici při kompletaci se ukázalo být jako dostatečné pro udržení nastaveného směru laseru a po dobu následujících testovacích měření nebylo třeba zařízení opakovaně seřizovat. Na začátku, uprostřed, a na konci zařízení jsou otvory pro případné upevnění na antivibrační optický stůl.

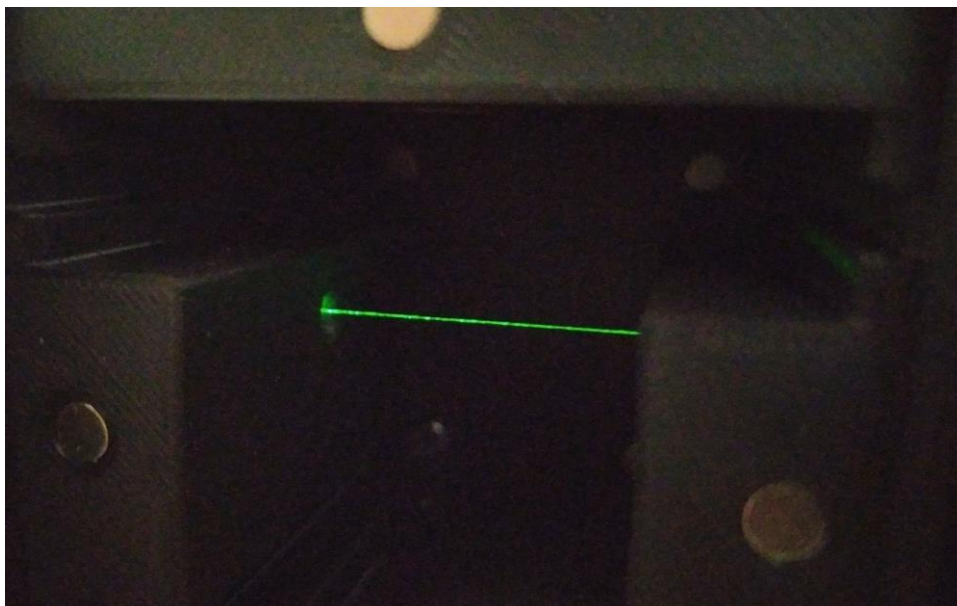
První segment pro instalaci laseru plní zároveň funkci i jako prostor pro vložení filtru excitačního záření. Toto je realizováno šuplíkem se vsunutým filtrem, který se shora zasouvá do těla segmentu. V místě je pak přidržován malými neodymovými magnety, které jsou zapuštěny na vztyčných plochách šuplíku s tělem. Zásuvkové řešení dovoluje v případě potřeby i během provozu bezpečně odebrat či vyměnit filtr laseru. Tím se také otevírá možnost experimentovat s různými filtry bez ohledu na přesnou velikost, protože přiložené modely a 3D tisk právě dovolují rychlou produkci modifikovaných součástí.



Obrázek 32 - Pohled řezem optické soustavy; 1 – excitační laser 532 nm; 2 – filtr propouštějící laser; 3 – bikonvexní čočka  $f = 200$  mm; 4 – kyveta se vzorkem; 5 – filtr blokující laser; 6 – bikonvexní čočka  $f = 24,5$  mm; 7 – planokonvexní čočka  $f = 30$  mm; 8 – černé těleso

Středovým spojovacím segmentem je optický tunel, jehož úkolem je zaostřovat jinak 3 mm široký paprsek laseru do vzorkového prostoru. Tímto se v místě vzorku zvyšuje intenzita excitačního záření, která následně vyvolává intenzivnější Ramanův rozptyl. K účelu ostření laseru byla použita bikonvexní čočka s ohniskem ve vzdálenosti 200 mm, která je pod odnímatelnou krytkou upevněna na začátku tunelu. Dlouhá ohnisková vzdálenost je zde výhodná, protože pak není třeba čočku přesně seřizovat na malý bod jako u čoček s krátkou ohniskovou vzdáleností. Tunel a následný segment pro vzorky využívají přepážkových clon, kde se rozptýlené světlo ze zdroje záření a ostřicí čočky odrazí a pohltí, kdežto paprsek samotný projde dále. Ve vzorkové komoře je díky tomu pak přesně definovaný tenký a velmi intenzivní paprsek bez okolního rozptýleného světla, na který lze seřizovat sběrnou optiku, viz. obrázek 33.

