

STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Obor č. 2: Fyzika

Návrh a vytvoření levného 3D tištěného spektrofotometru

Jakub Endlicher
Jihočeský kraj

Žár 2024

STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Obor č. 2: Fyzika

Návrh a vytvoření levného 3D tištěného spektrofotometru

Design and development of a low-cost 3D printed spectrophotometer

Autor: Jakub Endlicher

Škola: Gymnázium Trhové Sviny, Školní 995, 374 01, Trhové Sviny

Kraj: Jihočeský kraj

Konzultant: Mgr. Václav Šebelík, Ph.D.

Žár 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 Žáře dne 31.1.2024

Jakub Endlicher

Poděkování

Především bych velmi rád poděkoval svému konzultantovi, Mgr. Václavu Šebelíkovi, Ph.D., za veškerý čas, který mi věnoval na konzultacích a opravách případných chyb v této práci. Dále bych také moc rád poděkoval své paní učitelce Mgr. Haně Kunzové za to, že mě a mé spolužáky skvěle vedla ve fyzice a vypěstovala tak ve mně lásku právě k optice.

Anotace

Teoretická část této práce se věnuje základům spektroskopie a fungování spektrofotometru. V praktické části práce je popsán postup výroby spektrofotometru pomocí Raspberry Pi, Raspberry Pi HQ kamery a 3D tisku. Dále je také popsáno grafické uživatelské rozhraní k programu, který byl vytvořen pro ovládání tohoto spektrofotometru v prostředí Python. V závěru jsou data obdržená vytvořeným spektrofotometrem porovnána s daty z komerčního spektrofotometru.

Klíčová slova

Spektrofotometr, spektroskopie, optika, RaspberryPi, HQ kamera, 3D tisk

Annotation

The theoretical part of this thesis is devoted to the basics of spectroscopy and spectrophotometers. In the practical part of the thesis, the creation of spectrophotometer using Raspberry Pi, Raspberry Pi HQ camera, and 3D printing is described. The graphical user interface of the program that was created to control this spectrophotometer is also described. Finally, the results are compared with the data obtained by the professional spectrophotometers.

Keywords

Spectrophotometer, spectroscopy, optics, RaspberryPi, HQ camera, 3D-printing

OBSAH

1	Úvod	8
2	Historie	9
3	Princip spektroskopie	9
4	Co to je spektrofotometr	11
5	Jak spektrofotometr funguje	12
6	Typy spektrometrů	14
6.1	Hranolový spektrometr	14
6.2	Mřížkový spektrofotometr	14
6.3	Echelle spektrofotometr	15
7	Druhy spektroskopie	15
8	Využití spektroskopie	17
9	Studentské spektrofotometry	18
10	Výběr komponent	18
10.1	Hranol vs mřížka	19
10.2	Počítač	19
10.3	Kamera	19
10.4	Zdroj světla	19
10.5	Štěrbina	20
10.6	Optika	20
10.7	Seznam použitých komponent	21
11	Jak funguje tento spektrofotometr	21
12	Software	22
12.1	Focení spektra a jeho následné zpracování	22
12.2	Převádění .raw obrázku na zpracovatelná data	24
13	Hardware	25
13.1	Dioda	25
13.2	Vytištění spektrofotometru na 3D tiskárně	26
14	Výsledné grafy a jejich porovnání s profesionálním přístrojem	26
15	Kalibrace	31
16	Popis uživatelského rozhraní	32
17	Závěr	34
18	Zdroje	35

19	Seznam obrázků.....	38
20	Sezam příloh.....	39

1 ÚVOD

Spektrofotometry, základní přístroje mnoha oborů, jako např. chemie, fyziky či biologie, jsou tradičně velmi drahé, což brání jejich dostupnosti pro vzdělávací instituce, popř. jejich využití přímo studenty v praktických hodinách, kde zaprvé není dostatečný počet těchto přístrojů a zadruhé hrozí poškození drahého vybavení studentem. S ohledem na tuto skutečnost se tato práce snaží prozkoumat návrh a vývoj cenově dostupného spektrofotometru s využitím technologie 3D tisku, co nejdostupnějších součástek a open-source programování, a to vše při zachování didaktického přínosu pro studenty. V práci je proto vysvětleno použití většiny komponent včetně jejich výhod a nevýhod v porovnání s jejich cenou.

První, teoretická, část práce objasňuje základní principy spektroskopie a vrhá světlo na interakci mezi elektromagnetickým zářením a hmotou. Je zde popsáno fungování různých druhů spektrofotometrů.

Další část se věnuje již vytvořeným studentským spektrofotometrům, jejich výhodám a nevýhodám a porovnání s tímto spektrofotometrem.

V praktické části jsou popsány veškeré funkcionality programu, který byl vytvořen pro fungování tohoto spektrofotometru. Dále je zde popsáno, jak na 3D tiskárně vytisknout veškeré části spektrofotometru, do kterých se umisťují čočky, kamera, deska Raspberry Pi, optická mřížka a štěrbinová žiletka.

2 HISTORIE

Již starověcí Římané věděli, že pomocí optického hranolu můžeme po průchodu bílého světla získat barevné spektrum. Neznali ale princip tohoto jevu – světlo pochází z bílé barvy, kterou můžeme opět získat složením rozloženého světla zpět, např. pomocí druhého hranolu. Mysleli si totiž, že barvy jsou pouze směsí světla a tmy, a že hranol bílé světlo obarvuje. (Clifford 2015)

Na to, že hranol bílé světlo neobarvuje, ale pouze rozkládá, přišel až sir Isaac Newton, když studoval světlo a optiku celkově. Své poznatky o disperzi světla publikoval ve svém díle *Optiks*. (Newton, Hemming 1704) Co tedy zjistil je, že hranol světlo neobarvuje, nýbrž ho pouze rozděluje do jeho jednotlivých spektrálních složek. Graf intenzit světla v těchto jednotlivých složkách ve spektroskopii nazýváme spektrem.

Do počátku 19. století se při veškerých pokusech se spektrem používaly hranoly. To však změnil Joseph von Fraunhofer, který vytvořil první difrakční mřížku, čímž v té době velmi zvýšil rozlišení spektra. Fraunhofer také objevil tzv. Fraunhoferovy čáry. To jsou absorpční čáry ve spektru slunečního světla. Původně si tento jev vysvětloval tím, že světlo zde přechází z jedné barvy do druhé. Později však bylo zjištěno, že tyto chybějící části spektra jsou způsobeny absencí fotonů přesně daných vlnových délek. Tyto fotony excitují prvky ve vnější části Slunce a jsou tedy pohlceny před dopadem na detektor. To tedy znamená, že Slunce částečně pohlcuje světlo, které samo vyzáří. Díky analýze slunečních spekter bylo objeveno mnoho prvků, které se nachází ve vnější části Slunce, která se souhrnně nazývá sluneční atmosféra. Takto bylo například objeveno helium, kdy v roce 1868 Pierre J. C. Janssen studoval při zatmění Slunce jeho koronu a objevil zde novou Fraunhoferovu čáru, která byla způsobena právě výskytem tohoto prvku. Jedná se o praktické využití spektroskopie pro identifikaci prvků, popř. molekul. Tento způsob se využívá dodnes jak na Zemi, tak i k identifikaci materiálů, které tvoří vzdálené planety a hvězdy. (Clifford 2015; Brand 1995)

V roce 1835 Charles Wheatstone vydal dílo, ve kterém ukázal, že podle světla vydaného jiskrou kovu lze s velmi vysokou jistotou určit druh kovu, který byl použit. Spektra byla sice podobná, ale dostatečně odlišná na to, aby se od sebe daly materiály rozeznat. (Bowers 2001; Murray, Street 1836)

3 PRINCIP SPEKTROSKOPIE

Spektroskopie je studium absorpce, emise, a rozptylu světla a jiných forem elektromagnetického záření. Je založena na rozdělení elektromagnetického záření na jednotlivé vlnové délky, tedy na jeho spektrum. Různé druhy spektroskopie jsou využívány v mnoha vědních oborech jako je například fyzika, chemie či biologie. (Chu, Stoner, Graybeal 2023)

Při absorpci fotonu atomem nebo molekulou je zásadní energie tohoto fotonu E . Tu můžeme vypočítat podle rovnice (1), kde h je Planckova konstanta a f podle rovnice (2) závisí na vlnové délce. Když je energie fotonu, který narazí do elektronu, rovna rozdílu energetických hladin

atomu nebo molekuly, elektron na nižší energetické hladině se excituje na vyšší energetickou hladinu a foton zanikne. Toto můžeme nazývat excitací atomu (popř. molekuly), nebo právě absorpcí fotonu.

$$E = h * f \quad (1)$$

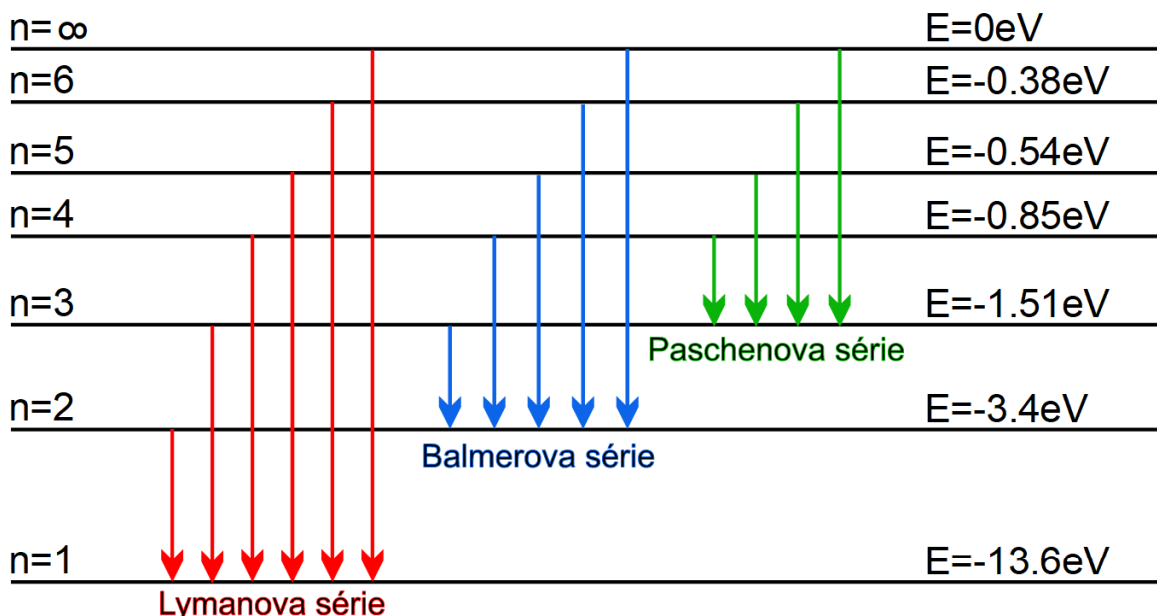
$$f = \frac{c}{\lambda} \quad (2)$$

V nejjednodušším možném případě, atomu vodíku, známe energii pro základní hladinu ($n=1$) $E_1 = -13.6 \text{ eV}$. Energii dalších hladin můžeme vypočítat jako $E_n = \frac{E_1}{n^2}$. Můžeme tedy dosadit toto E_n do původní rovnice a získat rovnici (3). Nemusíme tedy ani znát energii hladiny, do které elektron excitujeme.

$$\left(\frac{E_1}{n^2} - E_1\right) = \frac{hc}{\lambda} \quad (3)$$

Známe-li tedy absorbovanou vlnovou délku a energii první hladiny, můžeme zjistit na jakou hladinu atom či molekulu excitujeme.

Elektrony však nelze pouze excitovat. Když je necháme depopulovat na nižší energetickou hladinu, emitují foton o vlnové délce, kterou můžeme získat právě z rovnic (1) a (2), popřípadě z rovnice (3). Když elektron depopuluje na určitou hladinu, mluvíme o tzv. sériích. Nejjednodušší série se nazývá Lymanova série a jedná se o $n=1$, tedy když elektrony depopulují z hladin vyšších na 1. hladinu. Další série jsou naznačeny v obr.1.



Obrázek 1 Energetické hladiny vodíku

Po dosazení do rovnice (1) a (2) zjistíme, že Lymanova série se nachází mezi $\lambda = 91.175 \text{ nm}$ a $\lambda = 121.87 \text{ nm}$, Balmerova mezi $\lambda = 364.6 \text{ nm}$ a $\lambda = 656.3 \text{ nm}$ a Paschenova mezi $\lambda =$

820.4 nm a $\lambda = 1875 \text{ nm}$. Toto se může hodit, jelikož absorpční čáry jsou pro různé atomy a molekuly jedinečné. Známe-li tedy vlnové délky absorbovaného světla, můžeme zjistit, o jaký prvek se jedná. Pokud by tedy spektrum neobsahovalo $\lambda = 364.6 \text{ nm}$, ale zdroj ano, tak víme, že mezi zdrojem a detektorem se nachází vodík, který právě tuto vlnovou délku absorboval.

Mezi další způsoby, kterými může atom, či molekula ztratit, nebo naopak získat energii je vibrační a rotační excitace.

