

STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Obor č. 12: Tvorba učebních pomůcek, didaktická technologie

Vývoj a aplikace didaktického UV–VIS–NIR spektrometru pro výuku na ZŠ, SŠ a VŠ

**David Theodor Nimrichtr, Matěj Bureš
Kraj Pardubický**

Pardubice 2024

STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Obor č. 12: Tvorba učebních pomůcek, didaktická technologie

Vývoj a aplikace didaktického UV–VIS–NIR spektrometru pro výuku na ZŠ, SŠ a VŠ

Development and application of a UV–VIS–NIR didactic spectrometer for teaching in primary, secondary and higher education

Autoři: David Theodor Nimrichtr, Matěj Bureš

Škola: Gymnázium Pardubice, Dašická 1083; Gymnázium, Pardubice,
Mozartova 449

Kraj: Pardubický kraj

Konzultanti: Mgr. Alexandr Prokop (Technecium)
Mgr. Ondřej Votava, Ph.D. (ÚFCh JH AVČR)
RNDr. Petr Šmejkal, Ph.D. (PřF UK)

Pardubice 2024

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou práci SOČ vypracoval/a samostatně a použil/a jsem pouze prameny a literaturu uvedené v seznamu bibliografických záznamů.

Prohlašuji, že tištěná verze a elektronická verze soutěžní práce SOČ jsou shodné.

Nemám závažný důvod proti zpřístupnění této práce v souladu se zákonem č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších předpisů.

V Pardubicích dne 25. 3. 2024

.....
David Theodor Nimricht

.....
Matěj Bureš

Poděkování

V první řadě patří veliké díky talentcentru a otevřené dílně Technecium Pardubice a zejména Mgr. Alexandru Prokopovi za iniciaci projektu, zajištění materiálního a technického zázemí, propojení s odbornými konzultanty z pracovišť VŠ a AV ČR a pravidelný odborný mentoring a vedení po celou dobu jeho trvání (více než 2 roky). Za odborné seznámení s tak složitým oborem, jako je spektrometrie, za inspiraci ve směru DIY 3D tisknutého spektrometru, a za obrovskou trpělivost a vstřícnost během konzultací bychom rádi poděkovali Mgr. Ondřeji Votavovi, Ph.D. z Ústavu fyzikální chemie J. Heyrovského AVČR. Rádi bychom také poděkovali RNDr. Petru Šmejkalovi, Ph.D. z Katedry učitelství a didaktiky chemie PřF UK za konzultaci k didaktické části naší práce a za zapůjčení referenčních zařízení.

Na projektu jsme pracovali v rámci gymnázia Pardubice, Mozartova 449, v rámci něhož bychom pak chtěli poděkovat zejména paní učitelce Mgr. Květě Sýkorové za poskytnutí zázemí a za možnost otestovat naše zařízení během výuky. V neposlední řadě patří díky Jakubu Filipovi, který s neskonalou schovívavostí vypomáhal s elektrotechnickou částí práce.

Anotace

Tato práce se zabývá vývojem a testováním spektrofotometru vlastní konstrukce jako účinného nástroje pro výuku fyziky, chemie, biologie a dalších předmětů a pro budování vztahů mezi těmito předměty. Vývojový přístup "udělej si sám" (Do-It-Yourself, DIY) umožnil vytvořit zařízení, které dosahuje přesnosti a didaktických možností komerčně dostupných nástrojů za zlomek jejich ceny a umožňuje provádět širokou škálu experimentů kvalitativní a kvantitativní spektroskopické analýzy pro výuku na základních, středních a vysokých školách.

Otevřená a přístupná konstrukce vyvinutých zařízení zároveň umožňuje unikátní přímé pozorování fyzikálních principů na jednotlivých součástech zařízení, a navíc názorné propojení konceptů z oblasti IT, elektrotechniky, strojírenství a matematiky – STEM formou projektové výuky.

Práce se rovněž zabývá srovnáním výsledných parametrů s referenčními zařízeními a testováním vyvinutých zařízení v kontextu školní výuky.

Klíčová slova

UV-VIS-NIR spektrometrie, STEM výuka, DIY vědecká instrumentace, chemická didaktika, fyzikální didaktika, občanská věda a SOČ

Annotation

This thesis deals with the development and testing of a spectrophotometer of our own design as an effective tool for teaching physics, chemistry, biology and other subjects and for building relationships between these subjects. A Do-It-Yourself (DIY) development approach has enabled the creation of a device that achieves the accuracy and didactic capabilities of commercially available tools at a fraction of their cost, enabling a wide range of qualitative and quantitative spectroscopic analysis experiments for teaching in primary, secondary and higher education.

At the same time, the open and accessible design of the developed devices allows direct observation of physical principles on individual device components, in addition to incorporating concepts from IT, electrical engineering, engineering and math (STEM and project-based learning).

The thesis also deals with the comparison of resulting parameters against reference devices and testing of the developed devices in a classroom context.

Keywords

UV-VIS-NIR spectrometry, STEM education, DIY scientific instrumentation, chemical didactics, physical didactics, civic science and SOČ

Obsah

Poděkování	3
Anotace.....	4
Klíčová slova.....	4
Annotation	4
Keywords	4
Obsah.....	5
1 Úvod.....	7
1.1 Didaktická motivace.....	7
1.1.1 Spektrometrie ve výuce na ZŠ a SŠ	7
1.1.2 Konstrukce spektrofotometru jako DIY STEM projekt.....	9
1.2 Fyzikální principy spektrofotometrie	10
1.2.1 Elektromagnetické záření a jeho interakce s hmotou.....	10
1.2.2 Optické zákony a jevy užívané ve spektrofotometrii	14
1.3 Spektrofotometr jako měřicí zařízení	18
1.3.1 Komponenty spektrofotometru	19
1.3.2 Uspořádání absorpčního spektrofotometru	21
1.3.3 Principy měření	22
2 Použité metody a postupy	27
2.1 Referenční zařízení.....	28
2.1.1 Ocean Optics Red Tide USB650 UV	28
2.1.2 Pasco PS–2600	30
2.1.3 Parametry referenčních zařízení.....	31
2.2 Zvolené metody ověřují relevanci vyvíjených zařízení	31
2.3 Metodika testování na školách	32
3 Výsledky.....	33
3.1 Definice parametrů	33
3.2 Vyvinuté technologie a metody.....	34
3.2.1 Matematický návrh geometrie.....	34
3.2.2 Zdroj světla.....	36
3.2.3 Optické vlákno	38
3.2.4 Kyveta a držák kyvety	38
3.2.5 Štěrbina.....	41

3.2.6	Disperzní medium	43
3.2.7	Kolimační optika	44
3.2.8	Fokusační optika	44
3.2.9	Mechanická konstrukce a odstínění od prostředí	46
3.2.10	Optický detektor	47
3.2.11	Software	54
3.3	Výsledky vývoje verzí spektrofotometru	58
3.3.1	V0 – Webkamera.....	58
3.3.2	V1 – IMX290	59
3.3.3	V2 – PiCamera	64
3.3.4	Další vyvíjené sestavy	71
3.3.5	Parametry všech vyvinutých verzí	73
3.4	Testování ve výuce.....	74
3.4.1	Průběh praktika	74
3.4.2	Vyhodnocení praktika	75
3.5	Publikované materiály	75
4	Diskuse.....	76
4.1	Měřicí zařízení.....	76
4.2	Didaktická pomůcka.....	77
4.3	Srovnání s dalšími existujícími projekty	78
5	Závěr.....	79
	Seznam použité literatury	81
	Seznam obrázků	84
	Seznam tabulek	87
	Příloha 1: Příklady didaktických úloh pro práci s vyvinutými spektrofotometry	88
	Příloha 2: Výsledky dotazníku	93

1 ÚVOD

1.1 Didaktická motivace

Klesající obliba oborů STEM (Science, Technology, Engineering, and Mathematics) je zvláště v současné době značným společenským problémem, neboť jsou to právě přírodní a technické vědy a související obory, které mají klíčový význam pro zvládnutí aktuální globálních výzev i posílení odolnosti a konkurenceschopnosti naší společnosti. Nedostatečná efektivita vzdělávání a rozvoje potenciálu dětí a mládeže může pro ČR do roku 2050 znamenat propad o 11 % HDP, což představuje v dnešní době každoroční ztrátu více než 400 miliard korun. (1)

Na základě řady odborných šetření, jako např. TIMSS (2), je zjevný klesající zájem žáků o přírodní obory s rostoucím počtem roků školní docházky. Příčinou může být nedostatek příležitostí k vlastní experimentální práci i nedostatečná podpora mezipředmětových vazeb v rámci školního kurikula. Výuka obohacená o experimentální práci se spektrometrem, či dokonce o jeho konstrukci, může být právě tím druhem aktivity, který pomáhá výše uvedené problémy řešit.

Častým důvodem, proč není spektrometr ve větší míře využíván v hodinách fyziky, chemie, ale i biologie, nebo dokonce výtvarného umění (psychofyzikální vnímání barev, analýza pigmentů atp.), je jeho nedostupnost. Běžný komerční didaktický spektrometr stojí cca 1000 euro (3 str. 20). Jen žáků 7.–9. tříd ZŠ je v ČR více než 300 000 (4), to je více než 10 000 tříd. Pokud bychom alespoň každou druhou z těchto tříd chtěli plně vybavit spektrometry tak, aby s nimi mohli žáci pracovat ve čtveřicích, dostaneme se k číslu 75 000 spektrometrů, což představuje 75 milionů euro, respektive téměř 2 miliardy korun. Z těchto důvodů jsme se rozhodli zkonstruovat spektrometr, jehož pořizovací cena by nebyla vyšší než cca 2000 Kč a zároveň by jeho konstrukce byla možná v rámci školního STEM projektu.

Hlavními kritérii při návrhu jeho koncepce byly:

- přesnost a spolehlivost
- uživatelsky přátelský software
- otevřenost konstrukce a možnost dalšího vývoje a vylepšování (např. rozšiřitelnost do UV nebo NIR oblasti spektra atp.)

1.1.1 Spektrometrie ve výuce na ZŠ a SŠ

Spektrofotometrie je interdisciplinární analytická metoda, která se dotýká mnoha předmětů vyučovaných v ústavech všeobecného vzdělání. Z tohoto důvodu je ideální k propojování různých předmětů do jednoho obsáhlého celku. Přístroje k spektrometrickému měření (spektrofotometry) využívají fyzikálních zákonů z optiky, detektory v nich jsou úzce spjaty s elektrotechnickými technologiemi a s programováním softwarů vyhodnocujících přijaté informace. Následné uplatnění těchto přístrojů hraje důležitou roli v experimentální práci v astrofyzice, chemii, biologii, environmentálních oborech (EVVO), nebo dokonce i restaurátorství.

Zavedení spektrometru do přírodovědné výuky by mohlo přinést značné zlepšení v mnoha směrech. Bezpochyby by spektrofotometr mohl ulehčit učitelů práci v kontrole, jak si studenti vedli při vypracovávání laboratorních prací. Seznámili by se s přístrojem, jehož předchůdci stáli za objevem většiny těžších prvků periodické tabulky a díky němuž víme, jaká jsou složení atmosfér jiných planet. Další výhodou spektrofotometru ve škole by byla podpora výzkumných aktivit čínorodých studentů, kteří by si na tomto přístroji mohli ověřovat výsledky svých výzkumů, či přímo na nich vyvíjet vlastní vědeckou činnost. V neposlední řadě by zlepšil mezipředmětové vztahy spojující fyziku, chemii a biologii. Přinesl by více experimentálních možností do těchto předmětů a umožnil tak spojení výuky s praxí. V následujících bodech uvádíme jednotlivé oblasti předmětů, které se spektrometrií souvisí a buď jsou v rámci učiva probírány, anebo jsou ideální jakožto bonusové učivo pro nadané žáky.

Fyzika

1. Výklad elektromagnetismu

- interakce záření s hmotou
- lepší představa o tom, co je světlo a jakou má povahu a vlastnosti
- praktické měření různých zdrojů záření (široká škála experimentálních možností)

2. Optika

- geometrická optika spektrometru
- praktické využití zrcadel a čoček
- pochopení principu disperze a difrakce a jak ji lze využít v konstrukci měřících přístrojů

3. Kvantová fyzika

- vysvětlení základních principů a praktického využití kvantové mechaniky

Chemie

1. Analytická chemie

- seznámení se s možnostmi moderních spektroskopických metod chemické analýzy, jako doplnění a aktualizace ve výuce běžně užívaných metod na bázi indikačních barevných a srážecích reakcí
- kvantitativní a kvalitativní analýza vzorků (široké spektrum možností experimentální činnosti v laboratoři s atraktivními a aktuálními tématy – složení a kvalita potravin, ekotoxikologie, spektrum světelného znečištění atp.)

2. Obeznamení se s problematikou fyzikálně chemického měření, kalibračními postupy, jejich významem a statistickým zpracováním experimentálních dat Chemie barviv (chlorofory, fluorofory)

- fotochemie, chemoluminiscence
- pochopení příčin zbarvení různých roztoků – souvislosti mezi strukturou a vlastnostmi zkoumané látky
- seznámení se s principem barevné změny – spektroskopické monitorování průběhu chemických reakcí

3. Posílení zájmu a motivace

Na didaktiku zaměřené výzkumy v oblasti chemie doporučují zavádění vzdělávacích aktivit zaměřených na experimenty s tématem spektrometrie a využívajících jednoduchého spektrofotometrického přístroje (5; 6; 7), neboť aplikace těchto metod rozvíjí u studentů schopnosti hlubšího a samostatného myšlení, učení a vytváření smysluplných zkušeností a posiluje jejich vnitřní motivaci k dalšímu studiu (5).

Biologie

1. Analýza barevných sloučenin jako je hemoglobin nebo chlorofyl – zjišťování vnitřních chromoforů proteinů, RNA a DNA nebo pozorování reakčních partnerů, kteří podléhají měřitelné změně barvy, buď v důsledku tvorby komplexu s biologickými makromolekulami, nebo chemickými reakcemi katalyzovanými biologickými makromolekulami v kolorimetrických testech atp.
 - charakterizace a kvantifikace proteinů, RNA, DNA
 - stabilita RNA/DNA
 - reakční kinetika
 - vázací křivky
 - rychlost růstu bakterií
 - test životaschopnosti a proliferace buněk
 - a mnoho dalšího
2. Další možnost praktické výuky
 - za pomoci spektrometrie může student bez potíží dle postupů analytické chemie určit koncentrace látek v živých systémech a vyvodit z toho patřičné závěry
3. Propojení s jinými předměty
 - příležitost pro účinné propojení biologie s chemií a fyzikou, což zatím v rámci výuky spíše chybí

1.1.2 Konstrukce spektrofotometru jako DIY STEM projekt

Společné vytvoření jednoduchého spektrofotometrického přístroje formou mezioborového STEM projektu s prvky „udělej si sám“ je příležitostí rozvíjet u studentů mnoho schopností.

Konstrukce studentům přinese:

1. pochopení, jak celý přístroj funguje (nebudou ho vnímat jako tzv. „black box“) a co je důležité při konstrukci měřících zařízení
2. schopnost praktické aplikace zákonů geometrické optiky vyžadující hluboké porozumění jejím principům
3. seznámí se s technologiemi jednodeskových počítačů a jejich programování na příkladu Raspberry Pi a zpracování signálu z jeho kamer
4. zkušenosti s řešením problémů, když při vývojářské práci nejde všechno podle plánu
5. zkušenost s prací na vývoji a ladění softwaru
6. týmová spolupráce
7. kritické myšlení – jak relevantní jsou výsledky, které jsme naměřili?

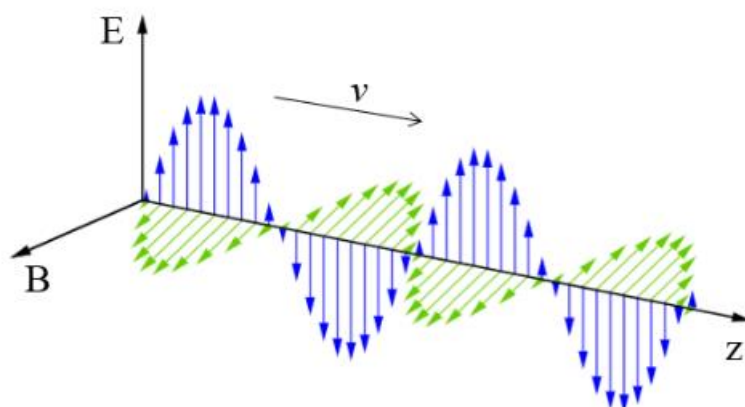
Díky zkonstruování funkčního spektrometru se studenti seznámí s problematikou vývoje a měření pomocí spektrometru do té míry, že mohou pokračovat v jeho dalším vylepšování až na úroveň přístrojů, které by se svými parametry blížily profesionálním výzkumným spektrometrům, jejichž cena se pohybuje v rozmezí od 3 000 do více než 10 000 USD (8).

1.2 Fyzikální principy spektrofotometrie

Oddíl fyzikální základy spektroskopie se zabývá teoretickým minimem potřebným k pochopení principu, na kterém spektrofotometrie funguje, a proto jsou zde shrnuty v jednotlivých pododdílech základní vědomosti o elektromagnetickém záření, základy optiky a popis instrumentace spektrofotometru. Tyto informace by měly být dostačující pro přibližné pochopení principu analýzy elektromagnetického záření funkce celého zařízení.

1.2.1 Elektromagnetické záření a jeho interakce s hmotou

Elektromagnetické záření je druh vlnění, které nepotřebuje ke svému přenosu skrze prostor žádný mediátor a může se tedy volně šířit i vakuem. Skládá se z elektrického a magnetického vlnění, která jsou na sebe kolmá a periodicky oscilují čili kmitají (viz **obr. 1.1**). Chování tohoto záření se dá vyjádřit tzv. vlnově–částicovým dualismem, což znamená, že ho lze chápat jako pohyb částic prostorem, ale i jako vlnění (9 str. 9).

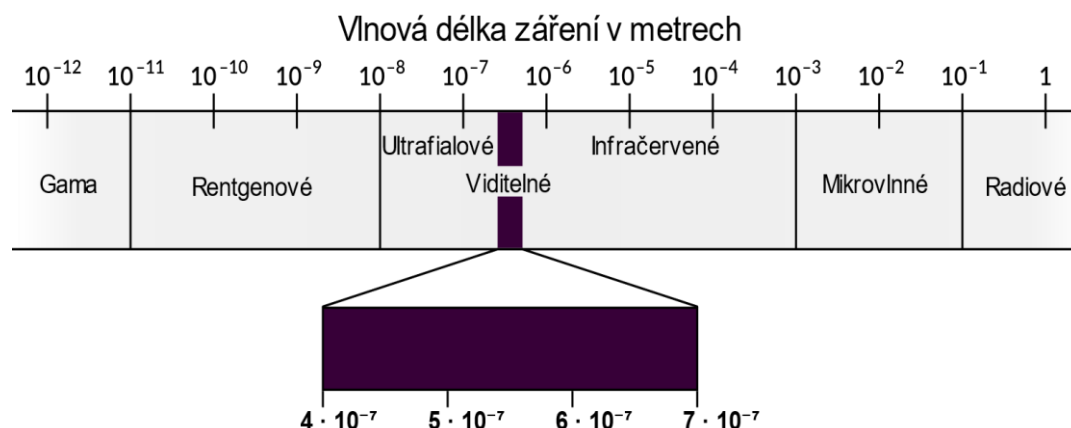


Obr. 1.1 – Periodická oscilace elektrického a magnetického pole (10).
Modré šipky znázorňují vektory intenzity elektrického pole a zelené vektory magnetické indukce.

Například při popisu excitačních a deexcitačních dějů v elektronovém obalu atomu (viz pododdíl **Interakce elektromagnetického záření s hmotou**) je pro představu lepší dívat se na elektromagnetické záření jako na částici o určité energii zvanou foton, která je buď absorbována elektronem, a ten je vlivem toho vybuzen na vyšší energetickou hladinu, anebo je vyzářena při procesu opačném, kdy elektron padá z vyšší hladiny na nižší (10).

Elektromagnetické záření bylo Jamesem Clerkem Maxwellem rozděleno do tzv. elektromagnetického spektra (viz **obr. 1.2**). Jednotlivé části se od sebe liší vlnovou délkou a jejich interakce s hmotou se značně odlišuje. Pro tuto práci je především důležitá oblast UV, VIS a blízkého IR spektra, která se vyskytuje na vlnových délkách od 150 do 800 nm a interakce

s hmotou se převážně projevuje pouze excitací elektronů ve valenční vrstvě atomových elektronových obalů. (11 str. 599)



Obr. 1.2 – Oblasti elektromagnetického záření. (Khan Academy, 2024)

Fyzikální veličiny a konstanty elektromagnetického záření

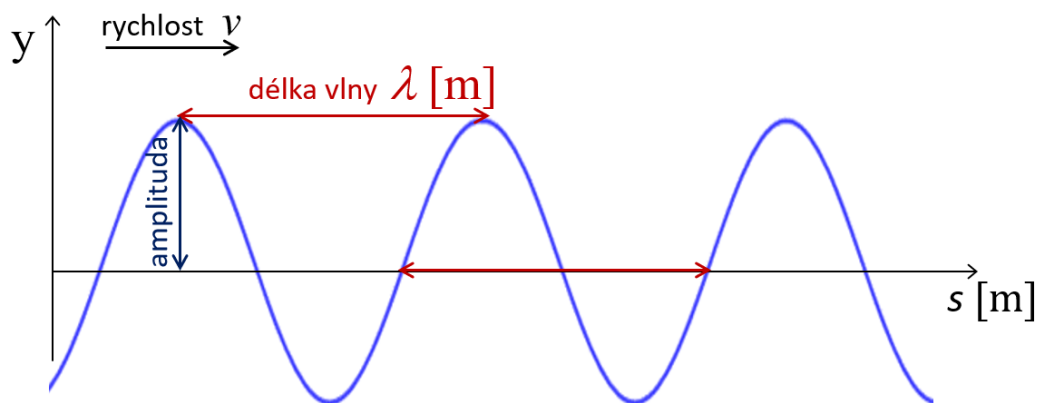
Jelikož se elektromagnetické záření chová částečně jako vlna, pak je možné jej popsat vlnovými veličinami (jinými slovy veličinami kmitů), jako jsou například vlnová délka, frekvence, perioda aj. V **tabulce 1** jsou vypsány všechny veličiny, které popisují základní parametry vlny, a pod ní jsou stručně charakterizovány (viz **obr. 1.2**). Dále jsou v **tabulce 2** vypsány konstanty, které přímo souvisí buď s šířením záření prostředím (molární absorpční koeficient), anebo s jeho energií.

Tab. 1 – Vybrané veličiny elektromagnetického záření.

Veličina	Značení	Jednotka
amplituda	y_{\max}	metry [m]
perioda	T	vteřina [s]
frekvence	f	Herz [Hz]
vlnová délka	λ	metry [m]
rychlost záření	v	metr za sekundu [m/s]
Intenzita elektromagnetického záření	I	Watt na metr čtvereční [W/m^2]

Tab. 2 – Konstanty elektromagnetického záření.

Konstanta	Značení	Hodnota
Planckova konstanta	h	$6,62607015 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$
rychlost světla ve vakuu	c	299 792 458 m/s



Obr. 1.3 – Elektromagnetická vlna popsaná vlnovými veličinami (12).

- **amplituda, y_{max}** : maximum sinusové funkce popisující vlnění (viz **obr. 1.3**)
- **perioda, T** : čas, za který se elektromagnetická vlna dostane ze své amplitudy zpět do maxima (za jaký čas urazí vlna jednu vlnovou délku)
- **frekvence, f** : počet period, kolik proběhne za 1 s
- **vlnová délka, λ** : vzdálenost mezi dvěma po sobě jdoucími maximy nebo minimy
- **rychlost, c** : jakou rychlostí se elektromagnetické záření šíří prostorem (pro všechny případy až na geometrické zákony, jako je Snellův zákon, se bere rychlost záření jako rychlost světla)
- **intenzita elektromagnetického záření, I** : kolik energie dopadne na plochu za jednotku času

Vztahy mezi jednotlivými veličinami

Frekvence f může být vyjádřena **vzorcem 1** v závislosti na periodě T .

$$f = \frac{1}{T}$$

Vz. 1

Frekvence f a vlnová délka λ jsou spolu spjaty v závislosti na rychlosti světla c . Tato závislost je vyjádřena **vzorcem 2**, z něhož vyplývá, že s rostoucí vlnovou délkou se zmenšuje frekvence a naopak.

$$f = \frac{c}{\lambda}$$

Vz. 2

Energie E , kterou nese paprsek elektromagnetického záření závisí na jeho vlnové délce λ nebo frekvenci f v závislosti na Planckově konstantě h (viz **vzorec 3**). Z tohoto vztahu můžeme odvodit, že energie záření je přímo úměrná frekvenci a nepřímo úměrná vlnové délce.

$$E = h \cdot f \quad \rightarrow \quad E = \frac{h \cdot c}{\lambda}$$

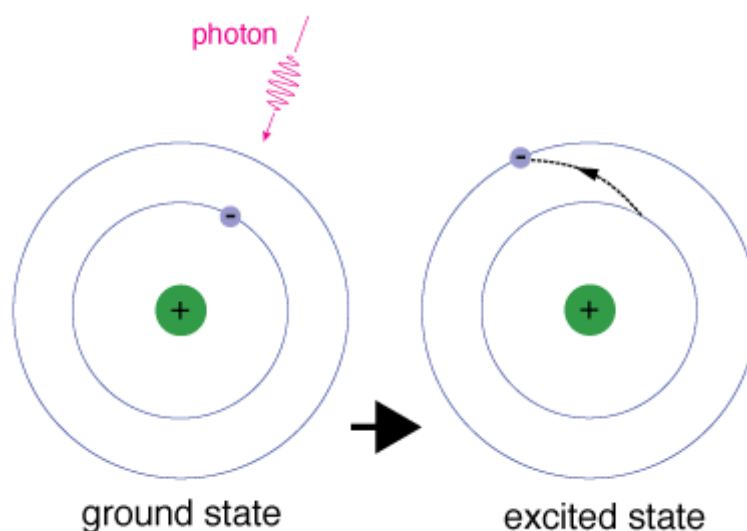
Vz. 3

Interakce elektromagnetického záření s hmotou

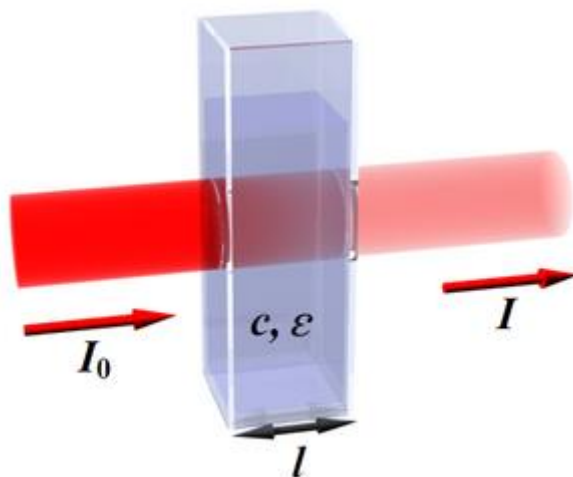
Elektromagnetické záření může interagovat s hmotou mnoha způsoby, ale pro účely spektrofotometrie v UV, VIS a NIR oblasti jsou důležité hlavně přechody elektronů mezi různými energetickými hladinami, které jsou jím způsobeny (13 str. 99) (**viz obr. 1.4**). Každá energetická hladina má přesně danou energii a elektrony se na vyšší hladinu mohou dostat pouze pokud je dodáno přesné množství energie, které se rovná rozdílu mezi oběma hladinami (14). Ze **vzorce 3** vyplývá, že elektrony mohou absorbovat vždy přesné vlnové délky, a tím tedy snižovat svůj celkový podíl v zářivém toku. Této skutečnosti využívá fyzikální veličina absorbance A , která je vyjádřena záporným dekadickým logaritmem podílu prošlé intenzity elektromagnetického záření I roztokem a intenzity elektromagnetického záření I_0 pocházející ze zdroje (**viz obr. 1.5** a **vzorec 4**). Absorbance se měří v tzv. jednotkách absorbance au (absorbance unit), jejichž hodnota je v logaritmické závislosti na procentuálním zastoupení záření po průchodu vzorkem (tzn. 1 au = prošlo 10 % z původní intenzity záření, 2 au = 1 % atd.). Obměnou zářivého toku je světelná intenzita I , která je ekvivalentní, s tím rozdílem, že světelná intenzita zaznamenává signál ve wattech na metr čtvereční. V literatuře je možné se setkat také se vzorcem, v němž je argument logaritmu zaměněn za veličinu **transmitance** T , což je jinak zapsaná závislost I/I_0 . (11 str. 599)

$$A = -\log (I/I_0) = A = -\log (T)$$

Vz. 4



Obr. 1.4 – Excitace elektronu na vyšší energetickou hladinu.



Obr. 1.5 – Úbytek elektromagnetického záření z hlediska intenzity

Lambert–Beerův zákon

Popisuje závislost absorpance A roztoku na tloušťce kyvety l , molární koncentraci c_A a molárním absorpčním koeficientu ϵ_λ , přičemž molární absorpční koeficient je specifický pro každou vlnovou délku a liší se i u různých sloučenin. Celý zákon je pak vyjádřen **vzorcem 5**. Molární absorpční koeficient je vždy dán pro přesně danou vlnovou délku u dané látky, což znamená, že pokud je nám známa totožnost látky, vlnová délka, tloušťka kyvety a je dostupný přístroj měřící absorpanci, pak je možné s relativní lehkostí vypočítat přesnou koncentraci dané látky v roztoku. Ze **vzorce 5** lze vyčíst, že Lambert–Beerův zákon je vyjádřen lineární funkcí, jelikož tloušťka kyvety a molární absorpční koeficient jsou konstantní. (11 stránky 603-615)

$$A = \epsilon_\lambda * l * c_A$$

Vz. 5

1.2.2 Optické zákony a jevy užívané ve spektrofotometrii

Pro uspořádání spektrofotometru jsou důležité především geometrické zákonitosti, kterými disponuje elektromagnetické záření. Proto jsou zde stručně shrnuta témata, jako je index lomu, Snellův zákon, princip disperze, difrakční mřížka, čočky a zrcadla, která se uplatňují při vývoji optické soustavy.

Index lomu elektromagnetického záření

Vyjadřuje poměr rychlostí šíření elektromagnetického záření ve vakuu c ku rychlosti záření v hmotném prostředí v . Jeho hodnota je vyjádřena **vzorcem 6**, ze kterého lze odvodit, že index lomu je vždy větší nebo roven 1. (15)

$$n = \frac{c}{v}$$

Vz. 6

Tab. 3 – Vybraná prostředí a jejich indexy lomu (15)

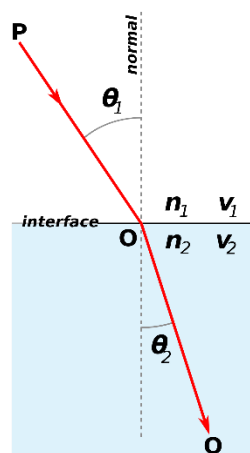
Prostředí	Index lomu
vakuum	1
vzduch	1,00026
led	1,31
voda	1,33
sklo	1,5 – 1,9
diamant	2,42

Snellův zákon

Popisuje závislost, jak moc se lomí elektromagnetické záření na přelomu dvou prostředí v závislosti na jejich rozdílném indexu lomu, když skrze ně prochází. Celý zákon je graficky znázorněn na **obrázku 1.6**, na kterém je vidět, že pokud záření prochází z opticky řidšího prostředí do prostředí opticky hustšího (jeho index lomu je větší, než index lomu prostředí opticky řidšího), pak probíhá tzv. lom ke kolmici, kdy úhel θ_2 je menší než úhel θ_1 a pokud záření vystupuje z opticky hustšího prostředí do prostředí řidšího, pak se jedná o tzv. lom od kolmice. Například půjde-li paprsek záření ze vzduchu do skla, pak se bude lomit ve skle ke kolmici a pokud půjde paprsek ze skla do vzduchu, pak se bude lomit paprsek ve vzduchu od kolmice. Snellův zákon je vyjádřen **vzorcem 7**. (15)

$$n_1 \cdot \sin \theta_1 = n_2 \cdot \sin \theta_2$$

Vz. 7

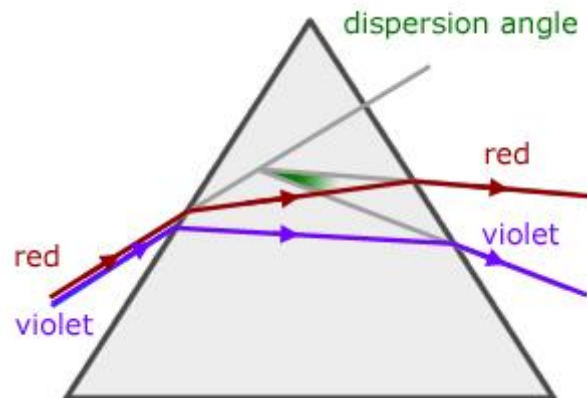


Obr. 1.6 – Lom světla při přechodu z řidšího optického prostředí do hustšího

Disperze elektromagnetického záření

K disperzi světla dochází při přechodu do opticky jinak hustého prostředí pod úhlem. Jiné prostředí skleněného hranolu láme světlo podle Snellova zákona lomu. Index lomu se liší pro

různé vlnové délky, tudíž pokud je dopadající světlo složené z více barev, mají jednotlivé vlnové délky různý index lomu a lámou se pod různými úhly (viz **obr. 1.7**).