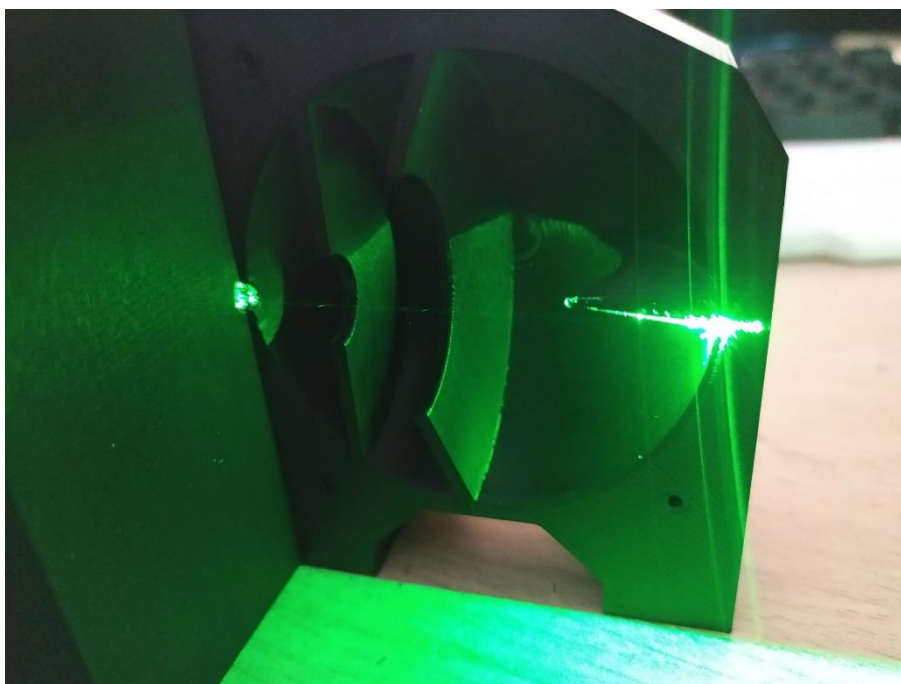




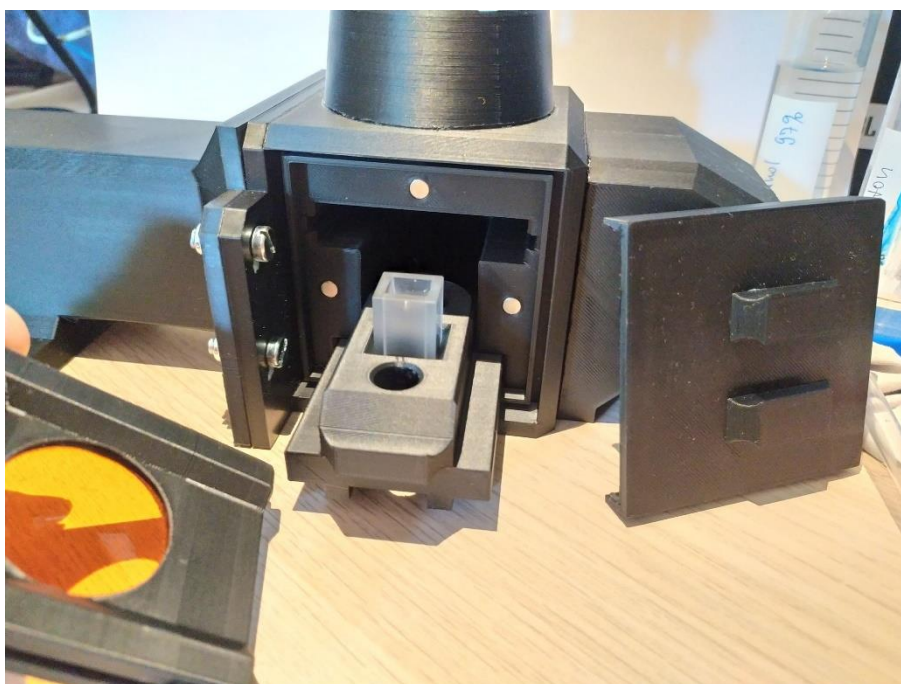
Obrázek 33 - Paprsek laseru ve vzorkovém prostoru

Největší částí systému je komora pro vzorek. Pro zachování tuhosti a přesných rozměrů byla komora samotná tisknuta v jednom kuse. Seřiditelný držák optiky a koncové černé těleso jsou ale pro tvarovou nevhodnost pro 3D tisk tisknuty zvlášť a jsou přesně přilepeny ke komoře dvousložkovým epoxidem. Vnitřní geometrie komory je navržena tak, aby se minimalizovalo riziko odrazu laseru od vnitřní stěny do sběrové optiky nebo ven z komory. Pokud by paprsek laseru končil jednoduše stěnou komory, pak by uvnitř vznikl velmi intenzivní zdroj záření, který by mohl potenciálně ovlivňovat výsledky. Proto je cesta laseru na konci komory vyvedena do tzv. černého tělesa, kde se paprsek bezpečně rozptýlí.

Černé těleso bývá geometricky a materiálově navrženo, aby pohltilo absolutní většinu přicházejícího světla. V případě pojednávaného aparátu je toho docíleno tak, že se díky vnitřní geometrii tělesa světlo uvnitř nesčetněkrát odráží a je ve výsledku pohlceno [11]. Typickým příkladem pro design je tvar duté koule s otvorem, do které by pod nepřímým úhlem paprsek vcházel. Použitý laser má však při svém udávaném výkonu 100 mW po východu z komory stále dostatečnou energii pro ohřátí povrchu PLA plastu při dopadu. Proto byl na protější straně otvoru v černém tělese navržen výstupek, na který by laser dopadal pod malým úhlem. Tím se intenzivní dopadový bod rozloží na větší ploše a rozloží se i energie dodávaná plastu laserem. Na obrázku 34, kde je ukázka dopadu laseru na výstupek na stěně části černého tělesa. Po hodinovém zkušebním provozu se výstupek v černém tělese zřetelně neohřál. Podobně jsou také geometricky řešena černá tělesa pro velmi výkonné lasery, kde paprsek dopadá na např. vodou chlazený černý kužel umístěný v dutině.