Rotační excitace: Molekuly jako takové mohou rotovat kolem osy, která prochází jejich těžištěm. Energie, s jakou rotují je kvantovaná, což znamená, že nemůže přejít na jakoukoli hodnotu, ale musí vždy být na specifické hodnotě. Stejně jako u klasické excitace můžeme i tuto vyvolat pomocí fotonů se specifickou vlnovou délkou. Tento typ excitace se ve spektroskopii využívá například u Ramanovské spektroskopie. (Ashfold, Cook 2003)

Vibrační excitace: Molekuly jsou tvořené atomy, které jsou spojené chemickými vazbami. Tyto vazby nejsou zcela pevné a můžou se tak natahovat, ohýbat, či kroutit. Energie s těmito pohyby spjatá je opět kvantovaná, takže může nabýt pouze určitých hodnot. Stejně jako u rotační a klasické excitace můžeme molekule dodat určitou energii a tím excitovat vibrační stav dané molekuly. Toto lze měřit například pomocí Ramanovské spektroskopie. (Bernstein 2014)

4 CO TO JE SPEKTROFOTOMETR

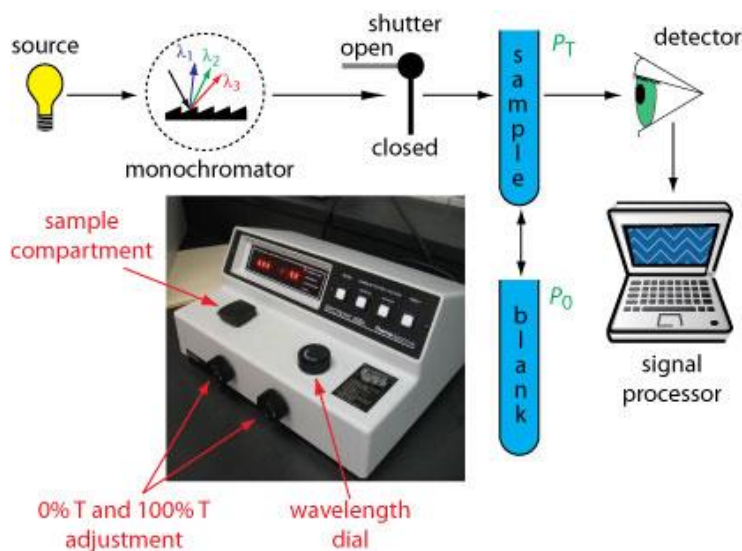
Spektrofotometr se skládá ze dvou základních částí: spektrometru a fotometru. Spektrometr slouží k emisi světla o určité vlnové délce a úkolem fotometru je vyhodnocení tohoto světla. (Tip Biosystems 2023)

Spektrometr se skládá ze zdroje světla a monochromátoru. Zdrojem světla může být např. i obyčejná led dioda. U profesionálních přístrojů to pak obvykle je xenonová, deuteriová nebo halogenová lampa. Jejich výhodou je spektrální rozsah, ve kterém jsou schopné emitovat světlo. Zdrojem může být také okolní přirozené světlo, to je ale velmi nestálé a pro určité případy zcela nefunkční (je možné s ním ale např. ukázat žákům nebo studentům spektrum pomocí jednoduchého spektrometru z papíru a CD disku). Monochromátor sestává ze vstupní štěrbinu a difrakční mřížky či optického hranolu. Zdroj světla záleží na typu spektroskopie. Tato práce se bude věnovat spektroskopii ve viditelné oblasti spektra. (Tip Biosystems 2023; Zacharioudaki, Fitis, Kotti 2022; Shimadzu 2009)

Fotometr obsahuje pouze detektor – kameru, fotodiodu apod. sloužící k detekci světla, které prošlo vzorkem.

Vzorek se nachází v kyvetě, která je umístěna mezi zdrojem světla a detektorem. Kyvety jako takové mají různé vnitřní rozměry, typicky 1 centimetr, nebo 1 milimetr. To znamená, že světlo prochází právě jedním centimetrem/milimetrem látky.

V neposlední řadě je nutný počítač, který slouží k zobrazení, zpracování a případnému uložení dat.



Obrázek 2 Jak spektrofotometr vypadá (Harvey 2013)

5 JAK SPEKTROFOTOMETR FUNGUJE

Spektrofotometr funguje tak, že když foton o určité vlnové délce narazí do elektronu určitého prvku, může být elektron excitován do vyšší energetické hladiny. Pokud se tak stane, foton je pohlcen – absorbován. Když je tento foton absorbován, nemůže být zaznamenán detektorem. Intenzita světla různých vlnových délek po průchodu vzorkem se tedy liší od intenzity světla těchto stejných vlnových délek před průchodem vzorkem. Tento rozdíl mezi intenzitami může být vyjádřen různými způsoby, např. transmitancí nebo absorbancí. Přesnější popis principu je popsán níže.

Nejprve musí zdroj světla vyzářit paprsek světla. Ten projde vstupní štěrbinou, která kontroluje množství světla, které do aparatury přichází. Čím menší je štěrbina, tím vyšší je spektrální rozlišení. Tento paprsek následně prosvěcuje kyvetu s referenčním vzorkem. Poté detektor zachytí spektrum tohoto referenčního vzorku, tzv. *blank*. Díky tomu získáme Φ_0 pro rovnici (4). (Glossary of Spectroscopy Terms 2017)

Poté do spektrofotometru vložíme kyvetu se zkoumaným vzorkem. Opět necháme prosvítit zdrojem světla a detekujeme dopadlé spektrum. Intenzita světla na druhém snímku bude menší, než na snímku prvním, jelikož část byla absorbována/rozptýlena právě naším vzorkem. Tak získáme Φ .

Následně můžeme vypočítat tzv. transmitanci τ , a to podle vzorce,

$$\tau = \frac{\Phi}{\Phi_0} \quad (4)$$

kde τ je transmitance, Φ_0 a Φ jsou původní světelný tok, tedy *blank* a světelný tok druhého snímku. Vzhledem k velkému rozptylu obdržných hodnot je vhodné použít logaritmus, neboli

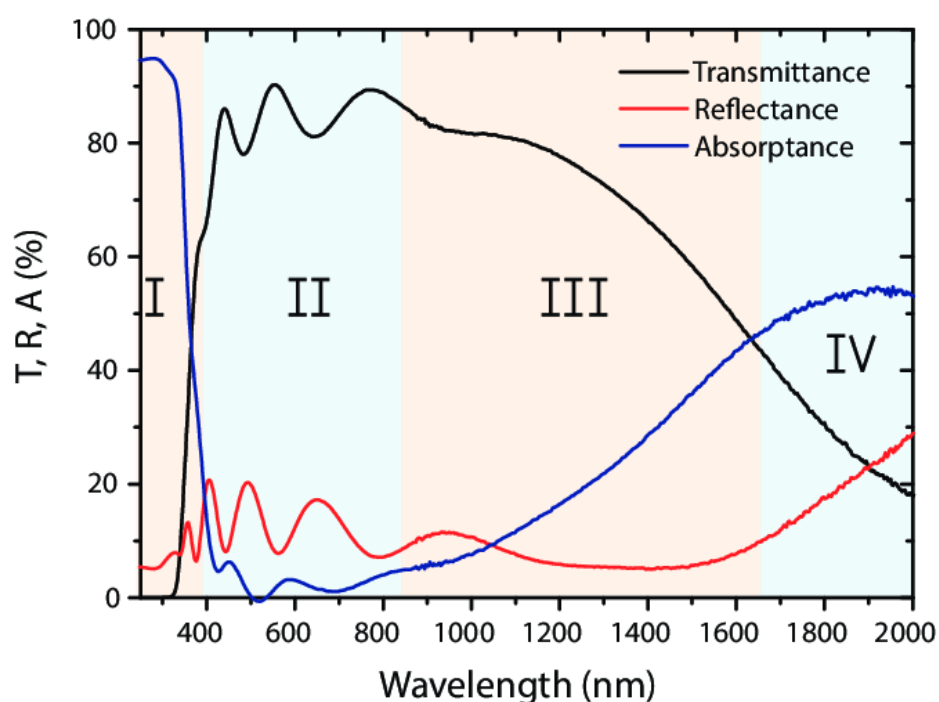
$$A = -\log(\tau) \quad (5)$$

Tím získáme absorpenci A , jinak řečeno, kolik a hlavně jakého světla náš materiál pohltí. Avšak je důležité zmínit, že ne všechno světlo, které vzorkem neprojde je absorbováno. Určitá část světla se odrazí. Platí totiž rovnice (6)-(8), ve kterých ρ je reflectance, τ je transmittance, A je absorptance a Φ_0 , Φ_r a Φ_A je po řadě světelný tok původní, odražený a absorbovaný. Tím pádem víme, že určitá část světla se vždy odrazí, a tudíž náš výsledek nebude přesný. U vzorků klasicky používaných ve spektroskopii (látka rozpuštěná v rozpouštědle, popř. pufru) je podíl reflektance zanedbatelný a výsledek měření absorpance tak může být brán jako správný.

$$\rho = \frac{\Phi_r}{\Phi_0} \quad (6)$$

$$A = \frac{\Phi_A}{\Phi_0} \quad (7)$$

$$\rho + \tau + A = 1 \quad (8)$$



Obrázek 3 Závislost transmittance, reflektance a absorpce světla na vlnové délce u ZnO (Fuchs 2017)

Důležitá není pouze změna světelného toku, nýbrž i v jaké vlnové délce je tato změna. Toto můžeme zjistit 2 způsoby: detekcí celého spektra naráz, nebo detekcí po jednotlivých vlnových délkách.

Detekce pomocí celého spektra: Náš zdroj musí být schopen vyzářit světlo v celé zkoumané vlnové délce. Světlo se nejprve na mřížce nebo pomocí hranolu rozloží na celé své spektrum, následně projde vzorkem a poté ho detektor zaznamená. Výsledkem je graf, který ukazuje závislost absorpance na vlnové délce světla. Výhodou tohoto přístupu je jeho rychlost.

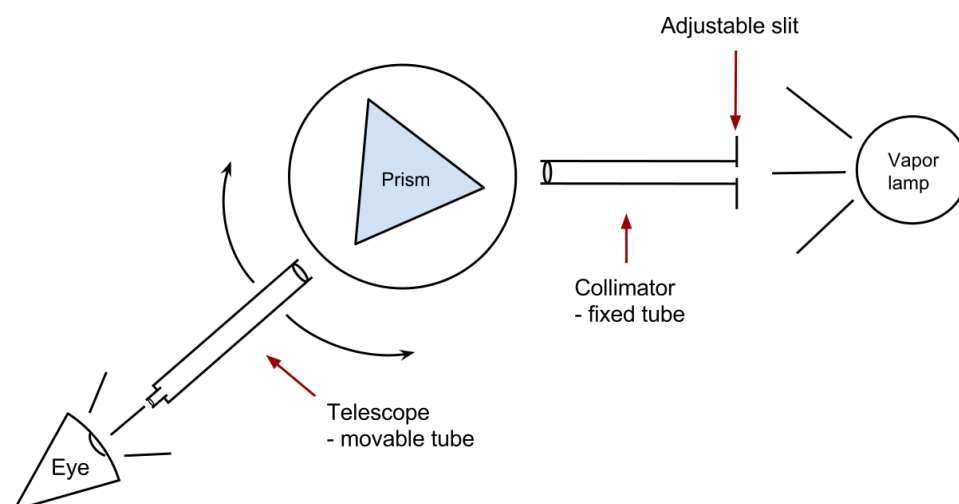
Nevýhodou je však nižší přesnost tohoto spektrofotometru. Ta je zapříčiněná tím, že mřížky jsou účinnější pro určité vlnové délky, tzv. *blaze wavelenght*, a velikostí jednotlivých pixelů, které spektrum snímají.

Detekce po jednotlivých vlnových délkách: Zde máme možnost buď využívat více zdrojů světla, kdy každý svítí pouze v určité oblasti vlnových délek (Vis, IR, ...), nebo použít pouze jeden zdroj světla. Tato metoda detekce je mnohem přesnější, avšak pokud chceme obdržet data v široké spektrální oblasti, trvá to mnohem déle, popřípadě získáme absorbanci pouze u části vlnových délek.

