

# Návrh laboratorní úlohy pro použití Ramanovy spektroskopie pro forenzní účely

Mikuláš Koprda

---

Bakalářská práce  
2015



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta aplikované informatiky

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta aplikované informatiky  
akademický rok: 2014/2015

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Mikuláš Koprda**

Osobní číslo: **A11127**

Studijní program: **B3902 Inženýrská informatika**

Studijní obor: **Informační a řídicí technologie**

Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Návrh laboratorní úlohy pro použití Ramanovy spektroskopie pro forenzní účely**

Téma anglicky: **Proposed Laboratory Tasks for Using Raman Spectroscopy for Forensic Purposes**

Zásady pro vypracování:

1. Seznamte se s fyzikálním principem Ramanovy spektroskopie a měřením na Ramanově mikroskopu v laboratoři FAI na UTB ve Zlíně.
2. Nastudujte možnosti využití Ramanovy spektroskopie ve forenzních vědách.
3. Zvolte a připravte vhodné vzorky pro experimentální prověření.
4. Navrhněte laboratorní úlohu a experimentálně realizujte.
5. Vypracujte vzorový protokol.
6. Zpracujte potřebné materiály k provedení laboratorní úlohy.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

1. CHALMERS, John M, Howell G EDWARDS a Michael D HARGREAVES. *Infrared and Raman spectroscopy in forensic science*. 1st pub. Chichester, West Sussex, UK: Wiley, 2012, 618 s., [34] s. obr. příl. ISBN 978-0-470-74906-7.
2. KOLEKTIV, Luděk Lukáš a. *Bezpečnostní technologie, systémy a management III: [teorie a praxe ochrany majetku a fyzické bezpečnosti]*. 1. vyd. Zlín: VeRBuM, 2013. ISBN 978-808-7500-354.
3. BUZZINI, Patrick; MASSONNET, Genevieve; MONARD SERMIER, Florence. *The micro Raman analysis of paint evidence in criminalistics: case studies*. *Journal of Raman Spectroscopy*, 2006, 37.9: 922-931.
4. RRUFF - Database of Raman spectra, X-ray diffraction and chemistry data for minerals [online]. 2006. Dostupné z: <http://rruff.info/>
5. GREMLICH a Bing YAN. *Infrared and Raman Spectroscopy of Biological Materials*. 24. vyd. United States of America: Marcel Dekker, inc., 2001. ISBN 0-8247-0409-6.

Vedoucí bakalářské práce:

**Mgr. Hana Vašková**  
Ústav elektroniky a měření

Datum zadání bakalářské práce:

**6. března 2015**

Termín odevzdání bakalářské práce:

**22. května 2015**

Ve Zlíně dne 6. března 2015



doc. Mgr. Milan Adámek, Ph.D.  
*děkan*



L.S.



prof. Ing. Vladimír Vašek, CSc.  
*ředitel ústavu*

### **Prohlašuji, že**

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k prezenčnímu nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen v příruční knihovně Fakulty aplikované informatiky Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- beru na vědomí, že podle § 60 odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen připouští-li tak licenční smlouva uzavřená mezi mnou a Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně s tím, že vyrovnání případného přiměřeného příspěvku na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše) bude rovněž předmětem této licenční smlouvy;
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

### **Prohlašuji,**

- že jsem na diplomové/bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Ve Zlíně

.....  
podpis diplomanta

## **ABSTRAKT**

Táto práca sa zaoberá využitím Ramanovej spektroskopie pre forenzné účely. V praxi sa pre kriminalistické a forenzné účely táto metóda v poslednej dobe používa stále častejšie. Vzhľadom k celej rade jej výhod, ako je nedeštruktívnosť, neinvazívnosť, nenáročnosť požiadavkou na vzorky a tiež rýchlosť merania sa Ramanova spektroskopia javí ako veľmi vhodná a účinná metóda. V práci je priblížené využitie Ramanovej spektroskopie vo viacerých odvetviach, ale najviac sa sústreďí na zmienené forenzné účely. Hlavná časť je venovaná návrhu a príprave dvoch laboratórnych úloh, a s tým súvisiacimi meraniami vybraných vzoriek. Tými sú biele prášky, či farebné stopy na tkanivách.

**Kľúčové slová:** Ramanova spektroskopia, vibračná spektroskopia, Ramanov jav, forenzné vedy, biele prášky, stopy farieb

## **ABSTRACT**

This work is focused on application of Raman spectroscopy for forensic purposes. In practice, this method is recently used for forensic purposes more and more often. Due to its wide range of benefits such as non-destructive, non-invasive, undemanding requirements for samples and also speed of measurement, the Raman spectroscopy seems to be very appropriate and effective method. In this work is also mentioned use of Raman spectroscopy in many sectors, but most attention is focused on forensic purposes. The main part is devoted to the design and preparation of two laboratory tasks and related measurements of selected samples. These are the various white powders and traces of colours on the tissues.

**Keywords:** Raman spectroscopy, vibration spectroscopy, Raman effect, forensic science, white powders, trace of colour

## Pod'akovanie

Na tomto mieste by som chcel pod'akovať Mgr. Hane Vaškovej za odborné vedenie a cenné rady, ktoré mi poskytla pri vypracovávaní práce.

Prehlasujem, že odovzdaná verzia bakalárskej práce a práca nahratá do IS/STAG sú totožné.