*Obrázek 34 - Rozptyl laseru v černém tělese*



*Obrázek 35 - Vzorková komora s příslušenstvím*

Prostor pro vzorek je navrhnut opět pomocí magneticky přidržovaných zásuvek pro jednoduchou manipulaci. Zde také platí, že jednoduchou úpravou šuplíků a tiskem lze rychle a pohodlně použít jinou kyvetu, nebo jiný filtr. Minimální doporučený průměr tohoto filtru je 25,4 mm, jelikož menší průměr by mohl clonit sběrové optice. Horní zástrčka s filtrem zároveň brání odrazu laserového paprsku od stěn do sběrné čočky. Pro další zatemnění celého vnitřního prostoru pro měření jsou pak instalována jednoduchá magnetická dvířka s lemem omezujícím průnik světla. Komora i s příslušenstvím je vyfotografována na *obrázku 35*.

Sběrná optika se skládá ze dvou čoček v tubusu, z nichž první ke vzorku je bikonvexní čočka a druhou je planárně konvexní čočka. První čočka s ohniskovou vzdáleností 25,4 mm je seřizována přesně na bod laseru ve vzorku posunem tubusu po vertikální ose. Druhá čočka směřuje světlo z první čočky přímo do optického vlákna vedoucího do spektrometru. Dostatečně jemný posun a následné robustní upevnění tubusu poskytují čtyři zabudované M5 šrouby s příslušnými maticemi, které zajišťují posun jak ke vzorku, tak i od něj.

## 5. TESTOVACÍ MĚŘENÍ VZORKŮ

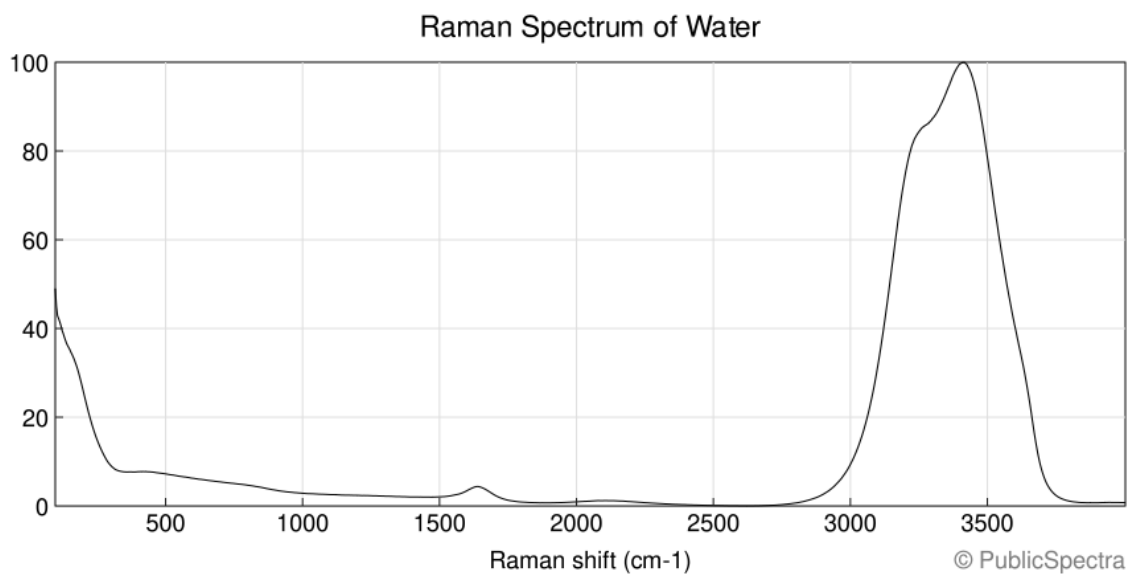
Pro vyzkoušení zařízení jako celku i se softwarem byla určena série měření čtyř vzorků a následné tvarové porovnání výsledných grafů se známými tabelovanými daty. Jako vzorky byly určeny voda, aceton, ethanol a methanol. Voda byla vybrána jako kontrolní vzorek a u tří následujících zmíněných látek se dbalo na schopnost zařízení rozlišit mezi nimi. Porovnávací grafy byly propůjčeny z veřejné databáze látek na internetových stránkách *PublicSpectra.com*.

Všechna měření proběhla bez zeleného filtru před laserem, který sice blokuje infračervenou složku laseru, ale také značně sníží intenzitu zelené složky paprsku. Ve výsledných datech je tedy prezenze paprsku na 808 nm, ale bylo ověřeno, že na naši oblast zájmu ve spektru nemá tato složka laseru rozeznatelný vliv. Aby byla v budoucnu infračervená část laseru odstraněna a zároveň nedošlo ke ztrátě intenzity při 532 nm, pak by muselo být použito kvalitnějších filtrů.