6 TYPY SPEKTROMETRŮ

6.1 Hranolový spektrometr

Hranolový spektrometr využívá pro rozklad světla na spektrum optický hranol. Ten může být z různých materiálů (většinou skel nebo krystalů), aby jím procházelo světlo spektrální oblasti, ve které chceme měřit. Dále se skládá z kolimátoru a teleskopu, které se mohou nezávisle na sobě otáčet díky goniometru. Hranolový spektrometr jako takový je velmi účinný, jelikož hranoly nabízí velkou propustnost světla. Není také nutné se zabývat odfiltrováním vyšších řádů maxim a minim jako u mřížkového spektrometru. Velkou nevýhodou naopak je nelineární disperze světla, která zapříčiňuje nižší rozlišení (obzvláště u vyšších vlnových délek) a složitější zpracování spekter. (Deepak 2014)

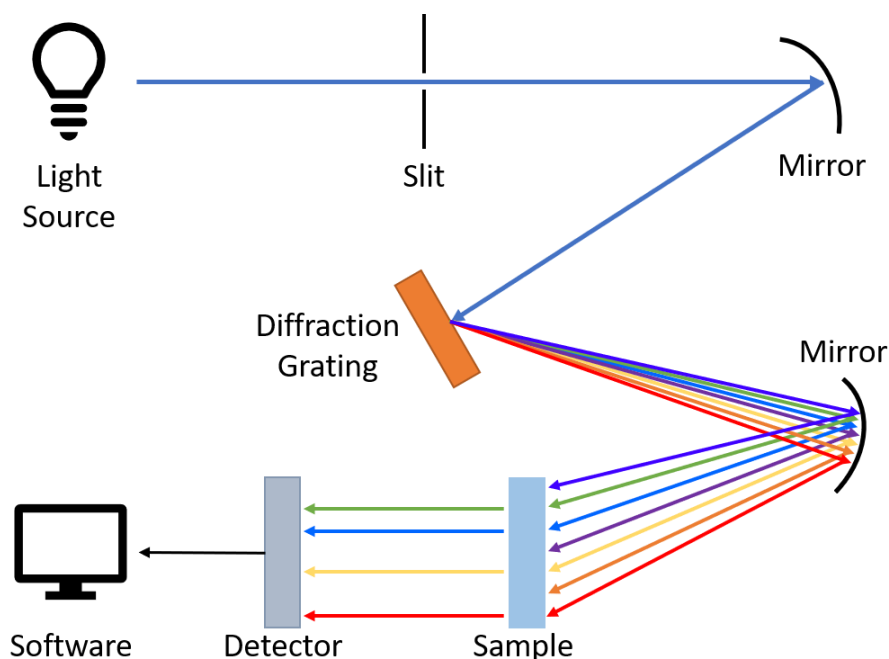


Obrázek 4 Hranolový spektrofotometr (Edenhofer 2015)

6.2 Mřížkový spektrofotometr

Na rozdíl od hranolového spektrofotometru, mřížkový používá k rozkladu světla optickou mřížku. Ta může být buď transmisní, nebo reflexní. Kromě mřížky je potřeba už jen zdroj světla a detektor, popřípadě optická soustava na pracování se svazky světla. Velkou výhodou tedy je jeho jednoduchost, jelikož nevyžaduje součástky jako goniometr. Výhodou mřížky také je fakt,

že si můžeme zvolit vlnovou délku ve které mřížka propouští největší množství světla. (Xuan Ng Ci 2020)



Obrázek 5 Mřížkový spektrofotometr (Xuan Ng Ci 2020)

6.3 Echelle spektrofotometr

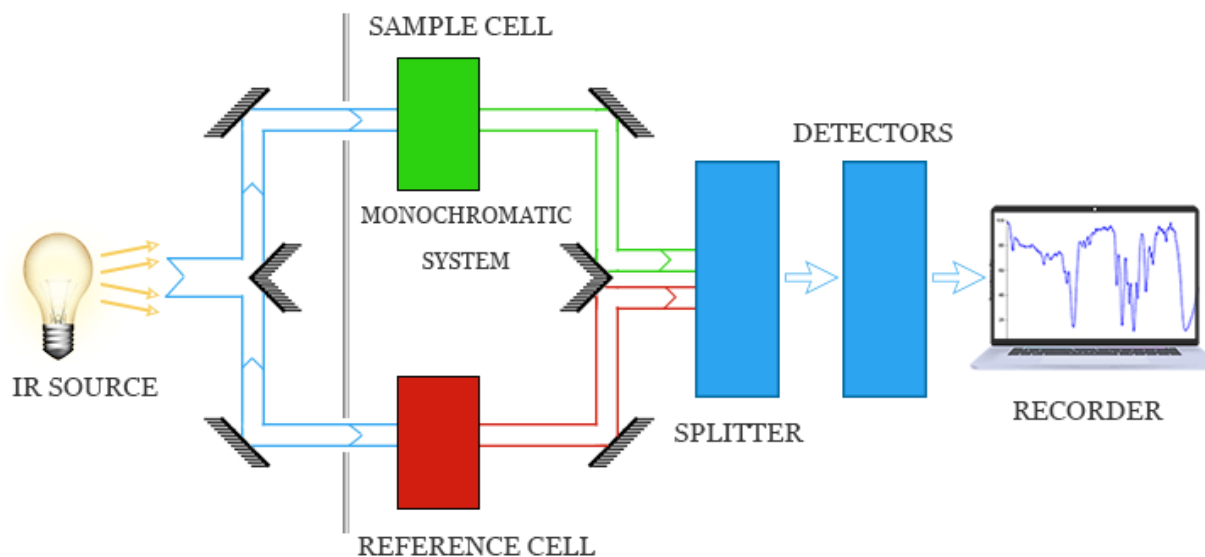
Echelle spektrofotometr funguje na principu rozkladu na echelle mřížce. To je odrazná mřížka, kde každá drážka má velikost zhruba vlnové délky, která na ni dopadá. Díky tomu dochází k difrakci světla. Výhodou je, že poskytuje několik řádů spekter, které se však překrývají. Pomocí další mřížky či hranolu lze spektra natáhnout tak, že se již nepřekrývají. Tento druh spektrofotometrů se hlavně využívá v astronomii k pořizování snímků hvězdných snímků.

7 DRUHÝ SPEKTROSKOPIE

Spektroskopie jako taková se rozděluje na několik různých podoborů převážně, v závislosti na tom, jaké světlo se využívá k osvětlení vzorku.

1. Infračervená (IR) spektroskopie

Měří relativní absorpci vzorku v IR spektrální oblasti. Lze ji využít k identifikaci molekulových vazeb a struktur ve vzorku, popř. k identifikaci organických sloučenin jako takových pomocí dipólového momentu. IR spektroskopie je zároveň hlavním nástrojem pro studium vibrací a rotací kovalentních vazeb v organických molekulách. (Tyner, Francis 2017)



IR INSTRUMENTATION

Priyamstudycentre.com

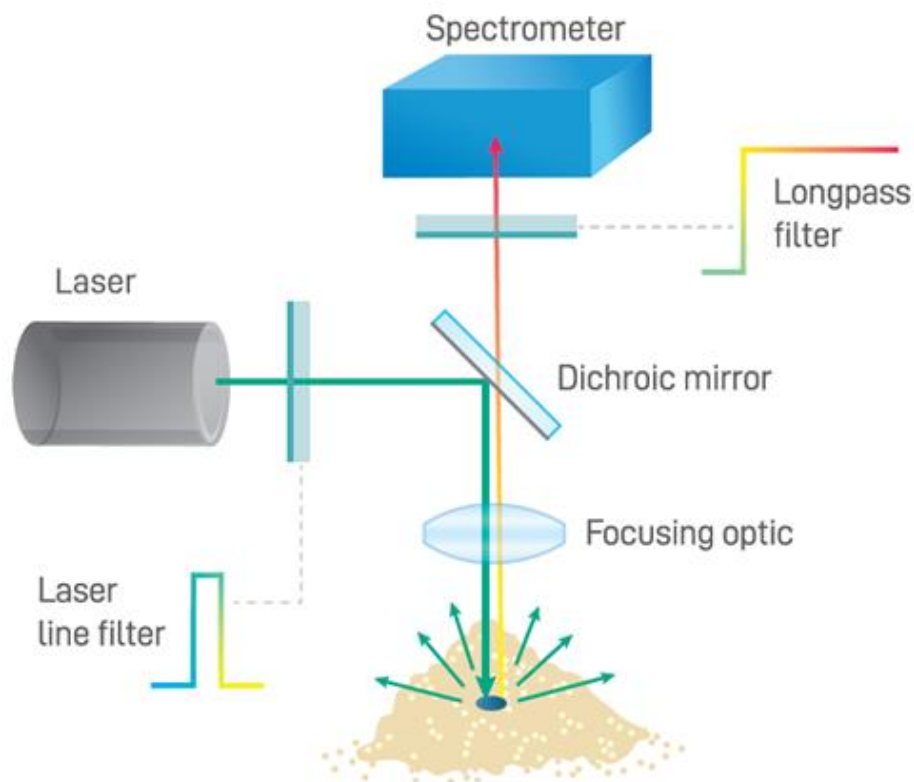
Obrázek 6 Jak funguje IR spektrofotometr (PSC Learning 2022)

2. Ultrafialová a viditelná (UV-Vis) spektroskopie

Touto metodou se měří absorpce látek ve viditelné a ultrafialové oblasti. Jedním z hlavních využití je identifikace látek v roztoku, měření koncentrací roztoků, stanovení čistoty látek a analýzy degradace vzorků. Mezi nevýhody tohoto přístupu patří, že jej nelze použít pro plyny či pevné látky, které jsou neprůsvitné. Další poměrně velký problém je ten, že změna pH, teploty či tlaku může změnit výsledek, a tak je potřeba tyto parametry udržovat mezi měřeními stejné. (Cook 2018)

3. Ramanova spektroskopie

Ramanova spektroskopie funguje tak, že laser vyšle světlo o určité vlnové délce. Když se toto světlo odrazí od vzorku, jeho energie se mírně změní. To je zapříčiněno tím, že tyto fotony interagují se vzorkem, a tak změní jeho vibrační či rotační excitaci. Toto odražené světlo je následně analyzováno spektrofotometrem. Výhodou tohoto přístupu je, že lze zkoumat nejen kapaliny, ale i páry či pevné látky. Nevýhodou je, že laser předává vzorku velkou energii a zvyšuje tak jeho teplotu, což vzorek může zničit. (Dong, Zhao 2017)



Obrázek 7 Jak funguje raman spektrofotometr (Wasatch Photonics 2023)

8 VYUŽITÍ SPEKTROSKOPIE

Spektroskopie je technika využívaná v mnoha vědních oborech. Zaměřuje se na zkoumání interakce elektromagnetického záření a hmoty. Mezi tyto interakce patří například absorpce, emise či odraz elektromagnetického záření. Díky spektroskopii lze také zkoumat vnitřní či vnější strukturu a vlastnosti různých látek.

Jeden ze způsobů využití je v astrofyzice. Zde se spektroskopie využívá ke zkoumání složení hvězd či planet. Každý prvek či jejich kombinace má svou určitou vlnovou délku na které vyzařuje, popř. absorbuje světlo. Toto spektrum si můžeme představit jako jedinečný otisk prstu tohoto prvku, či skupiny prvků.

Když změříme světlo, které je vyzářeno hvězdou, můžeme toto světlo rozložit a analyzovat tka složení dané hvězdy.

Něco podobného můžeme udělat i u planet. Nejprve musíme zjistit, jaké světlo vyzařuje nejbližší hvězda a poté se stačí podívat na světlo odražené od této planety. Tímto způsobem tedy můžeme zjistit složení povrchu planet vzdálených stovky a tisíce světelných let daleko. (Montes 2019; Richmond 2006)

Dalším využitím je spojení několika vědních oborů, a to konkrétně fyziky, chemie a biologie. Pomocí spektroskopie totiž můžeme zkoumat mnoho vlastností našich vzorků. Od optických vlastností, kdy zkoumáme, jaké světlo vzorkem projde a jaké ne, po například zjištění z jakých

prvků se vzorek skládá. Velkou výhodou spektroskopie oproti ostatním přístupům, jako například chemická analýza, ke zkoumání složení je to, že se vzorek neponičí, jde tedy o neinvazivní metodu. Můžeme tak tedy zkoumat například staré obrazy, ze kterých nemůžeme odebírat vzorky. (Malcolm 2015)

Dále se spektroskopie využívá při monitorování životního prostředí. Analyzují se stopové prvky ve vzduchu, vodě, půdě i v živočiších. Toto je důležité pro kontrolování kvality životního prostředí, ale i toho, co jíme. Některé systémy jsou natolik přesné, že jsou schopny detekovat i jednotky molekul, toho je avšak poměrně těžké docílit. (Ong, Blanch, Jones 2020; Zacharioudaki, Fitis, Kotti 2022)

Velmi důležité je také využití ve farmacii. Měření na různých vlnových délkách můžeme měřit míru absorpce, a tudíž zjistit složení léků. To je důležité převážně pro kontrolu kvality těchto léků, jelikož i malá změna složení může mít velké následky. (Hammond 2014)

9 STUDENTSKÉ SPEKTROFOTOMETRY

Mnou navržené a zkonstruované zařízení samozřejmě není prvním spektrofotometrem, který byl vytvořen za účelem co nejnižší ceny a k edukačním účelům. Takové spektrofotometry byly například publikované ve článcích *Journal of Chemical Education* (Chng, Patuwo 2021; Bougot-Robin et al. 2016), či jeden vyrobený na *Universität Osnabrück* (Osterheider et al. 2022).

První dva zmíněné nedetekují celé spektrum, ale pouze jednu vlnovou délku pomocí fotodiody. Třetí spektrofotometr k detekci také využívá fotodiody, avšak ne pouze jednu, ale celou matici fotodiod. Toto umožňuje detekovat celé spektrum naráz. Tento přístup je použit v mém spektrofotometru. K detekci však nepoužívám fotodiody, nýbrž kameru HQ Cam pro Raspberry Pi.

Rozdíl mezi spektrofotometry je i v druhu spektrofotometru jako takovém. První dva jsou velmi podobné mému spektrofotometru, ale druhý je tzv. Czerny-Turner spektrofotometr. Ten využívá konkávní zrcadla a rozklad odrazem. Nevýhodou zrcadel je jak jejich cena, tak i fakt, že pracovat se zrcadly může být v některých případech složitější. Zrcadla světlo totiž odrážejí, kvůli čemuž musí být veškeré komponenty umístěné vedle sebe, což je složitější na modelování.

10 VÝBĚR KOMPONENT

Při stavbě mého přístroje bylo nutno brát ohled na dostupnost všech komponentů, a to jak cenovou, tak i možnost jejich sehnání.

10.1 Hranol vs mřížka

Vzhledem k cenové dostupnosti byl výběr v této kategorii poměrně jednoduchý, jelikož hranoly jsou mnohem dražší než mřížky. I přesto ale stojí za to se podívat na výhody a nevýhody obou součástí.