Obr. 1.7 – Disperze světla na hranolu

Ohyb a disperze světla na difrakční mřížce

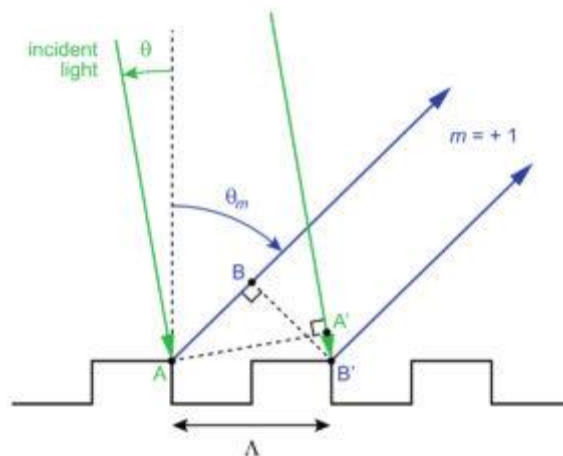
Stejného výsledku lze dosáhnout difrakcí = ohybem světla. Difrakce je jev, při kterém dochází ke změně směru šíření vln při kontaktu s překážkou, která je na své velikostní škále srovnatelná s vlnovou délkou daného vlnění. Při nárazu na překážku se vlnová frekvence a délka nemění, ale po interakci slouží bod vlnoplochy (podle Huygensova principu) jako bodový zdroj kružnic, které spolu interferují.

Po interakci dopadajícího světla (vlny) s mřížkou se výsledné difrakční světlo z mřížky skládá ze součtu interferujících složek vlny vycházející z každé štěrbině v mřížce. V každém daném bodě v prostoru, kterým se světlo z mřížky šíří, se délka dráhy od štěrbin v mřížce k danému bodu mění, takže se mění i fáze vlny vycházející z každé štěrbině v tomto bodě. Výsledkem konstruktivní a destruktivní interference tohoto světla je interferenční obrazec. Je-li rozdíl mezi dráhami světla ze sousedních štěrbin do pozorovacího bodu roven lichému celočíselnému násobku poloviny vlnové délky $(2m-1)*\lambda/2$ s lichým celým číslem $(2m-1)$, jsou vlny v tomto bodě mimo fázi, a proto se vzájemně ruší a vytvářejí minimální intenzitu světla. Podobně, když je rozdíl drah sudým násobkem poloviny vlnové délky $2m*\lambda/2$, jsou vlny ve fázi a vzniká maximální intenzita. Pro světlo při normálním dopadu na mřížku nastávají maxima intenzity při difrakčních úhlech θ , které splňují vztah **vz. 8**.

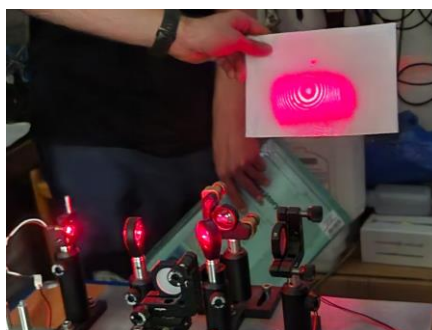
$$\sin(\theta) = \frac{m * \lambda}{\Lambda}$$

Vz. 8

kde θ je úhel difrakce, m je řád difrakce (k jevu dochází při harmonických vlnových délkách), λ je vlnová délka světla a Λ je rozteč vrypů. U mřížky se také určuje četnost vrypů $G = \frac{1}{\Lambda}$.

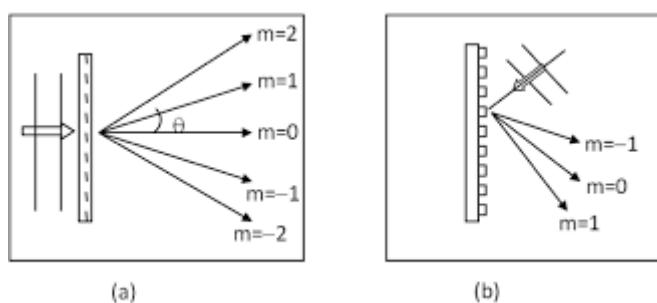


Obr. 1.8 – Princip difrakce



Obr. 1.9 – Interferenční obrazec maxim a minim za mřížkou (foto autor)

Difrakce je dosahováno difrakčními mřížkami, které mohou být typu reflexní nebo transmisní, obdobně jako zrcadlo nebo čočka. Mřížka má „režim nulového řádu“ (kde je celočíselný řád difrakce m nastaven na nulu), v němž se světelný paprsek chová podle zákonů odrazu (jako zrcadlo), resp. lomu (jako čočka).



Obr. 1.10 – Transmisní (a) a reflexní difrakční mřížka (b)

Čočky a zrcadla

Princip čoček a zrcadel je založen na lomu paprsků, které procházejí optickými prvky. Záření procházející skrze čočky a zrcadla se řídí podle zobrazovací rovnice (viz **vzorec 9**), kde f je ohnisková vzdálenost, a je vzdálenost předmětu od čočky/zrcadla a a' je vzdálenost obrazu od čočky/zrcadla. V optice spektrometru jsou čočky i zrcadla využívány jako kolimační prvky

(různoměrné paprsky usměrní jedním směrem) a jako fokusační prvky (usměrní veškeré paprsky jedné vlnové délky na jedno místo).

$$1/f = 1/a + 1/a'$$

Vz. 9

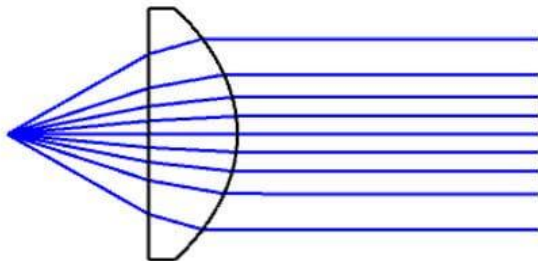


Fig.1 Laser Collimating Lens

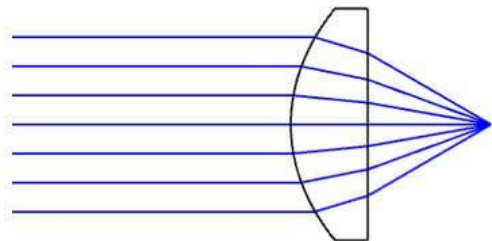
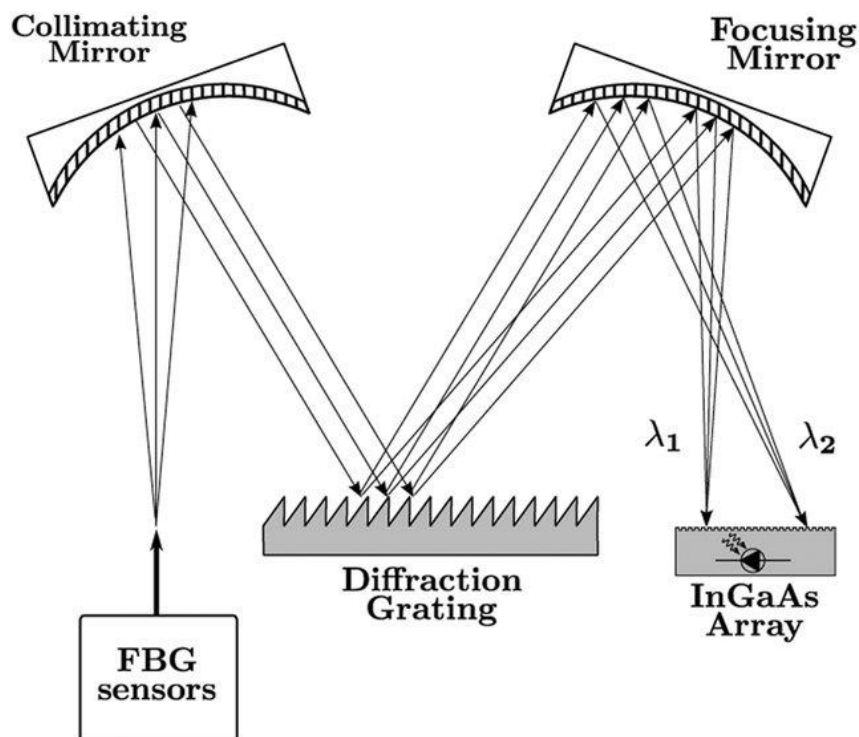


Fig.2 Laser Focusing Lens

Obr. 1.11 – Kolimační a fokusační čočka

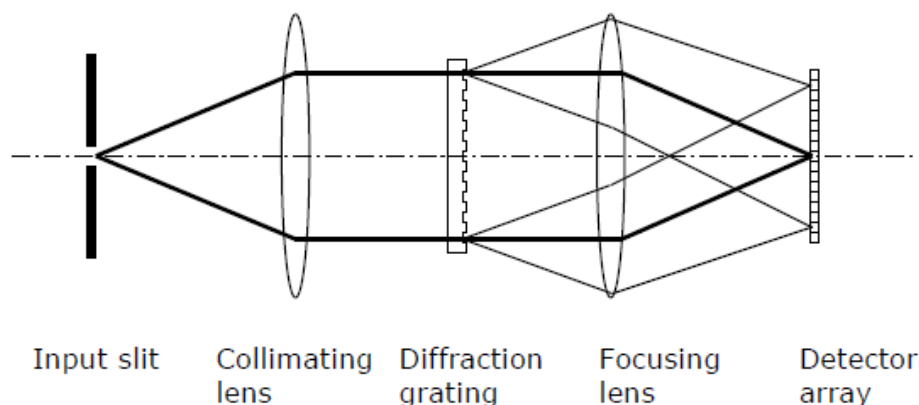


Obr. 1.12 – Kolimační a fokusační zrcadla

1.3 Spektrofotometr jako měřicí zařízení

Spektrofotometr, jak bylo zmíněno výše, je přístroj, který jako zdroj získávaných informací z analyzovaného celku používá elektromagnetické záření. Při chemické analýze funguje na bázi srovnávání spekter přicházejícího záření při vědomí, kolik ho do systému přichází pouze ze

zdroje a zaznamenává úbytek na světelném toku (nebo intenzitě), když je do cesty záření vložena kyveta se vzorkem. Chemická analýza není jediný způsob využití spektrofotometru, ale je jedna z nejvyužívanějších. Další příklady využití jsou analýza světla z různých zdrojů a emitované vlnové délky při fluorescenční spektroskopii. Jeho optické komponenty (viz **obr. 1.13**) zajišťují rozložení příchozího světla pomocí disperze a soustředění toho spektra na detektor, z něhož software vyčítá jednotlivé informace, které sebou záření nese. Pro pochopení funkčnosti jednotlivých komponent je esenciální mít povědomí v oblasti geometrické optiky, a proto se následující odstavce věnují krátkému shrnutí této problematiky a až potom následuje popis jednotlivých komponent a jejich zabudování do spektrometru.



Obr. 1.13 – Schéma spektrofotometru

1.3.1 Komponenty spektrofotometru

Přestože existuje mnoho variant uspořádání spektrofotometrů, u všech můžeme najít stejné základní komponenty, bez kterých se žádný spektrofotometr neobejde. Patří mezi ně: zdroj záření, místo pro vzorek¹, optická soustava, senzor a výpočetní zařízení (9 stránky 451-454).

Zdroje elektromagnetického záření

Každý spektrometr potřebuje ke svému fungování zdroj záření. Různé zdroje se od sebe liší svou spektrální charakteristikou, resp. vlnovými délkami, které jsou schopny vyzářit. Proto se zdroje záření liší u jednotlivých spektrofotometrů v závislosti na jejich spektrálním rozsahu. (11 str. 628)

- Deuterium a vodíková výbojka: 160 až 380 nm
- Xenonová výbojka: 190 až 1000 nm
- Halogenová žárovka: 240 až 2500 nm
- Bílá LED dioda: 400 až 750 nm

¹ místo pro vzorek může být postaveno před nebo za optickou typy soustavu

Optické vlákno

Není to nutností, ale u některých typů uspořádání spektrofotometrů se používá k dopravě záření systémem tzv. optická vlákna. V optice spektrofotometru se nejčastěji užívají dva typy optických vláken, jež se liší materiálem, jímž je záření vedeno. První typ vlákna jako přenosné medium funguje křemík a u druhého plast. U křemenných vláken výhoda spočívá v tom, že mají při přenosu na dálku velmi malou ztrátu na intenzitě přenášeného záření (0,1 dB/km), což se bohužel nedá říci o plastových vláknech, jejichž ztráta se pohybuje v stonásobcích ztráty na intenzitě u vláken křemenných.

(Místo pro vzorek)

Optická soustava

Optická soustava je část spektrofotometru, která má funkci rozložit polychromatický paprsek elektromagnetického záření na paprsky o jednotlivých vlnových délkách prostřednictvím disperze nebo difrakce a skládá se z následujících částí:

1. Vstupní štěrbina

Výstupní štěrbina je úzký otvor následující za vzorkem, kterým proniká záření do optické části spektrometru v regulovaném množství a šíří se do prostoru pod velmi úzkým úhlem (16).

2. Kolimační prvek

Jako kolimační prvek se chápe buď čočka, anebo zrcadlo, které mají ve schématu spektrometru funkci převedení různoběžných elektromagnetických paprsků na rovnoběžné (viz výše)

3. Disperzní prvek

Prvek, který rozloží svazek elektromagnetického záření na jednotlivé složky (např. optický hranol, difrakční mřížka)

4. Zaostrovací prvek

Zaostrovací prvek má funkci zaostrovat elektromagnetické záření (funkce se v jednotlivých variantách liší (viz čočky a zrcadla)

(Místo pro vzorek)

5. Senzor

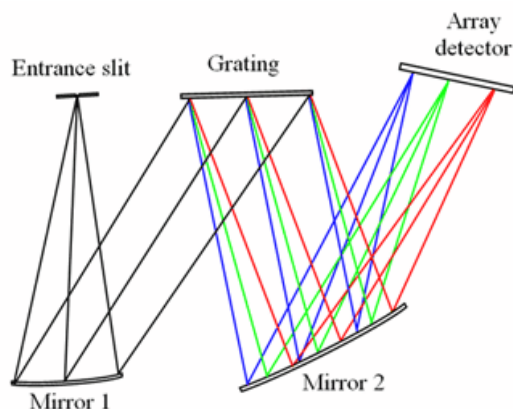
Řada fotosenzitivních detektorů, mající za úkol zaznamenávat intenzitu dopadajícího elektromagnetického záření. Detekované informace jsou následně zpracovány softwarem a v tu chvíli jsou připraveny na zhodnocení lidským anebo automatickým vyhodnocovatelem.

1.3.2 Uspořádání absorpčního spektrofotometru

Absorpční spektrofotometry se od sebe mohou lišit mnoha způsoby, například se mohou lišit v uspořádání jednotlivých komponentů za sebou, jiných variací součástí k dosažení výsledků, velikostí detekovaného pásma spektra a mnoha dalších. Bohužel těchto variant je příliš mnoho, aby v této práci zazněly všechny obměny, ale pro porovnání byly zvoleny dva nejčastější typy uspořádání optické soustavy, a to jsou Czerny–Turner a uspořádání typu Bunsenova spektroskopu².

a) Czerny–Turner

Toto uspořádání je specifické tím, že ke kolimaci a zaostřování záření používá konkávní zrcadla, která jsou uspořádána tak, aby kolimační zrcadlo kolimovalo záření na difrakční mřížku, z níž se následně odráží rozložené na zaostřovací zrcadlo, které ho zaostřuje na jednotlivé části senzoru (viz **obr. 1.14**). Jednou z výhod tohoto uspořádání je kompaktnost celého systému oproti Bunsenovu spektroskopu.

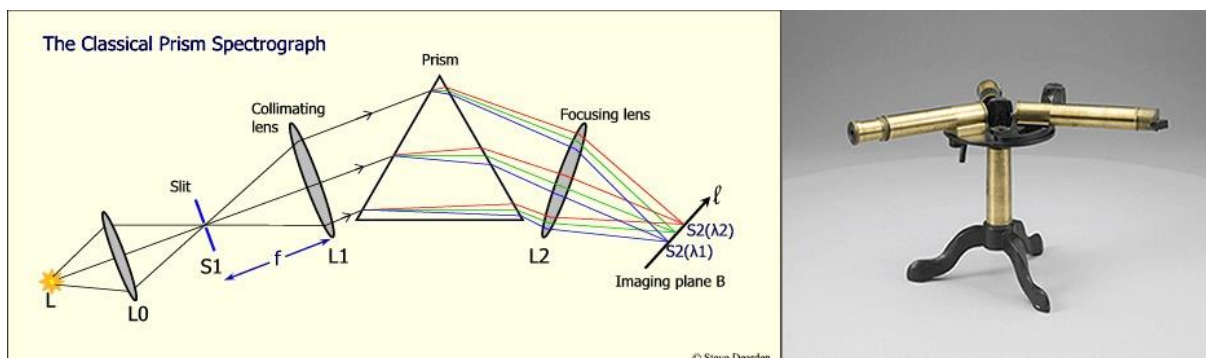


Obr. 1.14 – Schéma spektrometru typu Czerny–Turner (Rigelleo, 2024)

b) Bunsenův spektroskop

Pro uspořádání typu Bunsenova spektrometru se využívá více lineárního postupu, ke kolimaci a zaostřování jsou používány čočky a k disperzi záření oproti uspořádání typu Czerny–Turner se využívá buď optického hranolu, nebo transmisní difrakční mřížky. Na obrázku **obr. 1.15** je vidět, že tento typ uspořádání může být relativně dlouhý, a ne tak dobře skladný jako Czerny–Turner.

² Pro případné zájemce o větší poznatky o různých uspořádáních absorpčního spektrometru doporučujeme literaturu (11)



Obr. 1.15 – Bunsenův spektroskop (<https://stevesopenlab.fr/spectrometer-designs/>)

1.3.3 Principy měření

Kalibrace

Aby měření na spektrofotometru bylo relevantní, musí se před samotným měřením ověřit jeho kalibrace. Ta se provádí lasery o známé vlnové délce, jejichž záření je měřeno spektrofotometrem a podle skutečnosti, zda se známá vlnová délka laseru liší nebo neliší s naměřenou hodnotou se determinuje, jestli je přístroj zkalibrován. Pokud se vlnové délky shodují, pak je spektrofotometr zkalibrován a je připraven k měření. Pokud se nerovnají, pak se musí přístroj před měřením hardwarově či softwarově zkalibrovat. Hardwarová nebo také geometrická kalibrace se provádí tím způsobem, že se mění úhly v optické soustavě za účelem posunutí dopadajícího spektra na detektor do správné polohy. Kalibrace prostřednictvím softwaru funguje na bázi softwarové úpravy měřeného spektra a to tím, že celé spektrum posune na očekávané hodnoty.

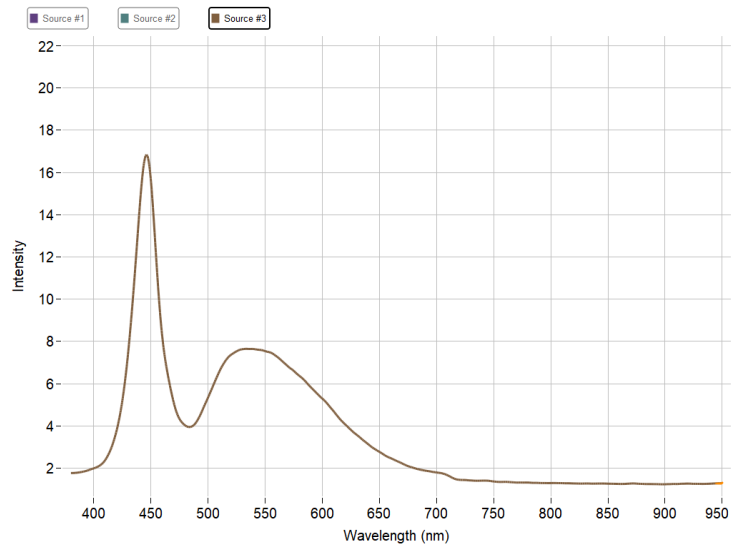
Měření

Pokud je ověřeno, že spektrofotometr měří relevantní výsledky, pak se může započít samotné měření a analýza naměřených výsledků. Výsledkem měřeným spektrofotometrem jsou spektra intenzity záření (typy kontinuální a emisní spektra), absorpční spektra a transmisní spektra.

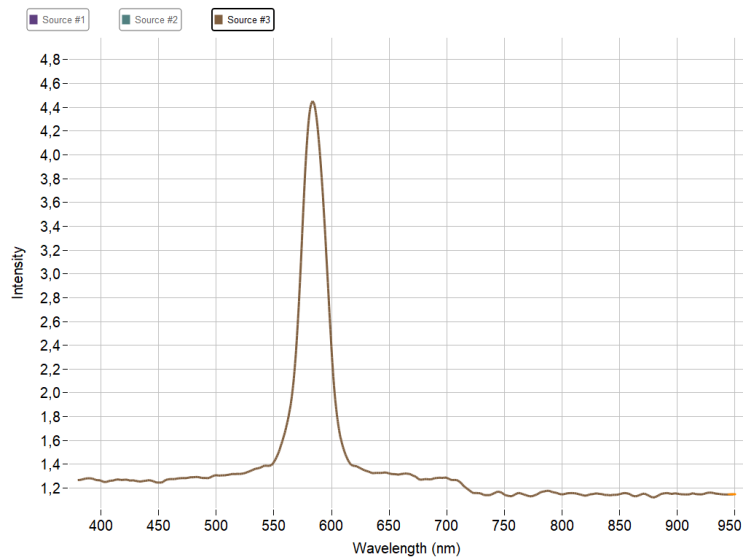
1.3.3.1 Interpretace jednotlivých spekter

Spektra intenzity záření

Každý zdroj elektromagnetického záření vyzařuje specifické spektrum intenzity, z něhož je možné vyčíst, které vlnové délky zdroj vyzařuje nejintenzivněji. Například na **obr. 1.16** je vidět, že studená bílá LED dioda má spojité spektrum intenzity od 400 nm do cca 715 nm, s tím že nejintenzivnější záření vyzařuje na 445 nm. Naproti tomu zdroj nemusí mít vždy široké kontinuální spektrum jako má bílá LED dioda, ale může mít relativně úzké spektrum jako má žlutá LED dioda (**viz obr. 1.17**). Nejužší spektra zdrojů záření mají zpravidla lasery, které téměř jednu vlnovou délku.

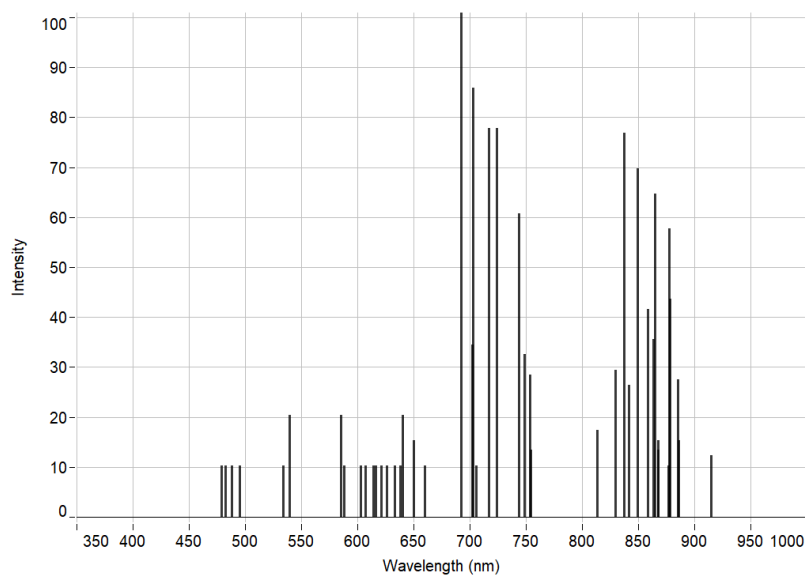


Obr. 1.16 – Spektrum intenzity záření studené bílé LED diody se zřetelným maximem intenzity v modré části spektra (pořízeno v softwaru Spectrometry společnosti Pasco)



Obr. 1.17 – Spektrum žluté LED diody (pořízeno v softwaru Spectrometry společnosti Pasco)

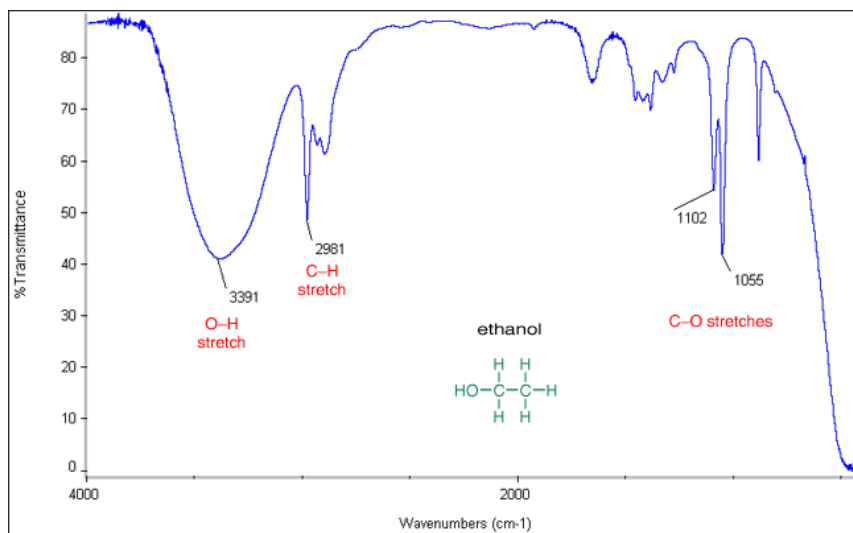
Emisní spektra jsou typem spektra intenzity elektromagnetického záření, se kterým je možno se setkat při spektrální analýze prvků. Na **obr. 1.18** je zobrazeno emisní spektrum neonu, na kterém lze pozorovat jednotlivé skoky elektronů z vyšší energetické hladiny na nižší, při nichž jsou vyzařovány (emitovány) vlnové délky korespondující s rozdíly mezi jednotlivými hladinami.



Obr. 1.18 – Emisní spektrum neonu (pořízeno v softwaru Spectrometry společnosti Pasco)

Transmisní spektrum

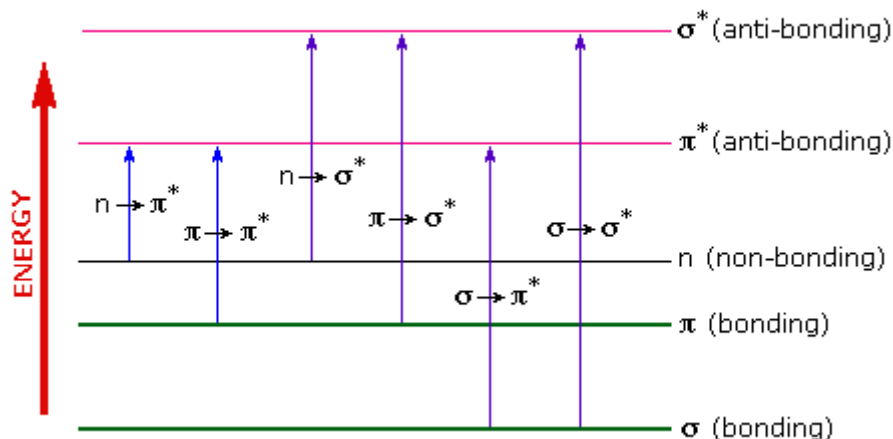
Transmisní spektrum je využíváno především v oblasti infračervené spektroskopie. Tento typ spektra je výjimečným oproti ostatním, že se častěji vyjadřuje v závislosti transmittance T a vlnočtu σ ($\sigma = 1/\lambda$). V infračervených transmisních spektrech lze identifikovat jednotlivé funkční skupiny organické chemie (viz obr. 1.19).



Obr. 1.19 – Transmisní spektrum ethanolu

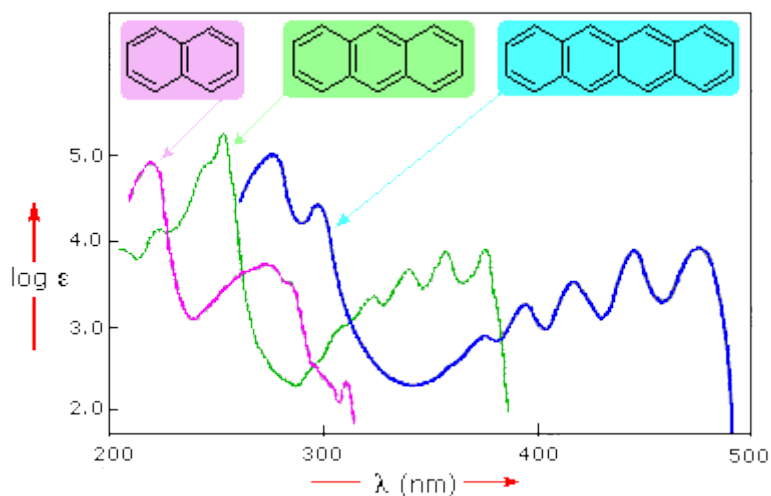
Absorpční spektrum

Absorpční UV-VIS-NIR spektra nám umožňují studovat elektronové přechody mezi nejvyššími obsazenými (HOMO) a nejnižšími neobsazenými molekulovými orbitaly (LUMO) v organických molekulách (viz. **obrázek 1.20**) a tak studovat jejich strukturní vlastností a přeměny (např. v rámci acidobazických reakcí atp.).



Obr. 1.20 – Energetické hladiny elektronů

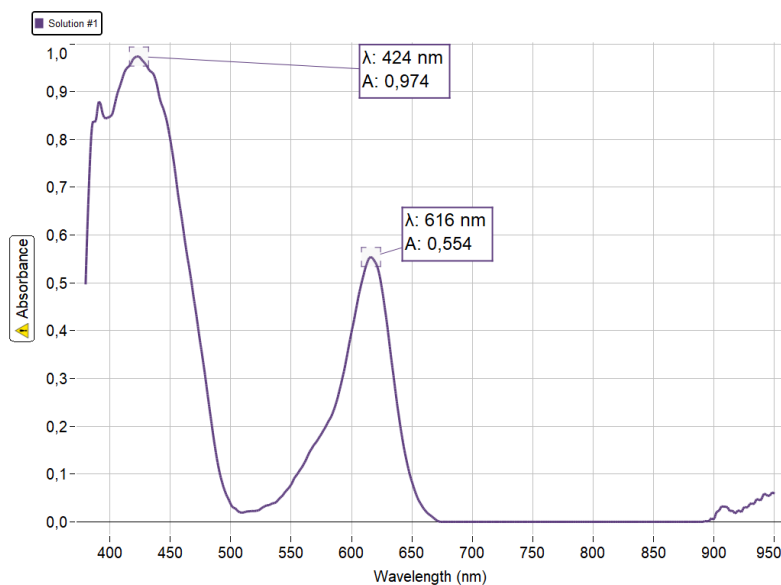
Tyto přechody se projevují absorpčními pásy v oblasti 200–800 nm. S klesající energetickou vzdáleností (ΔE) obsazených a neobsazených orbitalů, mezi kterými dochází k elektronovým přechodům, se absorpční pásy posouvají směrem k delším vlnovým délkám. Dobrým příkladem může být homologická řada kondenzovaných arenů na **obr. 1.21**.



Obr. 1.21 – Absorpční spektra naftalenu, anthracenu a tetracenu

Konjugace v naftalenu, anthracenu a tetracenu způsobuje bathochromické posuny (posuny k delším vlnovým délkám) $\pi \rightarrow \pi^*$ absorpčních pásů, jak je vidět na spektru. Všechny absorpce se neposouvají o stejnou hodnotu, takže u anthracenu (zeleně vystínovaný rámeček) a tetracenu (modře stínovaný rámeček) je slabá absorpce zakryta silnějšími pásy, které zaznamenaly větší červený posun. Jak lze očekávat z jejich spekter, naftalen a antracen jsou bezbarvé, ale tetracene je oranžový.