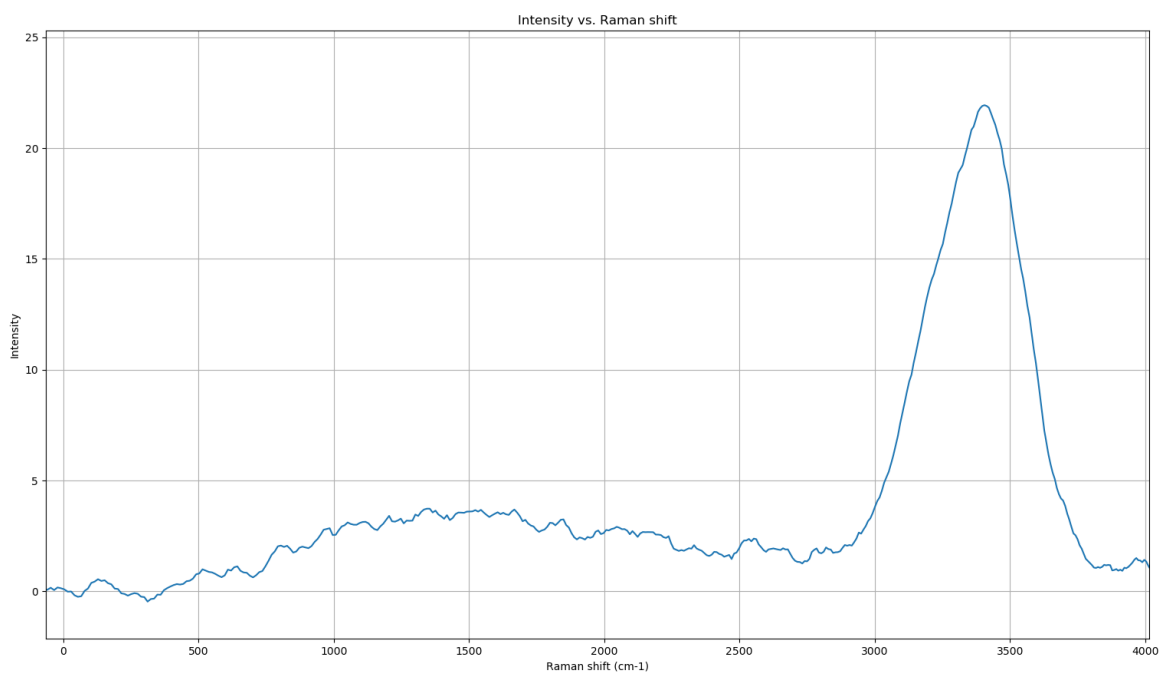
Během testu bylo využito všech dostupných funkcí programu pro extrakci užitečných dat z grafu. Čekací perioda spektrometru činila 10 s a konečné grafické závislosti byly výsledkem průměru třiceti jednotlivých měření pro maximální potlačení náhodného šumu. Vyhlazování i korekce linearit byly používány dle vzorku a potřeby. Teplota spektrometru se před měřením ustálila na  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  a teplota okolí byla  $23\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Následující páry grafů (*obrázek 36 až 43*) porovnávají tvar vzorových a naměřených spekter Ramanova posuvu. Díky konfiguraci filtrů je pozorované světlo vycházející ze vzorku tvořeno Stokesovým rozptylem a Ramanův posun v grafech je udáván v absolutních hodnotách od vlnové délky laseru. U vzorků acetonu, ethalonu a methalonu bylo teoreticky předpokládáno, že v datech bude vždy viditelný peak v rozmezí od  $2800$  do  $2990\text{ cm}^{-1}$  způsobený vazbou  $\text{CH}_3$  obsaženou ve všech těchto látkách. Naměřená data tento předpoklad jasně potvrdila. Vazby kyslíku a vodíku jsou však v daných vzorcích odlišné a tento fakt byl v získaných charakteristikách viditelný, tudíž jednotlivé látky bylo možné od sebe rozpoznat. Spektrometr tedy dosáhl dostatečného rozlišení a citlivosti pro látkové určení čistého vzorku.

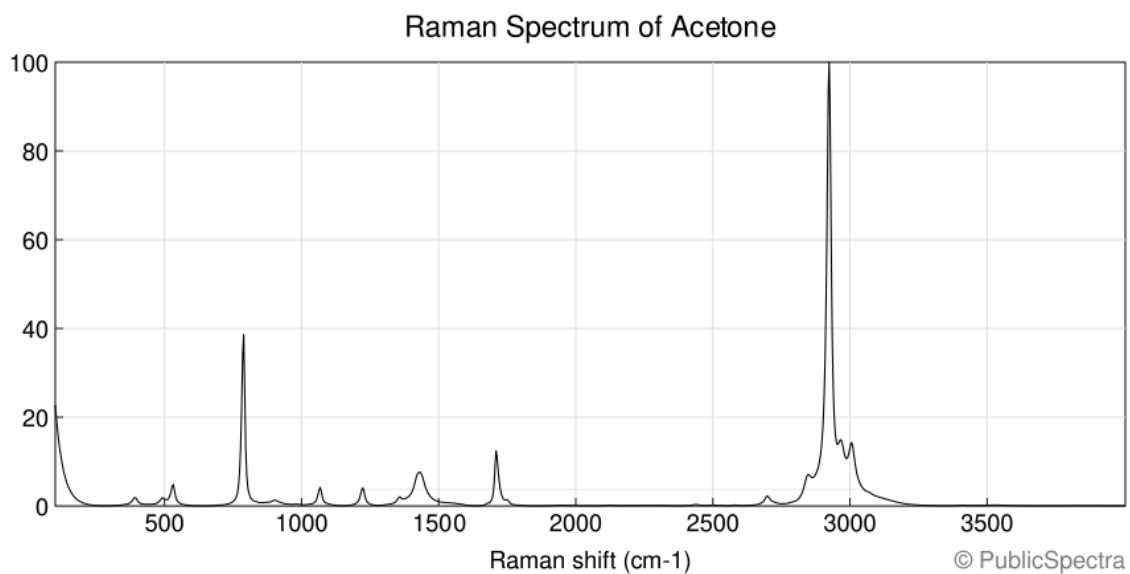
Pro přesné kvalitativní měření a například pro zkoumání obsahu vodných a dalších roztoků tato sestava nebyla vybavena. Nižší horizontální rozlišení univerzálního spektrometru a útlum intenzity rozptýleného světla skrze barevného sklo nedovolují taková měření. Použitím kvalitnějších filtrů a roztažením pouze zkoumané části spektra po celé délce CCD čipu by se teoreticky zvýšilo rozlišení i citlivost celé sestavy. Podobný efekt by mohlo mít použití difrakční mřížky s vyšší mřížkovou konstantou. Tato difrakční mřížka se nachází uvnitř spektrometru a stará se o spektrální rozložení světla na CCD čip.