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>9</b>
<b>I TEORETICKÁ ČASŤ</b> .....	<b>10</b>
<b>1 RAMANOVA SPEKTROSKOPIA</b> .....	<b>11</b>
1.1 SIR CHANDRASEKHARA VENKATA RAMAN .....	11
1.1.1 História Ramanovej spektroskopie .....	12
1.2 RAMANOV ROZPTYL .....	13
1.2.1 Povrchom zosilnený Ramanov rozptyl (SERS) .....	15
1.3 VIBRÁCIA MOLEKÚL .....	15
1.3.1 Biatomická molekula .....	16
1.3.2 Viacatómová molekula.....	16
1.4 RAMANOVE SPEKTRUM.....	17
<b>2 MOŽNOSTI VYUŽITIA RAMANOVEJ SPEKTROSKOPIE</b> .....	<b>18</b>
2.1 ANORGANICKÉ LÁTKY A MINERÁLI .....	18
2.2 UMENIE A ARCHEOLÓGIA .....	18
2.3 BIOLOGICKÉ A FARMACEUTICKÉ VYUŽITIE .....	19
2.3.1 Biologické využitie .....	19
2.3.2 Farmaceutické využitie .....	19
2.4 FORENZNÉ VYUŽITIE .....	20
2.4.1 Kopírovacie toneri.....	20
2.4.2 Vlákna .....	20
2.4.3 Farby .....	20
2.4.4 Pásky .....	21
2.4.5 Drogy.....	21
2.4.6 Výbušniny .....	21
2.5 VYŠETROVANIE NA MIESTE ČINU.....	21
<b>3 LABORATÓRNA ÚLOHA</b> .....	<b>23</b>
3.1 VOĽBA A PRÍPRAVA VZORKOU .....	23
3.1.1 Biele prášky.....	23
3.1.2 Farby na textile.....	27
3.2 POPIS PRÍSTROJA .....	33
3.2.1 Postup merania .....	34
3.3 DATABÁZY RAMANOVÝCH SPEKTIER .....	35
<b>II PRAKTICKÁ ČASŤ</b> .....	<b>36</b>
<b>4 ZADANIE LABORATÓRNEJ ÚLOHY</b> .....	<b>37</b>
4.1 TEORETICKÁ PRÍPRAVA .....	37
4.2 POPIS VYUŽITÉHO SOFTWARE.....	38
4.2.1 Nastavenie parametrov merania .....	39
4.2.2 Zobrazenie polohy pík (Peak pick) .....	41
4.2.3 Odčítavanie spektier (data arithmetic) .....	41
4.2.4 Aproximácia grafu (subtract baseline) .....	42
4.2.5 Vyhľadávanie spektier v databáze SpectralID .....	43

4.3	LABORATÓRNA ÚLOHA Č.1 : ANALÝZA A ROZPOZNÁVANIE BIELYCH PRÁŠKOV RAMANOVOV SPEKTROSKOPIOU .....	43
4.3.1	Úlohy .....	43
4.4	LABORATÓRNA ÚLOHA Č.2 : ANALÝZA A ROZPOZNÁVANIE FAREBNÝCH STÔP NA TEXTILE POMOCOU RAMANOVEJ SPEKTROSKOPIE .....	44
4.4.1	Úlohy .....	44
<b>5</b>	<b>VYPRACOVANIE LABORATÓRNYCH ÚLOH.....</b>	<b>45</b>
5.1	VYPRACOVANIE LABORATÓRNEJ ÚLOHY Č.1: ANALÝZA A ROZPOZNÁVANIE BIELYCH PRÁŠKOV RAMANOVOV SPEKTROSKOPIOU.....	45
5.1.1	Úloha č.1 – Meranie spektier všetkých vzoriek bielych práškov.....	45
5.1.2	Úloha č.2 – Meranie vzorky v ochrannom obale .....	48
5.1.3	Úloha č.5 – Identifikácia liečiv medzi vzorkami .....	51
5.2	VYPRACOVANIE LABORATÓRNEJ ÚLOHY Č.2: ANALÝZA A ROZPOZNÁVANIE FAREBNÝCH ŠKVRN NA TEXTILE POMOCOU RAMANOVEJ SPEKTROSKOPIE.....	53
5.2.1	Úloha č.1 - Meranie spektier farieb na bielej látke č.2 .....	54
5.2.2	Úloha č.2 – Identifikácia zadaných vzoriek na základe databáze .....	57
5.2.3	Úloha č.3 - Meranie vzorky na bielej látke č.1 a jej porovnanie .....	58
	<b>ZÁVER .....</b>	<b>61</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>62</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>64</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>65</b>
	<b>SEZNAM ELEKTRONICKÝCH PRÍLOH .....</b>	<b>68</b>

## ÚVOD

Bakalársku prácu som si zvolil, pretože kriminalistická problematika identifikácie a analýzy podozrivých materiálov ma veľmi zaujala. Aj keď som pri výbere práce nevedel že Ramanova spektroskopia vôbec existuje, po preštudovaní princípov metódy mi bolo hneď jasné aký prínos má táto metóda do mnohých oblastí. Jedná sa o modernú analytickú metódu, ktorá slúži k identifikácii materiálu a hodnotení ich vlastností. V dnešnej dobe je metóda Ramanovej spektroskopie využívaná v mnohých odvetviach, ako napríklad skúmanie anorganických látok a minerálov, v architektúre či na farmaceutické a biologické využitie. Podľa mňa najzaujímavejšie využitie je v kriminalistike a forezných vedách. Možnosť presnej, nedeštruktívnej identifikácie podozrivých látok, ktorú Ramanova spektrometria ponúka, je v tejto dobe neoceniteľná. Táto metóda ponúka aj možnosť analýzy priamo na mieste, vďaka prenosným spektrometrom.

Pretože ani ja som s počiatku nebol oboznámený s princípmi metódy, priblížim v práci základné princípy Ramanovej spektroskopie. V teoretickej časti sa na začiatku venujem pôvodu metódy, jej histórii a zakladateľovi. Bližšie sa venujem Ramanovmu rozptylu, možnosťami jeho zosilnenia a vibrácii molekúl. V ďalšej kapitole som sa snažil stručne popísať možnosti využitia metódy s niekoľkými popísanými príkladmi.

Táto práca sa zameriava predovšetkým na návrh a prípravu laboratórneho merania. Na vypracovaných úlohách je možné ukázať potenciál a možnosti využitia metódy a tiež vyskúšať si identifikovať neznáme materiály za pomoci vytvorenej spektrálnej knižnice priamo v praxi. Čo je určite pre študentov zaujímavá skúsenosť. V praktickej časti som navrhol dve laboratórne úlohy, konkrétne ide o analýzu, využitie a aplikáciu Ramanovej spektroskopie pre forezné účely.

## **I. TEORETICKÁ ČASŤ**

## 1 RAMANOVA SPEKTROSKOPIA

Ramanova spektroskopie je vibrační spektroskopická metoda, která se opírá o nepružný rozptyl světla ve viditelné, blízké infračervené nebo blízké ultrafialové oblasti. Jedná se o metodu vhodnou na identifikaci pevných (kryštalických aj amorfních), kvapalných (čisté látky, roztoky) aj plynných látek. Objav Ramanovho javu sa pripisuje indickému fyzikovi Chandrasekhara Venkata Ramanovi, podľa ktorého je metóda pomenovaná.