U hranolů dochází k tzv. nelineární disperzi světla, což znamená, že úhel lomu závisí nelineárně na vlnové délce. Kvůli tomu je potřeba matematicky upravit výsledná spektra. Na druhou stranu propustnost hranolu je mnohem vyšší (více, než 90 %), než propustnost mřížek (maximálně 70 %). Další výhodou hranolu je, že oproti mřížce se zde nepřekrývají řády obrazu. (Nolan, Condello 2013)

Výhody mřížky jsou nejen lineární disperze či nízká cena, ale také fakt, že zde můžeme zvolit tzv. „*blaze wavelength*“. To znamená, že můžeme zvolit spektrální oblast, ve které bude náš přístroj nejčastěji pracovat a v této spektrální oblasti bude mřížka nejefektivnější. Mezi nevýhody patří dříve zmíněná nižší propustnost mřížek, či například fakt, že se její řády překrývají. (*Determination of the Blaze Wavelength* 2023)

10.2 Počítač

Při výběru zařízení na zpracování dat se nabízely 2 možnosti – Arduino, nebo právě RaspberryPi. Výhodou počítačů Arduino je to, že jsou cenově přívětivější. Jejich nevýhodou je však jejich výkon. RaspberryPi mají mnohem větší výkon než Arduina, což hrálo největší roli při výběru počítače pro tento přístroj, jelikož práce se snímky je procesorově poměrně náročná a Arduino by mohlo mít problémy se zpracováním velkých snímků. Dalším důvodem pro výběr tohoto počítače byla možnost využití RaspberryPi kamery, jejíž výběr je popsán v následujícím odstavci

10.3 Kamera

Výběr kamery byl poměrně jednoduchý. Nabízely se opět 2 možnosti. Využití kamerového modulu přímo od RaspberryPi, nebo využití fotodiody, popřípadě fotodiodového pole. Jelikož fotodiody ani jejich pole nejsou schopny rozpoznat barvu světla jako takového, byl zvolen modul HQ kamera RaspberryPi. Vidění jak intenzity světla, tak jeho barvy bylo důležité nejen pro pozdější kalibraci, ale také například pro studenty, pro které je důležité, když přímo vidí, jaká barva byla absorbována. Dalším důvodem využití kamery je ten, že může být využita i k jiným účelům, na rozdíl od fotodiodového pole, které má poměrně úzké využití.

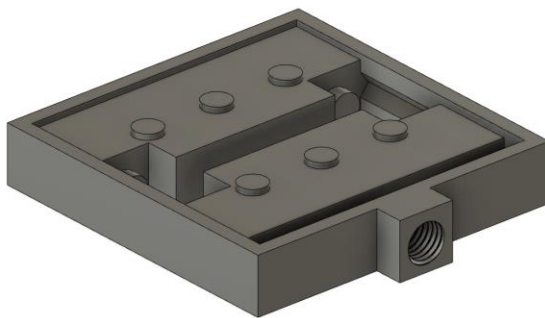
10.4 Zdroj světla

LED jako taková se nevybírala s žádnou specifikací, nejdůležitější bylo, aby dioda svítila v rozmezí 400-600 nm, a zároveň aby bylo světlo silné. Právě u intenzity světla byl problém

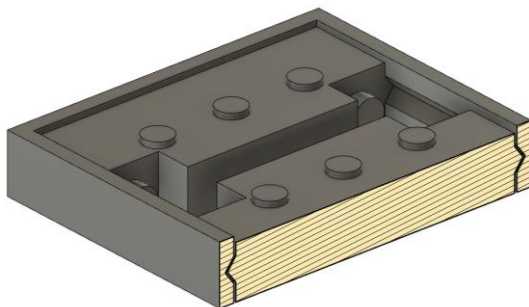
ten, že RaspberryPi má sice výstup jak na 3.3 V, tak na 5 V, ale 5V výstup není možné ovládat – vypínat a zapínat. Jelikož bylo požadováno, aby dioda svítila co nejvíce, použil se tedy 5 voltový obvod, který se vypínal a zapínal pomocí 3.3 voltového výstupu přes tranzistor.

10.5 Štěrbina

Štěrbina je vytvořena pomocí vytisknutých součástek, žiletek a pružin. Ačkoli jsou vytisknuté součástky pohyblivé, díky technologii 3D tisku je můžeme vytisknout najednou tak, že do sebe přímo zapadají a nedají se rozebrat. Následně již jen stačí přidat pružiny tak, aby rozevíraly 2 strany štěrby od sebe a přilepily žiletky na vrchní stranu štěrby.



Obrázek 8 Štěrbina



Obrázek 9 Štěrbina – průřez

10.6 Optika

Vybírání optiky bylo asi nejsložitější. Nejprve bylo potřeba rozhodnout, jestli využít čočky, nebo zrcadla, popřípadě jejich kombinaci. Zde sice hrálo roli několik faktorů, jako například nižší absorpce světla zrcadly, či fakt, že ohnisková vzdálenost u čoček závisí na vlnové délce světla. Největší roli však nakonec hrála cena a jednoduchost použití čoček. Jelikož zrcadla světlo odrážejí, je nutné mít veškeré komponenty na jedné straně od zrcadla. Z tohoto důvodu je velmi složité model vytvořit a bylo by nutné, aby byl model větší, což by zvýšilo konečnou cenu, a také by byl spektrofotometr mnohem méně praktický. Z těchto důvodů jsou v celém spektrofotometru nakonec využity čočky.

Dále bylo u optiky potřeba rozhodnout, jestli využít čočky cylindrické či sférické. Pro využití v tomto spektrofotometru neměly sférické čočky žádnou výhodu. Naopak cylindrické čočky

mají tu výhodu, že můžeme spektrum nechat svítit přes celý senzor kamery. Následně můžeme vytvořit průměr světla v celé výšce senzoru, a tím zvýšit kvalitu výsledného spektra.

10.7 Seznam použitých komponent

Komponent	Cena	Odkaz
Mřížka	400 Kč	mřížka
Počítač	2000 Kč	RaspberryPi
Kamera	1500 Kč	HQ kamera
Zdroj světla	Do 50 Kč	LED
Optika (1)	2500 Kč	čočka 1
Optika (2)	2500 Kč	čočka 2
Celková cena	9000 Kč	

Tabulka 1 Seznam komponent

11 JAK FUNGUJE TENTO SPEKTROFOTOMETR

Na obrázku 10 můžeme vidět veškeré komponenty (označené 1-7), ze kterých se přístroj skládá.

Číslo 1 - deska s diodou, která svítí na vzorek a senzor kamery

Číslo 2 - štěrbinu, která propouští pouze úzký svazek světla

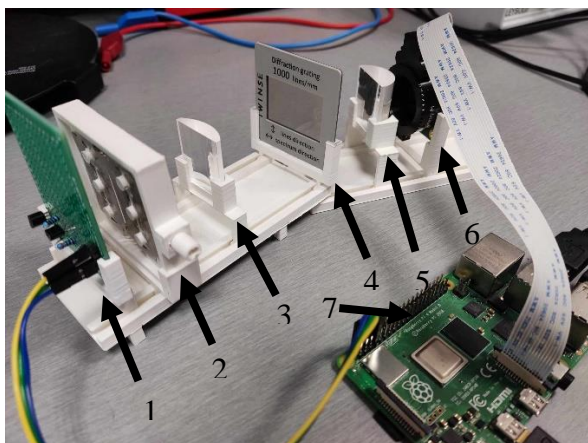
Číslo 3 - první čočka sloužící ke kolimaci světla ze štěrbinu

Číslo 4 - mřížka, která rozkládá světlo na spektrum

Číslo 5 - další čočka, která zaostřuje světlo na detektor

Číslo 6 - kamera sloužící k detekci světla

Číslo 7 - RaspberryPi počítač, který ovládá komponenty jako diodu a kameru a zároveň vyhodnocuje veškerá data



Obrázek 10 Popis spektrofotometru

Nejprve pomocí ovládání v přiloženém programu vytvoříme první snímek. Jako první se rozsvítí dioda. Poté světlo pokračuje přes štěrbinu, která propustí pouze úzký pruh světla. Ten se následně na první čočce zkolimuje. Zkolimované světlo pokračuje přes vzorek rovnou na mřížku, kde se rozloží na jednotlivé vlnové délky. Toto světlo následně projde druhou čočkou, která ho zaostruje na senzor. Poté se již jen vypne dioda a následuje softwarové zpracování.

Senzor nefotí pouze jeden snímek, ale dva. První vytvořený snímek je formátu *.raw* a jedná se o černobílý snímek obsahující intenzitu dopadlého světla. Tento snímek se následně zpracovává, jelikož obsahuje většinu důležitých informací. Druhý vytvořený snímek je formátu *.jpeg*, či formátu *.png*. Tyto snímky slouží pouze k zobrazení barevného obrázku na obrazovce. Je z nich sice možné přibližně vyčíst, jaké světlo bylo absorbováno, ale kvůli algoritmům, které byly na snímky při vytvoření aplikovány není možné je využít pro vytvoření grafů absorbance či transmitance.

12 SOFTWARE

Software byl vytvořený pro ovládání spektrofotometru a zobrazování dat z něj. Je psaný v prostředí Python 3. Slouží k ovládání RaspberryPi, kamery a diody. Kód má několik částí rozdělených do přibližně 40 funkcí. Mezi ty nejdůležitější patří focení spektra a pozadí, rozsvícení diody, analýza snímku a vytvoření grafu.

12.1 Focení spektra a jeho následné zpracování

K focení snímku, tedy spektra, se využívá knihovny *picamera2*.

```
picam2.set_controls({"ExposureTime": int(current_exp), "AnalogueGain":
float(current_gain)})
time.sleep(1)
for _ in range(1):
    picam2.capture_array('raw').tofile(file)
```

Nejprve se nastaví kamera, tedy *doba expozice* a *gain*. Doba expozice slouží k nastavení toho, jak dlouho se bude snímek fotit. Nastavuje se v milisekundách a je možné ho měnit přímo

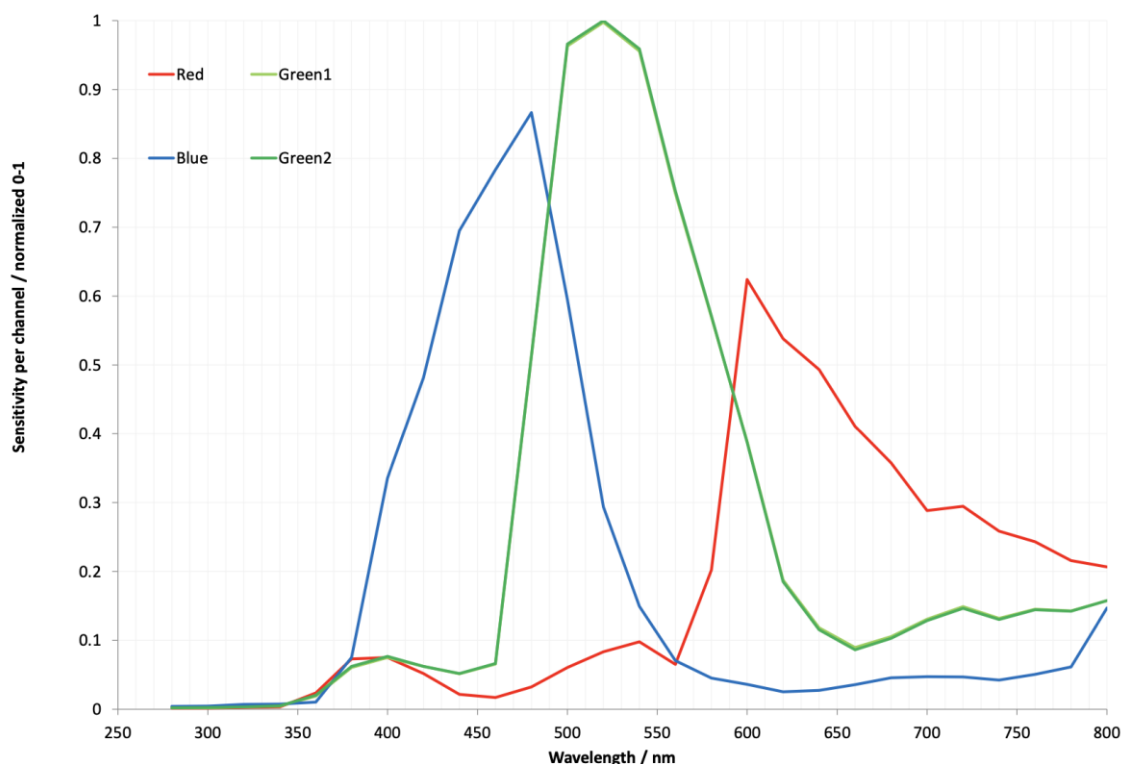
v programu pomocí kolonky „*Exposure time*“. Gain nastavuje citlivost senzoru na světlo, čím vyšší je gain, tím citlivější senzor bude. Opět se dá nastavit přímo v programu pomocí kolonky „*Gain*“.