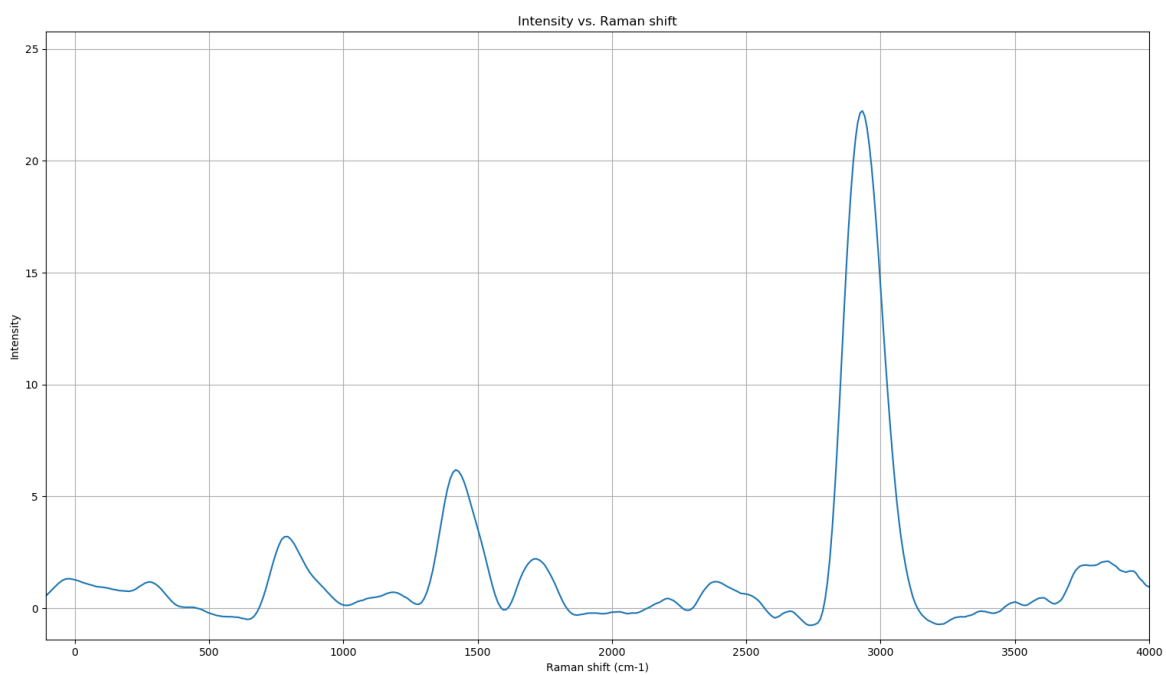
*Obrázek 36 - Vzor spektra vody [12]*



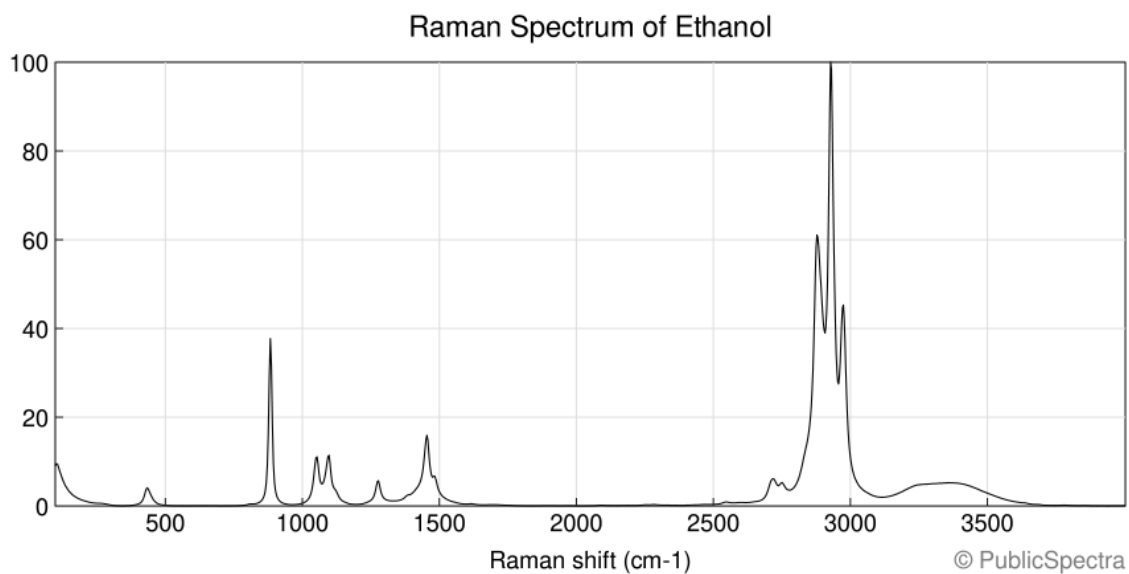