### 1.1 Sir Chandrasekhara Venkata Raman

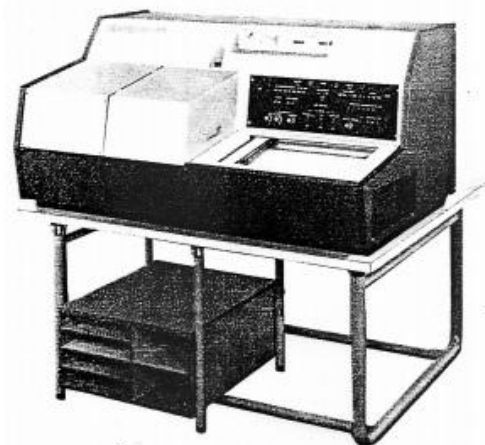
C.V.Raman (1888 - 1970) bol od mala veľmi bystrý študent, ktorý sa vzdelal výhradne v Indii. Na svoju prvú cestu do Londýna sa vydal v roku 1921, kde bol už známym u anglických fyzikov J.J. Thomsna a lorda Rutheforda, vďaka jeho štúdiu optiky a akustiky. Ramanovou špecialitou bolo štúdium vibrácií a zvukov strunových nástrojov. Bolo to na ceste do Londýna, kde sa počas pätnásťdňovej plavby loďou zamyslel nad tým, prečo je farba mora modrá. Krátko po príchode do Indie bol Raman schopný jednoznačne preukázať, že farba mora je výsledkom rozptylu slnečného svetla na molekulách vody. Po objavení Ramanovho efektu v roku 1928 bol pasovaný na rytiera britskou vládou v Indii a v roku 1930 získal Nobelovu cenu za fyziku. Tri roky po získaní Nobelovej ceny odišiel do Indického mesta Bangalore, kde pôsobil ako vedúci Indického inštitútu vedy. V roku 1934 založil Indickú akadémiu vied. [1]



Obr. 1. C.V.Raman [1]

### 1.1.1 História Ramanovej spektroskopie

Ramanova spektroskopie je známa už desaťročia, ale postupom času sa táto metóda prestala využívať. Postupom času, najmä vďaka technickému pokroku (nové lasery, filtry atd.), sa metóda dostáva do popredia pre svoje nesporné výhody. Na Slovensku sa začala metóda znovu využívať v Ústave anorganickej chémie a biochémie ČSAV, kde sa jej venoval Bohuslav Strauch. V roku 1959 sa na katedre objavil prvý trojhranový spektrograf pre viditeľnú oblasť a začali prvé merania. Ramanove spektrá sa zaznamenávali na špeciálne fotografické dosky a záznam trval niekoľko minút až desiatky hodín. V roku 1973 sa u nás objavil japonský laserový Ramanov spektroskop, ktorým bolo možné merať pevné, kvapalné aj plynné vzorky pri nižších aj vyšších teplotách. V súčasnej dobe sú spektrometri omnoho výkonnejšie, mnohé majú nastaviteľnú vlnovú dĺžku laseru, využívajú sa výkonnejšie mikroskopy aj výpočtová technika pomocou ktorej sa dajú upravovať a porovnávať namerané spektrá. [2]



Obr. 2. Laserový Ramanov spektroskop JRS - S1 [2]



Obr. 3. Moderný Ramanov mikroskop inVia Basic

## 1.2 Ramanov rozptyl

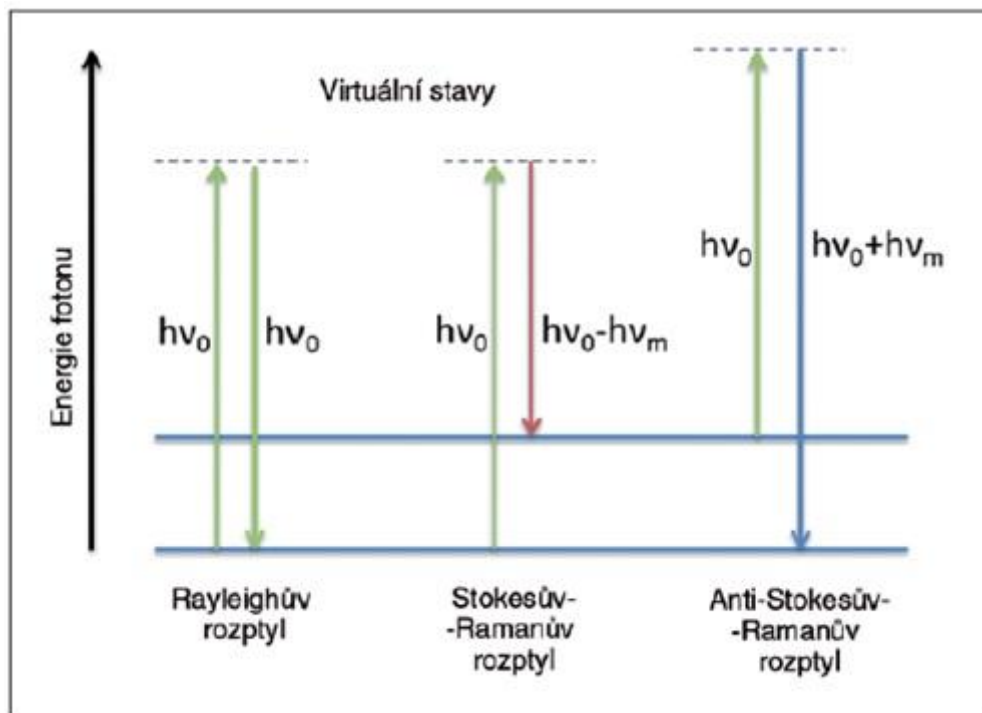
Ramanov rozptyl je jav založený na deformácii elektrického poľa určeného molekulárnou polarizovanosťou. Laserové žiarenie môže byť považovaný za oscilačnú elektromagnetickú vlnu, ktorá po interakcii so vzorkou indukuje elektrický dipólový moment, ktorý deformuje molekuly. Vzhľadom k periodickej deformácii molekuly začnú vibrovať s charakteristickou frekvenciou  $\nu_0$ . Inými slovami, monochromatické laserové svetlo s určitou frekvenciou vzbudzuje molekuly a transformuje ich do oscilujúcich dipólov. Pre vysvetlenie Ramanovho rozptylu je vhodné dívať sa na žiarenie ako na prúd fotónov, ktoré interagujú s molekulami vzorky. Rozptyl nazývame pružným, keď sú fotóny rozptýlené s nezmenenou energiou. Keď molekula absorbuje alebo uvoľní časť energie, ktorú prijme fotón, ide o nepružný rozptyl. Tie sú potom rozptýlené s väčšou alebo nižšou energiou.[5]