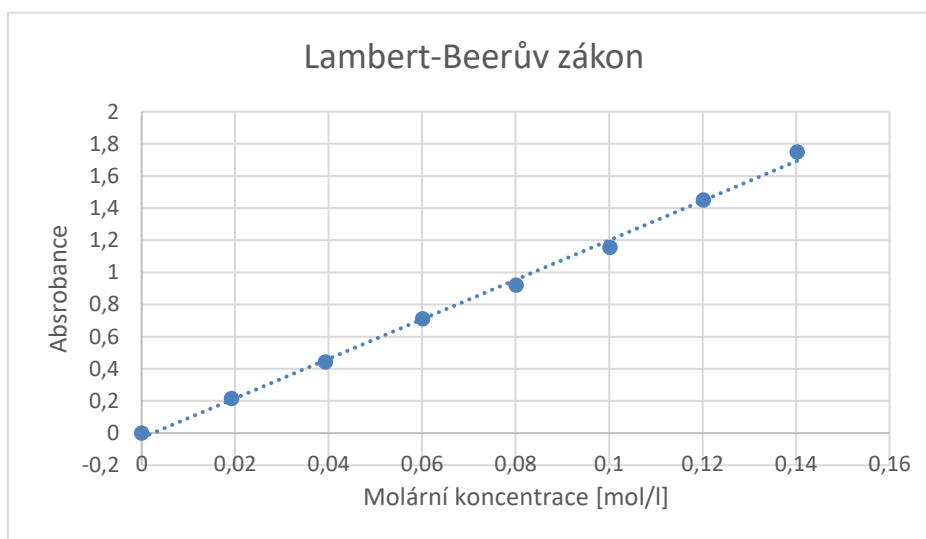
Při interpretaci absorpčních spekter je důležité především se zaměřovat na tzv. absorpční peaky na vlnových délkách (**viz Obr. 1.22**). Absorpční spektra jsou charakteristická pro jednotlivé látky, takže je možné z nich identifikovat složení analyzovaného vzorku.



Obr. 1.22 – Absorpční spektrum alkoholického nápoje (pořízeno v softwaru Spectrometry společnosti Pasco)

Kvantitativní analýza prostřednictvím Lambert–Beerova zákona

Při stanovení koncentrace roztoku, jak již bylo zmíněno výše, se používá Lambert–Beerův zákon. Princip měření koncentrace neznámého roztoku spočívá v tzv. kalibrační křivce, kdy se naměří u alespoň 4 roztoků o známé koncentraci látky, jejíž koncentrace v neznámém roztoku je zjišťována, absorbance ve spektrofotometru³. Na obrázku **obr. 1.23** lze vidět lineární závislost absorbance na koncentraci roztoku v Lambert–Beerově zákoně. (11 stránky 156-159)



Obr. 1.23 – Kalibrační křivka vyjadřující Lambert–Beerův zákon

³ Pro co nejpřesnější měření je doporučeno provést referenčních měření pro kalibrační křivku s co nejvíce roztoky o známé koncentraci.

2 POUŽITÉ METODY A POSTUPY

Vzhledem k našim původně limitovaným zkušenostem v oboru vědecké instrumentace a znalostem fyzikálních a chemických principů na úrovni střední školy jsme se rozhodli v rámci projektu postupně pracovat na zařízeních o několika úrovních komplexnosti, počínaje tím nejjednodušším.

V rámci projektu, který byl započat v létě roku 2022, bylo a nadále je vyvíjeno několik verzí funkčních spektrofotometrů pro aplikace na různých úrovních výuky. U každé z těchto verzí jsme začali naplánováním cílových specifikací a postupu vývoje na bázi konzultací a dostupné literatury, následoval postupný návrh dílčích komponent, integrace těchto komponent do systému, finalizace v rámci testování, a vyhodnocení práce.

V poslední fázi projektu nyní postupně probíhá testování didaktického užití vyvinutých spektrofotometrů přímo na školách.

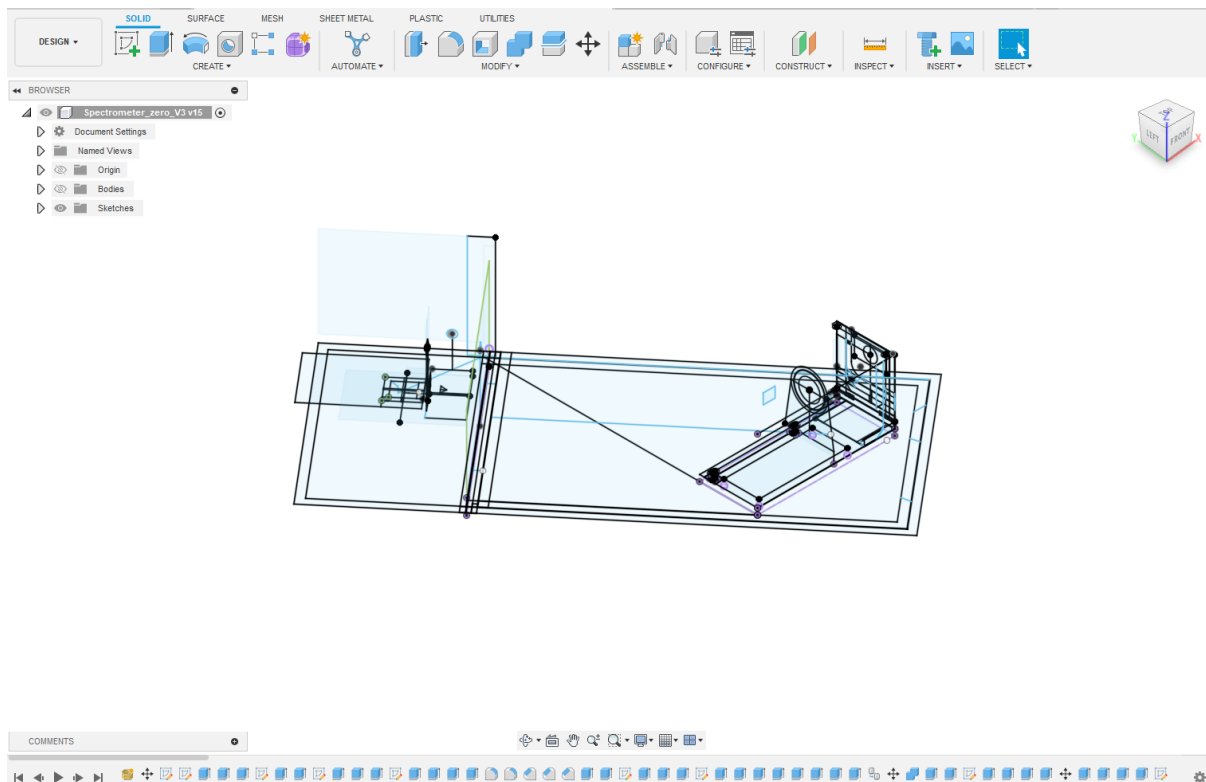
Už od začátku projektu probíhaly pravidelné konzultace, zejména s doktorem Votavou, které výrazně pomáhaly ve směřování jak vývoje dílčích technologií, tak celého projektu.

Paralelně s vývojem jednotlivých zařízení byla v průběhu celého projektu utvářena DIY STEM metodika a vlastní technologická řešení jejich dílčích komponent. Mezi tyto patří:

- Matematický návrh geometrie
- Disperzní prvek
- Štěrbina
- Fokusační (a kolimační) optika
- Optická vlákna
- Držák kyvety
- Světelný zdroj
- Mechanická konstrukce a odstínění od prostředí
- Optický detektor
- Software

Vývoj verzí každé z těchto komponent a jejich následná integrace do jednotného systému podléhala podobnému vývojovému cyklu jako celá zařízení. Na základě konzultací a literatury bylo určeno možné zlepšení, to bylo vyvinuto a následně otestováno.

Vzhledem k DIY povaze projektu byly voleny metody umožňující levný a reprodukovatelný vývoj. Použitý hardware i jednotlivé komponenty optické soustavy byly voleny tak, aby se daly zakoupit za dostupnou cenu, a aby byly co nejjednodušší na manipulaci. Pro rychlé prototypování jsme přistoupili k používání 3D tisknutých plastových součástí spojených šrouby nebo lepidlem. Softwarové rozhraní pro ovládání spektrometru je cross-platformové, lze jej tedy spustit na libovolném desktopovém operačním systému.



Obr. 2.1 – Návrh 3D konstrukce (Autodesk Fusion 360)

Materiály sloužící k DIY reprodukci vyvinutých zařízení jsme se rozhodli spolu s krátkým představením projektu publikovat na veřejně dostupných webových stránkách projektu. Mezi tyto materiály jsme zařadili open–source software, návod na sestavení zařízení, soubory určené k 3D tisku jednotlivých součástí, excelový nástroj na výpočet geometrie (viz 3.2.1), a tuto práci SOČ shrnující celý projekt.

Vývoj stále dál pokračuje, plánujeme na spektrometrech pracovat do i od krajského kola SOČ, zejména pokračovat v testování didaktické aplikace na středních a základních školách.

2.1 Referenční zařízení

Pro účely benchmarkování našich zařízení byly vypůjčeny komerční malé spektrometry z Katedry didaktiky PřF UK. Na začátku projektu jsme si vypůjčili spektrometr Red Tide, který sloužil k našemu zaškolení v principech spektrálních měření a až ve fázi testování našich vlastních zařízení jsme si vypůjčili spektrometr Pasco. Tyto spektrometry byly zvoleny, jelikož se jedná o komerčně dostupná zařízení se srovnatelnými parametry, jako jsou naše cílové, zejména z hlediska přesnosti, využití na experimenty, a frekvenčním a absorpčním rozlišením. Všechna referenční zařízení a příslušenství k nim nám propůjčila Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy.

2.1.1 Ocean Optics Red Tide USB650 UV

Komerční spektrometr pro lehké vědecké úkony, pro jeho funkčnost bylo zapotřebí si zapůjčit ještě optická vlákna, externí zdroj záření (deuterium a halogen), držák na kyvety a software

SpectraSuite. Jeho kalibrace byla ověřována lasery o známé vlnové délce, při níž jsme zjistili, že spektrometr má posunuté celé spektrum o 6 nm, takže jsme jej používali jen na přibližný tvar spekter a jako praktické zaučení na experimentální určení Lambert–Beerova zákona, protože pokud se vztah určuje na stejné vlnové délce, pak jeho numerická hodnota nehraje roli.

1. Složitá optika (je vyžadován externí zdroj záření)
2. Hodně součástek
3. Lze sledovat ostré peaky na jednotlivých vlnových délkách (přechody elektronů na určité energetické hladiny)
4. Využívaný software SpectraSuite – složitý na pochopení, velké spektrum funkcí, placený



Obr. 2.2 – Red Tide USB650 UV



Obr. 2.3 – Soustava pro měření s Red Tide USB650 UV
(popis obrázku: vlevo zdroj záření deuterium halogen, vpravo spektrometr Red Tide s držákem na kyvety, celá soustava propojená křemennými optickými vlákny)

2.1.2 Pasco PS-2600

Komerční spektrofotometr pro didaktické účely, experimentálně ověřena přesnost jeho kalibrace. Benchmark pro tvar absorpčních spekter a zároveň pro relevantnost měření absorbance při Lambert–Beerově zákoně.

1. Jednoduché provedení (vše je na jednom místě)
2. Lze sledovat přibližné peaky na jednotlivých vlnových délkách
3. Vybaven fluorescenční a fosforescenčním zdrojem pro emisní spektrometrii
4. Využívaný software Spectrometry – jednoduchý na pochopení, přívětivý, omezené funkce, přístupný na požádání



Obr. 2.4 – Pasco PS-2600



Obr. 2.5 – Soustava pro měření s Pasco PS-2600

2.1.3 Parametry referenčních zařízení

Tab. 4 – parametry referenčních zařízení (17; 18)

Spektrometr	Pasco PS-2600	Red Tide USB650 UV
Cena	26.370,00 Kč	2000–3000\$
Jednoduchost manipulace	Jednoduchá	Potřebná manipulace s optickými vlákny
Spektrální rozpětí	380–950 nm	250–800 nm
Spektrální rozlišení	0,4 nm	1 nm
Peakové rozlišení	2–3 nm	2 nm
Rozlišení absorbance	0,001 au	0,002 au
Odstínění proti parazitnímu záření	Dokonalé	Dokonalé
Kalibrace	Možnost softwarové kalibrace	Tovární (úprava pouze ve speciálně dedikovaných zařízeních)
Přístupnost SW	Na požádání	Placený
Modularita designu	Modifikace pouze speciálním modulem s optickým vláknem	Možnost zapojení do vlastní optické soustavy

2.2 Zvolené metody ověřují relevanci vyvíjených zařízení

Pro kvantifikaci kvality vyvíjených a referenčních zařízení byly zvoleny následující parametry a metody:

Kvalita kalibrace určuje relevantnost měření přesných vlnových délek. Její ověření se provádí prostřednictvím alespoň 2 laserů, jejichž vlnové délky jsou předem známé a podle naměřených hodnot se následně určuje, zda je přístroj správně kalibrován. Pokud se naměřené hodnoty shodují s vlnovými délkami laserů, pak je spektrofotometr zkalibrován. Řešením při nekorespondující hodnotě je softwarová kalibrace.

Schopnost kvalitativní a kvantitativní analýzy lze ověřit prostřednictvím jednoduchých didaktických úloh, které by byly prováděny simultánně na vyvíjeném přístroji a na komerčním spektrometru. Porovnáním jejich výsledků je možné vyvodit s jakou přesností je přístroj schopný provádět jednoduché analýzy. Zvolené didaktické úlohy:

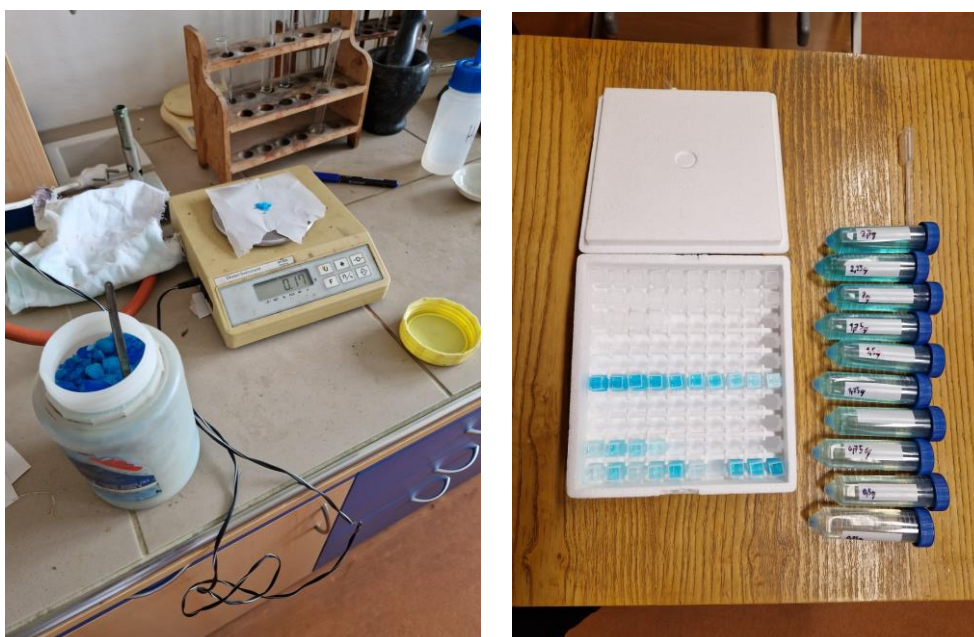
- kvalitativní úloha: určení barviva podle absorpčního spektra
- kvantitativní úloha: výpočet koncentrace roztoku prostřednictvím Lambert–Beerova zákona

Spektrální rozlišení určuje kvalitu zobrazovaného spektra. Je ovlivněno geometrií optiky která by měla promítat co největší šíři spektra na senzor, a horizontálním rozlišením senzoru. Lze ji určit podílem $\frac{\text{rozpětí vlnových délek dopadajících na senzor}}{\text{počet pixelů senzoru}}$.

Peakové rozlišení řeší problém teoretické povahy rozlišení spektrálního, které může být v případě vysokých rozlišení senzorů zavádějící. Určuje se proto empiricky, změřením šířky

spektrálního peaku monochromatického paprsku, tj. laseru. Kromě kvality optické sestavy je závislá zejména na šířce vstupní štěrbině.

Rozlišení absorpance určuje přesnost, s jakou dokážeme určit hodnotu absorpance důležitou pro koncentrační měření dle Lambert–Beerova zákona (viz 1.2.1). Jako modelovou sloučeninu jsme zvolili modrou skalici, CuSO_4 , pro její dostupnost a nízkou toxicitu. V literatuře je absorpční koeficient pro CuSO_4 běžně určován s měřením hodnot absorpance na vlnové délce 635 nm (19).



Obr. 2.6 – Srovnávací měření rozlišení absorpance podle Lambert–Beerova zákona pomocí CuSO_4

Tyto zjištěné parametry byly následně srovnány s hodnotami od výrobců referenčních zařízení.

2.3 Metodika testování na školách

Při testování na školách jsme zvolili postup paralelní výuky, kdy se studenti na začátku seznámí s principy spektrofotometrie a následně si své nově nabyté vědomosti ověří prakticky prostřednictvím dvou laboratorních úloh. Tyto úlohy jsou navrženy tak, aby si student vyzkoušel praxi v kvalitativní i kvantitativní analýze. Rozhodli jsme se zpočátku působit v hodinách chemie, jelikož je nutné se napřed seznámit s aplikací zařízení, než by se studenti ponořili do problematiky sestavení svého vlastního přístroje.

Připravujeme také navazující přednášky o fungování spektrometrů, které by mohly pomoci studentům se zorientovat v tom, jak se tyto přístroje staví.

3 VÝSLEDKY

Mezi výsledky projektu patří určení konkrétních cílových parametrů pro různé úrovně využití, vyvinutí technologie a metodiky jednotlivých subsystémů, integrace těchto subsystémů do konkrétních řešení (zařízení), srovnávací testy s referenčními zařízeními, praktické otestování v rámci výuky na českých školách, a vytvoření veřejně dostupné sady materiálů umožňujících samostatnou konstrukci našich spektrofotometrů a jejich užití ve výuce.

3.1 Definice parametrů

Na základě konzultací se základoškolskými, středoškolskými a vysokoškolskými učiteli jsme se rozhodli vyvíjet řešení na 3 úrovních komplexnosti.

U všech těchto řešení jsme určili rozsah ceny, náročnosti na sestavení, spektrálního rozpětí a rozlišení, jasového rozlišení, odstínění interferencí, kalibrace, přístupnost softwaru, proveditelné experimenty a potenciál modularity a dalších vylepšení.

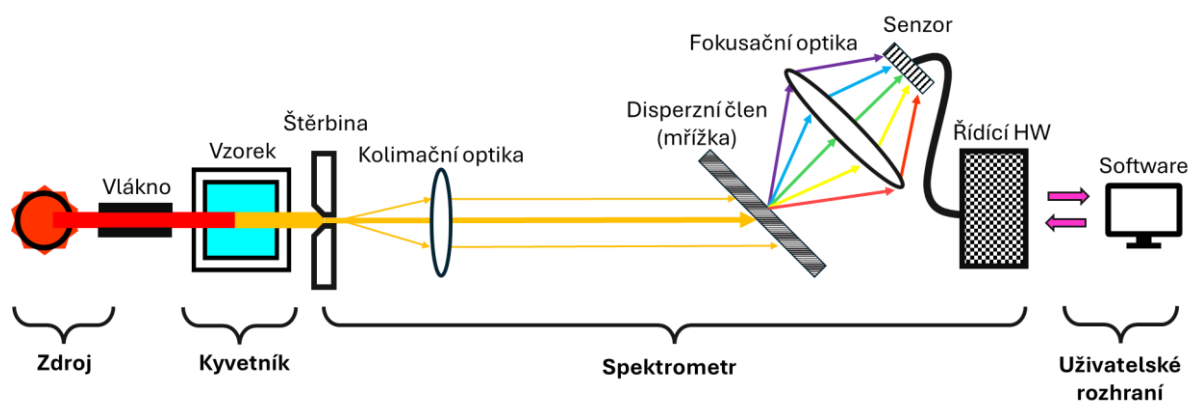
Tab. 5 – Cílové parametry jednotlivých koncepcí spektrofotometrů

Koncepce	Jednoduchá – S1	Pokročilá – A1	Komplexní – K1
Cena	Do 1 000 Kč	Do 2 000 Kč	Do 10 000 Kč
Jednoduchost sestavení	Snadné sestavení dle návodu	Mírně náročnější sestavení dle návodu	Potřebná znalost základních konceptů
Spektrální rozpětí	400–700 nm (VIS)	350–950 nm (VIS–NIR)	350–950nm (UV–VIS–NIR)
Peakové rozlišení	2–5 nm	1–2 nm	<1 nm
Koncentrační rozlišení	0,01 au	0,005 au	0,001–0,002 au
Odstínění proti parazitnímu záření	Malé rušení, které lze softwarově odfiltrvat	Pokročilé odstínění umožňující vyšší přesnosti měření	Několik možností dokonalého odstínění
Kalibrace	Pevné slepení geometrie, dále SW kalibrace	Nastavitelnost polohy mřížky, senzoru i	Nastavitelnost veškerých prvků, automatická SW kalibrace
Software	Jednoduchá kalibrace a zobrazení spektra	Hlubší analýza spektra, ovládání nastavení kamery, graf	Pokročilé nástroje, možnost definovat vlastní analýzu, automatická kalibrace
Modularita designu	Limitovaná modularita	Odnímatelné moduly, možnost propojit s další soustavou opt. Vláknem	Četné možnosti přizpůsobení a integrace do větších soustav, např. jako výchozí modul spektrometru pro didaktickou Ramanovu spektroskopii
Proveditelné experimenty	Charakteristika záření	Charakteristika záření, analýza vzorku	Možnost rozšíření na širokou škálu experimentů

3.2 Vyvinuté technologie a metody

Pro vytvoření jednotlivých měřicích zařízení bylo třeba souběžně pracovat na dílčích technologiích, metodikách geometrických výpočtů a výroby, a volbě správných komponentů. Tento vývoj vždy směřoval ke konkrétním cílovým parametrům pomocí inkrementálních změn. Všechny metody a technologie byly vyvinuty tak, aby splňovaly parametry potřebné pro pokročilou úroveň zařízení.

U většiny užitých postupů bylo čerpáno z internetových zdrojů, učebnic, příruček a expertízy dr. Votavy. Velikou pomocí se ukázaly být také existující projekty na DIY užití zvolených senzorů a internetová fóra zabývající se fyzikálními, programovacími a elektrotechnickými tématy.



Obr. 3.1 – Schéma spektrofotometru

3.2.1 Matematický návrh geometrie

Pro započetí vývoje bylo nutné nejprve teoreticky popsat funkční mechanismus plánovaného spektrofotometrického zařízení. Pro konstrukci bylo také nutné určit s maximální přesností pozici a parametry (ohniskovou vzdálenost, četnost vrypů štěrbin, velikost) optických součástí. Všechny tyto údaje podléhají fyzikálním zákonům popsaným v kap. 1.2, a bylo tudíž třeba se v základních principech optiky orientovat.

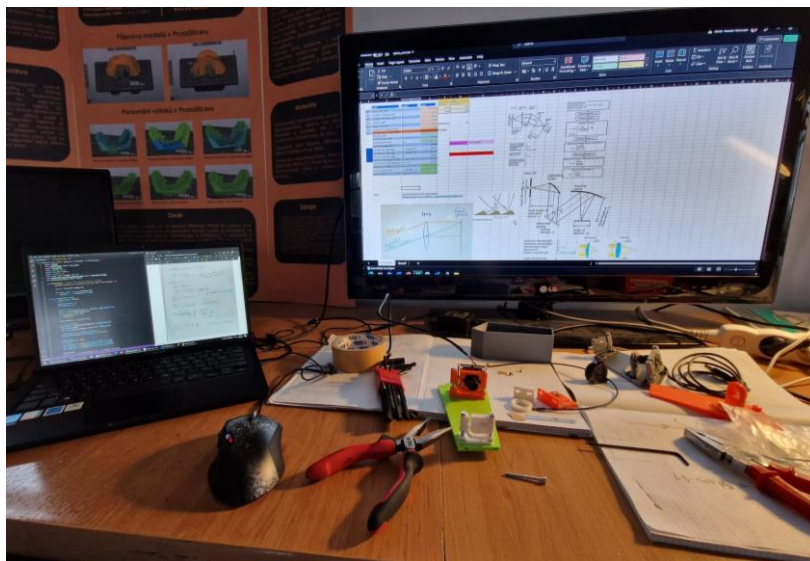
Po dostatečném pochopení těchto konceptů jsme pro účely návrhu geometrie našich přístrojů vytvořili na základě inspirace z internetových zdrojů (16) nástroj tabulkové kalkulačky v programu Microsoft Excel sloužící pro výpočty potřebných geometrických hodnot. Nástroj obsahuje pole pro zadání parametrů senzorů, mřížky, a požadovaných parametrů výsledného spektrometru (rozpětí a rozlišení vlnových délek). Výsledné hodnoty ohniskových vzdáleností kolimační a fokusační optiky, jehlu mřížky a senzoru, a maximální šířky vstupní štěrbin jsou vypočítány pomocí vzorců uvedených v prostředním sloupci.

Nástroj nabízí i možnost výpočtu bez kolimační čočky a s vlastním úhlem mřížky, který je využíván na všech současně vyvinutých spektrofotometrech.

		Values	
	name	symbol	PiCamV3
input	sensor width [mm]	l_b	6,450 mm
input	number of pixels	A_0	4608
	sensor pixel width [mm]	Δl	0,001 mm
input	minimum wavelength [nm]	λ_1	350 nm
input	maximum wavelength [nm]	λ_2	700 nm
input	grating groove density [1/mm]	G	1000
input	angle of incidence [deg] (angle between incident light and normal to the diffraction grating)	α	0
input	Magnification	M	5,000
	diffraction orders	n	1
	wavelength range [nm]	$\Delta\lambda = \lambda_2 - \lambda_1$	350 nm
	resolution [nm] (of sensor, must be maintained by grating) [nm]	$\Delta\lambda_G = \Delta\lambda/A_0$	0,0760 nm
	min diffraction angle [deg]	$\beta_1 = \arcsin(\lambda_1 * G)$	20,487°
	max diffraction angle [deg]	$\beta_2 = \arcsin(\lambda_2 * G)$	44,427°
	diffraction angle span [deg]	$\Delta\beta$	23,940°
1st order	middle diffraction angle [deg] (for $\alpha=0$)	$\beta_c = (\beta_1 + \beta_2)/2$	32,457°
	total diffraction angle [deg] (focus lens angle)	$\Phi = \alpha + \beta$	32,457°
	used grating width [mm] (matches resolution)	$D_G = \lambda_c/\Delta\lambda_c/G$	6,912
	collimator focal length [mm]	$f_c = f_s * \cos(\alpha)/\cos(\beta_c) * M$	92,143 mm
	focus focal length [mm]	$f_f = l_b/(2\sin(\beta_2 - \beta_1))$	15,550 mm
	input slit width [mm]	$\omega_{in} = G * f_c * \Delta\lambda_c/\cos(\alpha)$	0,007 mm

Obr. 3.2 – Nástroj na výpočet geometrie spektrometru, oranžově jsou označeny pole vstupních hodnot⁴ (Microsoft Excel)

Podle těchto hodnot bylo možné navrhnout 3D tištěné díly a zakoupit hardwarové součástky s odpovídajícími parametry. Jelikož je tento výpočet geometrie silně teoretický a tudíž inherentně nezahrnuje naprosto všechny přítomné faktory, bylo třeba navrhovat konstrukční díly s možností drobné manipulace polohy jednotlivých součástek, a po sestavení každé optiky ji těmito manipulacemi dopravit do dokonalé podoby. Tyto nepřesnosti v teoretických výpočtech byly způsobeny zejména nepřesností 3D tisku.



Obr. 3.3 – Doopravení polohy součástek po sestavení optiky spektrometru V1

Popis konkrétních výpočtů je uveden níže u daných součástek.

⁴ Nástroj byl vytvořen v anglickém jazyce z důvodu snadného převedení názvů veličin z anglických zdrojů. Na webových stránkách projektu je k dispozici verze přeložená do čj.

3.2.2 Zdroj světla

Počátek optické dráhy tvoří zdroj světla, u kterého je stěžejní jeho spektrální charakteristika a intenzita. Z konstrukčních důvodů jsme při výběru zdroje uvažovali i o jeho elektrotechnických parametrech jako je operační napětí a potřebný výkon. Vzhledem k tomu, že měření absorbance je vždy v poměru proti zdroji o dostatečném jasu v sledované oblasti spektra, bylo důležité, aby bylo spektrum zdroje co nejrovnoměrnější a rozkládalo se na co nejširší, pásmu vlnových délek.

Pro první testování byl využit blesk mobilního telefonu, který má, jakožto bílá LED dioda, široké spektrum.



Obr. 3.4 – Blesk mobilního telefonu používaný jako zdroj

K dalším měřením a testování byl používán profesionální zdroj vybavený halogenovými a deuteriovými lampami. Tento zdroj byl zapůjčen z katedry didaktiky chemie PřF UK.



Obr. 3.5 – Zdroj pro UV–VIS oblast

Zdroj integrovaný přímo do konstrukce byl vyvinut pro spektrofotometr V2. Zde je v přední části prostor pro vyměnitelné moduly zdrojů, které mohou být vyrobeny samostatně od zbytku konstrukce. Jako základní zdroj pro analýzu vzorků pak byl vytvořen modul s teplou bílou LED diodou obsahující variabilní rezistor pro možnost změny jasu.



Obr. 3.6 – Zdroj využívající teplou bílou LED diodu s variabilním jasem vyvinutý pro spektrofotometr V2 (viz 3.3.3)



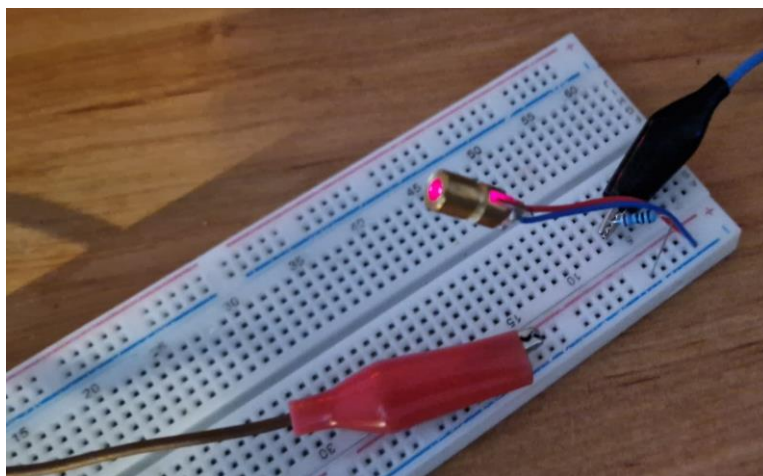
Obr. 3.7 – Spektrum zdroje na bázi bíle LED diody viditelné spektrofotometrem V2

Další skupinou zdrojů světla potřebných pro operaci spektrometru jsou kalibrační lasery. Pro účel kalibrace, která vyžaduje monochromatické světlo o pevně dané frekvenci, jsou lasery ideální. V rámci testování jsme používali nejprve laserová ukazovátka, u kterých je však náročné spolehlivé připojení na zbytek aparaturu.



Obr. 3.8 – Využití laserového ukazovátka (532 nm) na kalibraci spektrometru

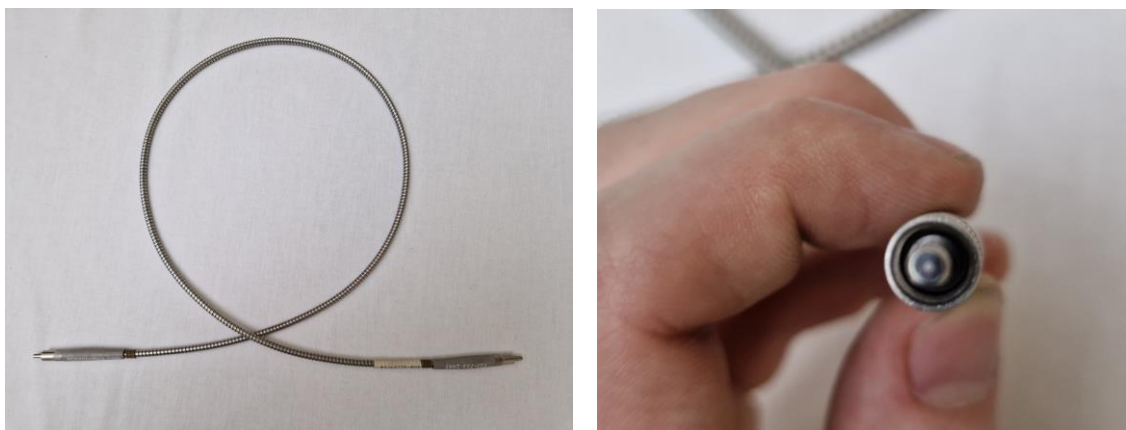
Pro snadnější manipulaci a vyšší modularitu pracujeme na vývoji vlastních laserových zdrojů na bázi laserových LED diod.