Exposure time (10 - 100000)	15000
Gain (1 - 20)	3

Obrázek 11 Nastavení doby expozice a gain

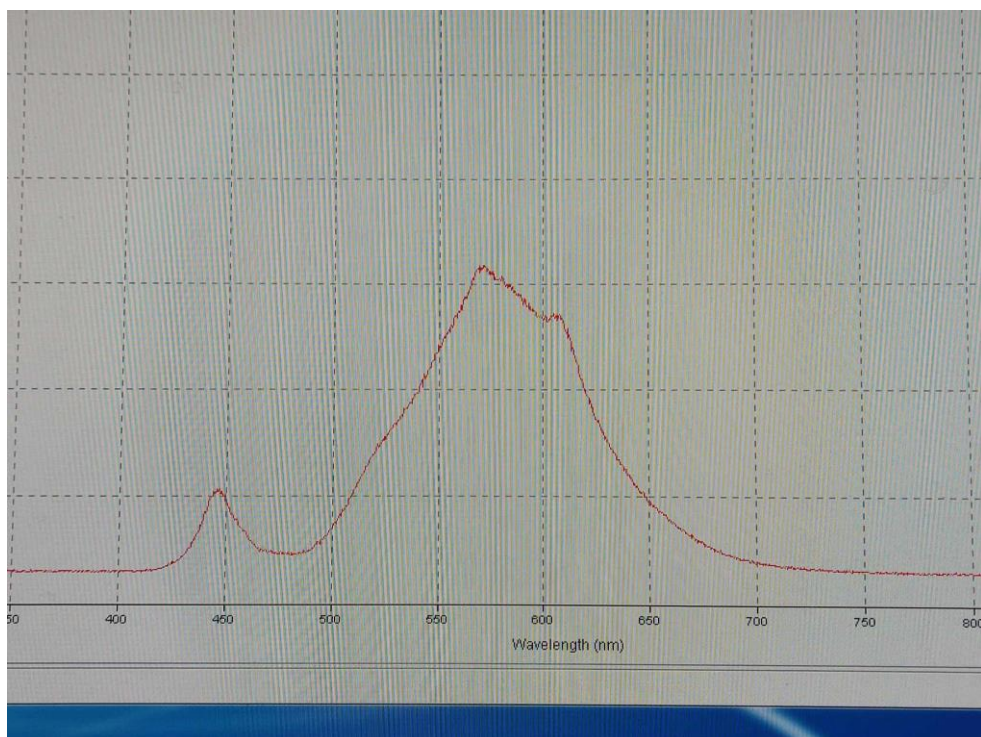
V závorkách se nachází hodnoty, mezi kterými je kamera schopná pracovat. Pokud uživatel zadá hodnoty mimo tento interval, program je automaticky upraví na maximální, popřípadě minimální hodnotu.

Dále už program pomocí funkce `picam2.capture_array(,raw')` vytvoří snímek ve formátu `.raw`. Tento formát je využit z toho důvodu, že na něj není aplikován žádný algoritmus na snížení jeho velikosti a tím pádem i kvality. Díky tomu si můžeme být jisti, že graf, vytvořený ze zachyceného spektra, je co nejpřesnější za daných podmínek.



Obrázek 12 Relativní odezva HQ kamery v závislosti na vlnové délce světla (Raspberry Pi Documentation - Camera)

Jak můžeme z obrázku 12 vyčíst, HQ kamera nejlépe detekuje v rozmezí přibližně 400–700 nm. I v tomto rozmezí má však nepřesnosti. Ty se objevují na přechodu mezi barvami, kdy kamera musí detekovat více barev a není tudíž natolik přesná, jako při detekci jednotlivých barev.



Obrázek 13 Graf intenzity světla led v závislosti na vlnové délce

Na obrázku 13 je na druhou stranu vidět graf intenzity světla použité LED diody v závislosti na vlnové délce světla. Z tohoto grafu je poznat, že dioda svítí v rozmezí 500-650 nm. Je tedy potřeba, aby kamera snímala alespoň toto rozmezí. Pokud bude snímat širší rozmezí než 500-650 nm, přicházeli bychom zbytečně o spektrální rozlišení.

Po vytvoření dvou snímků – *blank* a *sample* je potřeba data zpracovat. Jelikož je ve spektrofotometru využito cylindrických čoček, spektrum je horizontálně roztažené přes celý senzor, díky čemuž může být světlo zachyceno celým senzorem. Z tohoto důvodu můžeme vytvořit průměr veškerých hodnot pod sebou, čímž omezíme šum na kameře a grafy budou přesnější. Toto program udělá jednoduše pomocí příkazu *np.mean*, který vytvoří průměr veškerých hodnot, které mají stejnou x-ovou hodnotu.

Grafy vytvořené pod obrázky indikují pouze intenzitu světla. Následně můžeme pomocí vzorců pro absorpenci (5) a transmitanci (4) vytvořit finální grafy. Tyto grafy musíme posunout do měřeného rozmezí. To se měří pomocí kalibračního programu a zbytek už dělá program sám. Při vytváření grafu tedy osu *x* posune na správné místo, aby se na výsledném grafu nacházely peaky¹ na přibližně správných vlnových délkách.

12.2 Převádění .raw obrázku na zpracovatelná data

Obrázek ve formátu .raw, který kamera vytvoří, nelze zobrazit pomocí klasického prohlížeče a v RaspberryPi nelze otevřít bez stažení aplikace navíc. Je tedy potřeba obrázek otevřít jako

¹ peak je zde chápán jako lokální maximum v grafu

array z knihovny *numpy* pomocí datového typu *uint8*. To pouze znamená, že každá informace má přiřazených právě 8 bitů neboli 1 byte. Hodnoty tohoto bytu mohou být 0-255.

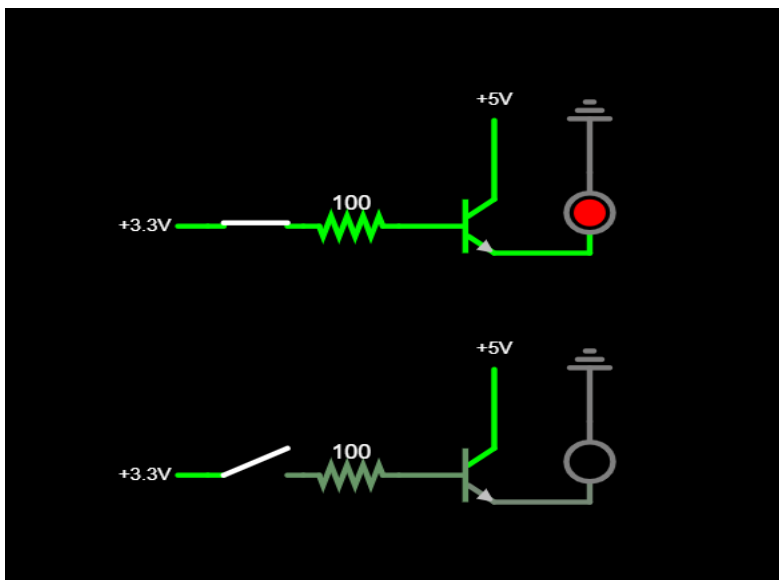
```
img_arr = np.frombuffer(raw_img, np.uint8)
```

Zde nastává menší problém, jelikož snímek vytvořený pomocí `picam2.capture_array()` je formátu 12 bitů, neboli 1.5 bytu. Zobrazování 12bitového snímku a jeho zpracování je poměrně složité nejen na programování, ale je to náročné i pro počítač. Proto jsem se z důvodu zrychlení programu rozhodl využít snímek 8bitový. Vezmu tedy 3 byty (každý po 8 bitech), ty převedu na 2 12bitové pixely, vytvořím jejich aritmetický průměr a ten opět převedu na 8bitový byte. Vzniklé číslo je tedy opět v rozmezí 0-255, tedy v 8bitovém formátu². Nejen že se takto zmenší objem dat 3násobně, ale zároveň je mnohem jednodušší pracovat s 8bitovým souborem než s 12bitovým.

13 HARDWARE

13.1 Dioda

Po hardwarové stránce není spektrofotometr složitý. Jediná složitější část je zapojení diody. Zde jsem se rozhodl využít 5V výstupní pin na RaspberryPi. Tento pin však nelze vypínat a zapínat přímo a musí se tedy ovládat pomocí 3.3V výstupu. K tomuto lze využít tranzistor a toto jednoduché zapojení v obrázku 14. V tomto zapojení je využit NPN tranzistor, který má na kolektor zapojený 5V vstupní pin, k bázi je připojen přes rezistor 3.3V vstupní pin (vypínač je zde proto, aby imitoval funkci vypínání a zapínání tohoto vstupu, v opravdovém obvodu není potřeba) a na emitor se již nachází dioda v propustném směru a za ní je uzemňovací pin.



Obrázek 14 Zapojení diody

² Ještě je potřeba zmínit, že číslo je potřeba také zaokrouhlit na nejbližší celé číslo, jelikož počítač neumí pracovat s hodnotou barvy, která není celé číslo

Piny je ještě potřeba správně připojit k RaspberryPi. K tomu slouží takzvaný *pinlayout*, který má každá deska jiný, ale na mé desce, tedy RaspberryPi 4 8GB je 5V 2. pin, GRND 6. pin a výstupní 3.3V pin má číslo 7. Pokud bude tento 3.3V pin jiný, je potřeba v kódu tuto hodnotu upravit. Na 14. řádce kódu se nachází příkaz *output_pin = 7*. Zde stačí číslo 7 přepsat na jiný výstupní pin a program bude diodu automaticky zapínat a vypínat při pořizování snímků.

13.2 Vytištění spektrofotometru na 3D tiskárně

Veškeré držáky komponent byly vytištěny na 3D tiskárně. K tomuto je potřeba veškeré držáky nejprve nahrát do libovolného sliceru, což je program, který z 3D modelu vytvoří soubor, tzv. gcode, jež může být tiskárnou přeložen do souboru rozkazů. Mnou používaný slicer se nazývá „Ultimaker Cura“. Veškeré 3D modely stačí do programu nahrát a zmáčknout tlačítko „Slice“ v pravém dolním rohu. Program následně vytvoří gcode, který stačí už jen nahrát do 3D tiskárny a spustit tisk.

Je možné, že některé modely, jako například držáky čoček, budou potřebovat podpěry pro správný tisk. V programu Cura stačí pouze zaškrtnout tlačítko „Generate Support“ a program veškeré potřebné podpěry vytvoří.

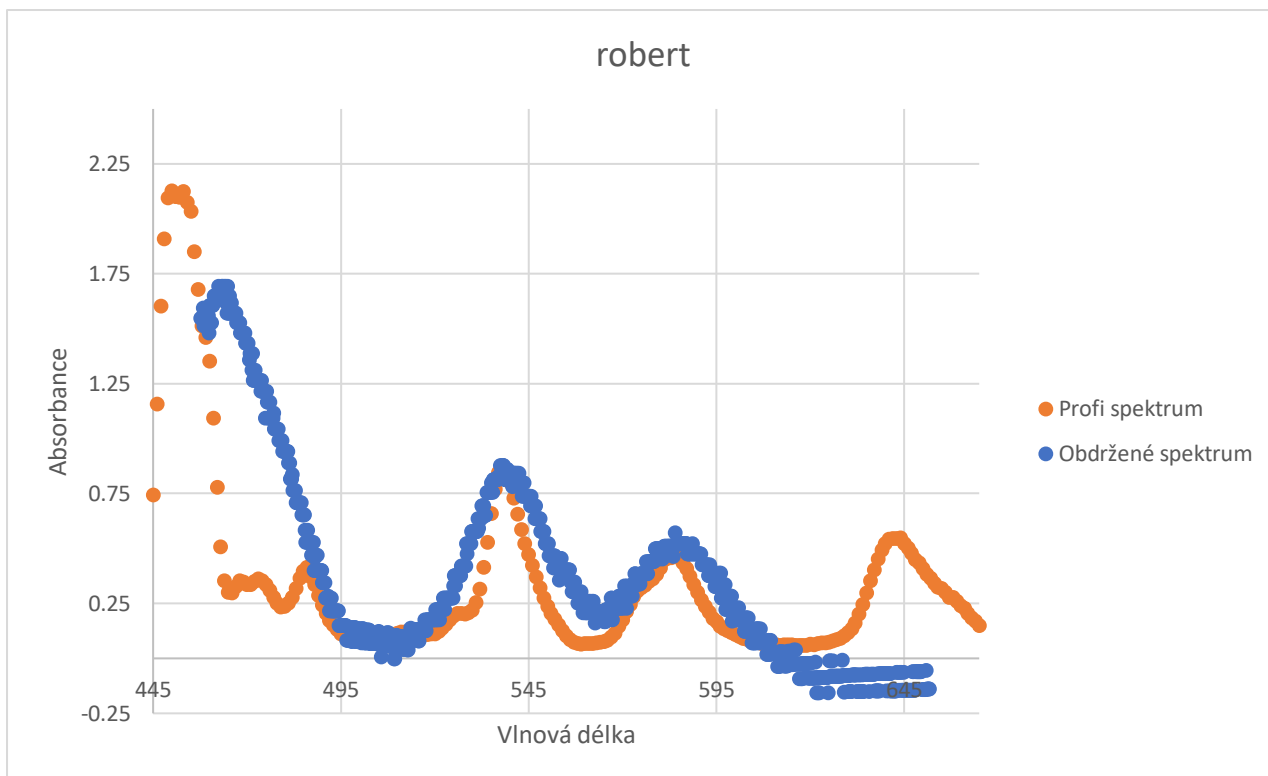
Po případném odstranění podpěr jsou veškeré modely připraveny k sestavení. Držáky stačí pouze zasunout do hlavního držáku a vše je tímto sestaveno.