Vzťah súvislosti energie fotónu a frekvencie:

$$\Delta E = h(\nu_0 \pm \nu_m) \quad (1)$$

Takéto oscilujúce dipóly emitujú svetlo o troch rôznych frekvenciách:

- Molekula v Raman–neaktívnom režime absorbuje fotón s frekvenciou  $\nu_0$ . Vzbudená molekula sa vráti na základný vibračný stav a emituje svetlo s rovnakou frekvenciou  $\nu_0$  ako zdroj budenia. Tento typ sa nazýva pružný Rayleighov rozptyl.
- Fotón s frekvenciou  $\nu_0$  je absorbovaný Raman–aktívnou molekulou, ktorá je v okamihu interakcie v základnom vibračnom stave. Časť energie fotónu je prevedená do režimu Raman-aktívneho režimu s frekvenciou  $\nu_m$  a výsledná frekvencia sa zníži na  $\nu_0 - \nu_m$ . Táto Ramanova frekvencia sa nazýva Stokes frekvencia alebo len „Stokes“.
- Fotón s frekvenciou  $\nu_0$  je absorbovaný Raman–aktívnou molekulou, ktorá je v okamžiku interakcie už vo vzbudenom vibračnom stave. Nadmerná energia Raman–aktívneho režimu je prepustená, molekula sa vracia do základného vibračného stavu a výsledná frekvencia rozptýleného svetla sa zvýši na  $\nu_0 + \nu_m$ . Táto Ramanova frekvencia sa nazýva Anti-Stokes frekvencia alebo len „Anti-Stokes“. [4]



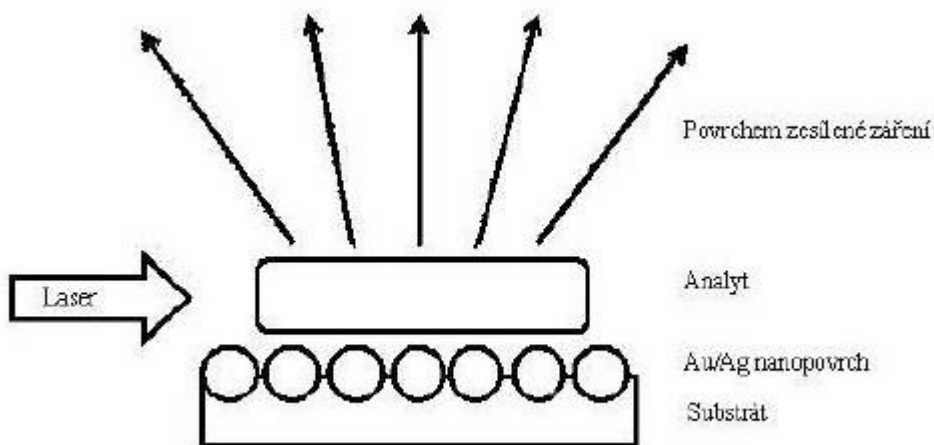
Obr. 4. Rayleighov, Stokesov a Anti-Stokesov rozptyl

Okolo 99,999% všetkých fotónov sa rozptýlia Rayleighovým rozptylom. Tento typ signálu je neúčinný pre praktické účely molekulárnej charakterizácie. Asi len 0,001%

dopadajúceho svetla vytvára nepružný Ramanov signál s frekvenciou  $\nu_0 \pm \nu_m$ . Ramanov rozptyl je veľmi slabý a preto je potrebné rozlíšiť ho od prevládajúceho Rayleighovho rozptylu. Na elimináciu Rayleighovho rozptylu a získanie vysoko kvalitného Ramanovho spektra sa využívajú najviac filtre pre danú vlnovú dĺžku použitého laseru, ktorý žiarenie budí. [4]

### 1.2.1 Povrchom zosilnený Ramanov rozptyl (SERS)

Povrchom zosilnený Ramanov rozptyl je technika, ktorá ponúka zvýšenie rozsahu Ramanovej intenzity, prekonanie tradičného nedostatku Ramanovho rozptylu. Zvyšujúce faktory môžu byť až viac ako  $10^4$  (niekedy až  $10^{12}$ ), čo je dostačujúce na detekciu jednotlivých molekúl. Používa sa napríklad na analýzu stopových materiálov a ďalšie aplikácie, kde je klasická citlivosť Ramanovho merania nedostatočná. Vylepšenie sa odohráva na povrchu kovu, obvykle zlata alebo striebra, ktorý má drsnosť v meradle nanometrov. Molekuly sa absorbujú do povrchu a môžeme ich merať zo zvýšenou intenzitou. Zvyčajne je nutné použiť vlnovú dĺžku laseru, ktorá je kompatibilná s použitým kovom. [8, 9]



Obr. 5. Schéma povrchom zosilneného Ramanovho rozptylu

### 1.3 Vibrácia molekúl

Vibračná spektroskopia sa zaoberá pohybom jadier v molekulách prostredníctvom interakcie molekuly so žiarením.

### 1.3.1 Biatomická molekula

Vibrácia biatomickej molekuly je periodická zmena vzdialenosti medzi jadrami. Pri klasickom popise ide o oscilátor tvorený dvoma hmotnými bodmi na pružine.[6]



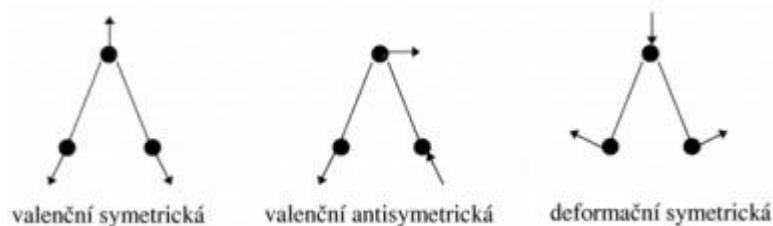
Obr. 6. Biatomická molekula [6]