*Obrázek 37 - Změřené spektrum vody*



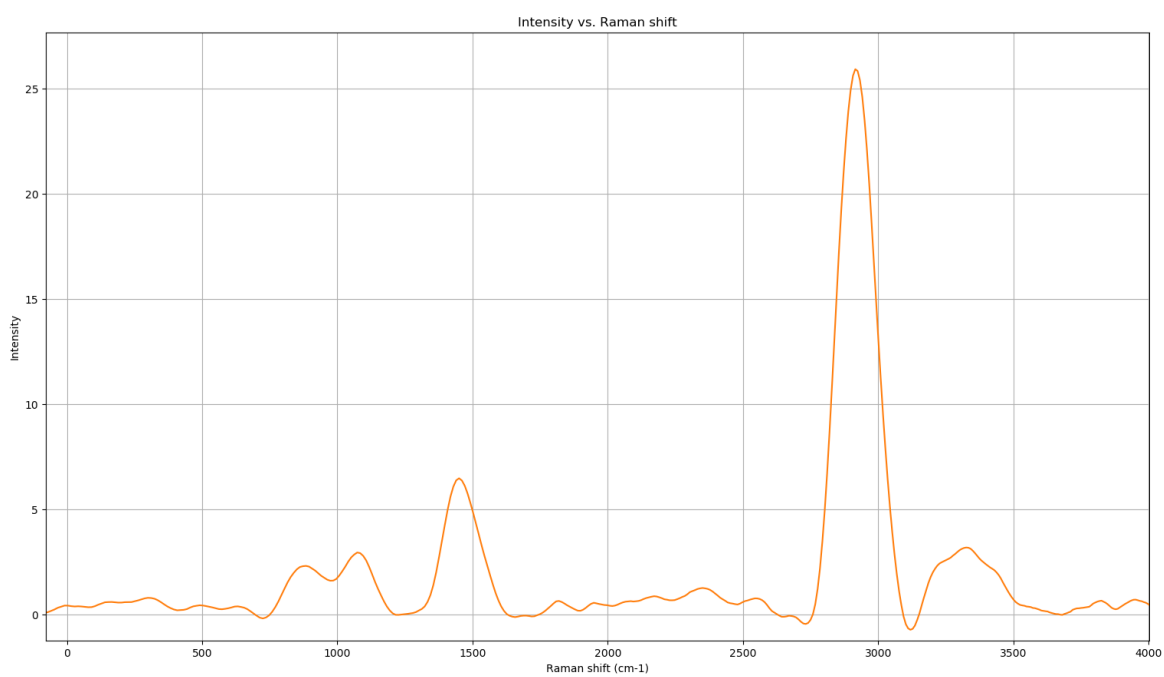
*Obrázek 38 - Vzor spektra acetonu [13]*