14 VÝSLEDNÉ GRAFY A JEJICH POROVNÁNÍ S PROFESIONÁLNÍM PŘÍSTROJEM

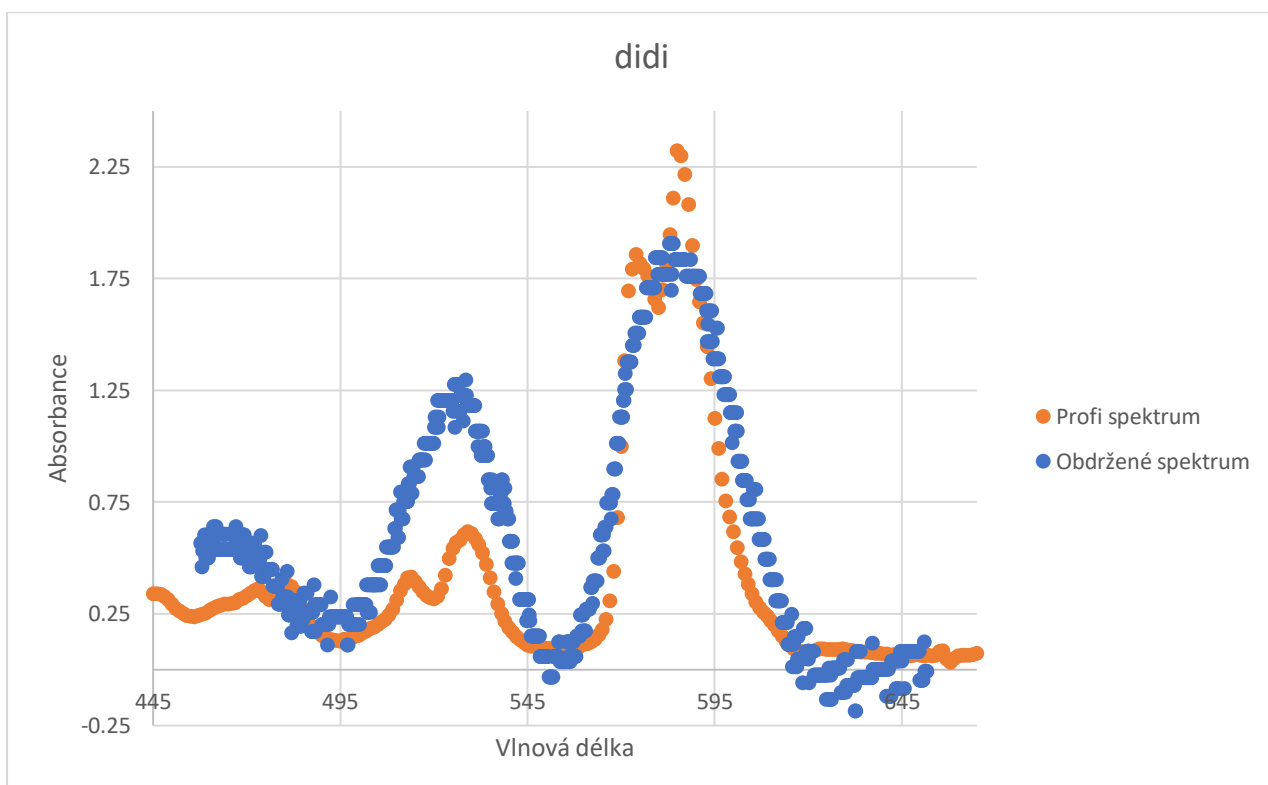
Jak je v grafech níže vidět, obdržená data jsou kvalitativně porovnatelná s daty z profesionálních přístrojů. Největším problémem zde je fakt, že spektrofotometr sám nepozná, v jaké vlnové délce se pohybuje. Toto je potřeba dopočítat například pomocí tzv. *peaků*, což jsou lokální maxima spekter. Pomocí rovnice (9), kdy x_1 je naměřená hodnota na ose x pro peak a x_2 je vlnová délka, kde by se tento peak měl nacházet můžeme zjistit hodnoty p , což je posun, o který musíme celý graf posunout a n , což je hodnota, o kolik musíme graf roztáhnout, popřípadě zúžit.

$$(x_1 + p) * n = x_2 \quad (9)$$

Pro hodnoty zde naměřené bylo $p = 2387$ a $n = 0.2$. Dle získaných dat jde vidět, že spektrofotometr měří od přibližně $\lambda = 450\text{nm}$ až po $\lambda = 650\text{nm}$, což je jen o něco méně, než je celé viditelné spektrum světla. V tomto rozmezí je poměrně dost přesný a můžeme tedy očekávat, že když vidíme peak na 530 nm, látka zde bude světlo opravdu absorbovat. Přesnost se snižuje na krajích spekter, ale to převážně kvůli tomu, že intenzita světla je zde nižší a zároveň zde senzor kamery má větší problém detekovat světlo.



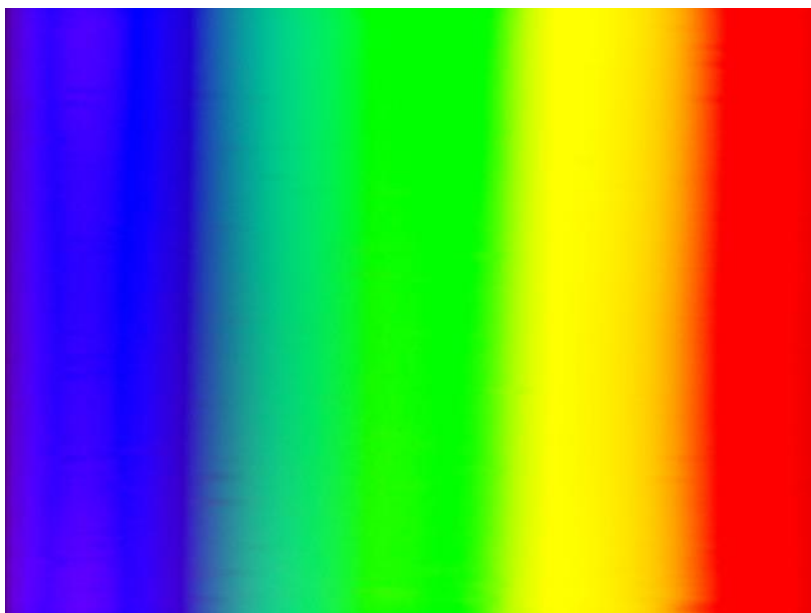
Obrázek 15 Graf absorbance filtru "robert"



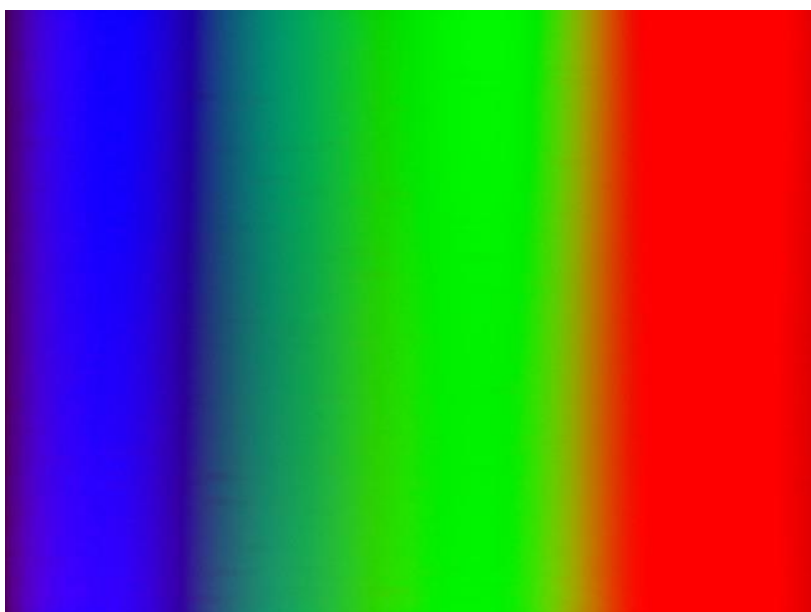
Obrázek 16 Graf absorbance filtru "didi"

Jak již bylo zmíněno, výhodou mého zařízení je interaktivnost. Například v obrázcích 17 a 18, kde je jasně vidět, že žlutá barva byla filtrem absorbována, což koresponduje i s grafem na

obrázku 16, kdy okolo 570-580 nm byla absorbována velká část dopadlého světla, a právě tato vlnová délka odpovídá žlutému světlu.



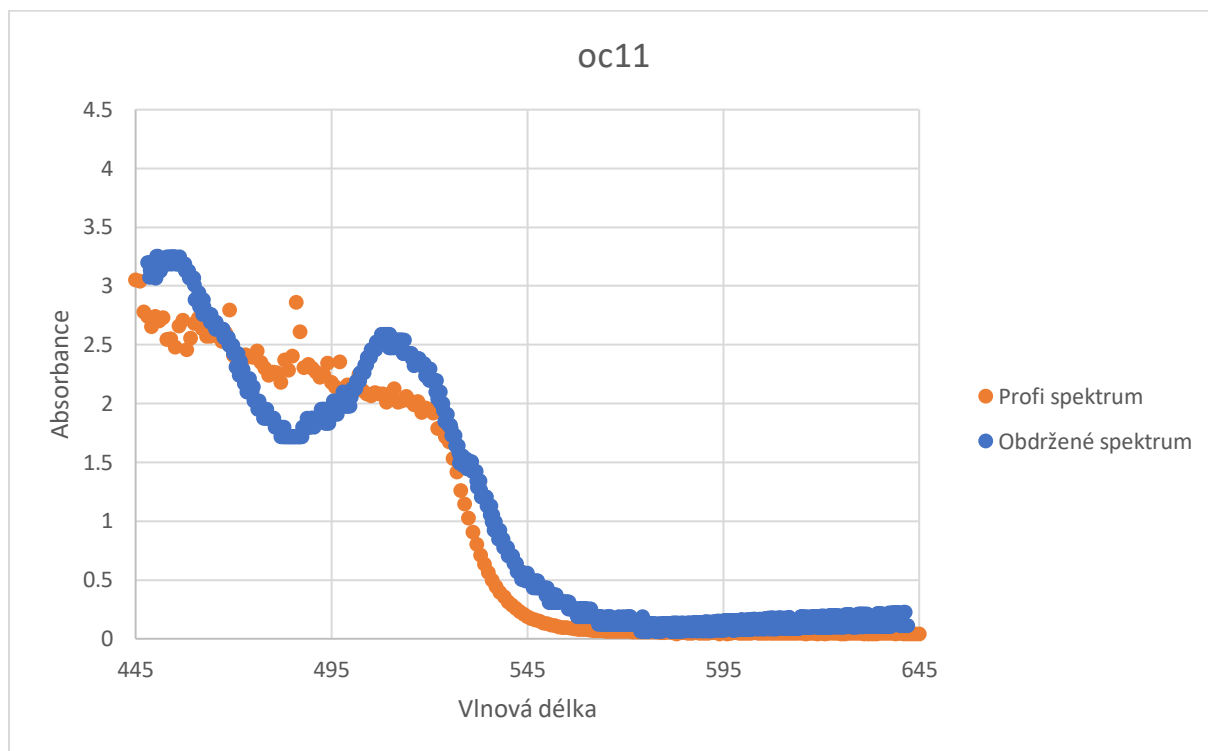
Obrázek 17 Blank snímek



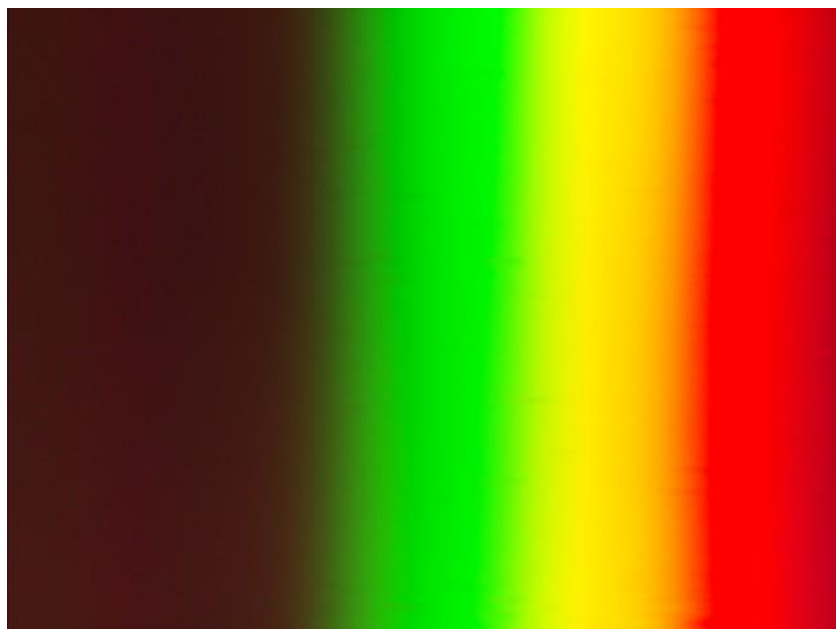
Obrázek 18 Snímek po vložení filtru didi

Další absorpci světla můžeme vidět například na obrázku 20, což je absorbance světla po vložení filtru oc11, kdy filtr absorboval velkou část modrého světla, tedy světla s vlnovou délkou 540 nm a nižší. Naměřený výsledek odpovídá i profesionálnímu grafu kromě výchytky okolo 480 nm. Tato výchytky může být způsobena více faktory. S nejvyšší pravděpodobností je to buď nepřesností kamery, která v této vlnové délce přechází mezi detekcí modrého a

zeleného světla (jak je vidět na obrázku 12). Jelikož je zde absorbance již dost vysoká, kamera má problém detekovat malé množství dopadlého světla.