Frekvencia vibrácie závisí na sile, ktorá púta atómy, to znamená na type chemickej väzby, hmotnosti vibrujúcich atómov. Ak dodáme molekule potrebnú energiu vo forme žiarenia s energiou rovnou rozdielu energetických hladín, dôjde k prechodu. Absorbovaním energie sa zväčší amplitúda vibrácii, ale frekvencia ostane nezmenená. Frekvencie ktoré odpovedajú prechodom medzi základným a prvým excitovaným stavom sa nazývajú základné alebo „fundamentálne“. Pretože za normálnej teploty sú molekuly väčšinou v základnom vibračnom stave, sú tieto prechody najčastejšie. [6]

### 1.3.2 Viacatómová molekula

Vibrácia viacatómovej molekuly sa dá popísať ako forma kmitavého pohybu, ktorú môžeme popísať ako súčet harmonických pohybov takzvaných normálnych vibrácii. Pri tejto vibrácii atómy vibrujú pri rovnakej fáze a rovnakej frekvencii, ale s rôznymi amplitúdami. Počet normálnych vibrácii je daný počtom vibračných stupňov voľnosti danej molekuly. Molekula, ktorá má  $N$  atómov má  $3N$  stupňov voľnosti a môže vykonávať translačný a rotačný pohyb. Keďže má každý pohyb 3 stupne voľnosti, má molekula  $3N-6$  vibračných stupňov voľnosti. Výnimkou sú lineárne molekuly, ktoré majú len 2 rotačné stupne voľnosti, tým pádom na vibračný pohyb ostáva  $3N-5$  stupňov voľnosti. [6, 7]

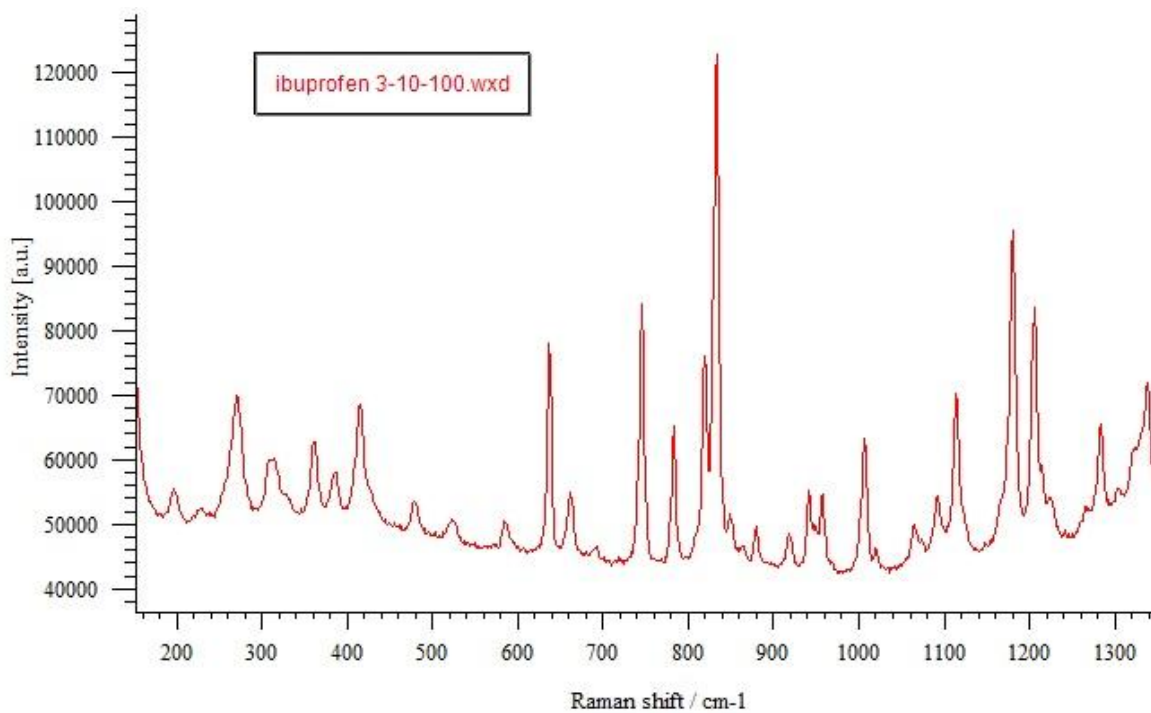
Základné typy vibrácii sú valenčné vibrácie (periodická zmena väzobnej dĺžky) a deformačné vibrácie (periodická zmena väzobného uhlu).



Obr. 7. Příklad pro molekulu vody [6]

## 1.4 Ramanove spektrum

Ramanove spektrum je výstup z merania Ramanovov spektroskopiou. Získava sa vynesением intenzity rozptýleného svetla v závislosti na Ramanovom posune. Výsledkom je graf, ktorý má na ose x Ramanov posun v jednotkách  $\text{cm}^{-1}$  a na ose y intenzitu žiarenia v jednotkách a.u. (arbitrary units). Každá látka, alebo zlúčenina, má jedinečné spektrum zložené z vrcholov, takzvaných „píkov“, ktoré odpovedajú vibráciám jednotlivých chemických väzieb v štruktúre materiálu. [10]



Obr. 8. Příklad Ramanovho spektra

## 2 MOŽNOSTI VYUŽITIA RAMANOVEJ SPEKTROSKOPIE

Metóda bola s počiatku navrhnutá na skúmanie anorganických látok, neskôr sa začala viac využívať na analýzu polymérov. V nedávnej dobe má vysoké využitie vo farmaceutickom priemysle, farbách, polovodičoch, umení, archeológii. Má veľké výhody vo forenzných a procesnej analýze, pre jej schopnosť analyzovať materiály cez sklo, vo vode alebo cez obalové materiály. Analýza pomocou Ramanovej spektroskopie je rýchla a nedeštruktívna, aj s týchto dôvodov je veľmi progresívna. [10]

### 2.1 Anorganické látky a mineráli

Ramanova spektroskopie je jedna z mála analytických techník, ktoré môžu pozitívne identifikovať molekulárne väzby. Metóda môže jednoznačne identifikovať čistotu a základnú formu uhlíka, síri, germánia a kremíka. Ramanova spektroskopie je jediná analytická technika, ktorá môže pozitívne identifikovať formu uhlíku podľa polohy a tvarov pík v spektre. Práce využívajúce Ramanovu spektroskopiu ukázali svoje využitie v skúmaní anorganických látok, keď identifikovali látky v mestskom prachu ako sú anhydrit, kalcit, dolomit alebo kremeň. Čoskoro boli mikrosondy používané na zaznamenanie spektier plyných, kvapalných a pevných inklúzií v mineráloch. Boli vytvorené a publikované tabuľky so známymi pozíciami „píkov“ v Ramanových spektrách pre mineráli. [10]