Obr. 3.9 – Testování laserové diody (650 nm)

3.2.3 Optické vlákno

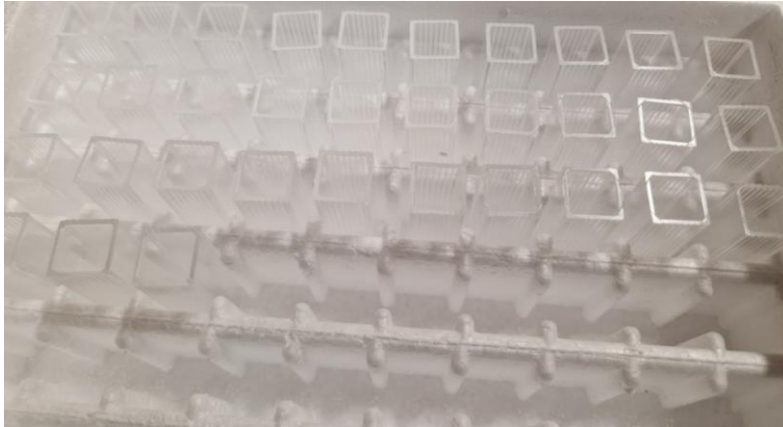
Pro snadnou manipulaci s externími zdroji a kyvetovým držákem a větší kontrolu nad měřeným světlem je možné na začátek spektrometru připojené optické vlákno. Dostupná optická vlákna jsou však plastová a tedy nepropustná v UV oblasti. Vyvinutá zařízení jsou tak současně kompatibilní se zapůjčenými, výrazně dražšími skleněnými optickými vlákny Oceanoptics.



Obr. 3.10 – Zapůjčené křemenné vlákno Oceanoptics

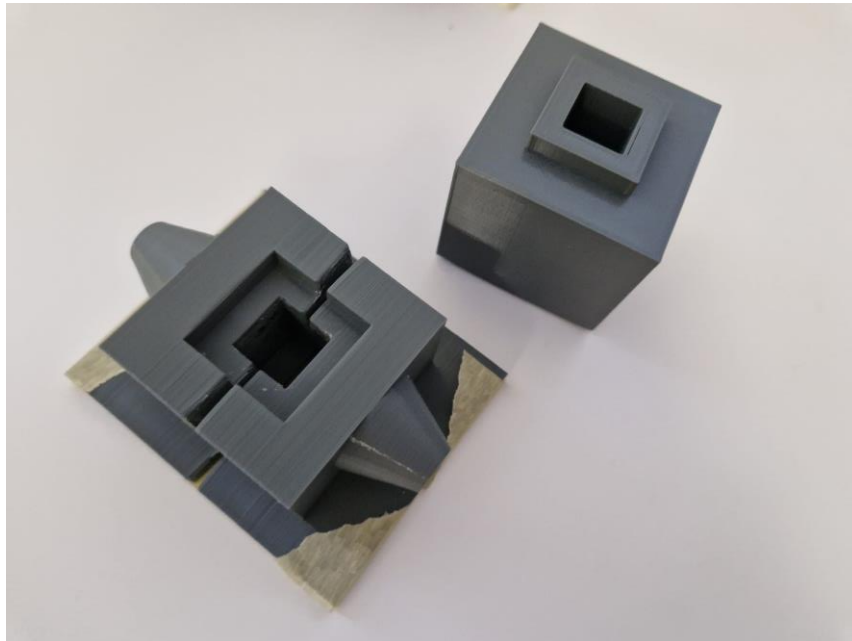
3.2.4 Kyveta a držák kyvety

Pro přidání roztoku do optické dráhy slouží standardizované průhledné kyvety. Při experimentaci jsme používali jednorázové polystyrenové kyvety opticky ošetřené do oblasti 280 až 800 nm o velikosti 12,5x12,5 mm.

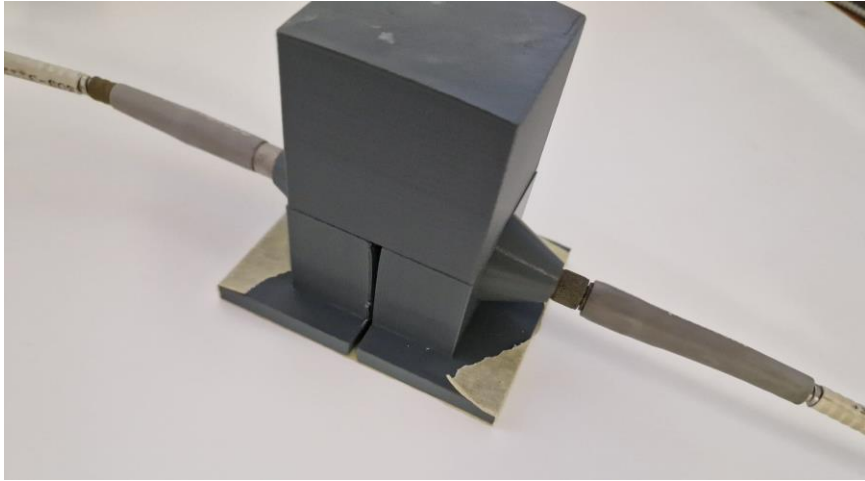


Obr. 3.11 – Používané 1 cm kyvety v ochranném pouzdře

Držák kyvety je místem v optické soustavě, kam pro spektroskopickou analýzu umísťujeme kyvetu se zkoumaným vzorkem. Pro aplikaci v soustavě spojené optickými vlákny jsme vytvořili externí držák kyvety s odnímatelným víkem.



Obr. 3.12 – Samostatný držák kyvety s víkem



Obr. 3.13 – Samostatný držák kyvety spojený se zbytkem soustavy optickými vlákny

Pro verzi spektrofotometru V2 jsme držák kyvety integrovali do odnímatelné přední části zařízení. Tato část se skládá ze dna a držáku kyvety přesně lícujícího s otvorem štěrbinou. Na tento držák lze nasadit modul se zdrojem buďto v optické ose pro komparativní transmisní měření, nebo kolmo na něj pro experimenty zkoumající fluorescenci vzorku. Celou přední část je poté možné pro odstínění parazitního světla zakrýt vlastním víkem.



Obr. 3.14 – Držák kyvety používaný ve spektrofotometru V2 se štěrbinami pro zdroj



Obr. 3.15 – Analýza vzorku v kyvetě pomocí bílé LED diody jako zdroje

3.2.5 Štěrbina

Pro vytvoření tenkého paprsku vstupujícího do optické sestavy slouží štěrbina. V ideálním případě by její šířka měla odpovídat šířce jednoho pixelu senzoru.

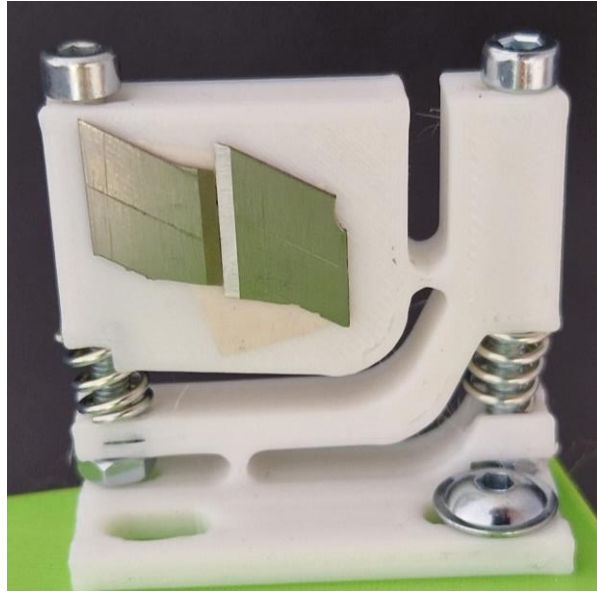
$$d_{\text{štěrbiny}} = \frac{d_{\text{senzoru}}}{\Delta\lambda_{\text{rozpětí vlnových délek}}}$$

Vz. 10

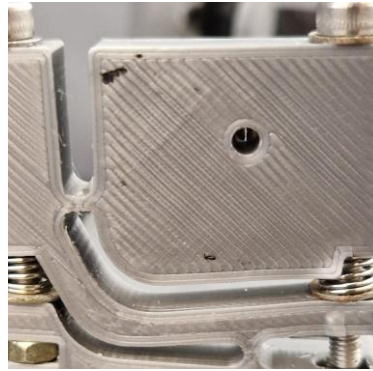
Takto malý otvor, řádově v nízkých jednotkách μm , by však drasticky snižoval množství propuštěného světla a bylo by prakticky nemožné jej v amatérských podmínkách vytvořit. Proto cílíme šířku našich štěrbin na hodnotu 50–100 μm , tedy $\frac{1}{10}$ až $\frac{1}{20}$ milimetru.

Na vnější straně stojanu pro štěrbinu je úchyt tvořený adaptérem na optické vlákno, na vnitřní pak místo pro umístění pro 2 paralelních ostří nože či žiletky. Štěrbina je vytvořena postupným přilepením obou ostří k podložce tak, aby byly neustále paralelně a byla mezi nimi patřičná vzdálenost.

Technologie kontrolované tvorby štěrbin o určité šířce se ukázala jako klíčová, neboť je jedním z hlavních faktorů určujících rozlišení zařízení.

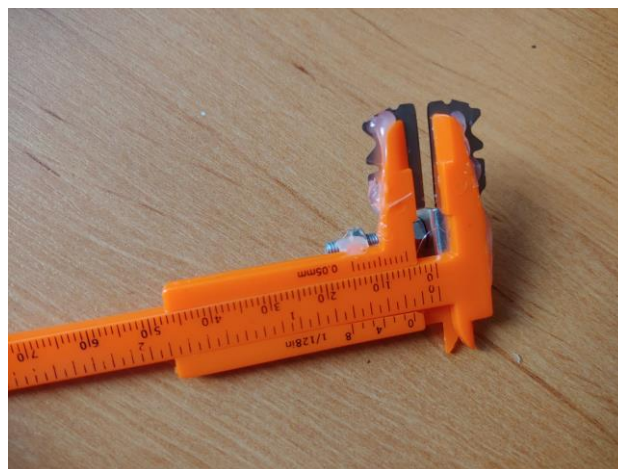


Obr. 3.16 – Štěrbina tvořená rovnoběžnými hranami nožů



Obr. 3.17 – štěrbina z vnější strany s prostorem pro připojení optického vlákna

Jako možné vylepšení štěrbiny koncipujeme konstrukci s nastavitelnou šířkou, prozatím postavenou na bázi šuplery. Vzhledem k úrovni rigidity a přesných rozměrů materiálu, která je pro takovou konstrukci třeba, je tento koncept zatím jen ve fázi vývoje.



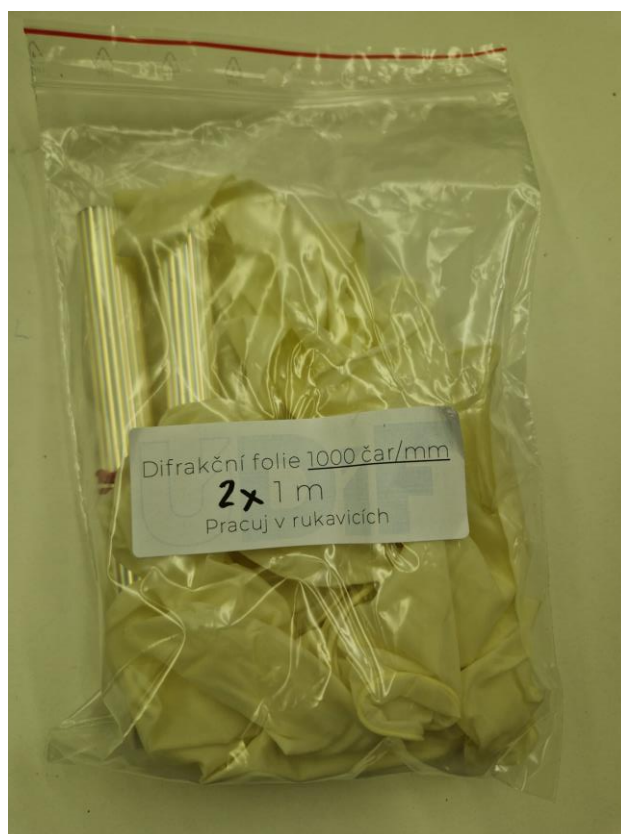
Obr. 3.18 – Vývojová verze štěrbiny s posuvnou vnitřní šířkou

3.2.6 Disperzní medium

Použití optického hranolu pro disperzi světla skýtá nevýhody v možné chromatické vadě, nelineárním vztahu úhlu disperse na vlnové délce, a malém rozpětí dispersních úhlů. Z těchto důvodů jsme se již na počátku projektu přiklonili k používání optické mřížky, která je pro moderní spektrometry standardem a umožňuje díky vysokému disperznímu úhlu kompaktnější konstrukce. Na druhou stranu má mřížka nevýhodu vytváření dalších řádů rozloženého světla, které se mohou s 1. řádem v případě oktávových frekvencí překrývat.

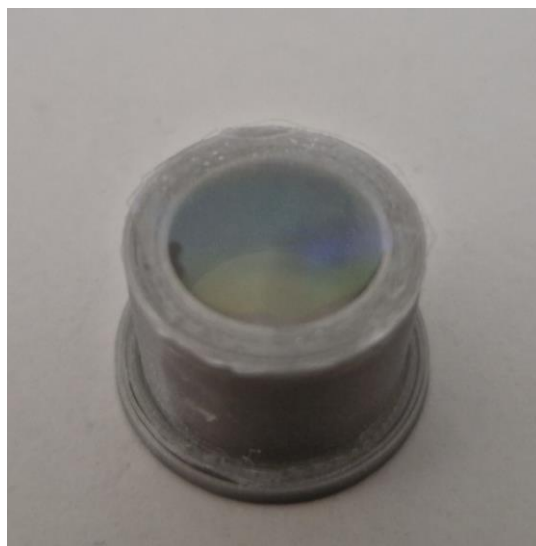
Z difrakční rovnice (viz 1.2.2, vzorec 8) je patrné, že stěžejním parametrem mřížky je vzdálenost mezi štrbinami, resp. hustota na mm (G), která bude ovlivňovat úhly difrakce. Nami používané mřížky se pohybují mezi 500 mm^{-1} a 1000 mm^{-1} , přičemž nejčastěji užíváme právě 1000.

Z důvodu nižších cenových nákladů jsme se rozhodli užívat plastové transmisní mřížky. Pro vývoj přesnějších zařízení bude nutné i využití skleněných mřížek, jelikož plastové folie jsou náchylné na prohnutí a mají velmi nízkou propustnost v blízké UV oblasti.



Obr. 3.19 – Zakoupená transmisní difrakční mřížka s hustotou $G = 1000$ čar na mm

V geometrii je mřížka umístěna před fokusační optikou na kroužku, který umožňuje rotaci pro zarovnání vrypů do roviny. Současně stojan umožňuje mírný pohyb v optické ose pro zarovnání šíře spektra na šíři senzoru. Manipulace s mřížkou potřebná pro její připevnění ke stojanu vyžaduje práci s rukavicemi, jelikož folie je velmi náchylná na otisky prstů, nečistoty, a škrábance.



Obr. 3.20 – Úchyt difrakční mřížky umožňující rotaci

3.2.7 Kolimační optika

Tato čočka slouží ke kolimaci světla vycházejícího ze štěrbinu a je tedy teoretickou spojkou umístěnou ve své ohniskové vzdálenosti od štěrbinu. Rozdíl v ohniskové vzdálenosti kolimační a fokusační čočky může být využit pro zvětšení poměru mezi šířkou štěrbinu a šířkou, na kterou se promítne, tudíž lze zvýšit rozlišení zařízení. Zároveň je třeba zohlednit, že světlo na mřížku vstupuje pod úhlem α a ohnisková vzdálenost kolimační čočky f_c je tedy:

$$f_c = f_F * \frac{\cos \alpha}{\cos \beta_c * M}$$

Vz. 11 (16)

Kdy f_f je ohnisková vzdálenost fokusační čočky, β_c střední úhel difrakce (maximum a minimum difrakce podle difrakční rovnice, viz 2.1.2).

Využití kolimační čočky nebylo v dosud vyvinutých zařízeních třeba, avšak pracujeme s ní jakou součástí vývoje další generace spektrofotometru.

3.2.8 Fokusační optika

Fokusační čočka je též spojkou a je umístěna ve své ohniskové vzdálenosti od detektoru. Na jejím místě je použit objektiv zaostřený na vzdálenost štěrbinu od středu čočky. Pro pokrytí celého senzoru lze vypočítat ohniskovou vzdálenost fokusační čočky f_F následovně:

$$f_F = \frac{d_{\text{šířka senzoru}}}{2 * \sin(\beta_1 - \beta_c)}$$

Vz. 12

Kdy β_1 je úhel difrakce nejmenší vlnové délky λ_1 :

$$\beta_1 = \arcsin\left(\frac{\lambda_1}{\Lambda} * m\right); m = 1$$

Vz. 13

A β_2 je středový úhel mezi krajními úhly difrakce λ_1 a λ_2 :

$$\beta_c = \frac{\beta_1 + \beta_2}{2} = \frac{\arcsin\left(\frac{\lambda_1}{\Lambda} * m\right) + \arcsin\left(\frac{\lambda_2}{\Lambda} * m\right)}{2}$$

Vz. 14

Jako výhodné svou velikostí, ohniskovou vzdáleností a cenou se ukázaly být objektivy se závitem M12, které lze bez dalších modifikací připevnit na PiCameru V2 a vyměnit tak malou čočku PiCamery s $f = 3,04$ mm. Zatím jsme tyto objektivy nepoužili s PiCamerou V3, jelikož jejich instalace vyžaduje nenávratné mechanické odstranění klece s opticky stabilizovanou čočkou.



Obr. 3.21 – Objektiv závitu M12 s ohniskovou vzdáleností 8mm (vlevo) a PiCamera V2 s nasazeným M12 objektivem (vpravo)

Vzhledem ke konkrétním hodnotám a rozsahu možných ohniskových vzdáleností jsou u větších optických sestav místo obyčejných čoček pro kolimaci i fokusaci použity objektivy s nastavitelným ohniskem. Pokud se jedná o objektivy se závitem C, je třeba použít adaptér nebo využít PiCameru HQ, která tento závit má přímo na desce.

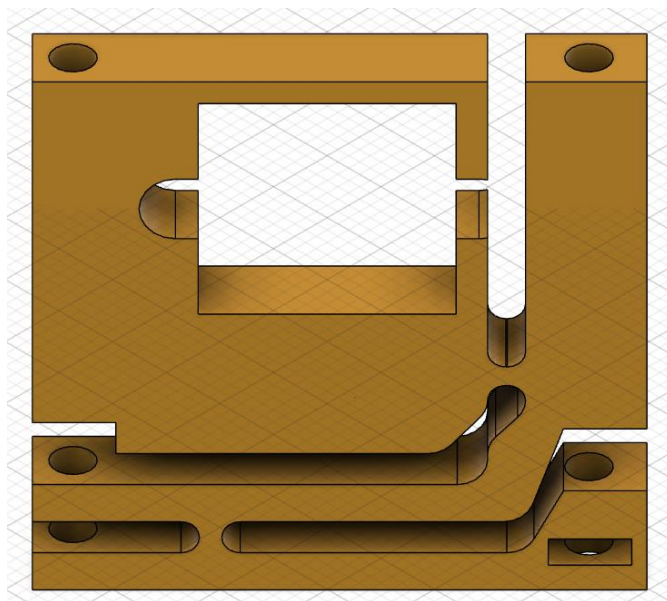


Obr. 3.22 – Větší objektivy závitu C s variabilní ohniskovou vzdáleností

3.2.9 Mechanická konstrukce a odstínění od prostředí

Přes potenciální přesnost nabízenou plně kovovým provedením jsme se rozhodli pro veškerou konstrukci využít technologie 3D tisku (Fused deposition modelling, FDM) v kombinaci s kovovými šrouby a lepidlem pro přesné uchycení. Jako tiskový materiál byl použit PLA (Polylactic acid) nebo PETG (Polyethylene terephthalate glycol). Pro co nejrychlejší prototypování jsou jednotlivé součástky vybaveny otvory pro šrouby na připevnění na podložku, kde mohou být zafixovány lepidlem pro minimalizaci rozladěním.

Úchyty štěrbin a senzoru jsou umístěn na konfigurovatelném stojanu, který díky mechanismu dvou šroubů a plastových pantů umožňuje velmi jemný pohyb součástkou ve dvou osách.



Obr. 3.23 – Mechanismus nastavitelné platformy, otáčením vloženého šroubu proti pružině se zkracuje vzdálenost a úchyt se pohybuje kolem jednoho ze dvou pantů (Autodesk Fusion 360)

Ve vývoji podceňovaným problémem se ukázala být přítomnost parazitního světla procházejícího skrz 3D tištěné stěny krytu. Průsvitnosti však lze předejít volbou tmavších barev filamentu a použitím černicího spreje (vhodnou se ukázala být ochranná hmota proti odlétávajícím kamínkům).

3.2.10 Optický detektor

Detektor na bázi optického senzoru – fotodiody – je umístěn na samém závěru optické dráhy pro snímání intenzity fokusovaného spektra. Z detektoru je třeba syrový signál zpracovat a vizualizovat na počítači.

O rozlišení jakožto o samozřejmém stěžejním parametru je avšak praktičtější uvažovat rozděleně a užívat spíše veličiny šířky jednoho „pixelu“ a celkové šířky snímací oblasti. Kromě těchto hodnot je kvalita spektrofotometru ovlivněna „hloubkou snímání“, tj. světelným rozlišením jedné fotodiody. Je také důležité zohledňovat elektronickou/softwareovou adaptovatelnost a kompatibilitu s dostupnými ovládacími čipy.

Pro detektor se nabízejí dvě vývojové větve – využití kamery či lineárního senzoru.

Tab. 6 – Srovnání kamery a lineárního senzoru

Senzor	Kamera	Lineární senzor
Technologie	CMOS	CCD
Cena	Záleží na kvalitě, 200–3000 Kč	Nižší stovky Kč
Rozlišení	Podobné: 2000–4000 pixelů	
Velikost 1 px	Nižší jednotky μm	Vyšší jednotky μm
Vyčítací rychlost	Až 120 Hz	Teoreticky až několik kHz

3.2.10.1 Kamera

Jako nejsnazší možnost se nabízí využít existujících komerčně velmi široce dostupných optických detektorů – kamer. Vzhledem k vysoké dostupnosti, jednoduché adaptovatelnosti a kvalitě dostačující pro základní měření jsme zvolili pro verze 1 a 2 právě kamery.

Vyjma specifických případů obsahují moderní kamery CMOS čip, který umožňuje o něco pomalejší rychlost snímání a nižší kvalitu obrazu. Do těchto kamer je také téměř vždy integrován procesor přímo na desce, který lze využít pro komplexnější práci se senzorem.

U kamery je nejdůležitějším parametrem rozlišení a velikost čipu. Zjistili jsme, že pro vlastní adaptaci a co nejpřesnější odečítání intenzity je stěžejní, aby kamera po získání obrazu neprováděla další zpracování (např. automatická úprava jasu, vyvážení bílé barvy atp.). Pro přípravu zařízení na experimenty sledující dynamický vývoj spektra (pomalé chemické reakce, biologické experimenty) je třeba také zohlednit snímkovací frekvenci, kterou daná kamera dokáže vyvinout.

Tab. 7 – Parametry užívaných/uvažovaných kamer

Kamera	Webkamera	PiCamera V2	PiCamera V3	Raspi HQ cam	IMX-291
Šířka senzoru [mm]	1,5	3,68	6,45	6,287	5,63
Velikost pixelu [μm]⁵	1,4	1,12	1,4	1,55	2,9
Rozlišení	720	3280	4608	4056	3280
Rychlost snímání [Hz (FPS)]	30	30	120	120	50
Rozhraní	USB	MIPI CSI-2	MIPI CSI-2	MIPI CSI-2	USB

Zdroje: Raspberry Pi Camera Module [26.3.2024]; SparkFun Electronics. (n.d.); [dostupné z <https://cdn.sparkfun.com/datasheets/Dev/RaspberryPi/RPiCamMod2.pdf>]
Raspberry Pi Camera Module v3 Review: A New Angle on Photography [26.3.2024]; Tom's Hardware; [dostupné z <https://www.tomshardware.com/reviews/raspberry-pi-camera-module-v3>]
Raspberry Pi High Quality Camera [26.3.2024]; Raspberry Pi Trading Ltd.; [dostupné z https://static.raspberrypi.org/files/product-briefs/Raspberry_Pi_HQ_Camera_Product_Brief.pdf]
IMX290LQR, IMX291LQR [26.3.2024]; Sony Corporation; [dostupné z <http://j5d2v7d7.stackpathcdn.com/wp-content/uploads/2019/04/IMX291.pdf>]

Uvažované kamery se kromě rozlišení liší ovládacím rozhraním. Zatímco webkamera a kamera IMX umožňují připojení pomocí USB a tedy okamžitý zisk obrazu do jakéhokoliv počítače, kamery PiCamera jsou připojené přes kabel standardu MIPI CSI-2, což vyžaduje užití specifických jednodeskových počítačů (Raspberry Pi, Jetson Nano aj.).

Naprostá většina komerčně dostupných kamer je vybavena filtrem pro zachování pouze člověkem viditelného spektra. Právě kamery Raspberry PiCamera se však dají pořídit i bez filtru blízkého infračerveného spektra v tzv. verzi „NoIR“.

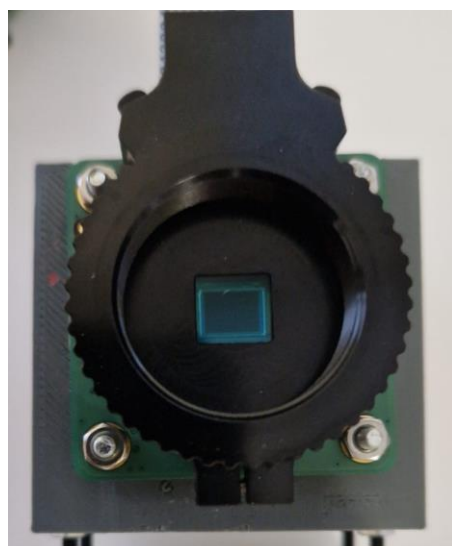
⁵ Šíře 1 pixelu senzoru byla z údajů poskytnutých výrobcem dopočítána vztahem $\frac{\text{horizontální rozměr senzoru}}{\text{počet pixelů}}$



Obr. 3.24 – Raspi PiCamera V2



Obr. 3.25 – PiCamera V3



Obr. 3.26 – PiCamera HQ se senzorem 6,287x4,712 mm

Koupené webkamery také často obsahují objektivy použitelné pro fokusaci spektra, což zjednodušuje konstrukční a pořizovací požadavky základního modelu spektrometru.

3.2.10.2 Lineární senzor

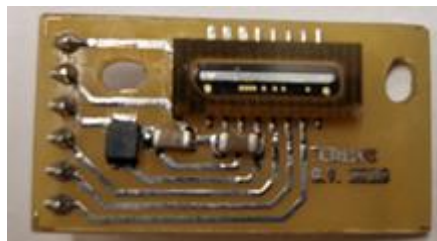
Mnohem větší kontrolu nad chováním a fyzickými parametry umožňuje užití lineárního senzoru. Tyto prakticky jednoúčelová zařízení disponují díky odlišné technologii CCD velikou přesností, vyčítací rychlostí a díky větší velikosti jedné fotodiody i lepší světelnost. V rámci projektu jsme pracovali se senzory TCD1304 a TCD1103 firmy Toshiba, které se liší pouze šířkou snímací plochy a velikostí pixelů.

Tab. 8 – Srovnání parametrů TCD1304 a TCD 1103 (20), (21)

Sensor	TCD1304	TCD1103
Šířka snímací plochy [mm]	29,184	8,250
Počet pixelů	3648	1500
Šířka 1px [μm]	8	6

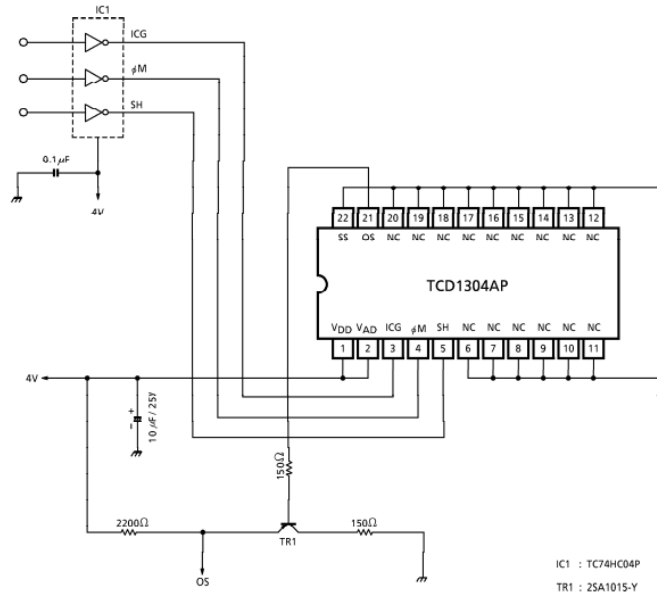


Obr. 3.27 – Lineární senzor Toshiba TCD 1304AP

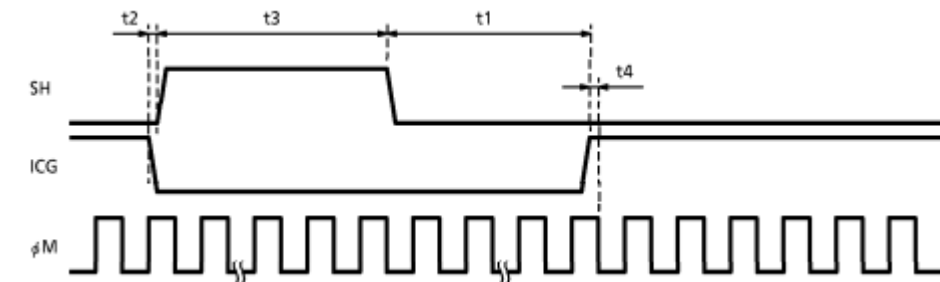


Obr. 3.28 – Zapůjčený senzor TCD1103 s funkčním ovládacím obvodem

Pro využití senzoru bylo však třeba velkého množství vývoje, jelikož pro svou funkčnost vyžaduje velice specifické ovládání pomocí integrovaného obvodu a nastavených hodinových signálů.

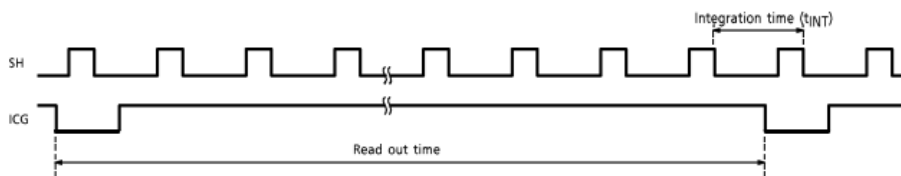


Obr. 3.29 – Zapojení typického ovládacího obvodu pro lineární senzor (20)



Pulse Timing of SH and ICG

- SH cycle = T_{int}

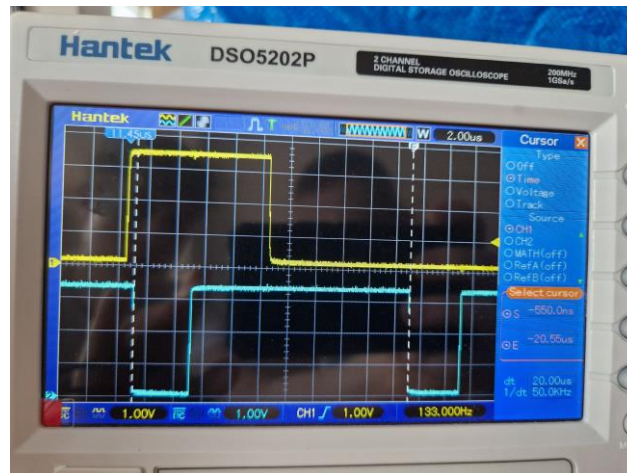


$$t_{INT} (\text{MIN.}) = 10 \mu\text{s}$$

You have always same SH pulse width (t3).