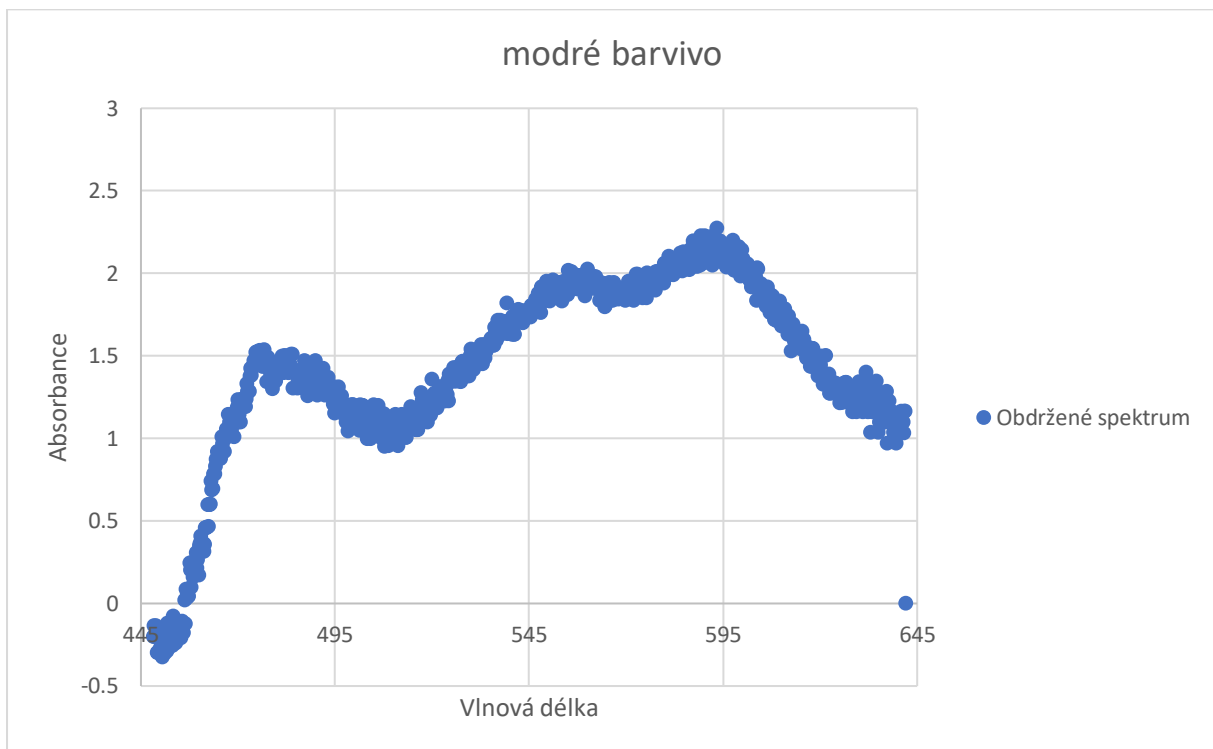
Obrázek 19 Graf absorbance filtru „oc11“



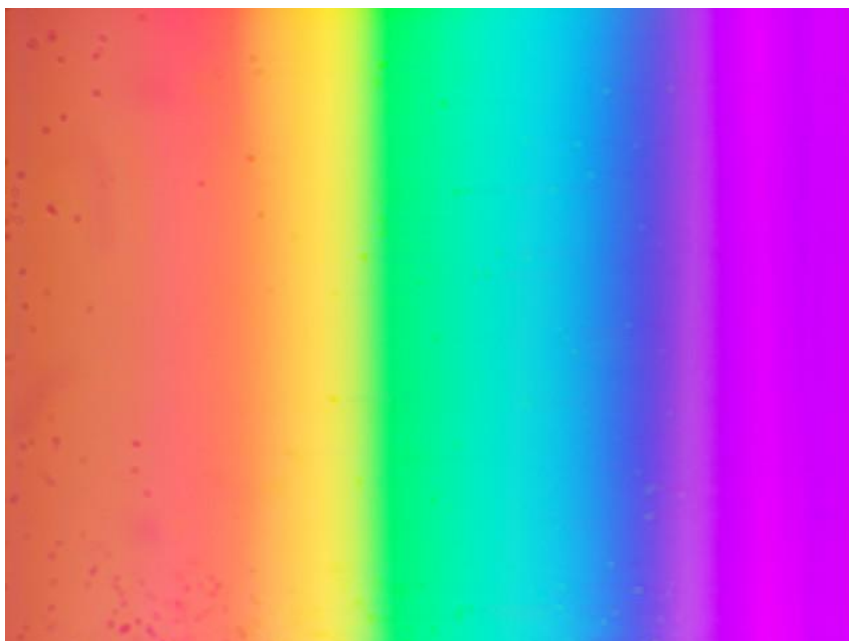
Obrázek 20 Snímek po vložení filtru oc11

V neposlední řadě je potřeba ukázat i graf absorbance vzorku, který byl vytvořen z materiálů nacházejících se nejen v laboratořích, ale i ve školách či dokonce domácnostech.

Následující graf a snímek absorbance jsou vytvořené po vložení 80 % technického lihu a modrého potravinářského barviva, které změnilo barvu roztoku na modrou. Z grafu lze vyčíst, že vzorek začal absorbovat velkou část světla okolo 480 nm a absorboval až po 650 nm, kde je limit tohoto spektrofotometru. To by odpovídalo tomu, že vzorek zachytil veškeré světlo kromě právě modrého světla.



Obrázek 21 Graf absorbance vzorku potravinářského barviva



Obrázek 22 Snímek po vložení vzorku potravinářského barviva

15 KALIBRACE

Kalibraci lze provést dvěma způsoby. Pokud člověk vlastní jiný spektrofotometr, může použít jakýkoliv vzorek, který v rozmezí cca $450 < \lambda < 650$ má alespoň 2 peaky. Dále je potřeba tato data vložit do textového souboru „*kalibrace_1.txt*“ do stejné složky, ve které se nachází program „*kalibrace.py*“. Poté stačí spustit program *kalibrace.py* a program se pokusí data nafitovat na sebe. Po dokončení kalibrace se zobrazí graf, pokud byla kalibrace úspěšná, grafy budou vypadat velmi podobně.

V datech se pomocí funkce *find_peaks* z knihovny *scipy* najdou peaky. To se udělá jak v datech z profesionálního spektrofotometru, tak z tohoto vyrobeného. Poté se z rovnice (9) vypočítají hodnoty o kolik je graf potřeba posunout vlevo, či vpravo. Je taktéž možné, že graf nebude sedět výškově. Zde se opět pomocí rovnice (9) vypočítá, jak je graf třeba naškálovat ve směru osy absorpce.

Veškeré hodnoty posunu se následně uloží do souboru „*controls.txt*“. Pomocí tohoto nastavení bude moci program graf rovnou posunout. Pokud uživatel přístroj nenakalibruje, bude program používat poslední uložené nastavení, a když nepoužije kalibraci nikdy, využije automatickou kalibraci, která ale nemusí být vůbec přesná a může se velmi lišit od reálného výsledku.

Druhý způsob kalibrace je využití 2 laserů s vlnovou délkou $450 < \lambda < 650$. Je potřeba využít 2 laserů s rozdílnou vlnovou délkou. Nejprve posvítíme prvním laserem do štěrbinu stejně, jako by tam svítila LED dioda. Poté se musí vytvořit první snímek a až po vytvoření prvního snímku můžeme laser odebrat. Stejný proces následně opakujeme s druhým laserem. Nakonec do kolonky na obrázku 23 zadáme vlnové délky obou laserů a program dopočítá optimální nastavení pro grafy.

First sample wavelength	<input type="text"/>
Second sample wavelength	<input type="text"/>

Obrázek 23 Kolonky pro zadání vlnové délky laseru

16 POPIS UŽIVATELSKÉHO ROZHRANÍ

Na obrázku 24 je vidět 6 tlačítek a 3 pole pro zadání hodnot.

Exit vypne celý program tak, aby žádné složky nebyly poničeny.

Display preview otevře druhé okno a živě zobrazí barvený vstup kamery. Tato možnost slouží k fyzickému nastavování optiky na přístroji.

Get 1st pic vytvoří první snímek a udělá automaticky graf intenzity světla na tomto snímku. Tento snímek je tzv. *blank*.

Get 2nd pic vytvoří druhý snímek a opět z něj automaticky udělá graf intenzity světla. Tento snímek se nazývá *sample*.

Ve chvíli, kdy bude vytvořený jak *blank*, tak *sample*, tak se vytvoří grafy absorbance a transmittance.

Save images slouží k uložení všech aktuálních dat, která se nachází ve složce *recources/*. Tato data se uloží do složky se jménem, které je ve chvíli jejího vytvoření v poli *Savefile name*.

Mirror images převrátí veškeré obrázky na ose y, pro případ kdy je kamera ve stojanu naopak.

Pole *Exposure time* slouží k nastavení doby expozice v milisekundách. Čím delší je tato doba., tím déle senzor sbírá světlo pro snímek.

Pole *Gain* slouží k nastavení citlivosti senzoru na světlo.

Display preview	Exit
Get 1st pic	Get 2nd pic
Save images	Mirror images
Exposure time (10 - 100000)	<input type="text" value="15000"/>
Gain (1 - 20)	<input type="text" value="3"/>
Savefile name	<input type="text"/>

Obrázek 24 Uživatelské rozhraní

17 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo vytvořit cenově dostupný UV-Vis spektrofotometr s rozsahem 450–650 nm, a lze konstatovat, že tento cíl byl úspěšně dosažen. Významnou výhodou cenové dostupnosti našeho spektrofotometru je jeho potenciální využití na středních školách, kde může sloužit jako efektivní výukový nástroj pro oblasti spektroskopie a optiky.

Další výhodou je také fakt, že žáci skutečně vidí, jaká barva světla vzorkem prošla a jaká ne, díky čemuž je fungování přístroje intuitivnější a srozumitelnější.

I přes to, že tento spektrofotometr nemusí vždy dosahovat stoprocentní přesnosti, výsledky jsou kvalitativně srovnatelné s profesionálními přístroji. Kompromis mezi cenou a výkonem byl pečlivě zvolen tak, aby přístroj zůstal praktickým a cenově dostupným nástrojem pro studenty.

Design tohoto spektrofotometru je zaměřen na jednoduchost použití. I z tohoto důvodu je tedy možné vytisknout model, který je určen na použité komponenty, ale zároveň je možnost vytisknout stojan, ve kterém se dají veškeré komponenty posouvat a dá se měnit i úhel mezi LED diodou a detektorem. Uživatelské rozhraní programu je taktéž velmi jednoduché na ovládání, jelikož obsahuje pouze 6 tlačítek, jejichž funkce je detailně popsána v této práci.

Do budoucna bych rád přidal kromě klasické LED diody, která svítí v širokém spektrálním rozsahu, i LED diodu svítící pouze 405 nm. Díky této diodě by pak spektrofotometr šel využít ke zkoumání nejen absorpance či transmitance, ale byla by zde možnost zkoumat i fluorescenci vzorků.

Závěrem mohu konstatovat, že poměr ceny ku výkonu je adekvátní a splnil mé očekávání. Tato práce přináší významný přínos v oblasti vzdělávání a vědeckého zkoumání, umožňující studentům interaktivní a cenově dostupný přístup k fascinujícímu světu spektroskopie.

18 ZDROJE

1. ASHFOLD, Michael N.R. a COOK, Phillip A., 2003. Photochemistry by VUV Photons. *Encyclopedia of Physical Science and Technology*. s. 15–28. DOI 10.1016/B0-12-227410-5/00564-0.
2. BERNSTEIN, Elliot R., 2014. On the release of stored energy from energetic materials. *Advances in Quantum Chemistry*. Vol. 69, s. 31–69. DOI 10.1016/B978-0-12-800345-9.00002-7.
3. BOUGOT-ROBIN, Kristelle et al., 2016. Optimization and design of an absorbance spectrometer controlled using a raspberry Pi to improve analytical skills. *Journal of Chemical Education*. Vol. 93, č. 7, s. 1232–1240. DOI 10.1021/acs.jchemed.5b01006.
4. BOWERS, Brian, 2001. *Sir Charles Wheatstone* [online]. London : The Institution of Electrical Engineers. Získáno z : https://books.google.cz/books?id=m65tKWIL-MkC&q=Wheatstone+spectrum+analysis+metals&pg=PA208&redir_esc=y#v=onepage&q=metal&f=false [viděno 1 říjen 2023].
5. BRAND, John C. D., 1995. *Lines of light: The Sources of Dispersive Spectroscopy, 1800-1930* [online]. Routledge. Získáno z : <https://www.abebooks.com/9782884491624/Lines-Light-Sources-Dispersive-Spectroscopy-2884491627/plp> [viděno 1 říjen 2023].
6. CLIFFORD, A. Pickover, 2015. *Kniha o fyzice*. Dokořán.
7. COOK, Maria, 2018. Advantages & Disadvantages of a UV-VIS Spectrometer | Sciencing. [online]. 29 duben 2018. Získáno z : <https://sciencing.com/advantages-disadvantages-uvvis-spectrometer-6466475.html> [viděno 20 říjen 2023].
8. DEEPAK, 2014. Dispersion of Light in Spectroscopy. [online]. 6 květen 2014. Získáno z : <https://lab-training.com/dispersion-of-light-in-spectroscopy/> [viděno 20 říjen 2023].
9. Determination of the Blaze Wavelength, 2023 <https://www.newport.com/n/determination-blaze-wavelength>. .
10. DONG, Daming a ZHAO, Chunjiang, 2017. Limitations and challenges of using Raman spectroscopy to detect the abiotic plant stress response. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Vol. 114, č. 28. DOI 10.1073/pnas.1707408114.
11. EDENHOFER, Gordian, 2015. Experiment setup - Prism spectrometer - Wikipedia. [online]. 2015. Získáno z : https://en.wikipedia.org/wiki/Prism_spectrometer#/media/File:Experiment_setup.svg [viděno 20 říjen 2023].
12. FUCHS, Peter, 2017. *Chemical bath deposition of transparent conductive zinc oxide thin films for solar cell applications*. .
13. GLOSSARY OF SPECTROSCOPY TERMS, 2017. What is a spectrometer slit? <https://www.stellarnet.us/what-is-a-spectrometer-slit/> [online]. 21 duben 2017. Získáno z : <https://www.stellarnet.us/what-is-a-spectrometer-slit/> [viděno 1 říjen 2023].
14. HAMMOND, John P., 2014. The Use of Spectrophotometry in the Pharmaceutical Industry. *Experimental Methods in the Physical Sciences*. Vol. 46, s. 409–456. DOI 10.1016/B978-0-12-386022-4.00011-X.