### 2.2 Umenie a archeológia

Jedna z hlavných výhod Ramanovej spektroskopie v tejto oblasti pochádza z problémom odobratia vzorky. Materiáli, ktoré majú byť skúmané sú buď veľmi cenné, alebo sú jeho súčasťou. Ramanove spektrá môžu byť získané z mikrovzorku, alebo použitím konfokálnych techník z podvrstiev bez toho, aby sa museli oddeliť. Keď nie je možné odobrať ani mikrovzorku, môže vyšetrenie prebiehať pomocou optických sond. Ramanova spektroskopie môže identifikovať nielen typ anorganických materiálov, ale tiež fyzickú formu. Použitie farbivá a pigmenty môžeme stanoviť chronologicky. Podľa skúmania Ramanových spektier obrazov a archeologických nálezov, ako je napríklad keramika, môže byť určená staroba práce. Znalosť zloženia môže byť použitá na rozlíšenie originálneho diela od reštaurovaných, alebo falošných. [10]

## 2.3 Biologické a farmaceutické využitie

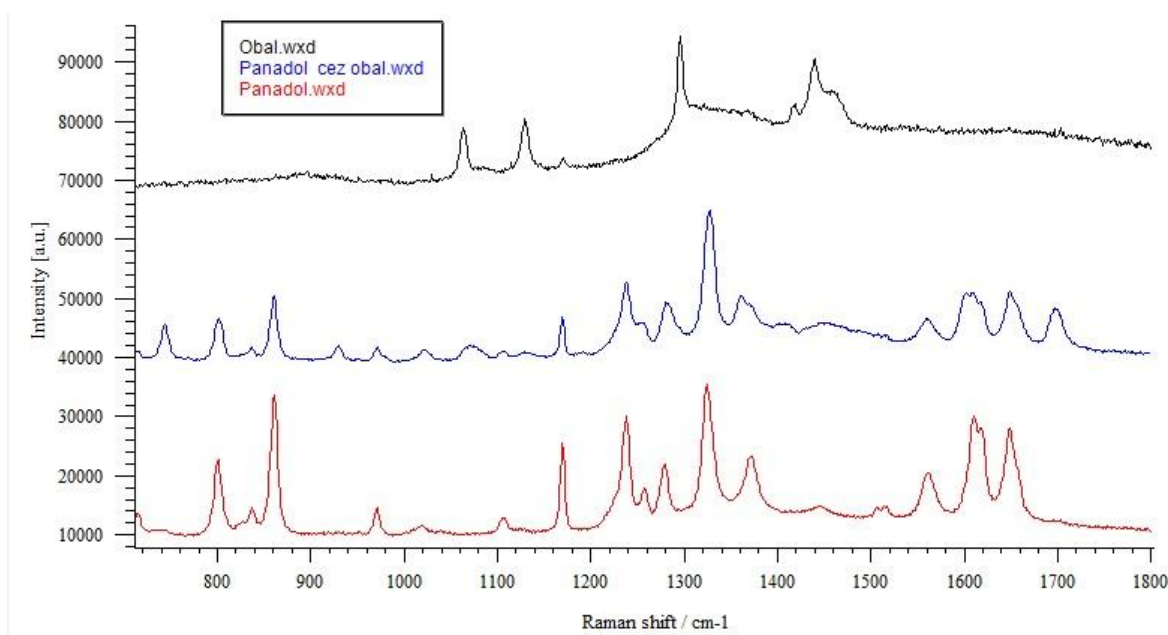
Existujú dva konkrétne aspekty, ktoré sú spoločné pre obe odvetvia. Jedným z nich je možnosť študovať materiáli na pôvodnom mieste, čo sa využíva napríklad v biológii, kde sa dajú študovať živé bunky vo vode. Vo farmaceutickej oblasti sa využíva štúdium liečiv vnútri polymérnych obalov.[10]

### 2.3.1 Biologické využitie

Medzi výhody pri použití Ramanovej spektroskopie na štúdium biologickej molekuly patrí možnosť merania priamo vo vodných systémoch. Jednou z nevýhod je, že pri použití vysoko cieleného lúča sa môže citlivé tkanivo poškodiť. Bolo študované DNA, proteínové zoskupenia, alebo rastové bunky.[10]

### 2.3.2 Farmaceutické využitie

Výhody Ramanovej spektroskopie pre farmaceutické účely pochádzajú z jednoduchosti použitia, minimálnou manipuláciou zo vzorkami a veľkými rozdielmi v sile relatívnych rozptylov obalových materiálov. Zobrazovaním tabliet priamo v obale sa kontroluje distribúcia, alebo množstvo účinnej látky či prísad. Rozptyl z liečiv je zvyčajne intenzívny v porovnaní s plastovými obalmi, v ktorých bývajú uložené. Na obrázku č.9 je ukážka meraní tablety priamo aj cez obal.[10]



Obr. 9. Porovnanie merania bez obalu a cez obal

## 2.4 Forenzné využitie

Moderný vývoj v zariadení na detekciu Ramanovho rozptylu učinil metódu veľmi užitočnú v oblasti kriminalistiky. Hlavné výhody tejto metódy sú neinvazívnosť, bezkontaktná podstata spôsobu merania, je veľmi ľahko dosiahnuteľná s malými množstvami vzorku a osobitosť molekulárnych pováh Ramanovho rozptylu. Využívajú sa spektrometre s viditeľnou alebo blízkou infračervenou vlnovou dĺžkou. Spektroskopy s Fourierovou transformáciou používajú laser s vlnovou dĺžkou 1064 nm, čo spôsobuje zníženie fluorescence oproti viditeľným laserom.[10]

### 2.4.1 Kopírovacie toneri

Podozrivé dokumenty zahrňujúce podvody, alebo vyhrážky sú väčšinou vytvorené na tlačiarni alebo kopírke. Toneri z tlačiarní boli študované pre forenznú analýzu, ako trieda polymerických materiálov. Ako príklad, kde sa využila analýza kopírovacieho toneru, môžem uviesť prípad, keď sa vyšetroval štítok s adresou. Zabalená bomba bola poslaná do výkonnej korporácie s adresným štítkom. S tohto adresného štítku sa zistilo, že bomba bola poslaná zamestnancom tejto firmy a obálku vytlačil na jednej z 200 kopírok vo firme. Pre vyšetrovateľov bolo dôležité zistiť, v ktorom modeli bola obálka vytlačená. Pomocou spektroskopie zistili spektrá všetkých modelov a zistili podobnosť práve s jedným. [11]