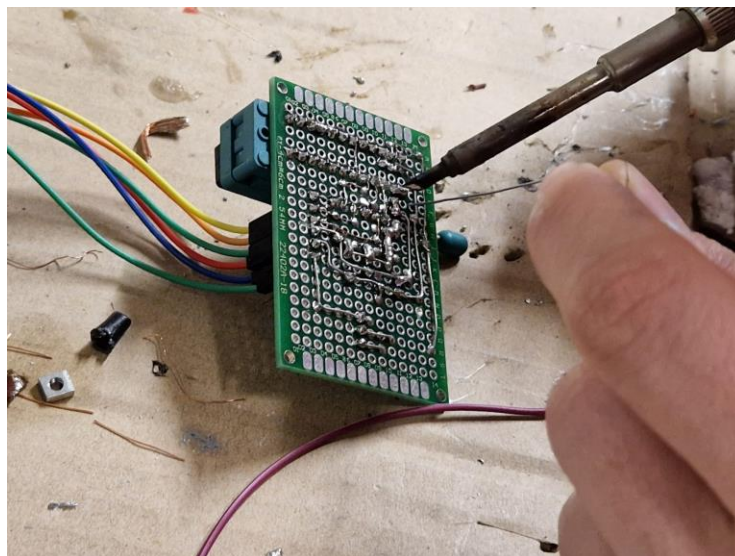
Obr. 3.30 Schéma časování lineárního senzoru (20)

To, jak senzor vybudit jsme zjistili v dokumentaci senzoru (20). Po vybudění senzor postupně nastavuje napěťové úrovně dle množství zachyceného záření na daném pixelu. Pixely jdou za sebou v pořadí fotodiód (je třeba počítat s tím, že několik fotodiód ze začátku a z konce je nefunkčních). Po několika pokusech a laborování s propojovacími kabely jsme dostali výstupní data do počítače. Pro vývoj obvodu pro lineární senzor jsme hojně využívali digitálního osciloskopu.



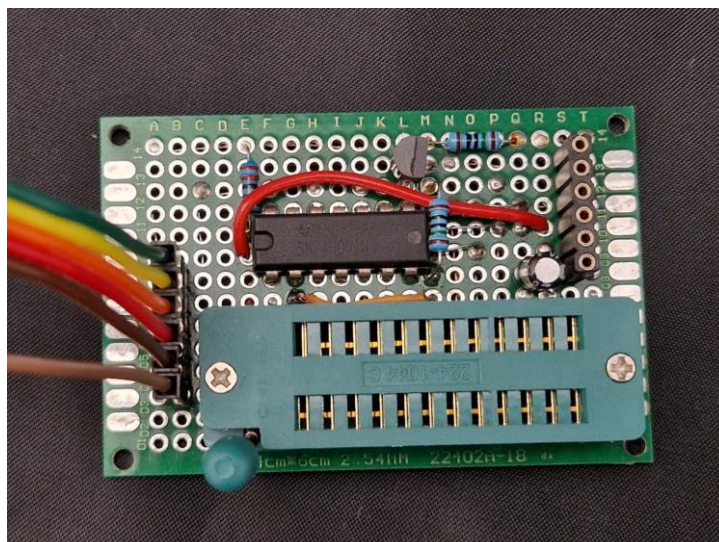
Obr. 3.31 – Časované signály pro ovládání TCD senzoru snímané osciloskopem

Ovládací desku jsme se za účelem rychlejšího prototypování rozhodli sestavit na bázi pájivého pole, v budoucích generacích a sériovější výrobě by byla vyvinuta deska plošných spojů¹. K elektronickému připojení jsme se pokoušeli postavit referenční zapojení, které jsme našli v produktovém listu⁶. Po několika pokusech na nepájivém poli jsme zjistili že příčinou nesprávné funkce obvodu jsou špatné kontakty způsobené užšími nožičkami na senzoru oproti standardu DIP. Z tohoto důvodu jsme spájeli stejné zapojení, a abychom předešli stejnému problému, tak jsme pořídili DIP patici se zajišťovací páčkou, která zajistí spolehlivý kontakt se senzorem.



Obr. 3.32 – Vytváření desky pro ovládání TCD využívaje pájivé pole

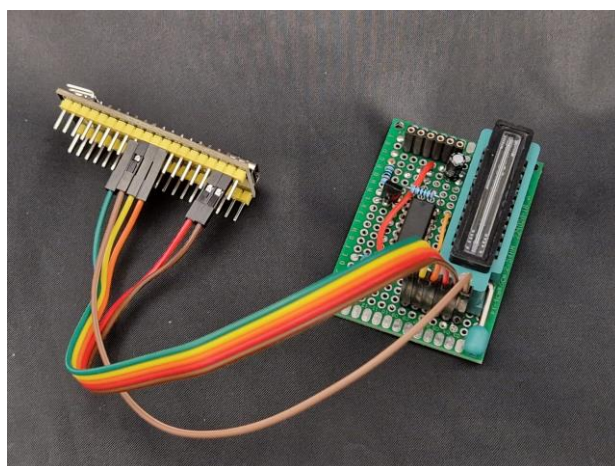
⁶ Doporučený obvod jsme mírně upravili záměnou tranzistoru pro zesílení a impedanční oddělení výstupního signálu za BC327-40, který je velmi podobný tranzistoru doporučeném výrobcem (2SA1015-Y, již se nevyrábí). Obzvláště důležitým parametrem pro zvolení podobného zesilovacího tranzistoru je h_{21e} , který popisuje proudovou vazbu mezi IB a IC.



Obr. 3.33 – Výsledná deska s prostorem pro připojení obou TCD senzorů vč. patice pro uchycení senzoru

Pro vybuzení jsme se rozhodli využít režim s elektronickým shutterem. Pro tuto volbu jsme se rozhodli z důvodu přesnější synchronizace s ADC (Analog–Digital) převodníkem.

K vybuzení senzoru využíváme časovače, který vytváří impulzy o určité frekvenci. Dále je třeba obvod, který vyčte data ze senzoru a pošle je do počítače pro další zpracování. Z těchto důvodů jsme se rozhodli použít mikroprocesor s komunikačním rozhraním USB pro snadné připojení k počítači. Na internetu jsme našli několik návodů, jak senzor ovládat a posílat naměřená data pro další zpracování (22). V návodech jsme viděli poměrně často využití mikroprocesoru od firmy ST Microelectronic, konkrétně STM32F401CC, který disponuje rychlým ADC s kapacitou 1 milion převodů za vteřinu (což je pro nás dostačující) a také dvěma 32bitovými časovači a množstvím 16bitových plně nastavitelných časovačů. Tento konkrétní čip bohužel nebyl na českých/evropských e–shopech dostupný, a tak jsme zvolili cestu adaptace modelu STM32F411CC s velice podobnými vlastnostmi. V našem řešení využíváme 32bitový časovač pro generaci signálu Integration gate (ICG) a Shift gate (SH). Pro generaci hodin pro snímač a vybuzení ADC používáme 16bitové časovače, které pro tento účel plně dostačují.

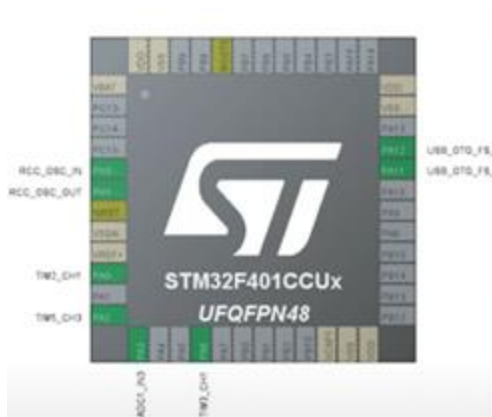


Obr. 3.34 – Zapojení vyvinuté desky s STM32F401CC Blackpill

```

89 SystemClock_Config();
90
91 /* USER CODE BEGIN SysInit */
92
93 /* USER CODE END SysInit */
94
95 /* Initialize all configured peripherals */
96 MX_GPIO_Init();
97 MX_TIM2_Init();
98 MX_TIM3_Init();
99 MX_TIM4_Init();
100 MX_TIM5_Init();
101 MX_USB_DEVICE_Init();
102 /* USER CODE BEGIN 2 */
103 HAL_TIM_PWM_Start(&htim2, TIM_CHANNEL_1); //ICG
104 HAL_TIM_SET_COUNTER(&htim2, 66);
105
106 HAL_TIM_PWM_Start(&htim3, TIM_CHANNEL_1); //FM
107
108 HAL_TIM_PWM_Start(&htim4, TIM_CHANNEL_4); //ADC
109
110 HAL_TIM_PWM_Start(&htim5, TIM_CHANNEL_3); //SH
111
112
113
114 /* USER CODE END 2 */

```



Obr. 3.35 Část kódu nastavujícího časování a schéma výstupů čipu STM32 (STM32CubeIDE)

3.2.11 Software

Nejsnáze analyzovatelným výstupem spektrometru je dvoudimenzionální graf intenzit při různých vlnových délkách. Software v reálném čase vyhodnocuje obraz, umožňuje kalibraci, ukládání naměřených dat, a další analýzu.

Spektrometr vystupuje jako připojená periferie komunikující přes USB nebo WiFi. Vzhledem k potřebě vyvinout vlastní ovládací hardware se komunikace lineárního senzoru od klasické kamery značně liší. Veškerý zobrazovací software byl psán v jazyce Python vzhledem k rychlému prototypování a množství knihoven umožňujících snadné získání (viz níže), analýzu a vizualizaci dat.

Zpracování výstupu z kamery

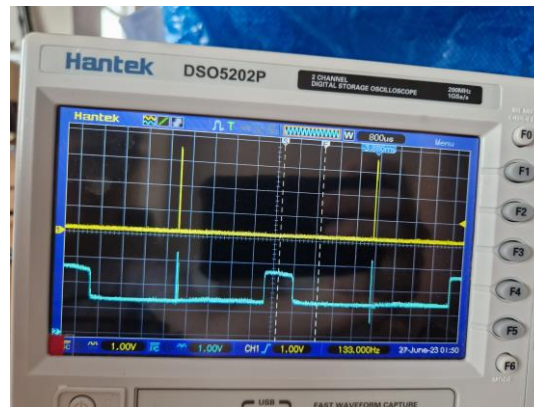
U jednodušších verzí využívajících kameru stačí využít systémových knihoven k získání syrových obrazových dat – v tomto případě pomocí knihovny OpenCV (23). Následně jsou data získána zprůměrováním RGB hodnot pixelů ze tří řad senzoru kamery. Vzhledem k malé šířce pásu, na který se promítá rozložené spektrum lze polohu těchto řad v rámci softwarového rozhraní měnit.

V případě spektrofotometru V2 je zařízení ovládáno jednodeskovým linuxovým počítačem Raspberry Pi Zero, který snímá data z kamery a komunikuje s počítačem uživatele přes síť 802.11 (WiFi). Ze strany Raspberry je pravidelně odesílán obraz kamery, který je v počítači převeden na monochromatická jednodimenzionální data, posunut a přeškálován podle kalibračních hodnot, a zobrazen v uživatelském rozhraní. Raspberry naopak od ovládacího softwaru přijímá informace o nastavení PiCamery – jejího času expozice, hodnoty ISO, zaostření, vyvážení bílé barvy a dalších korekcí, které čip kamery vykonává.

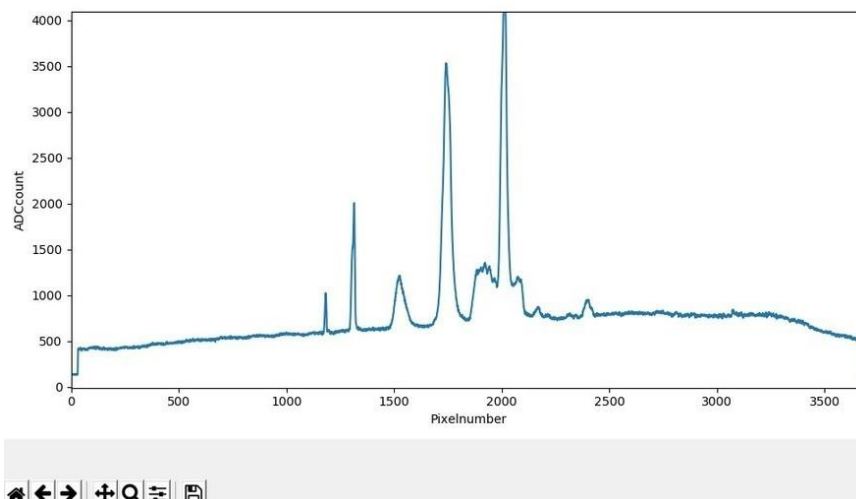
Zpracování výstupu z lineárního senzoru

Naprogramované STM32 posílá po USB sériové lince data ze senzoru ve formě bytových párů (ADC je 12bitový, maximální hodnota je tudíž 4095), která počítač přijme a převede bitovým posunem do jednodimenzionálního pole.

Během vývoje programu na zpracovávání dat jsme došli k závěru, že v proudu dat, která jdou do počítače, je zapotřebí odeslaná značící hodnota, která označí počátek každého vyčítání ze senzoru. Po implementaci tohoto vylepšení se nám výrazně zjednodušila a zpřesnila interpretace dat.



Obr. 3.36 – Syrový analogový výstup ovládacího obvodu (zapojení bez optiky, senzor testován pouze vystavením stínu, který je vidět uprostřed), viditelné jsou peaky signalizující začátek a konec měřícího cyklu



Obr. 3.37 – Testovací vizualizace spektra v SW pro lineární senzor využívající knihovnu Matplotlib, osa x: pixel senzoru, osa y: analogová intenzita převedená 12bitovým ADC převodníkem (0–4095)

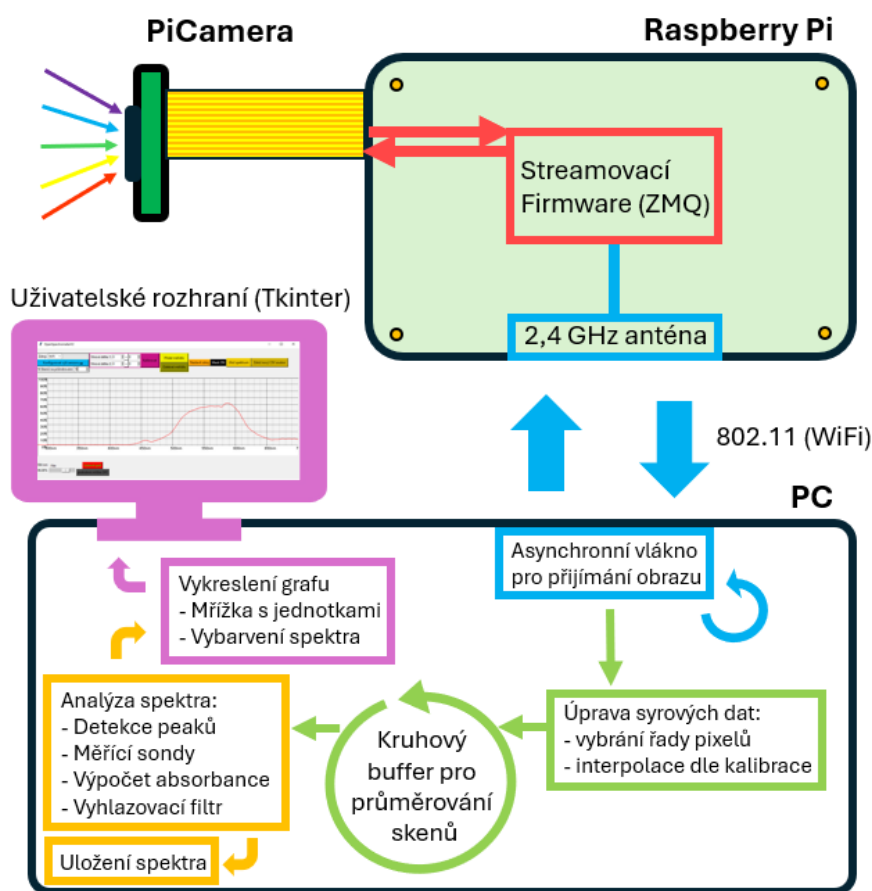
Software pro plotování dat lineárního senzoru byl vytvořen samostatně, avšak jeho princip byl inspirován existujícím projektem pyCCDGUI (24).

3.2.11.1 Uživatelské rozhraní

Prostředí pro samotnou práci se všemi vyvinutými zařízeními je vytvořeno v jazyce Python na bázi knihoven OpenCV (23) a TKinter (25). Prostředí bylo vytvořeno v inspiraci dostupných softwarových rozhraní komerčních spektrometrů, jako je SpectraSuite od Ocean Optics (26) nebo Spectrometry od Pasco (27) a umožňuje mnoho z jejich funkcí pro získání, analýzu, vizualizaci a ukládání spektrálních dat. Prostředí je tvořeno s ohledem na uživatelskou přístupnost a jeho jednotlivé ovládací prvky jsou jasně označeny a barevně odlišeny, se spektrem samotným figurujícím uprostřed na velké části plochy okna aplikace (viz Obr.3.40).

Panel senzoru v levé horní části okna umožňuje nastavit zdroj spektra, fyzicky připojenou kameru spektrofotometru V0 nebo V1, či bezdrátově připojený spektrofotometr V2. Dále lze nakonfigurovat parametry senzoru jako je čas expozice, ISO atp., a konfigurovat polohu spektra na ploše senzoru. Pro tuto funkci je k dispozici i náhled obrazu ze senzoru. Je zde možné určit i počet skenů, které má software průměrovat do zohledňovaných dat. Tato funkce při vyšších hodnotách N skenů efektivně neguje chybu v signálu pro dosažení velmi přesných hodnot intenzity i absorpance.

Panel kalibrace umožňuje změnit v případě potřeby kalibraci senzoru, a to nastavením polohy světelných peaků na rozměru senzoru, a jejich skutečnou vlnovou délkou. Software pak pomocí těchto 4 čísel spektrum po přijetí ze senzoru upravuje lineárně upravuje pro dosažení pravých hodnot.



Obr. 3.38 - Schéma mechanismu softwaru (spektrofotometr V2)

Další sada nástrojů slouží k analýze spektra. Kromě toho, že v levém dolním rohu je pod grafem zobrazena živá pozice kurzoru myši, je možné přidat stisknutím tlačítka neomezené množství měřidel – sond, které ukazují intenzitu spektra na konkrétní vlnové délce. Tlačítkem „Nastavit zdroj“ se uloží aktuální spektrum do mezipaměti jako referenční hodnota (blank) pro následnou transmisní komparaci. Do držáku kyvety se vloží kyveta s destilovanou vodou, nastaví se blank, kyveta se vymění za zkoumaný vzorek, a spustí se maska. Tato funkce přepne spektrum do

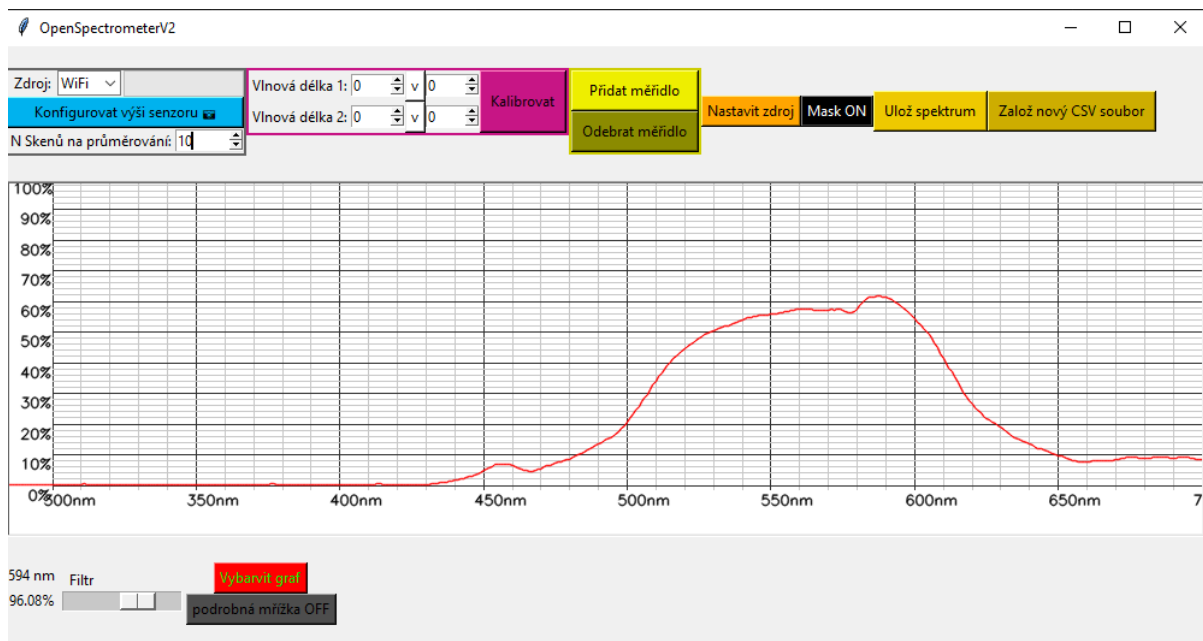
módu absorbance, kdy se do grafu plotuje hodnota vypočítaná z poměru spektra blanku a spektra vzorku dle vztahu (viz 1.2.1):

$$A = -\log (I/I_0)$$

Vz. 4

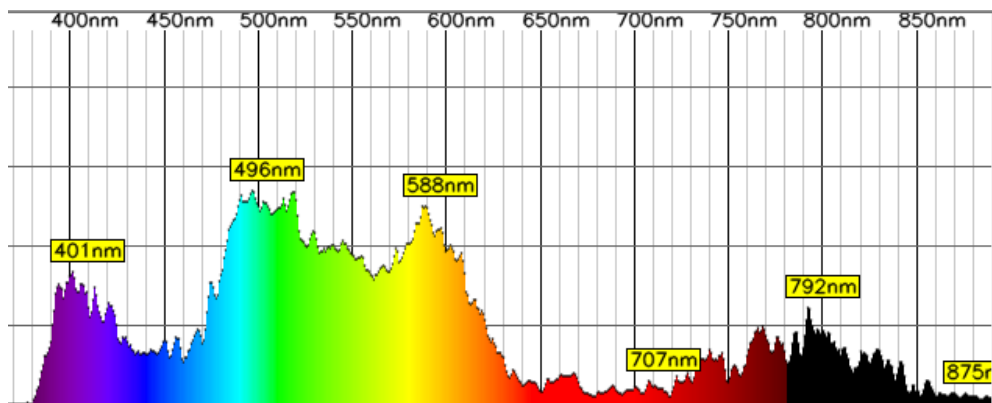
Rozhraní v horní pravé části aplikace umožňuje načtení a uložení dat spektra. Pro uložení je třeba vybrat nebo vytvořit soubor ve formátu CSV (Comma–Separated–Values), zadat název měření a právě zobrazovaná data jsou uložena v podobě číselných hodnot označených odpovídající vlnovou délkou. Současně se ukládá snímek zobrazeného grafu ve formátu JPG. Tyto snímky grafu, stejně jako záběry z náhledu obrazu kamery, jsou využity dále v práci pro ilustraci jednotlivých spekter.

Ve spodní části je pak sada nástrojů pro upravení vzhledu grafu, od možnosti filtru pro vyhlazení spektra⁷, vybarvení grafu podle barev viditelného spektra, úprava hustoty referenční mřížky za grafem. Také je k dispozici nástroj automatické detekce peaků spektra a jejich označení s náležitou hodnotou vlnové délky. V grafu je také možné se pohybovat a přibližovat jednotlivé části spektra.

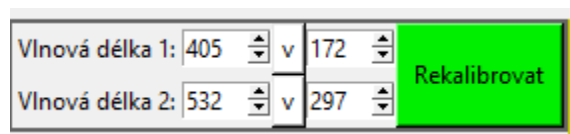


Obr. 3.39 – Uživatelské rozhraní vyvinutého softwaru

⁷ Využit byl filtr savgol polyorder ze sady SciPy, který sérii dat aproximuje jako polynomiální funkci určitého řádu.



Obr. 3.40 – Zobrazený graf spektra s vybarvením vlnových délek a detekovanými peaky



Obr. 3.41 – Panel kalibrace spektra s kalibračními hodnotami pro ultrafialový a zelený laser

Softwarové rozhraní je inspirováno projektem PySpectrometer (28).

3.3 Výsledky vývoje verzí spektrofotometru

Podle požadovaných cílových parametrů pro jednotlivé aplikace byly pro jednotlivé verze vybrány odpovídající typy optických senzorů a k nim nakonfigurována optická část. Jelikož se jedná o jeden z hlavních rozdílů, jsou podle užitých senzorů jednotlivé verze pojmenovány.

3.3.1 V0 – Webkamera

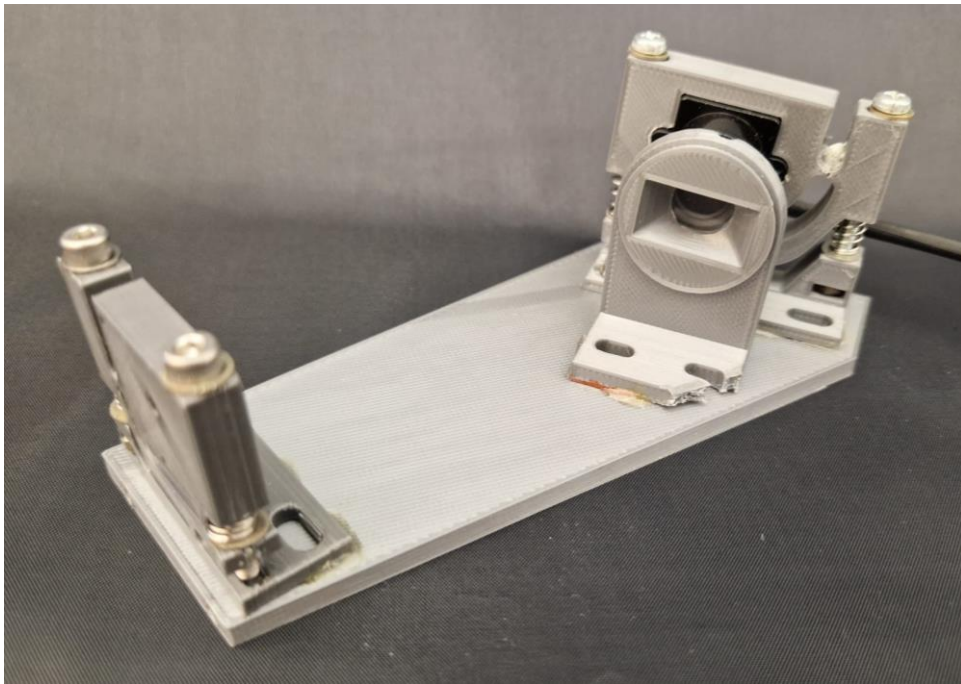
Základem celé série verzí spektrometrů byl původní jednoduchý model na bázi webkamery vytvořený dr. Votavou v rámci projektu Otevřená věda. Sloužil jako inspirace z hlediska konstrukční filosofie a technologický základ pro vývoj – inkrementální inovace dílčích částí – až do fáze kompletního redesignu konstrukce po dostatečném pochopení základních principů. Proto je tento spektrometr uváděn jako první verze.

V rámci zachování co nejnižší ceny byla první verze spektrometru vyvinuta na bázi velmi levné webkamery o rozlišení 720px a rozsahu vlnových délek ve 350 – 700nm (VIS). Jako fokusační optika byl použit objektiv M12 a celá sestava senzoru, mřížky a štěrbin na polohovatelných stojanech byla napevno zafixována vteřinovým lepidlem.

Jakožto proof-of-concept verze se toto zařízení osvědčilo dobrými výsledky i přes svou jednoduchou konstrukci a v něm použité koncepty sloužily jako základ dalšího vývoje.



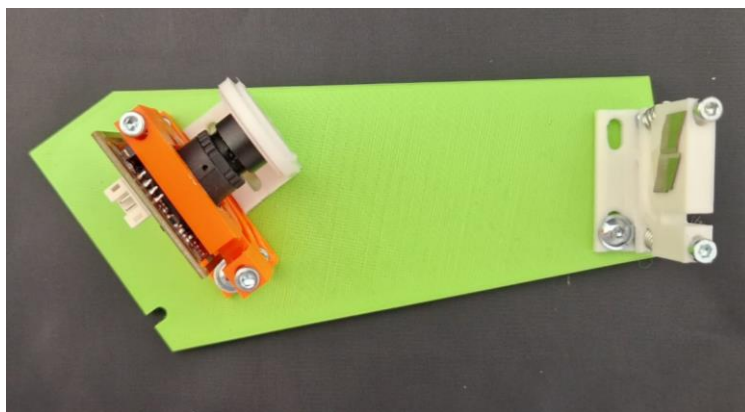
Obr. 3.42 – USB kamera využitá v spektrometru V0



Obr. 3.43 – Spektrometr V0 (Webkamera)

3.3.2 V1 – IMX290

První zařízení vyvíjené čistě pro účely této práce je spektrofotometr Verze 1, který využívá místo webkamery konkrétní senzor IMX290. Tato kamera kromě vyššího pixelového rozlišení nabízí i vyšší jasový rozsah a rozlišení díky technologii WDR (Wide Dynamic Range). Současně jsou její pixely největší ze srovnávaných kamer (viz 3.10.1, tab. 6) a umožňují tak vyšší světelnost.

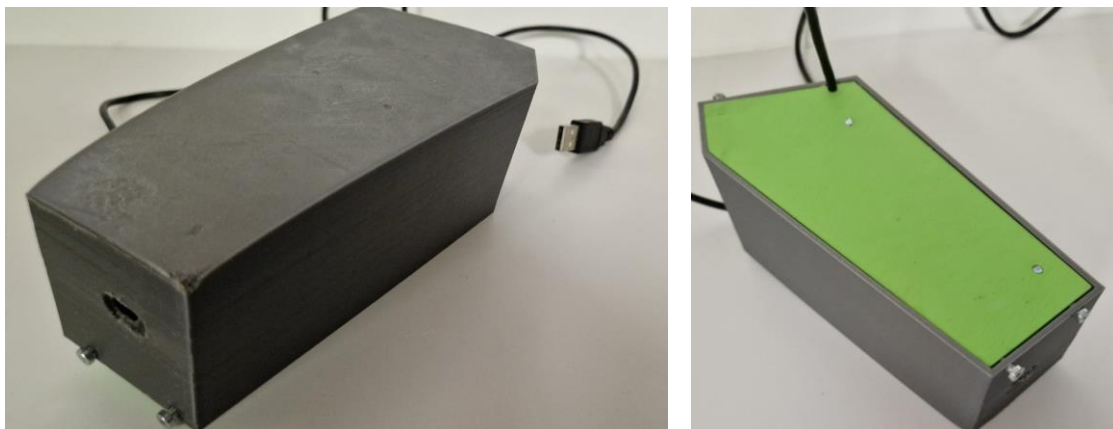


Obr. 3.44 – Vnitřní soustava spektrofotometru V1

3.3.2.1 Konstrukce

Geometrie této koncepce se odrážela od návrhu spektrofotometru V0. Pro kameru byl vytvořen odpovídající stojan, stejně jako držáky štěrbininy a difrakční mřížky umístěných ve stejné výšce optické osy. Z hlediska optiky byl využit objektiv M12 o ohniskové vzdálenosti 3,6 mm. Všechny součástky byly k podložce připevněny šrouby.

Výsledný spektrometr i s obalem je tvarově stejný jako V0, avšak kvůli větším součástkám bylo nutné jej zvětšit na celkovou velikost 200x70 mm. Pouzdro je ke dnu přichycené šrouby ve své spodní části a obsahuje otvor pro uchycení větších optických kabelů.



Obr. 3.45 – Obal spektrofotometru V1

Během vývoje jsme se setkali s problémem významného množství světla pronikajícího plastovým krytem spektrometru o tloušťce 5 mm. Tento jas pozadí procházel vrstvou šedivého PLA a na spektru způsoboval nerovnoměrně zvýšenou intenzitu závislou na úrovni světla vně zařízení. Rušení prostředí jsme vyřešili krytem z kartonu vyrobeným na míru velikosti původního pouzdra. Do dalších modelů byla pro minimalizaci parazitního záření implementována vyšší tloušťka stěny a hustota jejich výplně (infill).