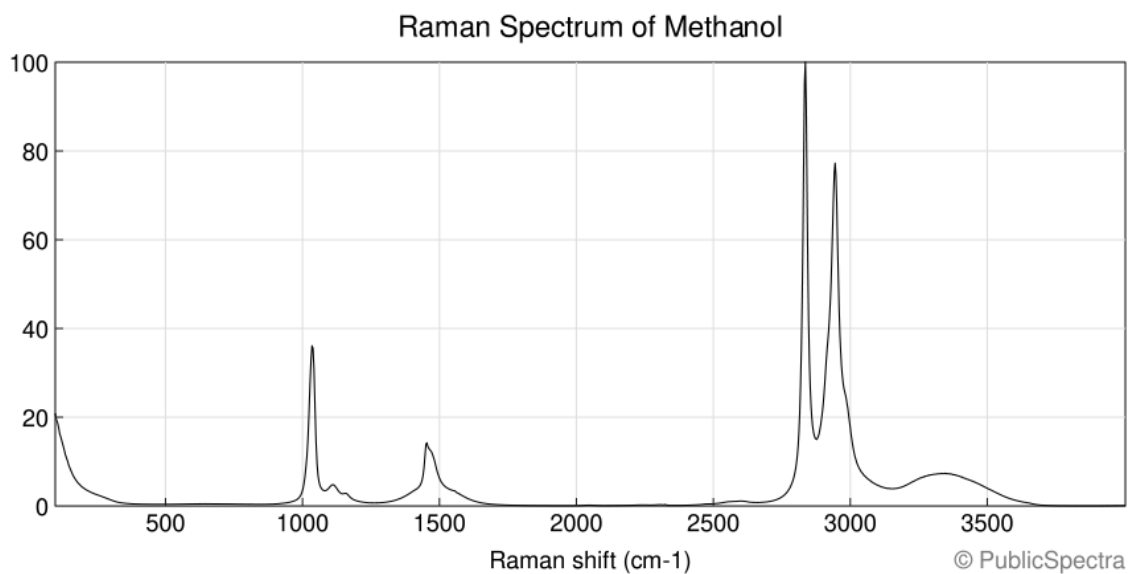
*Obrázek 39 - Změřené spektrum acetonu*



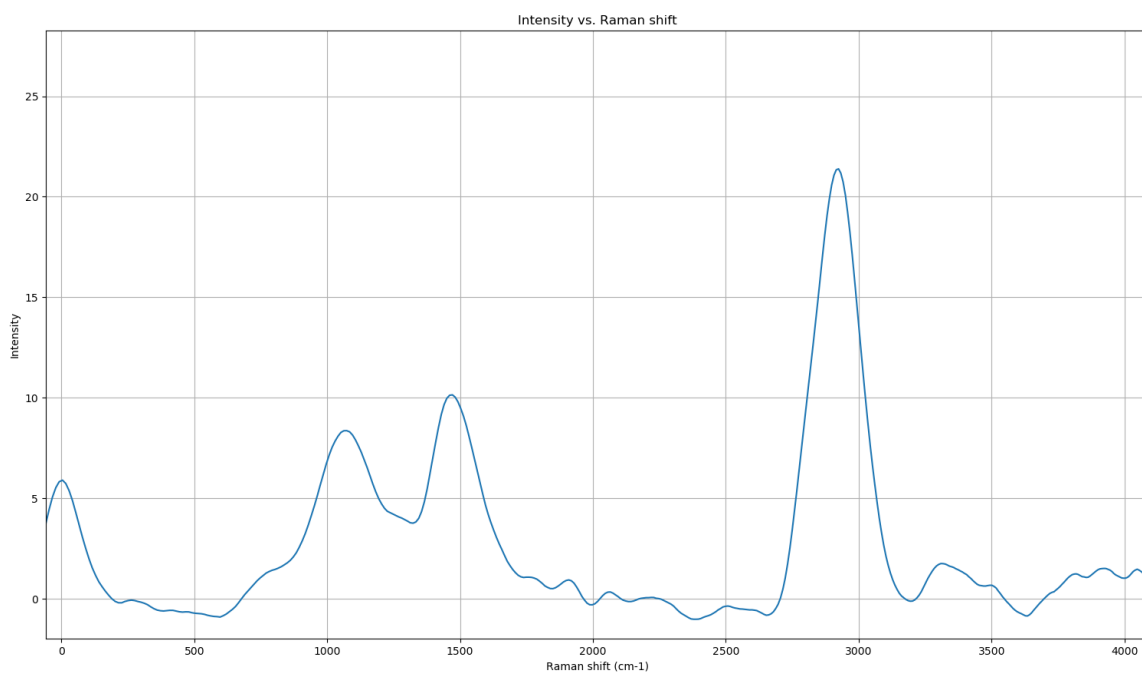
*Obrázek 40 - Vzorové spektrum ethanolu [14]*



*Obrázek 41 - Změřené spektrum ethanolu*



*Obrázek 42 - Vzorové spektrum methanolu [15]*



*Obrázek 43 - Změřené spektrum methanolu*



## ZÁVĚR

V úvodních kapitolách této práce byla prostudována problematika Ramanova rozptylu, kde byly uvedeny základní fyzikální principy stojící za vznikem tohoto jevu vyvolaného světelným ozařováním vzorku. Zde byly také popsány rozdíly mezi několika typy rozptýleného záření. Dále bylo zjištěno, jakým způsobem je Ramanův rozptyl využíván pro identifikaci, zkoumání a kvalitativní posuzování různých látek.

Následně byla zjištěna řada poznatků o samotné konstrukci spektrometrů pro pozorování Ramanova rozptylu. V práci jsou uvedeny základní konstrukční konfigurace optické soustavy a jsou popsány jejich výhody i nevýhody. Text se v této kapitole také zabývá několika typy optických filtrů potřebných ke zkoumání vzorků touto metodou a jsou popsány světelné zdroje i samotné detektory Ramanova rozptylu.

Na základě získaných poznatků bylo poté dle zadání vybráno několik stěžejních komponent, které byly podrobeny ověřovacím experimentům na určení jejich vhodnosti pro projekt nízkorozpočtového Ramanova spektrometru pro výuku ve školních laboratořích. V těchto testech byl optimalizován proces měření, ale i výběr součástí, dokud nebylo dosaženo přesvědčivých výsledků naznačujících funkčnost vybrané konfigurace. Během experimentů také byly získány zkušenosti se softwarovými nástroji pro spektrometry. Jednotlivé součásti tímto byly určeny k samotné stavbě zařízení. Většina systému pak byla stavebnicově konstruována pomocí levných a nahraditelných 3D tisknutých dílů s použitím již ověřených optických součástí.

Nízkorozpočtový Ramanův spektrometr byl konstruován jako kompletní systém zahrnující vlastní programové řešení, tudíž byl v jazyce Python navržen i příslušný software pro sběr a úpravu dat z použitého spektrometru. Jednotlivé funkce programu pro úpravu dat byly testovány a v práci jsou uvedeny výsledky těchto testů.