### 2.4.2 Vlákna

Textilné vlákna sú často prenášané z odevu pri osobnom kontakte, pri násilných činoch ako napríklad znásilnenie, alebo zabitie. Najprednejšou metódou na analýzu takýchto typov dôkazov je vizuálna mikroskopia. Spektroskopické metódy môžu veľmi presne určiť farbu, tvar, textúry a chemické zloženie textílie. Boli vytvorené knižnice polymérnych vlákien pre pomoc forezným vyšetrovateľom pri identifikácii zloženia vlákna.[11]

### 2.4.3 Farby

Vedci predviedli využitie Ramanovej spektroskopiekej analýzy pre identifikáciu organických a anorganický druhov pigmentov na maľbách. Spektroskopia sa využíva napríklad pre analyzovanie farieb na autách po autonehodách. [11]

#### 2.4.4 Pásky

Analyzovanie lepiacich pásovk citlivých na tlak hrá dôležitú úlohu v kriminalistike pre jej všeobecné využitie. Elektrikárske pásky môžu byť použité na inštaláciu elektronických zariadení na bomby, lepiace pásky pri zviazaní obetí násilných činov, alebo balenie drog. Ramanova spektroskopie môže byť použitá na analýzu lepidla aj zadnej časti pásky a následne porovnaná s databázami.[11]

#### 2.4.5 Drogy

Ramanova spektroskopie sa využíva pri laboratórnych analýzach aj pri analýzach priamo v teréne. Mnohé drogy majú výrazné Ramanove rozptyly, obdobne ako farmaceutické produkty, preto sa používa na rýchlu analýzu s priamym budením laserového lúča vláknových optických sond, alebo mikroskopov. Využitie vláknových optických sond, alebo metód s priamym budením laserového lúča, umožňuje získať spektrá drogových vzoriek uložených v plastových vrecúškach alebo fľašiach. [11]

#### 2.4.6 Výbušniny

Výbušniny vytvárajú unikátne spektrá, podľa ktorých sa dajú určiť hlavné komponenty vo výbušnине. Často sa na mieste činu nájdu neznáme materiály, pre bezpečnosť je dôležité stanoviť chemické zloženie pred tým, ako sa materiál prinesie do laboratória na bližšie prešetrenie. Pre tieto účely sa využíva prenosný systém Ramanovej spektroskopie. [11]

### 2.5 Vyšetrovanie na mieste činu

V deväťdesiatych rokoch bolo vynakladané úsilie na používanie Ramanovej spektroskopie v teréne. Vývoj príslušenstva so schopnosťou neinvazívneho merania s možnosťou nosenia tohto zariadenia na miesto činu motivovalo vývojárov. Prvý spektrometer s redukovanou veľkosťou, vážiaci asi 30kg, bol vyvinutý v polovici deväťdesiatych rokov. Prístroj sa hneď začal využívať na vyšetrovanie podozrivých výbušnín. Tento spektrometer je stále označovaný ako RS2000 a je vybavený notebookom a sondou s optického vlákna. Na konci deväťdesiatych rokov boli prenosné spektrometre podstatne menšie, čo sa ale odzrkadlilo na nižšom rozlíšení. Nová generácia Ramanových spektrometrov bola vytvorená v roku 2005. Táto nová generácia uľahčovala vyhľadávanie materiálov v knižniciach a riešila ostatné tradičné problémy Ramanových spektrometrov. Existuje viac vyhodnocovacích postupov. [11]

Jeden postup eliminuje všetky spektrá s knižnice, ktoré sa nemôžu zhodovať zo skúmanou vzorkou. Ak sú tu nejaké spektrá, ktoré nemôžu byť eliminované, sú zobrazené na displeji spolu s percentuálnou možnosťou zhody. [11]

Ďalšia metóda, ktorá sa využíva prevažne pri analyzovaní látok podozrivých s toho, že sú to výbušniny, je založená na pravdepodobnosti nehody. Vlastne obsahuje knižnicu potenciálne nebezpečných látok, ktoré eliminuje. Na základe výsledku sa dá rozhodnúť či je bezpečné látku odvieť na podrobnejší prieskum, alebo je potrebné ju zničiť, či inak zneškodniť na mieste. [11]



*Obr. 10. Meranie prenosným spektrometrom*

### 3 LABORATÓRNA ÚLOHA

Jedným z cieľov bakalárskej práce je navrhnuť a spracovať podklady pre vytvorenie laboratórnej úlohy využívajúcu Ramanovu spektroskopiu pre forenzné účely. V tejto kapitole je rozobraná voľba, vhodnosť a príprava vzoriek a tiež popis použitého Ramanovho spektrometru a softwaru pre spracovanie nameraných spektier. Vzhľadom k tomu, že pre identifikáciu materiálov na základe Ramanových spektier sa často využívajú spektrálne knižnice, bola pre účely laboratórnej úlohy vytvorená databáza spektier potrebných pre vyhodnotenie.

#### 3.1 Voľba a príprava vzorkou

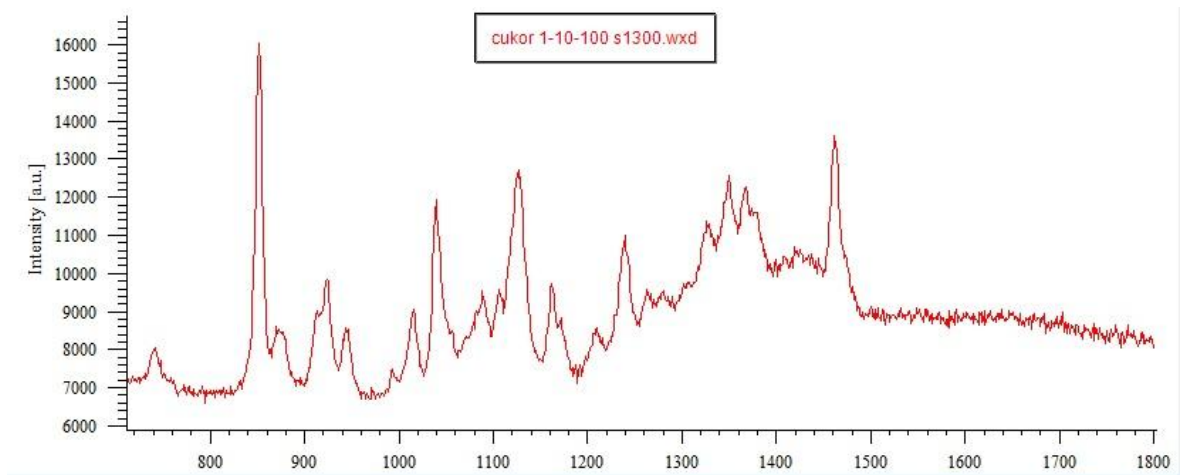
Prvým krokom bolo vymyslieť vhodné vzorky pre meranie. Na laboratórnu úlohu boli zvolené dva druhy vzorkou, biele prášky a farby nanesené na textile.