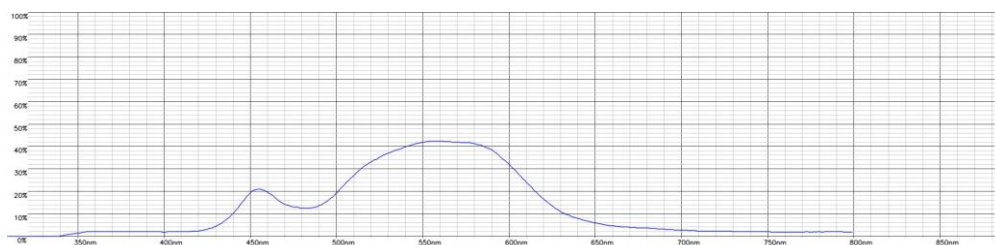
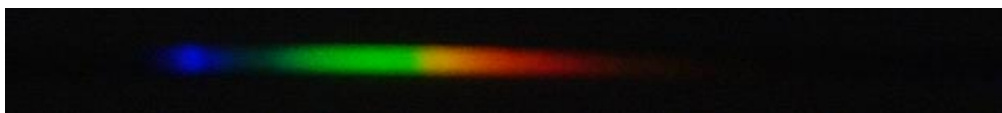
Obr. 3.46 – Kartonový světelný kryt

3.3.2.2 Testování



Obr. 3.47 – Měřicí aparatura pro testování spektrofotometru V1 využívající zapůjčené součástky Oceanoptics

Po přesném manuálním zarovnání geometrie a zapojení kamery, vláken a zdroje bylo možné vidět na senzoru obraz spektra bílé LED diody. Již z tohoto obrazu je možné charakterizovat, že světlo bylo i po zaostření na senzoru mírně rozprostřeno a nebylo tak možné používat plné horizontální rozlišení kamery.



Obr. 3.48 – Spektrum referenčního zdroje – bílé LED diody

Kalibrace: ověřena prostřednictvím dvou laserů o vlnové délce 405 a 532 nm.

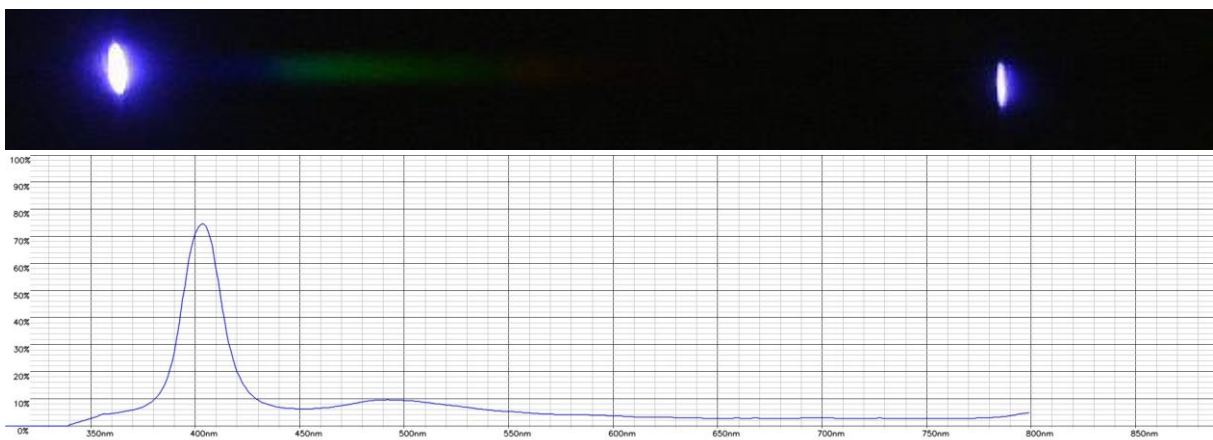
Provedená charakterizační měření:

1. měření vlnových délek laserů a spektrum zdroje

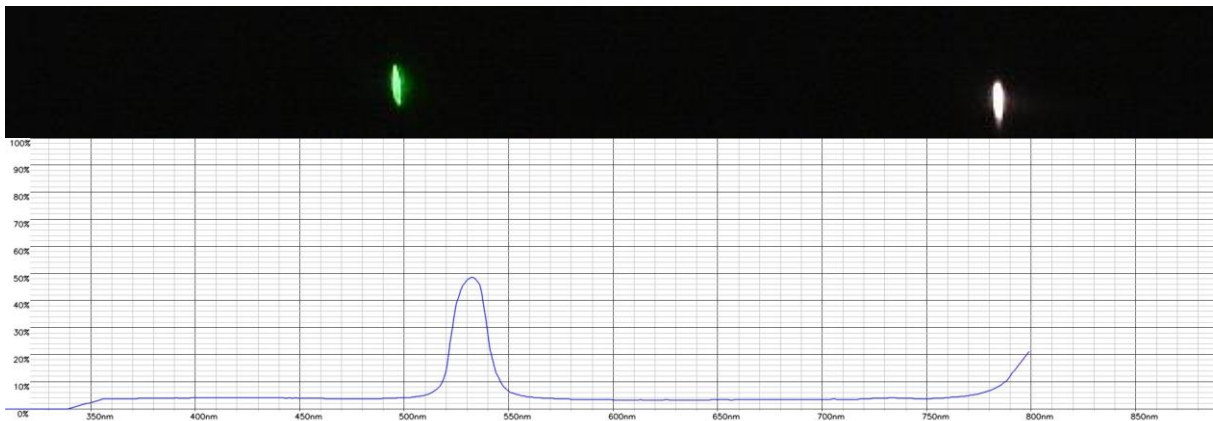
2. konstrukce kalibrační křivky ke kvantitativní analýze

Výsledky testování:

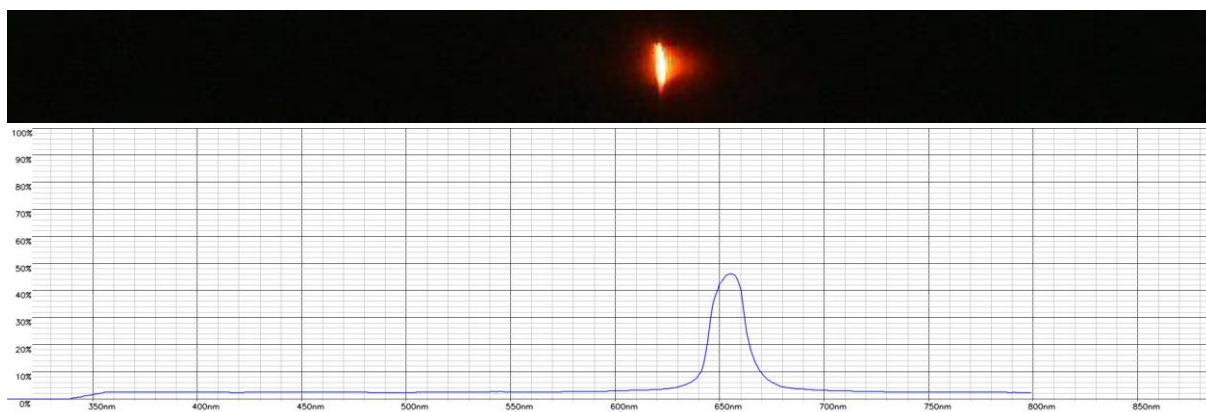
Měření vlnových délek laserů probíhalo bez žádných znatelných komplikací. Každá naměřená vlnová délka laseru korespondovala s jeho předem ověřenou vlnovou délkou, avšak peaky se jevily jako velice široké. Důvod takto širokých spektra byl zabudován v softwaru tím, že aplikoval na spektrum filtr a průměroval více naměřených spekter. Lasery bylo současně třeba umisťovat tak, aby jejich paprsek nedopadal na senzor plnou silou. Díky jejich vysoké intenzitě je totiž při přímém vystavení překonána horní hranice maximálního jasu detekovatelného senzorem a na spektru se vytvoří širší oblast maximálního jasu. Toto silné záření může také v průběhu času senzor poškodit.



Obr. 3.49 – spektrum laseru 405 nm (před softwarovou korekcí)

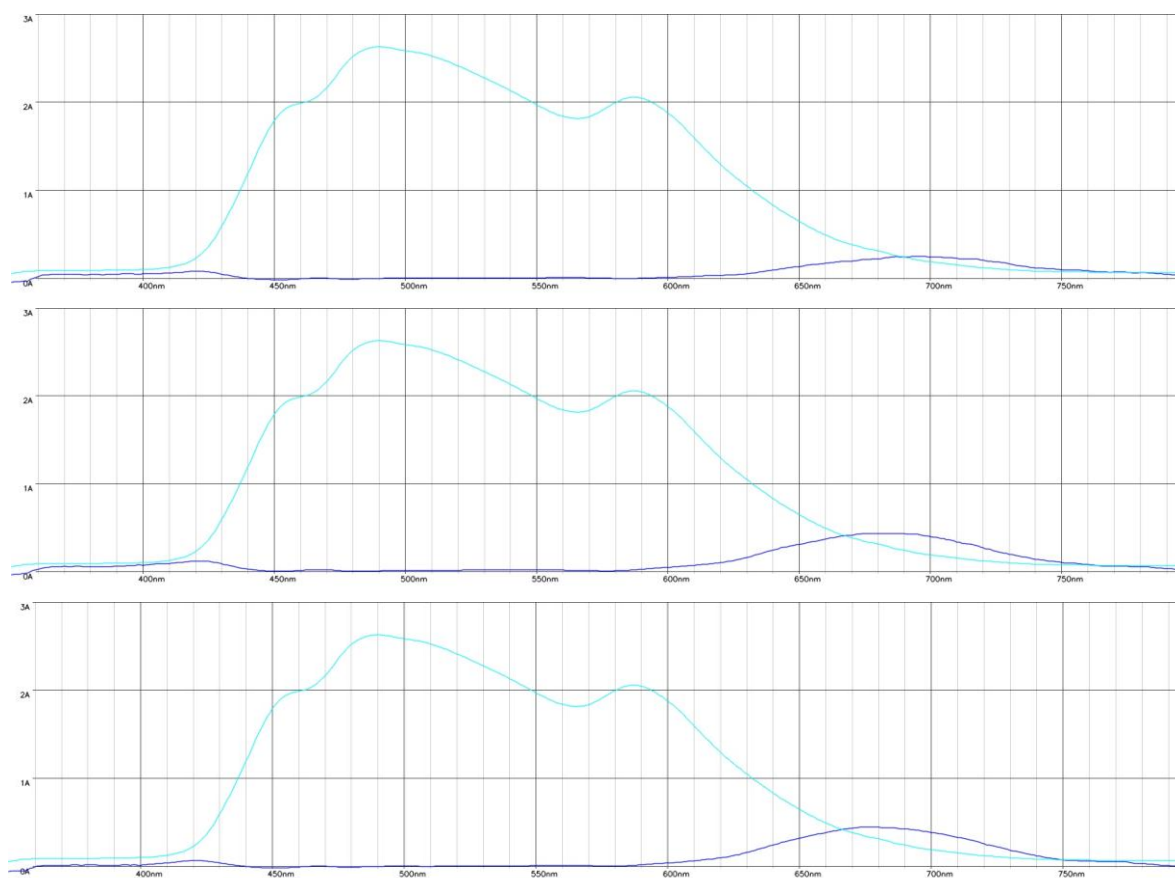


Obr. 3.50 – spektrum laseru 532 nm (před softwarovou korekcí)

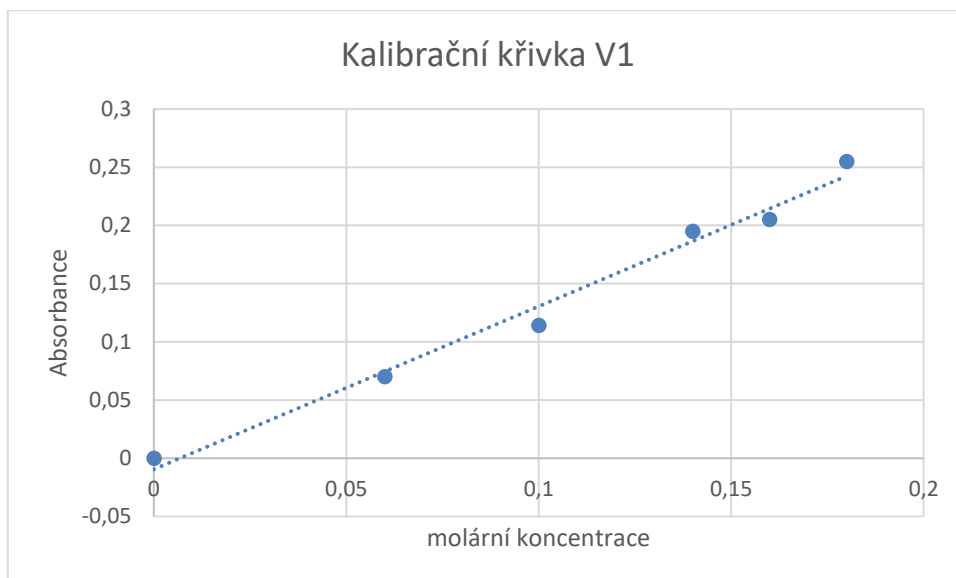


Obr. 3.51 – spektrum laseru 655 nm (před softwarovou korekcí)

Konstrukce kalibrační křivky ke kvantitativní analýze proběhlo měřením absorbance u 5 roztoků modré skalice o různé koncentraci. Absorbance byla měřena na vlnové délce 635 nanometrů (viz 2.2). Z naměřených hodnot a známých koncentrací jsme vytvořili kalibrační křivku (viz obr. 3.53). Ta vyšla relativně lineárně, takže jsme shledali spektrometr V1 vhodným k jednoduchým měřením neznámé koncentrace. Při měření absorpčních spekter bylo žádoucí hodnotu počtu naměřených spekter k průměrování, aby bylo měření co nejrelevantnější. Během měření bylo možné určit hodnotu s jistotou na 0,005 jednotek absorbance, pod tuto úroveň již byla na senzoru příliš vysoká fluktuace ruchu.



Obr. 3.52 – Absorpční spektra modré skalice (tmavě modře) o koncentracích 0,06; 0,14 a 0,16 mol/l (sestupně) a referenční spektrum (světle modře)



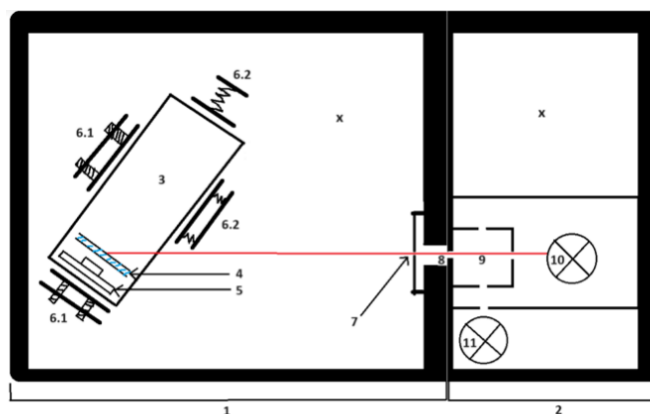
Obr. 3.53 – Kalibrační křivka naměřených roztoků.

3.3.3 V2 – PiCamera

Tento systém byl od začátku svého vývoje koncipován jako co nejmodulárnější a umožňující co nejvíce dalších funkcí, jako je bezdrátové připojení, připojení vlastních zdrojů a možnost experimentů s emisním zářením vzorku.

Základem zařízení je Raspberry Pi Zero 2 W a k němu připojená PiCamera V3. Tato kamera umožňuje plnou softwarovou kontrolu nad obrazem, tedy nastavení expozice a postprocesingu.

3.3.3.1 Konstrukce

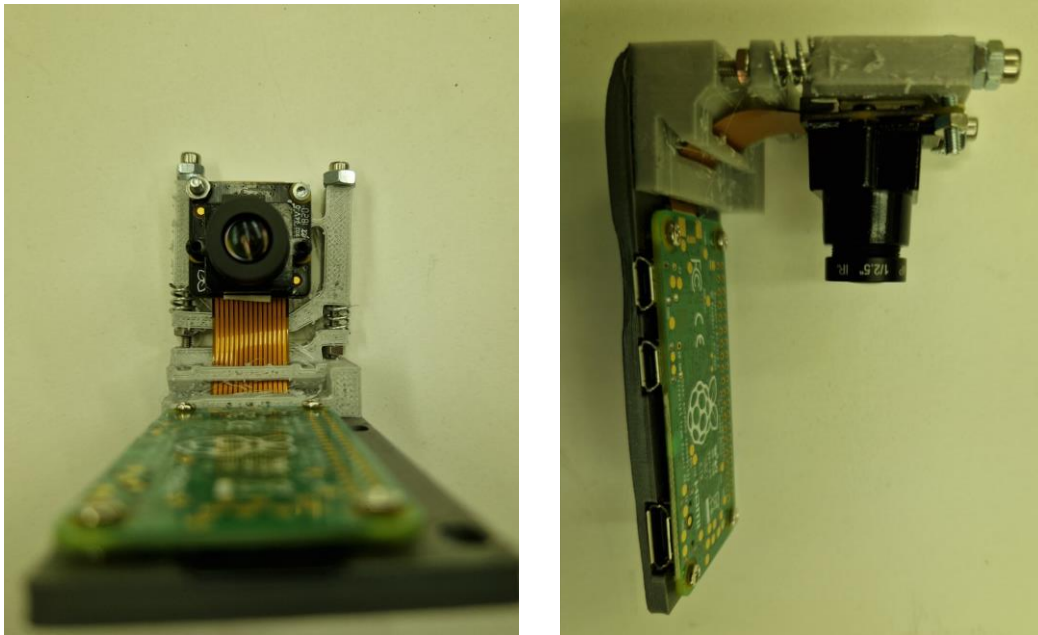


Obr. 3.54 – Geometrické schéma modulárního spektrofotometru V2

- | | |
|---|--|
| 1. obal na optiku | 7. štěrbinu |
| 2. obal na zdroje světla a kyvetu (odstranitelné) | 8. otvor pro průchod světla a dostatečně velký na optické vlákno |
| 3. Raspberry Pi na posunovatelné platformě | 9. kyvetník |
| 4. disperzní prvek (transmisní difrakční mřížka) | 10. zdroj VIS |
| 5. PiCamera | 11. zdroj UV |
| 6. .1 posuvné šrouby | X. prostor pro modifikace (baterie, kolimační prvky) |
| .2 pružiny tlačící proti posuvné platformě | |

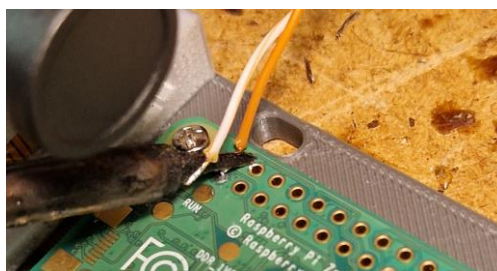
Během vývoje byla původně využívána PiCamera V2 s připojeným objektivem M12 o ohniskové vzdálenosti 8 mm. Pro využití v zařízení se však nakonec ukázala jako vhodnější verze PiCamery V3, jejíž elektronika umožňuje kromě kontroly nad obrazem zmíněné výše i softwarové ostření obrazu. Jako objektiv této kamery slouží čočka o ohniskové vzdálenosti 4,74 mm.

Raspberry, kamera i difrakční mřížka jsou umístěny na jednom stojanu umožňujícím jejich vzájemný pohyb. Tento stojan je pak v konstrukci uchycen na polohovatelné platformě pro přesné zaměření celé soustavy.



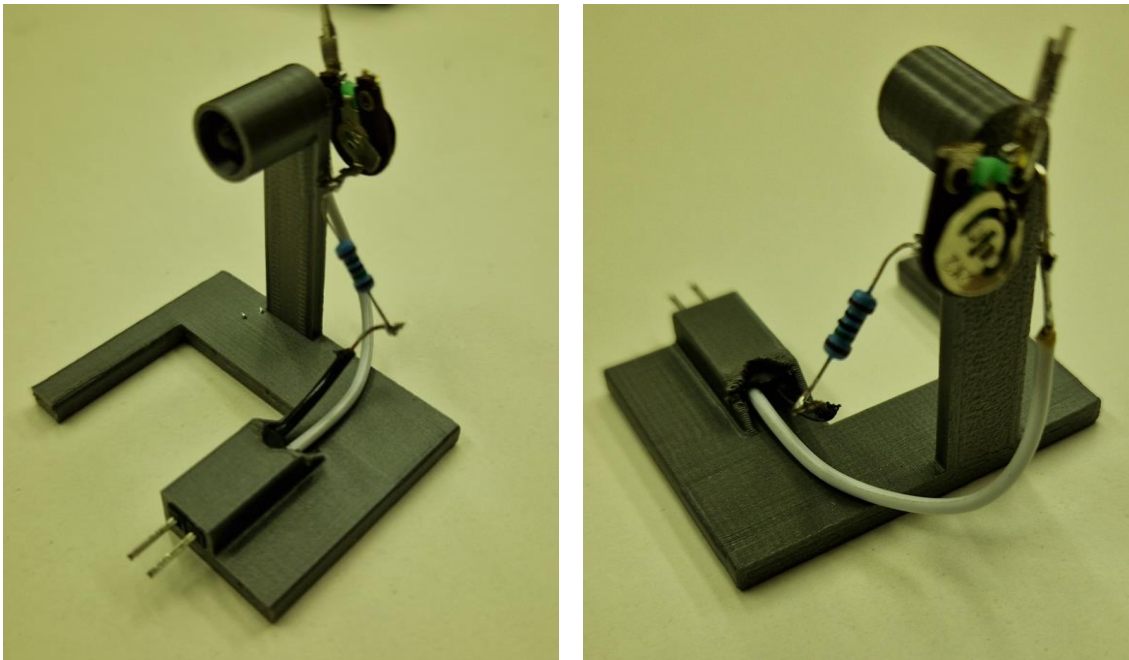
Obr. 3.55 – Stojan na PiCameru a Raspberry Pi, zapojená je PiCamera V2

Raspberry Zero a zbytek přístroje je napájen z baterie. K tomuto účelu jsme zvolili běžně dostupnou kompaktní powerbanku pro mobilní telefony poskytující napětí 5V. Na základě našeho měření se spotřeba Raspberry Zero pohybuje při běžné operaci kamery a 2,4GHz antény pro síť WiFi mezi 0,2 a 0,4 A. Při běžné kapacitě spotřebitelských powerbanek v řádu jednotek až desítek Ah můžeme odhadnout dobu, kterou spektrometr průměrně vydrží na jedno nabití spuštěný, na řádově desítky hodin. Pro vnější fyzické ovládání spektrometru bylo na víko umístěno tlačítko pro spuštění a vypnutí spolu s 3,3V LED diodou indikující, zda zařízení právě běží.



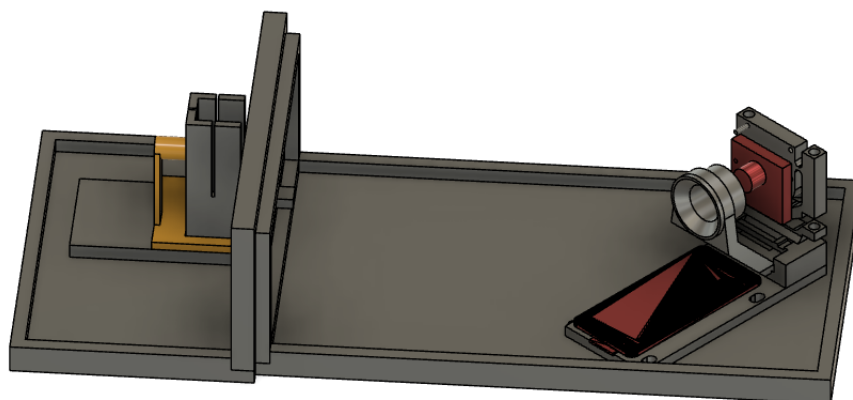
Obr. 3.56 – Dráty připojené na GPIO piny Raspberry Zero pro ovládací prvek na horní straně krabičky

Pro připojení modulárních zdrojů byl vyveden do stěny hlavní části spektrometru konektor poskytující 5V napětí. Jako první zdroj pro transmisní analýzu vzorků jsme vyvinuli modul na bázi bílé LED diody s potenciometrem nastavujícím napětí, respektive jas světla.

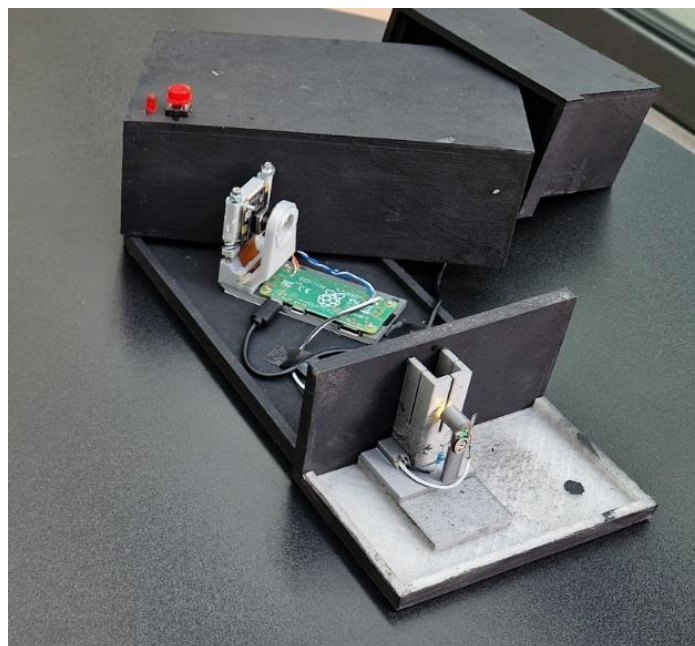


Obr. 3.57 – Příklad vyvinutého modulárního zdroje kompatibilního se spektrofotometrem V2

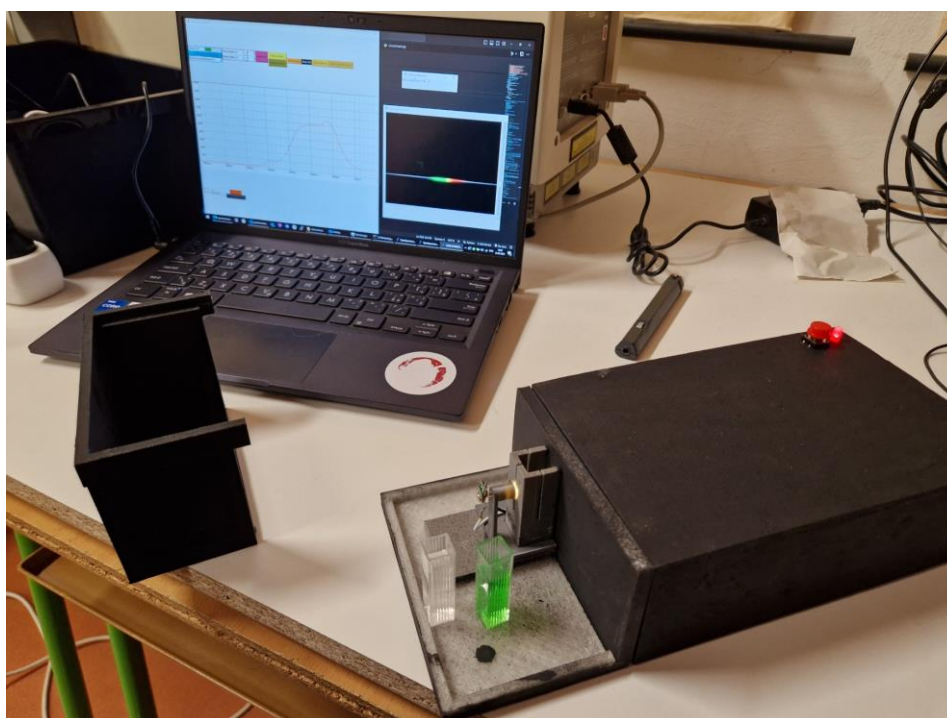
Kryt koncepce V2 byl účelně naddimenzován pro možnost přidání dalších modulů, zejména elektroniky a zdrojů světla. Obal se skládá ze dvou oddělitelných částí pro možnost charakterizace samotného záření nebo měření vzorků s modulárními zdroji. Pro odstínění vnějšího světla se podařilo nalézt velmi efektivní řešení ve formě černého spreje původně určeného jako postřik na vozidla proti odlétajícím kamínkům. Pomocí tohoto postřiku bylo možné vytvořit tmavou světelně prakticky nepropustnou vrstvu. Světelné izolaci také napomáhá skutečnost, že veškerá elektronika včetně baterie je umístěna uvnitř nepropustné konstrukce, data jsou přenášena místo kabelu bezdrátově a jediný otvor dovnitř tvoří štěrbinu.



Obr. 3.58 – Konstrukce vyvinutého spektrofotometru V2, žlutě zdroj, červeně Raspberry Pi a PiCamera (Autodesk Fusion 360)



Obr. 3.59 – Výsledný spektrofotometr V2 s odkrytým víkem



Obr. 3.60 – Měřicí soustava se spektrofotometrem V3

3.3.3.2 Testování

Kvalita spektra na ploše senzoru dosahovala během testování velmi vysoké kvality. Tato přesnost byla ještě navýšena úpravou parametrů expozice senzoru kamery.



Obr. 3.61 – Spektrum referenčního zdroje – bílé LED diody

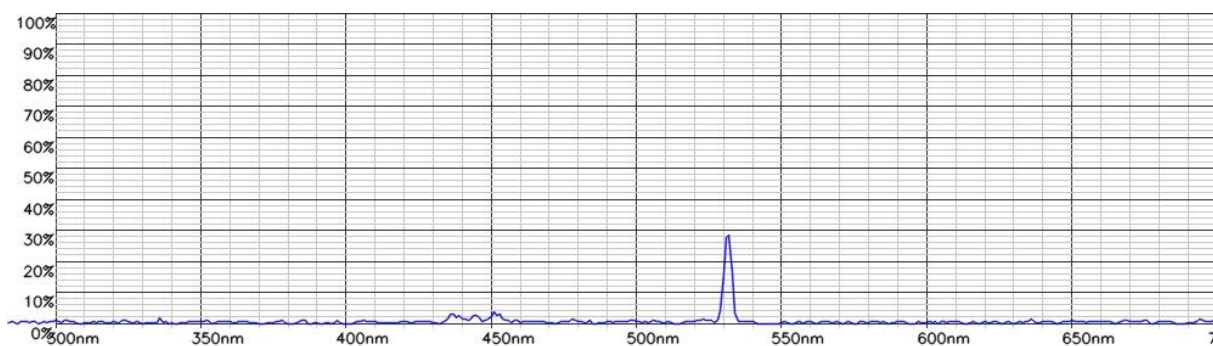
Kalibrace: ověřena prostřednictvím dvou laserů o vlnové délce 405 a 532 nm

Provedená měření:

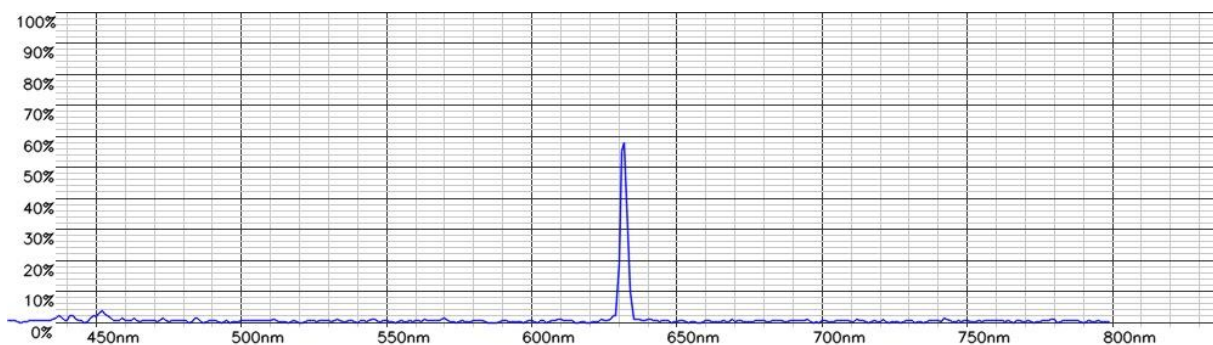
1. měření vlnových délek laserů
2. kvalitativní stanovení potravinářských barviv v alkoholickém nápoji
3. konstrukce kalibrační křivky ke kvantitativní analýze

Výsledky testů:

Měření vlnových délek laserů bylo oproti předchozí verzi mírně přesnější. Spektra intenzity záření jednotlivých laserů vyšla relativně úzká s šířkou špičky peaku 2 nm a přesně na očekávaných vlnových délkách. Z toho jsme vyhodnotili, že spektrofotometr V2 je schopný velmi kvalitně určit vlnové délky zkoumaných zdrojů.