Hotová sestava pak byla vyzkoušena na několika známých vzorcích, kterými byly voda, aceton, ethanol a methanol. Měřeními a porovnáním získaných dat se známými dobrými daty byla poté prokazatelně potvrzena funkčnost celé sestavy. Bylo také zjištěno, že tento nízkorozpočtový systém dosáhl dostatečného rozlišení i citlivosti pro rozeznání jednotlivých vybraných vzorků od sebe.

Celková materiálová cena projektu činí 6450 Kč. V ceně nebyl započítán univerzální spektrometr, jelikož byl poskytnut k výuce ze školních laboratoří.

## ZDROJE

- [ 1 ] MONTOYA R., Eduardo H., Aurelio ARBILDO L. a Oscar R. BALTUANO E. A Homemade Cost Effective Raman Spectrometer with High Performance. In: *Scientific and Academic Publishing* [online]. 2015 [cit. 2020-12-10]. Dostupné z: <http://article.sapub.org/10.5923.j.jlce.20150304.02.html>
- [ 2 ] Raman scattering. In: *University of Cambridge* [online]. [cit. 2020-12-10]. Dostupné z: [https://www.doitpoms.ac.uk/tlplib/raman/raman\\_scattering.php](https://www.doitpoms.ac.uk/tlplib/raman/raman_scattering.php)
- [ 3 ] ROLEČKOVÁ, Anna. *Ramanova a povrchem zesílená Ramanova spektroskopie při excitaci 532 nm měřena na dvou odlišných sestavách* [online]. Univerzita Palackého v Olomouci, 2013, 72 [cit. 2020-12-10]. Dostupné z: <https://theses.cz/id/zg4l7b/00179079-375061389.pdf>
- [ 4 ] RANGANATHAN, A. *From The Archives: C V Raman's Approach To Science* [online]. In: 28.02.2018 [cit. 2020-12-10]. Dostupné z: <https://swarajyamag.com/from-the-archives/from-the-archives-c-v-ramans-approach-to-science>
- [ 5 ] Filter Types for Raman Spectroscopy Applications. In: *Semrock.com* [online]. IDEX HEALTH & SCIENCE [cit. 2020-12-10]. Dostupné z: <https://www.semrock.com/filter-types-for-raman-spectroscopy-applications.aspx>
- [ 6 ] High Performance Raman Spectroscopy. In: *Semrock.com* [online]. IDEX HEALTH & SCIENCE [cit. 2020-12-10]. Dostupné z: <https://www.semrock.com/high-performance-raman-spectroscopy.aspx>
- [ 7 ] *Thorlabs: Eshop - Special Filters* [online]. Thorlabs [cit. 2020-12-15]. Dostupné z: [https://www.thorlabs.com/navigation.cfm?guide\\_id=2210](https://www.thorlabs.com/navigation.cfm?guide_id=2210)
- [ 8 ] Fyzikální principy: DETEKTORY. In: *ČEZ.cz* [online]. [cit. 2020-12-10]. Dostupné z: <https://www.cez.cz/edee/content/microsites/urychl/k21.htm>
- [ 9 ] CCD čip jako snímač polohy mikroobjektů. In: *Advanced Algorithms for Control and Communications (AA4CC)* [online]. Department of Control Engineering [cit. 2020-12-10]. Dostupné z: <http://aa4cc.dce.fel.cvut.cz/content/ccd-cip-jako-snimac-polohy-mikroobjektu>

- [10] HIMANOUCHI, Takehiko. Acetone: Vibrational and/or electronic energy levels. National Institute of Standards and Technology [online]. [cit. 2020-12-15]. Dostupné z: <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C67641&Mask=800>
- [11] MORE, Hemant. Concept of Black Body [online]. The Fact Factor, 2. února, 2020 [cit. 2021-5-21]. Dostupné z: [https://thefactfactor.com/facts/pure\\_science/physics/perfectly-black-body/8243/](https://thefactfactor.com/facts/pure_science/physics/perfectly-black-body/8243/)
- [12] Raman Spectrum of Water. PublicSpectra [online]. [cit. 2021-5-21]. Dostupné z: <https://publicspectra.com/Raman/Water>
- [13] Raman Spectrum of Acetone. PublicSpectra [online]. [cit. 2021-5-21]. Dostupné z: <https://publicspectra.com/Raman/Acetone>
- [14] Raman Spectrum of Ethanol. PublicSpectra [online]. [cit. 2021-5-21]. Dostupné z: <https://publicspectra.com/Raman/Ethanol>
- [15] Raman Spectrum of Methanol. PublicSpectra [online]. [cit. 2021-5-21]. Dostupné z: <https://publicspectra.com/Raman/Methanol>

# SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK

## Zkratky:

IR	Světelné záření v infračerveném spektru
UV	Světelné záření v ultrafialovém spektru
CCD	Charge-Coupled Device
CMOS	Complementary Metal–Oxide–Semiconductor
SPAD	Single-Photon Avalanche Diode

## Symboly:

$\lambda$	vlnová délka	[nm]
$c$	rychlost světla	[m/s]
$h$	Planckova konstanta	[J·s]