15. HARVEY, David, 2013. Single-Beam Spectrophotometer | Image and Video Exchange Forum. [online]. 29 červenec 2013. Získáno z : <https://asdlib.org/imageandvideoexchangeforum/single-beam-spectrophotometer/> [viděno 20 říjen 2023].
16. CHNG, J. J. Kenneth a PATUWO, Michael Yudistira, 2021. Building a Raspberry Pi Spectrophotometer for Undergraduate Chemistry Classes. *Journal of Chemical Education*. Vol. 98, č. 2, s. 682–688. DOI 10.1021/acs.jchemed.0c00987.
17. CHU, Steven, STONER, John Oliver a GRAYBEAL, Jack D., 2023. Spectroscopy | Definition, Types, & Facts | Britannica. [online]. 21 září 2023. Získáno z : <https://www.britannica.com/science/spectroscopy> [viděno 3 říjen 2023].
18. MALCOLM, D. E., 2015. What We Talk About When We Talk About Light. *ACS Central Science*. Vol. 1, č. 7, s. 354–363. DOI 10.1021/acscentsci.5b00261.
19. MONTES, Cristina Muntinlupa, 2019. How do scientists determine the chemical compositions of the planets and stars? KLESMAN, Alison (ed.), *Ask Astro* [online]. Philippines. Získáno z : <https://www.astronomy.com/science/how-do-scientists-determine-the-chemical-compositions-of-the-planets-and-stars/> [viděno 2 říjen 2023].
20. MURRAY, John a STREET, Albemarle, 1836. *Fifth meeting of the British Association for the advancement of science* [online]. London. Získáno z : https://books.google.cz/books?id=fLtZAAAACAAJ&pg=RA1-PA11&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false [viděno 1 říjen 2023].
21. NEWTON, Isaac a HEMMING, G.W, 1704. *Opticks: or, A treatise of the reflections, refractions, inflexions and colours of light : also two treatises of the species and magnitude of curvilinear figures*. London : Printed for Sam. Smith, and Benj. Walford.
22. NOLAN, John P. a CONDELLO, Danilo, 2013. Spectral flow cytometry. *Current Protocols in Cytometry*. Č. SUPPL.63. DOI 10.1002/0471142956.CY0127S63.
23. ONG, Timothy T.X., BLANCH, Ewan W. a JONES, Oliver A.H., 2020. Surface Enhanced Raman Spectroscopy in environmental analysis, monitoring and assessment. *Science of The Total Environment*. Vol. 720. DOI 10.1016/j.scitotenv.2020.137601.
24. OSTERHEIDER, Mattis et al., 2022. A do-it-yourself Czerny-Turner spectrometer: atomic emission, absorption, reflection and fluorescence spectroscopy in natural sciences. *Physics Education*. Vol. 57, č. 6. DOI 10.1088/1361-6552/ac8a85.
25. PSC LEARNING, 2022. Infrared Spectroscopy - IR Spectrophotometer, Instrumentation. [online]. 2022. Získáno z : <https://www.priyamstudycentre.com/2022/12/infrared-spectroscopy-ir-spectrophotometer.html> [viděno 20 říjen 2023].
26. Raspberry Pi Documentation - Camera, [online]. Získáno z : <https://www.raspberrypi.com/documentation/accessories/camera.html> [viděno 8 prosinec 2023].
27. RICHMOND, Michael, 2006. How do we know the composition of stars? http://spiff.rit.edu/richmond/asras/chemcomp_i/chemcomp_i.html. . 6 září 2006.
28. SHIMADZU, 2009. *UV Talk Letter*. Tokio : Shimadzu.

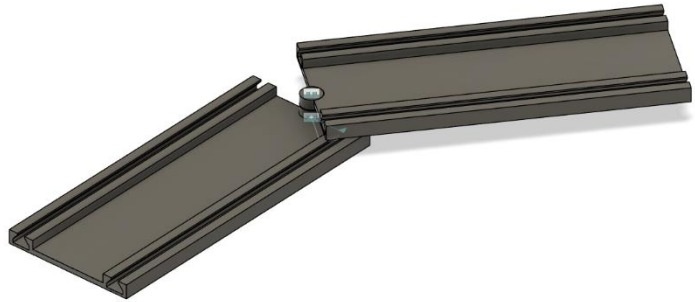
29. TIP BIOSYSTEMS, 2023. Spectrophotometry. <https://tipbiosystems.com/blog/spectrophotometry/> [online]. 2023. Získáno z : <https://tipbiosystems.com/blog/spectrophotometry/> [viděno 1 říjen 2023].
30. TYNER, Tom a FRANCIS, James, 2017. *ACS Reagent Chemicals*. Washington, DC : American Chemical Society. ISBN 9780841230460.
31. WASATCH PHOTONICS, 2023. How Does a Raman Spectrometer Work? [online]. 2023. Získáno z : <https://wasatchphotonics.com/technologies/how-raman-spectrometer-works/> [viděno 20 říjen 2023].
32. XUAN NG CI, 2020. What is a Spectrometer? UV, VIS and IR Spectrometer Explained. [online]. 29 duben 2020. Získáno z : <https://wavelength-oe.com/articles/what-is-a-spectrometer/> [viděno 20 říjen 2023].
33. ZACHARIOUDAKI, Despoina Eleni, FITILIS, Ioannis a KOTTI, Melina, 2022. Review of Fluorescence Spectroscopy in Environmental Quality Applications. *Molecules*. Vol. 27, č. 15. DOI 10.3390/MOLECULES27154801.

19 SEZNAM OBRÁZKŮ

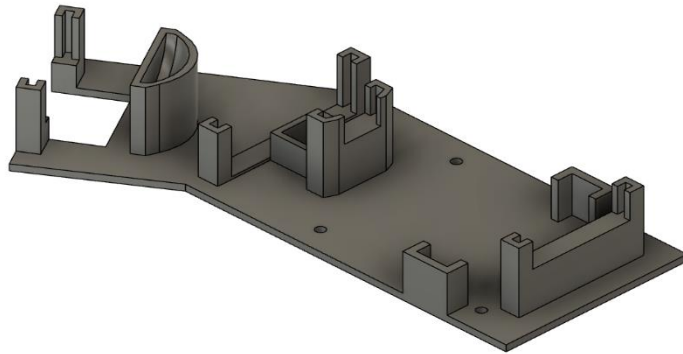
Obrázek 1 Energetické hladiny vodíku	10
Obrázek 2 Jak spektrofotometr vypadá (Harvey 2013).....	12
Obrázek 3 Závislost transmitance, reflektance a absorpce světla na vlnové délce u ZnO (Fuchs 2017).....	13
Obrázek 4 Hranolový spektrofotometr (Edenhofer 2015).....	14
Obrázek 5 Mřížkový spektrofotometr (Xuan Ng Ci 2020).....	15
Obrázek 6 Jak funguje IR spektrofotometr (PSC Learning 2022).....	16
Obrázek 7 Jak funguje raman spektrofotometr (Wasatch Photonics 2023)	17
Obrázek 8 Štěrbina	20
Obrázek 9 Štěrbina – průřez	20
Obrázek 10 Popis spektrofotometru	22
Obrázek 11 Nastavení doby expozice a gain	23
Obrázek 12 Relativní odezva HQ kamery v závislosti na vlnové délce světla (Raspberry Pi Documentation - Camera).....	23
Obrázek 13 Graf intenzity světla led v závislosti na vlnové délce.....	24
Obrázek 14 Zapojení diody.....	25
Obrázek 15 Graf absorbance filtru "robert"	27
Obrázek 16 Graf absorbance filtru "didi"	27
Obrázek 17 Blank snímek.....	28
Obrázek 18 Snímek po vložení filtru didi.....	28
Obrázek 19 Graf absorbance filtru „oc11“	29
Obrázek 20 Snímek po vložení filtru oc11	29
Obrázek 21 Graf absorbance vzorku potravinářského barviva.....	30
Obrázek 22 Snímek po vložení vzorku potravinářského barviva	31
Obrázek 23 Kolonky pro zadání vlnové délky laseru	32
Obrázek 24 Uživatelské rozhraní	33

20 SEZAM PŘÍLOH

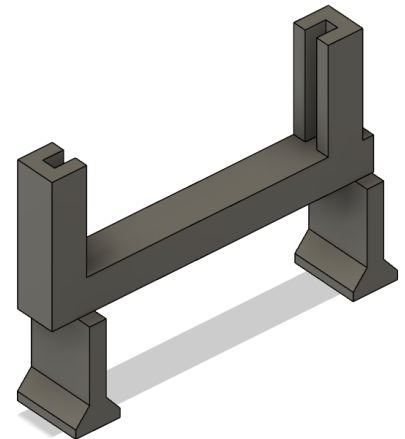
1. Hlavní program [main.py]
2. Kalibrační program [kalibrace.py]
3. Model držáku komponent s kolejnicemi pro uchycení jednotlivých držáků [stand_with_rail.stl]



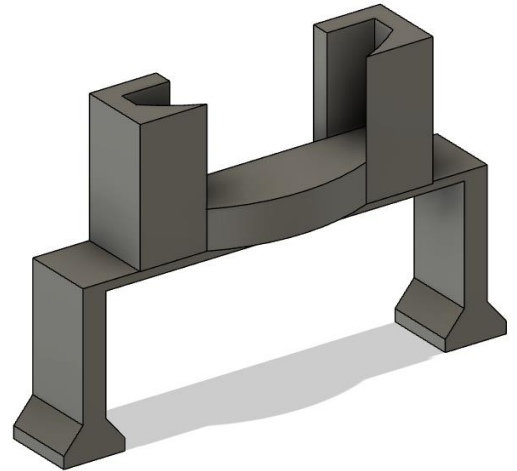
4. Model držáku všech komponent [stand.stl]



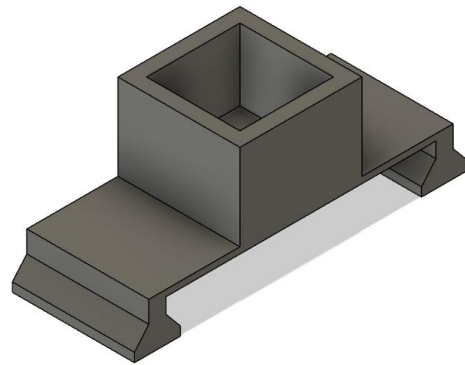
5. Model držáku desky s led diodou [led_stand.stl]



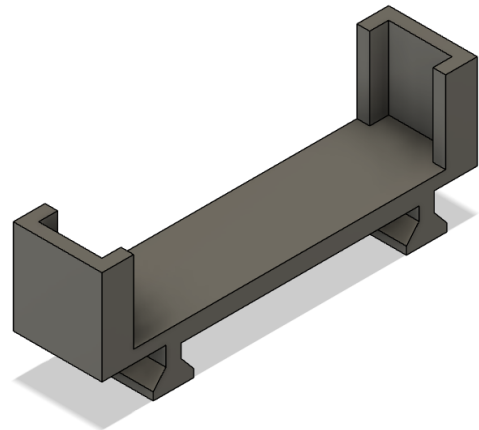
6. Model držáku čoček [lens_stand_1.stl, lens_stand_2.stl, lens_stand_3.stl, lens_stand_4.stl]



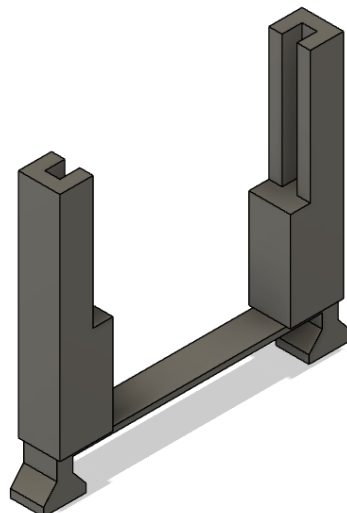
7. Model držáku vzorku [sample_stand.stl]



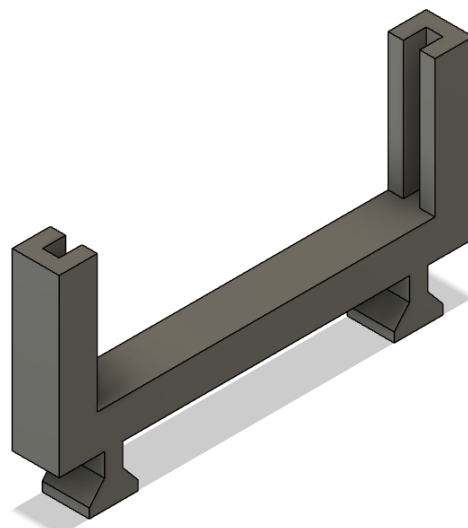
8. Model držáku štěrbiny [slit_stand.stl]



9. Model držáku kamery [camera_stand.stl]



10. Model držáku optické mřížky [grating_stand.stl]



11. Model šterbiny [slit.stl]