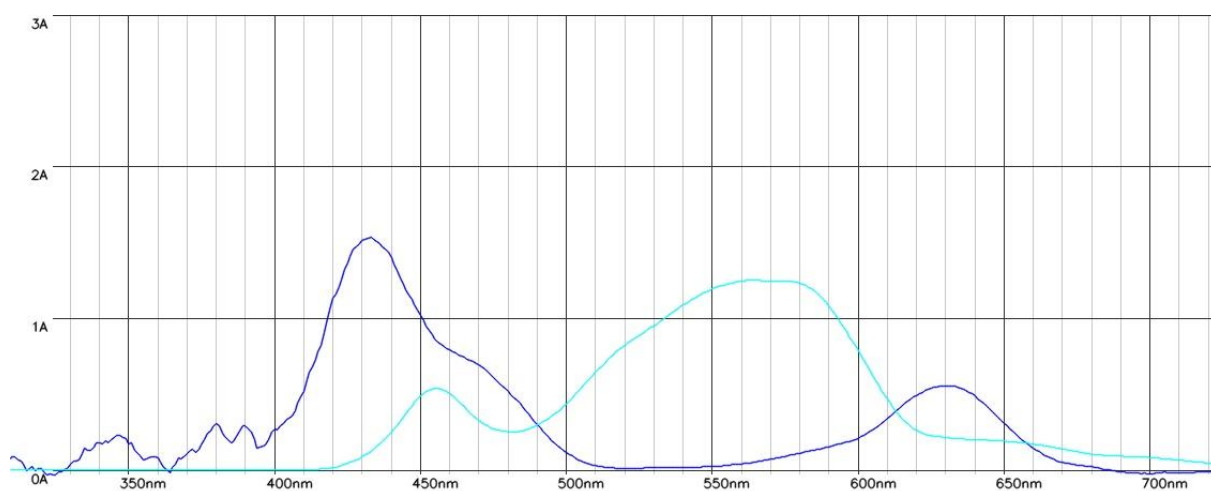


Obr. 3.62 – spektrum laseru 532 nm



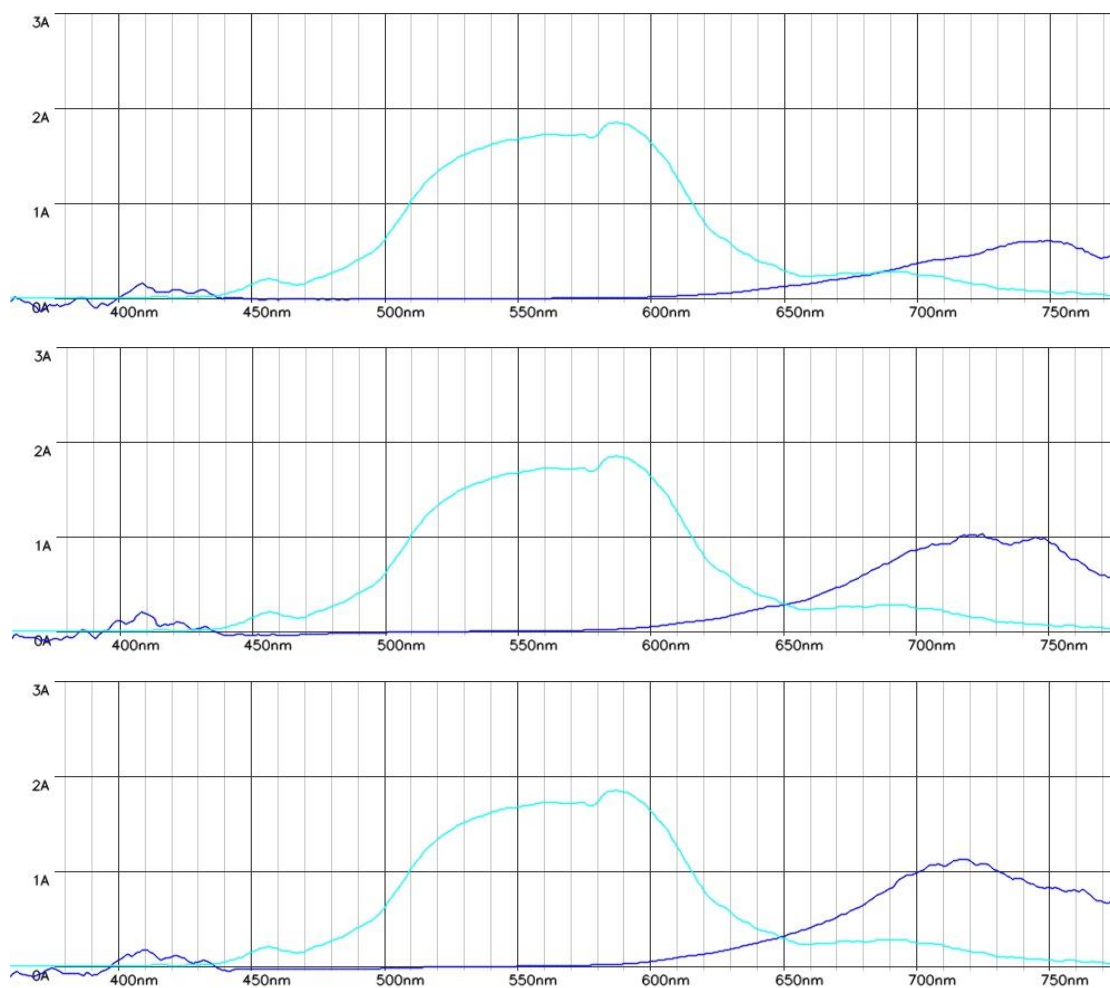
Obr. 3.63 – spektrum laseru 632 nm

Kvalitativní stanovení potravinářských barviv v alkoholickém nápoji bylo prováděno s alkoholickým likérem Božkov pepermint, lidově nazývaným „zelená“, který obsahuje dvě barviva, tartrazin a brilliantní modř. Při změření absorpčního spektra jsme ihned rozpoznali charakteristické peaky pro obě barviva, ale bohužel vlnové délky plně nekorespondovaly s naměřenými vlnovými délkami na spektrometru Pasco (cca o 9 nm). Hodnota absorbance se však s pravými hodnotami do míry rozlišení absorbance shodovala.

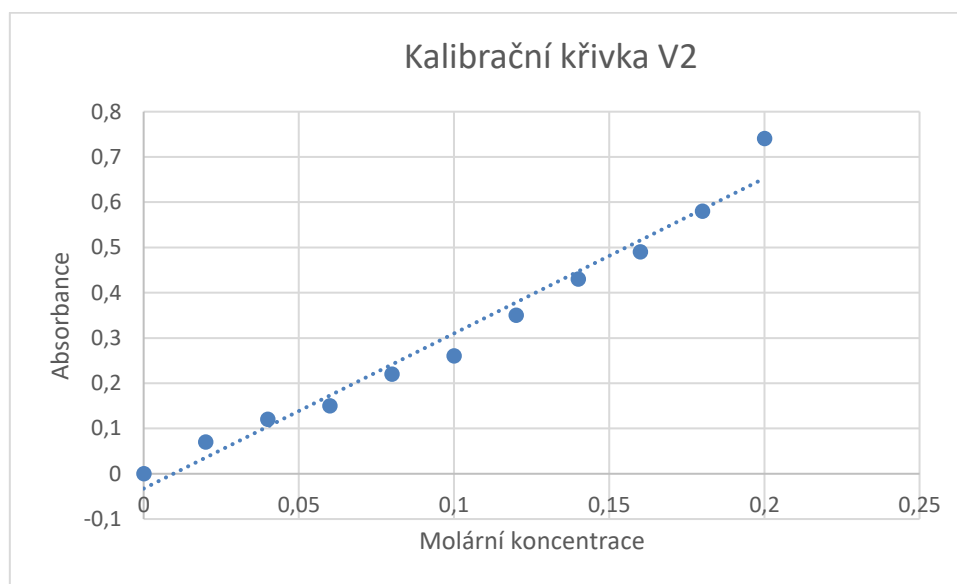


Obr. 3.64 – Absorpční spektrum alkoholického likéru zelená

Konstrukce kalibrační křivky ke kvantitativní analýze proběhla bez zdatelných potíží. Přestože nám na první pokus nevyšla naprosto perfektně, lepších výsledků dosáhli studenti během testování ve výuce. Opět jsme empiricky prokázali přesnost na 0,005 jednotek absorbance, což je hodnota pro didaktické účely dostačující.



Obr. 3.65 – Absorpční spektra modré skalice (tmavě modře) o koncentracích 0,06; 0,12 a 0,14 mol/l (sestupně) a referenční spektrum (světle modře)



Obr. 3.66 – Kalibrační křivka vytvořená studenty během testovacího praktika

3.3.4 Další vyvíjené sestavy

Vývoj dál inkrementálně pokračuje, ale ne všechny z těchto inovací byly zatím plně integrovány do finalizovaného systému didaktického měřicího zařízení, zejména z důvodu jejich vysoké komplexnosti a pořizovacích nákladů. Proto jsme rozpracovali další koncepce s rozšířenými parametry. U těchto aktuálně probíhá vývoj a postupné ověřování funkčnosti parametrů a zvolené geometrie. Integrace těchto systémů do konkrétních hotových zařízení je v plánu v následujících 2 měsících.

PiCamera HQ

Raspberry HQ Cam je současně nejkvalitnější kamerou z řady PiCamer. Z hlediska rozlišení je na stejné úrovni jako PiCamera V3 a díky mírně vyšší velikosti pixelů disponuje o 20 % větším senzorem. O jejím využití ve spektrometru jakožto o vylepšení ze stávajících verzí jsme začali uvažovat také z důvodu její kompatibility s objektivy se závitem C. Tato optika teoreticky umožňuje dosáhnout mnohem vyšší kvality díky větším hodnotám ohniskových vzdáleností a samotným rozměrům.

Pro využití objektivů C jsme navrhli stojany s vyšší mírou polohovatelnosti pomocí platformy na vertikálních šroubech. Pro ovládání kamery jsme začali využívat Raspberry Pi 4, které disponuje vyšším výkonem pro kvalitnější zpracování obrazu.

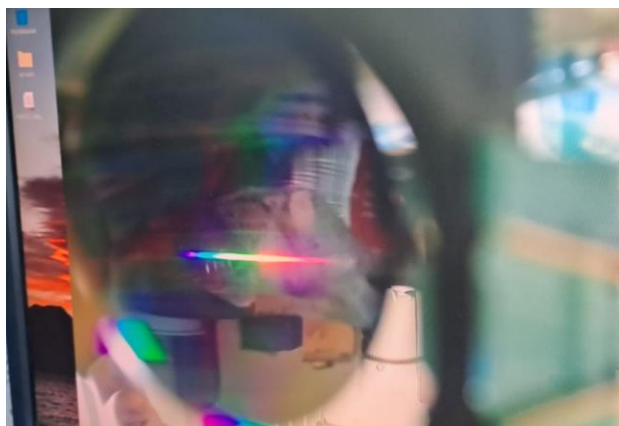


Obr. 3.67 – Sestrojený kolimátor s difrakční mřížkou



Obr. 3.68 – Vyvinutá aparatura na používání PiCamery HQ a velkých objektivů jako kolimačních a fokusačních prvků

Sestavu na bázi PiCamery HQ zatím testujeme na optickém stole bez nutnosti vytváření plně integrovaného zařízení.



Obr. 3.69 – Spektrum viditelné během testování optické soustavy na objektivě závitu C

Czerny–Turner

Transmisní optika kterou jsme zvolili pro její jednoduchost a nízké pořizovací náklady je v konstrukcích moderních komerčních spektrometrů pro svou nižší přesnost nahrazována konstrukcí využívající pouze reflexní prvky (model Czerny–Turner, viz 1.3.2). Současně pracujeme i na návrhu zařízení na bázi reflexní difrakční mřížky a zaoblených zrcadel dle designu Czerny–Turner. Ač by cena tohoto zařízení byla v rozsahu 10–20 tisíc Kč, dosahuje ještě vyšších teoretických parametrů a má potenciál být kompetitivní v oblasti spektrometrů pro vysokoškolskou výuku až okrajovou profesionální vědeckou činnost.

Linear array

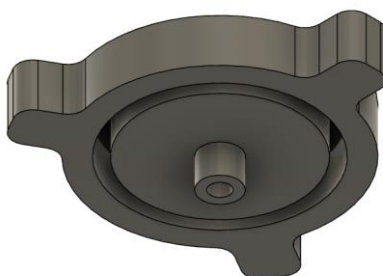
Současně pracujeme na implementaci lineárního senzoru, jehož vývoj je popsán v kapitole 3.2.10.2. Vzhledem k výrazně větší šířce TCD senzoru oproti čipu kamery je nutné optickou soustavu výrazně zvětšit a využít objektivy s vyšší ohniskovou vzdáleností, proto je vývoj úzce spojen s vývojem optiky pro PiCameru HQ.



Obr. 3.70 – 3D tisknutý úchyt pro desku lineárního senzoru na nastavitelné platformě

V neposlední řadě pracujeme i na návrhu adaptace našeho spektrometru pro mikroskopy se závitem pro připojení kamery. Tato adaptace umožňuje provádět mikrospektrofotometrické

(MSF) analýzy, jejíž aplikace lze mj. nalézt v oborech mikrobiologie, histologie/cytochemie, forenzní chemie, geologie a fyzice materiálů.



Obr. 3.71 – Navrhnutý adaptér pro připojení optického vlákna na mikroskop (Autodesk Fusion 360)

3.3.5 Parametry všech vyvinutých verzí

Verze spektrometru	V0 Webkamera	V1 IMX290	V2 PiCamera	HQ Cam / TCD1304
Celková cena součástek	1000 Kč	2500 Kč	2000 Kč	5000 Kč
Jednoduchost sestavení	Složení 3D tisknutých dílů	Složení 3D tisknutých dílů	Pájení, 3D tisk, možnost návrhu vlastních zdrojů	Potřebné znalosti optických principů
Spektrální rozpětí	350–700 nm	350–950 nm	350–950 nm	350–950 nm
Spektrální rozlišení na px	2 nm	0,2 nm	0,25 nm	0,15
Peakové rozlišení	4 nm	2 nm	2 nm	1 nm
Koncentrační rozlišení	0,01	0,005	0,005	0,002
Odstínění proti parazitnímu záření	Fyzické odstínění nedostatečné (pouze plast)	Drobný jas pozadí, lze odstranit softwarově (kartonový kryt)	Velmi malé množství jasu pozadí (asfaltový nástřík)	(obal zatím nebyl vytvořen, využije však technologii sp. V2)
Kalibrace	Pevné slepení geometrie, dále SW kalibrace	Nastavitelnost polohy mřížky, senzoru i šterbiny	Nastavitelnost veškerých prvků, manuální SW kalibrace	Nastavitelnost veškerých prvků, automatická SW kalibrace
Modularita designu	Připojení vlákem na širší optickou sestavu	Připojení vlákem na širší optickou sestavu	Odjímatelné moduly i možnost propojení vlákem	Četné možnosti přizpůsobení a integrace do větších soustav
Proveditelné experimenty	Určení vlnových délek, kvalitativní analýza	Určení vlnových délek, kvalitativní a kvantitativní analýza	Určení vlnových délek, kvalitativní a kvantitativní analýza	Široká škála experimentů
Stav vývoje	Finalizováno	Finalizováno	Finalizováno, vývoj dalších modulů	Vývoj pokračuje

3.4 Testování ve výuce

Ohledně otestování využití vyvinutých zařízení ve výuce jsme oslovili Gymnázium Mozartova 449 v Pardubicích. První využití vyvinutého zařízení proběhnulo formou praktika pro 18 studentů třetího ročníku. V rámci něj si vyzkoušeli praktickou práci s vyvíjeným spektrofotometrem V2 a komerčním spektrofotometrem Pasco. Dále testování ve výuce jsou naplánována na školách Gymnázium Pardubice, Dašická a Základní škola Smetanova Skuteč.

3.4.1 Průběh praktika

Na začátku byl studentům rozeslán dotazník s otázkami týkajícími se oboru spektrofotometrie k identifikaci jejich orientovanosti v rámci této analytické metody. Poté následovala krátká prezentace seznamující s principem spektrofotometrie a teoretickými základy, které byly nutné vědět před vstupem do laboratoře. Po skončení prezentace se studenti rozdělili do dvojic, v nichž pracovali po zbytek praktika. V laboratoři měli za úkol následující úlohy:

- I. Stanovení koncentrace modré skalice v roztoku podle Lambert–Beerova zákona
- II. Identifikace potravinářských barviv v nápoji z absorpčního spektra (alkoholický nápoj Božkov Pepermint, lidově „zelená“)

Pracovní listy k laboratorní práci jsou dostupné v příloze č. 1.

Než studenti vstoupili do laboratoře, byli rozděleni na dvě poloviny, aby nebyla kapacita laboratoře přehlcena. První polovina měla za úkol splnit laboratorní úlohu s modrou skalicí prostřednictvím vyvíjeného spektrofotometru V2 a druhá skupina dostala za úkol za pomoci spektrometru společnosti Pasco identifikovat použítá barviva v neznámém vzorku. Po vypracování svých laboratorních prací se skupiny vyměnily. Na závěr byl opět rozeslán dotazník hodnocení praktika se stejnými teoretickými otázkami, abychom zjistili o kolik se jejich odpovědi zlepšili oproti předchozím výsledkům.





Obr. 3.72 Fotografie z praktika na Gymnáziu Mozartova, po směru hodinových ručiček: úvodní přednáška, aparatura na výpočet koncentrace podle Lambert–Beerova zákona, míchání roztoků modré skalice, ukázka spektrometru a měřícího softwaru (foto RNDr. Květa Sýkorová, 2024)

3.4.2 Vyhodnocení praktika

Z dotazníku, který se posílal na začátku hodiny, jsme vyvodili, že znalosti studentů v oboru spektrometrie byly původně velmi nízké, jelikož většina jejich odpovědí byla buď špatná, anebo „nevím“. Jejich povědomí se avšak během praktika značně rozšířilo, jelikož po skončení hodiny a byly odpovědi studentů z velké části správně.

Úspěšnost hodiny lze také hodnotit tím, že 15 z 18 studentů hodnotilo praktikum nejlepším hodnocením a 15 studentů projevilo upřímný zájem o to, aby spektrofotometry byly zavedeny do běžné výuky.

3.5 Publikované materiály

Veškeré finalizované materiály k projektu byly zveřejněny na webové stránce organizace Technecium, dostupné na adrese: <https://technecium.org/didakticky-spektrometr/>.

4 DISKUSE

4.1 Měřicí zařízení

V rámci našeho vývoje se podařilo ve většině zohledňovaných parametrů přiblížit profesionálním spektrofotometrům (viz Tab. 8).

Rozpětí sledovaného rozsahu spektra je mírně rozšířeno do oblasti UV, avšak optické součástky ze skla určeného přímo pro tyto aplikace se v této oblasti stávají nepropustné a narážíme tak na limit daný pořizovací cenou. Rozsah ve směru delších vlnových délek je omezen obdobným limitem spektrální citlivosti křemíkového senzoru. Díky sensorům o vyšším rozlišení bylo dosaženo dokonce vyššího teoretického spektrálního rozlišení, tj. počtu pixelů na jeden nanometr. Tento parametr je však zavádějící, jelikož optická sestava nutně neumožňuje tak granulárního rozlišení dosáhnout, a tudíž je lepší srovnávat horizontální kvalitu spektra podle peakového rozlišení, které je s referenčními zařízeními srovnatelné. Rozlišení absorbance bylo v případě vyvinutých spektrofotometrů ovlivněno zejména ruchem signálu z jasu pozadí a mírných vibrací optiky, která záměrně není absolutně fixována z důvodu umožnění hardwarové kalibrace. Dlouhodobého rozlišení 0,005 au bylo dosaženo s pomocí extensivního vyhlazení signálu průměrováním několika desítek skenů. Tato hodnota je však podle našeho názoru přesností minimální, jelikož k měření docházelo v oblasti spektra, kde má použitý zdroj minimální intenzitu (635 nm pro CuSO₄). Dalším rozdílem přesnosti mezi našimi a komerčními zařízeními je nutnost časté kalibrace spektra, kterou je pro maximální přesnost vhodné provádět po každé intenzivnější fyzické manipulaci s přístrojem. Na druhou stranu není k této kalibraci třeba profesionální asistence a jelikož je s častou manipulací s vnitřní optikou spektrofotometru v návrhu počítáno, je pro uživatele relativně snadná.

Nejradikálněji zlepšených parametrem je cena, která je 13x nebo až 35x nižší než u referenčních spektrometrů. Tato skutečnost je způsobena jednak volbou levných komponentů, od hardwaru čítajícího jednodeskové počítače a další komponenty určené pro DIY elektroniku, přes optické součástky zakoupitelné na online e-shopech, až po konstrukční díle sestávající se z 3D tisknutých součástí, malých šroubů a lepidla. Do celkové ceny současně není započítána cena za výzkum, vývoj (Research and Development, R&D), a sestavení včetně kalibrace. Tato částka pravděpodobně představuje velmi vysoký podíl právě komerčních spektrometrů, avšak v případě našich zařízení, jejichž technologie je veřejně přístupná, a jež jsou určena k sestavení a kalibraci přímo uživatelem, není těchto výdajů třeba.

Tab. 9 – Srovnání Vyvinutých a komerčně dostupných spektrometrů

Zařízení	Spektrometr V1	Spektrometr V2	Pasco PS-2600	Red Tide USB-650 UV
Cena	2 500 Kč	2 000 Kč	26 370 Kč	50 000 – 75 000 Kč
Spektrální rozpětí	350–950 nm	350–950 nm	390–950 nm	250–800 nm
Spektrální rozlišení	0,2 nm	0,25 nm	0,4 nm	1 nm
Peakové rozlišení	2 nm	2 nm	2–3 nm	2 nm

Rozlišení absorbance	0,005	0,005	0,001	0,002
-----------------------------	-------	-------	-------	-------

4.2 Didaktická pomůcka

V rámci provedeného didaktického praktika na gymnáziu Mozartova spektrofotometry jsme dosáhli velmi povzbudivých výsledků patrných jak zájmem studentů během hodiny, tak jejich odpověďmi v rozeslaném dotazníku a následným ohlasem učitele chemie. Jelikož se v době psaní této práce jednalo o zatím první zkušební hodinu, není možné hovořit o úrovni uplatnění projektu s jistotou. Znalostní připravenost studentů a jejich otevřenost takto mezioborovému tématu se může lišit s věkem, úrovní vzdělávací instituce či pouze přístupem pedagogů, a právě proto máme v plánu otestovat didaktické využití našich zařízení i na jiných školách, zejména na středních odborných učilištích a druhém stupni základních škol.

Jakožto nejsrovnatelnější zařízení z hlediska didaktického potenciálu jsme zvolili spektrofotometr Pasco PS 2600. Tento spektrometr je určen pro vzdělávací instituce a podobá se našim zařízením jak parametry, tak škálou možných didaktických úloh. Z hlediska uživatelské přívětivosti je zařízení Pasco jednodušší na manipulaci, jelikož se jedná o monolitický blok s otvorem pro kyvetu. Tento rozdíl je ale současně jednou z hlavních výhod naší koncepce, jejíž otevřený charakter umožňuje prohlédnout se všechny součástky zařízení a pochopit jejich význam. Nezanedbatelný je také potenciál STEM/DIY, možnost sestavit a zkalibrovat celé zařízení podle návodu a naučit se tak detailně s jeho principy.

Námi vyvinutý software disponuje většinou funkcí programu Spectrometry, jako je prostorová orientace v grafu, měření hodnoty konkrétní vlnové délky, ukládání spekter, výpočet transmisního a absorpčního spektra, vyhlazení spektra, vybarvení spektra, detekce peaků a zobrazení několika spekter současně. Oproti programu Spectrometry náš software není přístupný na zařízeních Android™ a Mac® z důvodů potřeby značných časových a finančních prostředků pro vývoj na těchto platformách. Také nepodporuje spojení se zařízením technologií Bluetooth kvůli jejím nízkým přenosovým rychlostem oproti spojení v síti 802.11 (WiFi). Technologie komunikace přes Bluetooth je aktuálně, pro své verzatilnější využití, v rámci projektu ve vývoji.

Finálním rozdílem referenčního zařízení je jeho cena. Jak již bylo zmíněno v úvodu, rozsáhlé rozšíření spektrometrů do každé školy vyučující přírodovědné obory, i když jen v České republice, by bylo v případě ceny 20–30 tisíc Kč za kus prakticky neuskutečnitelné. Ač naše zařízení poskytuje nižší přesnost a je třeba jej pravidelně kalibrovat, tyto slabší technické parametry jsou stále pro výuku dostačující a jeho více než 10x nižší cena ho činí pro pedagogy a vedení škol atraktivnějším. Adopce našeho zařízení ve veřejných vzdělávacích institucích, zejména základních školách, gymnáziích a středních školách, je tak oproti komerčním možnostem výrazně realizovatelnější.

Dalším komerčním spektrofotometrem, který se v české didaktice vyskytuje je Go Direct SpectroVis společnosti Vernier Science Education. Tento spektrofotometr je svými parametry, včetně ceny, velice podobný zařízení Pasco PS 2600 a může tak sloužit k upevnění reference technických parametrů, uživatelské přístupnosti a ceny. (29)

4.3 Srovnání s dalšími existujícími projekty

Na internetu jsme našli řadu projektů DIY spektrofotometrů rozdílných konstrukcí, vlastností a přesností (30; 31; 32). Tato zařízení byla většinou jedinečným projektem bez záměru větší diseminace užití, nebo dosahovala výrazně nižších přesností kvůli nízké kvalitě součástek a softwaru.

Také jsme se setkali s projekty přístupujícími ke spektrofotometru jako k zařízení STEM výuky (33; 34). Úlohy pro studenty se zaměřovaly na vysvětlení fyzikálních a chemických principů a vytvořené spektrometry byly však na velmi nízké úrovni, například sestávající se pouze z disperzní optiky bez detektoru a možnosti softwarového zpracování, což dramaticky limituje, resp. vylučuje, jejich další didaktické využití, např. v rámci výuky spektrofotometrie jako analytické metody.

Oproti těmto existujícím veřejně dostupným projektům je naše práce kombinací zařízení o relativně vysokých technických parametrech umožňujících širokou škálu experimentů na bázi kvantitativní a kvalitativní analýzy a názorné didaktické pomůcky vhodné pro STEM výuku.

Nalezené projekty nám současně slouží jako důležitý zdroj inspirace pro další vývoj.

5 ZÁVĚR

V rámci práce se podařilo vyvinout sérii didaktických spektrofotometrů různé konstrukce (od jednoduchých po modulární), včetně designu klíčových optických a optoelektronických prvků, mechanických dílů a souvisejícího SW s velkým potenciálem dalšího vývoje pro potřeby VŠ výuky, občanské vědy nebo low-cost měřících zařízení pro široké spektrum aplikací. Vytvořené součástky, software a metody přípravy jsou inspirovány běžně používanými profesionálními zařízeními a současně používají dostupné technologie, kvalitní parametry tak kombinují s jednoduchou konstrukční filozofií a nízkými pořizovacími náklady. Výsledkem je prototyp modulárního didaktického spektrofotometru pro laboratorní i terénní práci, který je z uživatelského hlediska srovnatelný s komerčními řešeními za cca 1/10 jejich ceny, a současně nabízí větší modularitu a možnost uživatelských modifikací hardwaru i softwaru.

Jedinečnou vlastností našich zařízení je vedle jejich dostupnosti jejich potenciál ve STEM výuce, tedy možnost pedagogů a studentů sestavit si dle návodu celé zařízení samostatně – metodou DIY. Sestavením spektrometru formou STEM projektu mohou žáci získat jak mnohem hlubší pochopení a propojení dílčích fyzikálních, chemických, elektrotechnických, a konstrukčních konceptů (vč. IT), tak i jedinečnou praktickou zkušenost s jejich uplatněním v konstrukci přesných měřících zařízení v praxi. Spektrofotometr V2 současně nabízí možnost přidávat vlastní aparatury a zdroje a umožňuje tak uživateli jednoduchou formou rozšířit škálu proveditelných experimentů.

Zároveň jsme v rámci projektu získali cenné zkušenosti s vývojem pokročilých technologií přesahujících svým potenciálem až do oblasti profesionální instrumentace. Mezi tyto patří zejména ovládací hardware a software pro lineární senzor nebo komplexní software pro vizualizaci a analýzu spektrálních dat.

Dosažené výsledky srovnávacích testů a výsledky didaktického testování v rámci výuky nás motivují k dalšímu vývoji ve spolupráci s našimi odbornými konzultanty z katedry didaktiky chemie na PřF UK a UFCH JH AV ČR. Projekt ještě zdaleka nevyčerpal svůj potenciál a existuje množství příležitostí pro jeho další rozvoj, ať už v rovině technologií nebo způsobu jeho využití (aktuálně např. vyvíjíme ve spolupráci s týmem z UFCH AV ČR spektrometr pro balonová měření emisních spekter bolidů). Z hlediska laboratorních a terénních spektrometrů bychom se dál chtěli zaměřit na dokončení pokročilých sestav koncipovaných v 3.3.4, které by měly dle výpočtů dosáhnout vyšších parametrů než referenční spektrometry a umožnily by širokou škálu experimentů a za vysoké modularity a možnosti přizpůsobení pro konkrétní aplikace. Tyto pokročilejší sestavy následně mohou sloužit jak didaktickým účelům včetně vysokoškolské výuky, tak i v oblasti amatérské vědy (citizens science), v rámci projektů SOČ apod.

V nejbližší době plánujeme pokračovat v testování spektrometru ve výuce na SŠ i ZŠ a následně v diseminaci výsledků projektu mezi školami a učiteli. Jelikož jsou zařízení i všechny materiály koncipovány jako open-source, chceme využívat k dalšímu vývoji sdílení zkušeností jeho uživatelů a DIY konstruktérů podobně jako je to v případě tzv. open source SW (kam patří např. úspěšný operační systém Linux atp.).

Jedinou Nobelovu cenou za přírodní vědy získalo Československo (Jaroslav Heyrovský) v roce 1959 za analytické využití polarografie. Náš UV–VIS–NIR spektrometr může podobně jako polarograf zjišťovat přesné složení, koncentraci, a dokonce i průběh chemických reakcí, a jako účinná didaktická pomůcka ve výuce experimentální vědy může pomoci vychovat novou generaci nositelů Nobelovy ceny.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. **McKinsey and Company.** *Klesající výsledky českého základního a středního školství: fakta a řešení.* [Online] 25. 3 2024.
https://www.mckinsey.com/cz/~/_media/McKinsey/Locations/Europe%20and%20Middle%20East/Czech%20Republic/Our%20work/McKinsey_pro_bono_skolstvi.ashx.
2. **Tomášek, Vladislav, a další.** Česká školní inspekce. *Mezinárodní šetření TIMMS 2019 - Národní zpráva.* [Online] [Citace: 25. 3 2024.]
https://www.csicr.cz/html/2020/Narodni_zprava_TIMSS_2019/resources/_pdfs_/TIMSS_2019_Narodni_zprava_.pdf.
3. **PASCO.** *Katalog a ceník produktů PASCO.* [Online] 2022. [Citace: 25. 3 2024.]
4. **Český statistický úřad.** *ČESKÉ ŠKOLY V ČÍSLECH.* [Online] 2019. [Citace: 25. 3 2024.]
<https://www.czso.cz/csu/stoletistatistiky/ceske-skoly-v-cislech>.
5. *The use of simple spectrophotometer in STEM education: A bibliometric analysis.* **Shidiq, Ari Syahidul , a další.** místo neznámé : Moroccan Journal of Chemistry, 2021, Sv. 9. 10.48317/IMIST.PRSM/morjchem-v9i2.27581.
6. *Demonstrating Basic Properties of Spectroscopy Using a Self-Constructed Combined Fluorimeter and UV-Photometer.* **Kvittingen, Eivind V. , a další.** 10, místo neznámé : Journal of Chemical Education, 2017, Sv. 94. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00121>.
7. *Teaching UV–Vis Spectroscopy with a 3D-Printable Smartphone Spectrophotometer.* **Grasse, Elise K, Torcasio, Morgan H. a Smith, Adam.** 1, místo neznámé : Journal of Chemical Education, 2015, Sv. 93. 10.1021/acs.jchemed.5b00654.
8. **Ocean Optics.** Spectrometers. [Online] [Citace: 25. 3 2024.]
<https://www.oceaninsight.com/products/spectrometers/>.
9. **Atkins, Peter, De Paula, Julio a Chuchvalec, Pavel.** *Fyzikální chemie.* Praha : Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2013. ISBN 978-80-7080-830-6.
10. **Sajdlová, Světlana a Mistrík, Jan.** *Návody k laboratorním cvičením a příklady.* Pardubice : Fakulta chemicko-technologická Univerzita Pardubice, 2020.
11. **Skoog, Douglas A., a další.** *Analytická chemie.* Praha : Vysoká škola chemicko-technologická, 2019. ISBN 978-0495-55858-6.
12. **Sajdlová, Světlana.** *Studium tenkých vrstev a povrchů optickými spektroskopickými metodami.* Hradec Králové : Katedra fyziky přírodovědecké fakulty univerzity Hradce Králové, 2014.
13. **Housecroft, Catherine E., a další.** *Anorganická chemie.* Praha : Vysoká škola chemicko-technologická, 2022. ISBN 978-80-7080-872-6.

14. **Hejsková, Veronika.** UV/VIS spektrofotometrie a možnost jejího využití v rámci vzdělání učitelů chemie. Praha : Katedra chemie a didaktiky chemie, 2016.
15. **WikiSkripta.** Odraz světla. [Online] [Citace: 25. 3 2024.] https://www.wikiskripta.eu/w/Odraz_sv%C4%9Btla.
16. **Ibsen Photonics.** Spectrometer design guide. [Online] [Citace: 25. 3 2024.] <https://ibsen.com/resources/spectrometer-resources/spectrometer-design-guide/>.
17. **PASCO.** Wireless Spectrometer (Vis). [Online] [Citace: 25. 3 2024.] <https://www.pasco.com/products/sensors/light/ps-2600>.
18. **Ocean Optics.** Red Tide USB650 Fiber Optic Spectrometer Installation and Operation Manual. [Online] [Citace: 25. 3 2024.] <https://www.oceaninsight.com/globalassets/catalog-blocks-and-images/manuals--instruction-ocean-optics/spectrometer/usb-650-red-tide-installation-and-operation-instructions.pdf>.
19. **Hazir, Sena G .** academia.edu. [Online] [Citace: 25. 3 2024.] Sena G . Hazir.
20. **TOSHIBA.** TCD1304AP . *TOSHIBA CCD LINEAR IMAGE SENSOR*. [Online] 15. 10 2001. [Citace: 25. 3 2024.] <https://spectrecolgy.com/wp-content/uploads/2021/03/Toshiba-TCD1304AP-CCD-array.pdf>.
21. —. TCD1103GFG. [Online] 24. 1 2019. [Citace: 25. 3 2024.] https://toshiba.semicon-storage.com/info/TCD1103GFG_Web_Datasheet_en_20190124.pdf?did=13705&prodName=TCD1103GFG.
22. **Scientist, Curious.** TCD1304 Linear CCD - Driving the CCD. [Online] [Citace: 25. 3 2024.] <https://curiousscientist.tech/blog/tcd1304-linear-ccd-driving-the-ccd>.
23. **OpenCV.org.** OpenCV-Python. [Online] [Citace: 25. 3 2024.] https://docs.opencv.org/4.x/d0/de3/tutorial_py_intro.html.
24. **Rossel, Esben.** pyCCDGUI. *TCD1304.wordpress*. [Online] [Citace: 25. 3 2024.] <https://tcd1304.wordpress.com/pyccdgui/>.
25. **Python Foundation.** tkinter — Python interface to Tcl/Tk. [Online] <https://docs.python.org/3/library/tkinter.html>.
26. **Ocean Optics.** SpectraSuite. [Online] [Citace: 25. 3 2024.] <https://spectrasuite.software.informer.com/>.
27. **PASCO.** Spectrometry Software. [Online] [Citace: 25. 3 2024.] <https://www.pasco.com/products/software/spectrometry>.
28. **Wright, Les.** PySpectrometer. [Online] [Citace: 25. 3 2024.] <https://github.com/leswright1977/PySpectrometer>.

29. **Vernier Science Education.** Go Direct SpectroVis. [Online] <https://www.vernier.cz/produkty/podrobne-informace/kod/gdx-svispl>.
30. **Cao, Yuan.** A \$500 DIY near-IR spectrometer that would sell for \$10,000. [Online] [Citace: 25. 3 2024.] https://caoyuan.scripts.mit.edu/ir_spec.html.
31. **Technovation.** DIY Low Cost Spectrometer. [Online] [Citace: 25. 3 2024.] <https://www.instructables.com/DIY-Low-Cost-Spectrometer/>.
32. *Fabricating a Low-Cost Raman Spectrometer to Introduce Students to Spectroscopy Basics and Applied Instrument Design.* **Emmanuel, Neethu , a další.** 6, místo neznámé : Journal of Chemical Education, 2021, Sv. 98. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.0c01028>.
33. **STEM learning.org.** Make Your Own Spectrometer. [Online] [Citace: 25. 3 2024.] <https://www.stem.org.uk/resources/elibrary/resource/28165/make-your-own-spectrometer>.
34. **University of Oxford.** The Lego® Spectrophotometer. [Online] [Citace: 25. 3 2024.] <https://www.chem.ox.ac.uk/files/determinationofquinolineyellowdyeincoughsweetsfinaldec2022pdf>.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Pokud není uvedeno jinak, původcem obrázku je autor

Obr. 1.1 – Periodická oscilace elektrického a magnetického pole (6).....	10
<u>Obr. 1.2 – Oblasti elektromagnetického záření – Elektromagnetické spektrum. Online. In: Khan Academy. Dostupné z: https://cs.khanacademy.org/science/obecna-chemie/xfed2aace53b0e2de:interakce-molekul-a-vlastnosti-latek/xfed2aace53b0e2de:spektroskopie-a-elektromagneticke-zareni/e/spectroscopy-and-the-electromagnetic-spectrum. [cit. 2024-01-23].</u>	11
Obr. 1.3 – Elektromagnetická vlna popsána vlnovými veličinami (8).....	12
<u>Obr. 1.4 – Excitace elektronu na vyšší energetickou hladinu – Excitation of electron. Online. In: Nasa. 2013. Dostupné z: https://imagine.gsfc.nasa.gov/science/toolbox/atom.html. [cit. 2024-03-26].</u>	13
<u>Obr. 1.5 – Úbytek elektromagnetického záření z hlediska intenzity – WikiSkripta, Absorbance [online], , c2019, Datum poslední revize 18. 11. 2019, 22:43 UTC, [citováno 26. 03. 2024] <https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=Absorbance&oldid=432835></u>	14
<u>Obr. 1.6 – Lom světla při přechodu z řidšího optického prostředí do hustšího - Snellův zákon. Online. In: Wikipedia: the free encyclopedia. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001-. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/Snell%27s_law. [cit. 2024-03-26].</u>	15
Obr. 1.7 – Disperze světla na hranolu – a-level physics tutor (Prism dispersion); CC BY-SA 4.0 (https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0) [20. 3. 2024]; Wikimedia Commons (dostupné z https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Prisms-disp-diag02.jpg).....	16
Obr. 1.8 – Princip difrakce – (The Grating Equation) [20. 3. 2024]; Plymouth Grating Laboratory [dostupné z https://www.plymouthgrating.com/guidance/technical-notes/fundamentals/the-grating-equation/]	17
Obr. 1.9 – Interferenční obrazec maxim a minim za mřížkou (foto autor).....	17
Obr. 1.10 – Transmisní (a) a reflexní difrakční mřížka (b) – Samuel J. Ling (Diffraction Grating) [20. 3. 2024]; Physics Boot Camp [dostupné z http://www.physicsbootcamp.org/section-diffraction-grating-light.html].....	17
Obr. 1.11 – Kolimační a fokusační čočka- CLARK. Collimating and focusing lens. In: Optics [online]. 2022 [cit. 2024-03-26]. Dostupné z: https://optics.org/products/P000024323	18
<u>Obr. 1.12 – Kolimační a fokusační zrcadla - CLARK. Collimating and focusing lens. In: Optics [online]. 2022 [cit. 2024-03-26]. Dostupné z: https://optics.org/products/P000024323</u>	18
Obr. 1.13 – Schéma spektrofotometru (16).....	19
<u>Obr. 1.14 – Schéma spektrometru typu Czerny-Turner – Rigelleo. Czerny-Turner spectrometer. Online. In: Physics forum. 2024. Dostupné z: https://www.physicsforums.com/threads/about-collimation-in-czerny-turner-spectrometers.1058256/. [cit. 2024-03-15].</u>	21
Obr. 1.15 – Bunsenův spektroskop – Spectrometer Designs. Steve's Open Lab [online]. [cit. 2024-03-25]. Dostupné z: https://stevesopenlab.fr/spectrometer-designs/	22
Obr. 1.16 – Spektrum intenzity záření studené bílé LED diody (pořízeno v softwaru Spectrometry společnosti Pasco).....	23

Obr. 1.17 – Spektrum žluté LED diody (pořízeno v softwaru Spectrometry společnosti Pasco)	23
Obr. 1.18 – Emisní spektrum neonu (pořízeno v softwaru Spectrometry společnosti Pasco)	24
Obr. 1.19 – Transmisní spektrum ethanolu - IR Spectroscopy Tutorial: Alcohols. Organic Chemistry at CU Boulder [online]. [cit. 2024-03-25]. Dostupné z: https://orgchemboulder.com/Spectroscopy/irtutor/alcoholsir.shtml	24
Obr. 1.20 – Energetické hladiny elektronů - REUSCH, William. Visible and Ultraviolet Spectroscopy [online]. [cit. 2024-03-25]. Dostupné z: https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/spectrpy/uv-vis/spectrum.htm	26
Obr. 1.21 – Absorpční spektra naftalenu, anthracenu a tetracenu - Absorpční spektrum naftalenu, anthracenu a tetracenu. Online. In: 2.chemistry.msu.edu. 2013. Dostupné z: https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/spectrpy/uv-vis/spectrum.htm . [cit. 2024-03-25]	26
Obr. 1.22 – Absorpční spektrum alkoholického nápoje (pořízeno v softwaru Spectrometry společnosti Pasco)	27
Obr. 1.23 – Kalibrační křivka vyjadřující Lambert–Beerův zákon	26
Obr. 2.1 – Návrh 3D konstrukce (Autodesk Fusion 360)	28
Obr. 2.2 – Red Tide USB650 UV	29
Obr. 2.3 – Soustava pro měření s Red Tide USB650	29
Obr. 2.4 – Pasco PS–2600	30
Obr. 2.5 – Soustava pro měření s Pasco PS–2600	30
Obr. 2.6 – Srovnávací měření rozlišení absorbance podle Lambert–Beerova zákona	32
Obr. 3.1 – Schéma spektrofotometru	34
Obr. 3.2 – Nástroj na výpočet geometrie spektrometru, oranžově jsou označeny pole vstupních hodnot (Microsoft Excel)	35
Obr. 3.3 – Doopravení polohy součástí po sestavení optiky spektrometru V1	35
Obr. 3.4 – Blesk mobilního telefonu používaný jako zdroj	36
Obr. 3.5 – Zdroj pro UV–VIS oblast	36
Obr. 3.6 – Zdroj využívající teplou bílou LED diodu s variabilním jasnem vyvinutý pro spektrofotometr V2 (viz 3.3.3)	37
Obr. 3.7 – Spektrum zdroje na bázi bílé LED diody viditelné ze spektrofotometru V2	37
Obr. 3.8 – Využití laserového ukazovátka (532 nm) na kalibraci spektrometru	37
Obr. 3.9 – Testování laserové diody (650 nm)	38
Obr. 3.10 – Zapuštěné vlákno Oceanoptics	38
Obr. 3.11 – Používané 1 cm kyvety v ochranném pouzdře	39
Obr. 3.12 – Samostatný držák kyvety s víkem	39
Obr. 3.13 – Samostatný držák kyvety spojený se zbytkem soustavy optickými vlákny	40
Obr. 3.14 – Držák kyvety používaný ve spektrofotometru V2 se štěrbinami pro zdroj	40
Obr. 3.15 – Analýza vzorku v kyvetě pomocí bílé LED diody jako zdroje	41
Obr. 3.16 – Štěrbina tvořená rovnoběžnými hranami nožů	42
Obr. 3.17 – štěrbina z vnější strany s prostorem pro připojení optického vlákna	42
Obr. 3.18 – Vývojová verze štěrbin s posuvnou vnitřní šířkou	42
Obr. 3.19 – Zakoupená transmisní difrakční mřížka s hustotou $G = 1000$ čar na mm	43
Obr. 3.20 – Úchyt difrakční mřížky umožňující rotaci	44

Obr. 3.21 – Objektiv závitu M12 s ohniskovou vzdáleností 8mm (vlevo) a PiCamera V2 s nasazeným M12 objektivem (vpravo)	45
Obr. 3.22 – Větší objektivy závitu C s variabilní ohniskovou vzdáleností	46
Obr. 3.23 – Mechanismus nastavitelné platformy, otáčením vloženého šroubu proti pružině se zkracuje vzdálenost a úchyt se pohybuje kolem jednoho ze dvou pantů (Autodesk Fusion 360)	47
Obr. 3.24 – Raspi PiCamera V2 – Sven.petersen (Raspberry Pi Camera V2.1 (front side)); CC BY-SA 4.0 (https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0) [20. 3. 2024]; Wikimedia Commons (dostupné z https://commons.wikimedia.org/wiki/File:1638_-_Raspberry_Pi_Camera_V2.jpg)	49
Obr. 3.25 – PiCamera V3 – Raspberry Pi Camera 3 NoIR [26.3.2024]; RPischoop.cz; [dostupné z https://rpishop.cz/mipi-kamerove-moduly/5601-raspberry-pi-camera-module-3-noir.html]	49
Obr. 3.26 – PiCamera HQ se senzorem 6,287x4,712 mm	49
Obr. 3.27 – Lineární senzor Toshiba TCD 1304AP	50
Obr. 3.28 – Zapůjčený senzor TCD1103 s funkčním ovládacím obvodem	50
Obr. 3.29 – Zapojení typického ovládacího obvodu pro lineární senzor (8)	51
Obr. 3.30 Schéma časování lineárního senzoru (8)	51
Obr. 3.31 – Časované signály pro ovládání TCD senzoru snímané osciloskopem	52
Obr. 3.32 – Vytváření desky pro ovládání TCD využívaje pájivé pole	52
Obr. 3.33 – Výsledná deska s prostorem pro připojení obou TCD senzorů vč. patice pro uchycení senzoru	53
Obr. 3.34 – Zapojení vyvinuté desky s STM32F401CC Blackpill	53
Obr. 3.35 Část kódu nastavujícího časování a schéma výstupů čipu STM32	54
Obr. 3.36 – Surový analogový výstup ovládacího obvodu (zapojení bez optiky, senzor testován pouze vystavením stínu, který je vidět uprostřed), viditelné jsou peaky signalizující začátek a konec měřícího cyklu	55
Obr. 3.37 – Testovací vizualizace spektra v SW pro lineární senzor využívající knihovnu Matplotlib	55
Obr. 3.38 - Schéma mechanismu softwaru (spektrofotometr V2)	57
Obr. 3.39 – Uživatelské rozhraní vyvinutého softwaru	57
Obr. 3.40 – Zobrazený graf spektra s vybarvením vlnových délek a detekovanými peaky	58
Obr. 3.41 – Panel kalibrace spektra s kalibračními hodnotami pro ultrafialový a zelený laser	58
Obr. 3.42 – USB kamera využitá v spektrometru V0	59
Obr. 3.43 – Spektrometr V0 (Webkamera)	59
Obr. 3.44 – Vnitřní soustava spektrofotometru V1	60
Obr. 3.45 – Obal spektrofotometru V1	60
Obr. 3.46 – Kartonový světelný kryt	61
Obr. 3.47 – Měřicí aparatura pro testování spektrofotometru V1 využívající zapůjčené součástky Oceanoptics	61
Obr. 3.48 – Spektrum referenčního zdroje – bílé LED diody	61
Obr. 3.49 – spektrum laseru 405 nm (před softwarovou korekcí)	62
Obr. 3.50 – spektrum laseru 532 nm (před softwarovou korekcí)	62
Obr. 3.51 – spektrum laseru 655 nm (před softwarovou korekcí)	63

Obr. 3.52 – Absorpční spektra modré skalice (tmavě modře) o koncentracích 0,06; 0,14 a 0,16 mol/l (sestupně) a referenční spektrum (světle modře).....	63
Obr. 3.53 – Kalibrační křivka naměřených roztoků.....	64
Obr. 3.54 – Geometrické schéma modulárního spektrofotometru V2.....	64
Obr. 3.55 – Stojan na PiCameru a Raspberry Pi, zapojená je PiCamera V2.....	65
Obr. 3.56 – Dráty připojené na GPIO piny Raspberry Zero pro ovládací prvek na horní straně krabičky.....	65
Obr. 3.57 – Příklad vyvinutého modulárního zdroje kompatibilního se spektrofotometrem V2.....	66
Obr. 3.58 – Konstrukce vyvinutého spektrofotometru V2, žlutě zdroj, červeně Raspberry Pi a PiCamera (Autodesk Fusion 360).....	66
Obr. 3.59 – Výsledný spektrofotometr V2 s odkrytým víkem.....	67
Obr. 3.60 – Měřicí soustava se spektrofotometrem V3.....	67
Obr. 3.61 – Spektrum referenčního zdroje – bílé LED diody.....	67
Obr. 3.62 – spektrum laseru 532 nm.....	68
Obr. 3.63 – spektrum laseru 632 nm.....	68
Obr. 3.64 – Absorpční spektrum alkoholického likéru zelená.....	69
Obr. 3.65 – Absorpční spektra modré skalice (tmavě modře) o koncentracích 0,06; 0,12 a 0,14 mol/l (sestupně) a referenční spektrum (světle modře).....	70
Obr. 3.66 – Kalibrační křivka vytvořená studenty během testovacího praktika.....	70
Obr. 3.67 – Sestrojený kolimátor s difrakční mřížkou.....	71
Obr. 3.68 – Vyvinutá aparatura na používání PiCamery HQ a velkých objektivů jako kolimačních a fokusačních prvků.....	71
Obr. 3.69 – Spektrum viditelné během testování optické soustavy na objektivě závitu C ..	72
Obr. 3.70 – 3D tisknutý úchyt pro desku lineárního senzoru na nastavitelné platformě.....	72
Obr. 3.71 – Navrhnutý adaptér pro připojení optického vlákna na mikroskop (Autodesk Fusion 360).....	73
Obr. 3.72 Fotografie z praktika na Gymnáziu Mozartova(Květa Sýkorová, 2024).....	75

SEZNAM TABULEK

Tab. 1 – Vybrané veličiny elektromagnetického záření.....	11
Tab. 2 – Konstanty elektromagnetického záření.....	11
Tab. 3 – Vybraná prostředí a jejich indexy lomu (15).....	15
Tab. 4 – parametry referenčních zařízení (17; 18).....	31
Tab. 5 – Cílové parametry jednotlivých koncepcí spektrofotometrů.....	33
Tab. 6 – Srovnání kamery a lineárního senzoru.....	47
Tab. 7 – Parametry užívaných/uvažovaných kamer.....	48
Tab. 8 – Srovnání parametrů TCD1304 a TCD 1103.....	50
Tab. 9 – Srovnání Vyvinutých a komerčně dostupných spektrometrů.....	76

PŘÍLOHA 1: PŘÍKLADY DIDAKTICKÝCH ÚLOH PRO PRÁCI S VYVINUTÝMI SPEKTROFOTOMETRY

Úloha 1: Kvantitativní analýza spektrofotometrií

Teorie

Spektrofotometrie je velmi užitečnou metodou, pokud potřebujete zjistit koncentraci roztoku a nechcete využívat žádné složitější chemické procesy, abyste ji zjistili. Lambert–Beerův zákon nám říká, že absorbance roztoku je přímo úměrná koncentraci roztoku c , tloušťce prostředí l skrze, které musí záření projít a molárnímu absorpčnímu koeficientu ϵ_λ (viz rovnice dole). Molární absorpční koeficient je vždy stejný pro danou vlnovou délku a tloušťka kvety se také nemění, takže pokud budeme brát l a ϵ_λ jako konstanty, pak by vyjádření tohoto vztahu měla být lineární funkce, kde koncentrace je na ose x a absorbance na ose y . Tuto skutečnost můžeme využít tím, že si sestavíme tzv. **kalibrační křivku**, ta funguje na principu naměření alespoň 4 roztoků o známé koncentraci a následně naměřené absorbance jednotlivých roztoků nanese do grafu závislosti absorbance na koncentraci. Všechny hodnoty by měly vycházet okolo jedné přímky. V excelu si uděláme graf se spojnicí trendu a na ní následně hledáme bod, který koresponduje s naměřenou absorbancí.

Lambert–Beerův zákon: $A = \epsilon_\lambda \cdot l \cdot c$

Příklad výpočtu koncentrace neznámého roztoku: (Spektrofotometrie, 2024)

Výchozí rovnice: $A = \epsilon_\lambda \cdot l \cdot c_A$

tloušťka kvety l : konstantní (většinou 1 cm)

Absorbance A : naměřená

molární absorpční koeficient ϵ_λ : směrnice kalibrační křivky (lze vypočítat zprůměrováním dosazováním do vzorce $\epsilon_\lambda = A / (l \cdot c_A)$ u známých koncentrací).

Koncentrace c_A : neznámá

Po spočítání molárního absorpčního koeficientu se vyjádří z výchozí rovnice molární koncentrace, jejíž finální podoba bude $c_A = A / (l \cdot \epsilon_\lambda)$.

Zadání

Změřte přibližnou koncentraci roztoku modré skalice za pomoci techniky kalibrační křivky.

Pomůcky

- $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$
- Destilovaná voda
- Kádinky na zásobní roztoky
- Plastová pipeta – kapátko
- 6x kyveta
- spektrofotometr

Postup

- Připravte 4 roztoky o molární koncentraci postupující od 0,04 do 0,16 mol/l s mezerami 0,04 mol/l ($M_{\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}} = 249,7 \text{ g/mol}$)
- odeberte z každého roztoku kapátkem 2–3 ml a vlijte do kyvety
- připravte si kyvetu s destilovanou vodou, kterou změřte na spektrofotometru jako slepý vzorek
- po zkalibrování spektrometru postupně vkládejte kyvety do spektrofotometru a zaznamenejte si hodnoty absorbance na jedné vlnové délce u daných koncentracích
- udělejte z naměřených hodnot v excelu graf závislosti absorbance na koncentraci a vypočítejte průměrný molární absorpční koeficient
- změřte absorbanci roztoku o neznámé koncentraci a vypočítejte kolik je jeho přibližná koncentrace dosazení do rovnice Lambert–Beerova zákona

Tabulka s výsledky

Koncentrace [mol/l]	Absorbance
0,04	
0,08	
0,12	
0,16	

Závěr

Díky kalibrační křivce jsme zjistili, že neznámý roztok má přibližnou koncentraci.....

Úloha 2: Kvalitativní analýza spektrofotometrií

Teorie

Spektrofotometrie neslouží pouze ke kvantitativní analýze, ale i k analýze kvalitativní. To znamená, že za pomoci spektrofotometru je možné rozeznávat jednotlivé sloučeniny na základě jejich absorpčních spekter. Každá sloučenina má své specifické absorpční spektrum a díky tomu lze od sebe rozlišit sloučeniny, které jsou si barevně velmi podobné a pouhým okem se nedají rozlišit. Praktické využití je například analýza potravinářských barviv, která kontroluje, že do nápojů byla přidána pouze povolená a zdraví neškodná. Proto se v této úloze budeme věnovat něčemu podobnému.

Zadání:

Určete, která barviva z nabídky byla použita k obarvení neznámého nápoje.

Pomůcky:

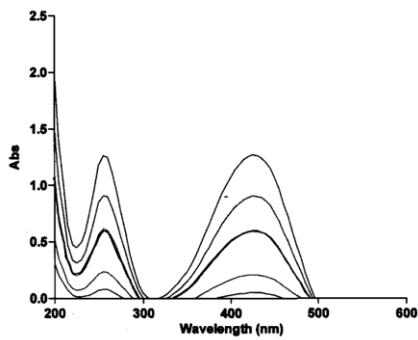
- Obarvený nápoj
- Plastová pipeta – kapátko
- Kyveta
- spektrofotometr

Postup

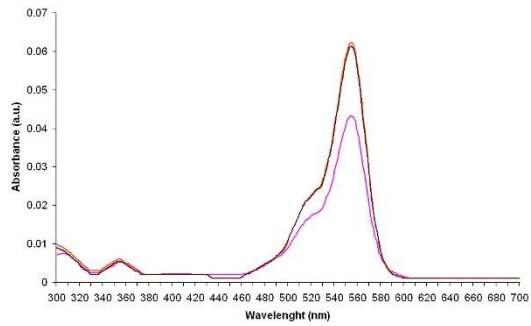
1. Změřte absorpční spektrum nápoje obarveného neznámými barvivy
2. Lokalizujte absorpční píky na přesných vlnových délkách u změřeného spektra
3. Porovnejte absorpční píky změřeného spektra a spekter z nabídky
4. Identifikujte, o která 2 barviva se jedná

Nabídka barviv

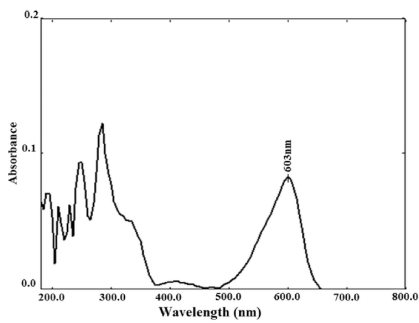
Tartrazine



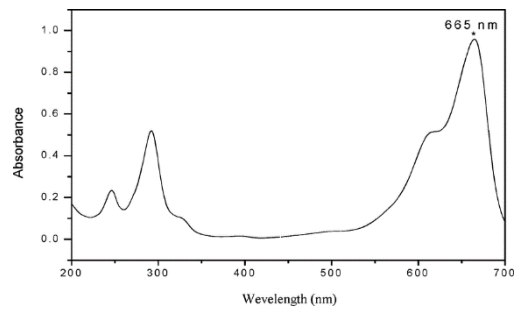
Rhodamine B



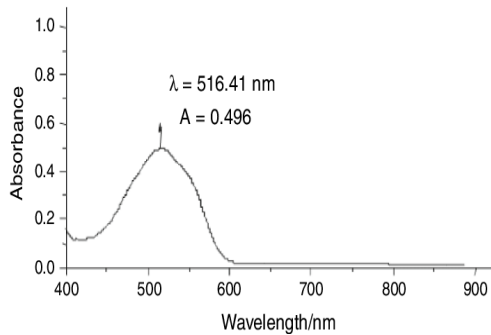
Indigocarmin



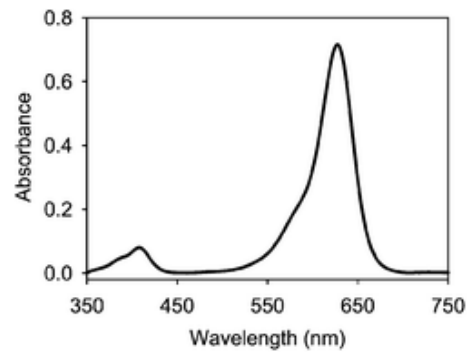
Methylenová modř



Azorubin



Brilantní modř



Závěr

Na základě změřeného absorpčního spektra jsme identifikovali, že pro obarvení nápoje byly použity barviva.....

Zdroje spekter využitých v úloze:

Tartrazine spectrum. Online. In: ResearchGate. 2016. Dostupné z: https://www.researchgate.net/figure/UV-Vis-Spectrum-of-different-concentration-of-Tartrazine_fig2_334297184. [cit. 2024-03-28].

The UV-VIS absorption spectra of rhodamine B (brown and orange lines) in the presence of the different concentration of E. coli proteins, respectively, and the UV-VIS absorption spectrum of rhodamine B in the absence of E. coli proteins (pink line). Online. In: PLOS. 2013. Dostupné z: https://plos.figshare.com/articles/figure/The_UV_VIS_absorption_spectra_of_rhodamine_B_brown_and_orange_lines_in_the_presence_of_the_different_concentration_of_E_coli_proteins_respectively_and_the_UV_VIS_absorption_spectrum_of_rhodamine_B_in_the_absence_of_E_coli_proteins_pink_line_/168546. [cit. 2024-03-28].

The absorption spectra of ABTS (70 μ M ABTS) and indigo carmine (20 mg/L) in 50 mM sodium acetate buffer at pH 4.5. Online. In: ResearchGate. 2015. Dostupné z: https://www.researchgate.net/figure/The-absorption-spectra-of-ABTS-70mM-ABTS-and-indigo-carmin-20mg-L-in-50mM-sodium_fig2_288918041. [cit. 2024-03-28].

Methylene blue spectrum. Online. In: ResearchGate. 2009. Dostupné z: https://www.researchgate.net/figure/Absorption-spectra-of-Methylene-Blue-50-mg-L-1-before-treatment_fig1_24410431. [cit. 2024-03-28].

Azorubin spectrum. Online. In: ResearchGate. 2021. Dostupné z: https://www.researchgate.net/figure/UV-Vis-absorption-spectrum-of-azorubine_fig5_349524242. [cit. 2024-03-28].

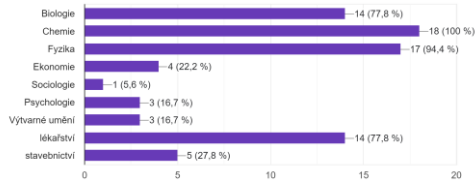
Brilliant blue spectrum. Online. In: Publishing. 2013. Dostupné z: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2013/ay/c3ay40362a>. [cit. 2024-03-28].

PŘÍLOHA 2: VÝSLEDKY DOTAZNÍKU

Dotazník odeslaný na začátku praktika:

Vyberte, v kterých oblastech se dá spektrofotometrie využít.

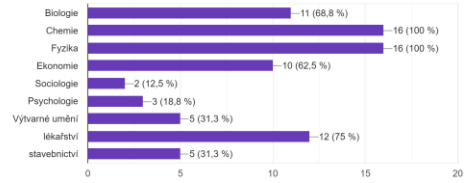
18 odpovědí



Dotazník odeslaný po skončení praktika:

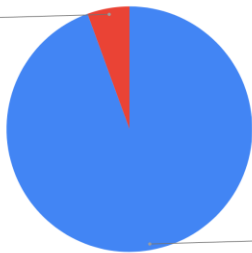
Vyberte, v kterých oblastech se dá spektrofotometrie využít.

16 odpovědí



Proč můžou emisní a absorpční spektra identifikovat prvky?

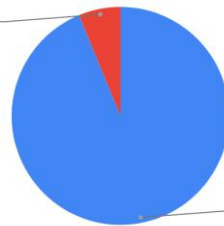
správně
5,6%



špatně
94,4%

Proč můžou emisní a absorpční spektra identifikovat prvky?

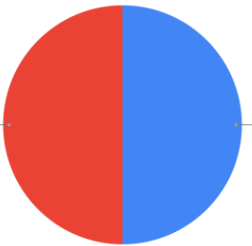
špatně
6,3%



správně
93,8%

Co jsou emisní spektra?

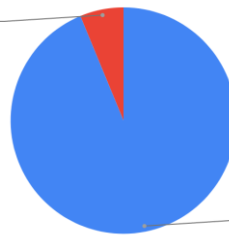
špatně
50,0%



správně
50,0%

Co jsou emisní spektra?

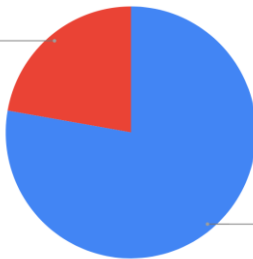
špatně
6,3%



správně
93,8%

Správně seřadte energie fotonů od fotonu s nejnižší energií do nejvyšší.

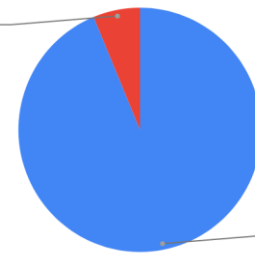
správně
22,2%



špatně
77,8%

Správně seřadte energie fotonů od fotonu s nejnižší energií do nejvyšší.

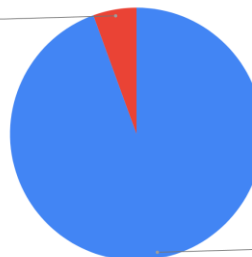
špatně
6,3%



správně
93,8%

Jaký typ spektra byste využili k Lambert-Beerovu zákonu?

správně
5,6%



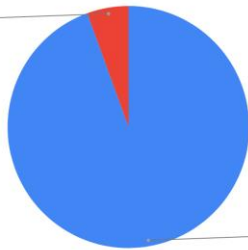
špatně
94,4%

Jaký typ spektra byste využili k Lambert-Beerovu zákonu?



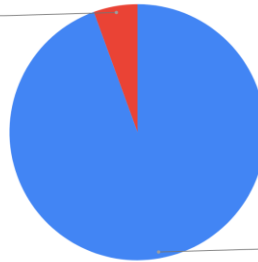
Jaké je minimum počtu vzorků o různé koncentraci k sestavení kalibrační křivky?

správně
5,6%



Jak byste využili spektrofotometrii v ekonomickém výzkumu?

správně
5,6%



Otázky kvantifikující spokojenost studentů:

Jak se vám líbila výuka se spektrometrem

1 2 3 4 5
Nejméně Brilantní



Chtěli byste spektrometr vidět i v běžné výuce na škole?

1 2 3 4 5
Určitě ne Rozhodně ano