##### 3.1.1 Biele prášky

Vybrané boli bežné veci, ako napríklad cukor alebo múka alebo omietka. Ostatné vzorky sú liečivá, ktoré boli vybrané pre ich výrazné spektrá s dobrým signálom. Pri príprave laboratórnej úlohy som nameral celkovo sedem rôznych bielych práškov. Pre meranie vzoriek bolo dôležité nájsť čo najvhodnejšie parametre merania, ktoré sú uvedené ďalej v texte. Spektrá boli najprv premerané v celom rozsahu v režime extended, tj.  $100 - 3200 \text{ cm}^{-1}$ . Vzhľadom k tomu že sa charakteristické píky nevyskytujú v celom rozsahu, bol zvolený menší rozsah, ktorý je merateľný v režime static scan. Tento režim umožňuje získať presnejšie spektrá v kratšom čase, čo je dôležité aj pre zvládnutie merania v obmedzenom čase pre laboratórne merania. Všetky merania boli vykonané s laserom ktorý má vlnovú dĺžku 785nm.

- **Cukor**

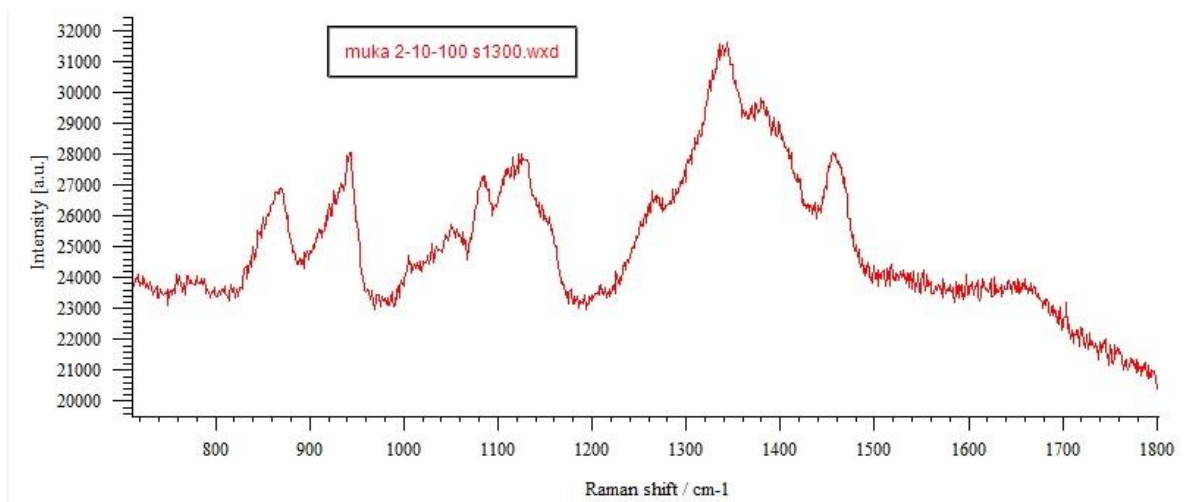
Pri meraní spektra cukru boli zvolené tieto parametre merania: doba merania 1 sekunda, počet akumulácii 10, výkon laseru 100%. Stred rozptylu bol nastavený na  $1300 \text{ cm}^{-1}$ .



Obr. 11. Spektrum cukru

- **Múka**

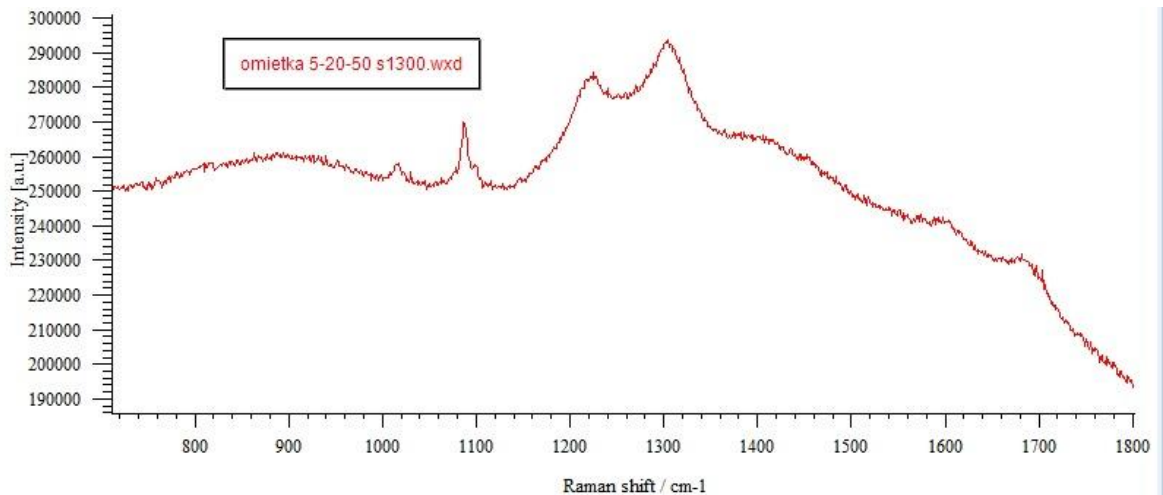
Pri meraní spektra múky boli zvolené tieto parametre: doba merania 2 sekundy, počet akumulácii 10, výkon laseru 100%. Stred rozptylu bol nastavený na  $1300\text{ cm}^{-1}$ .



Obr. 12. Spektrum múky

- **Omietka**

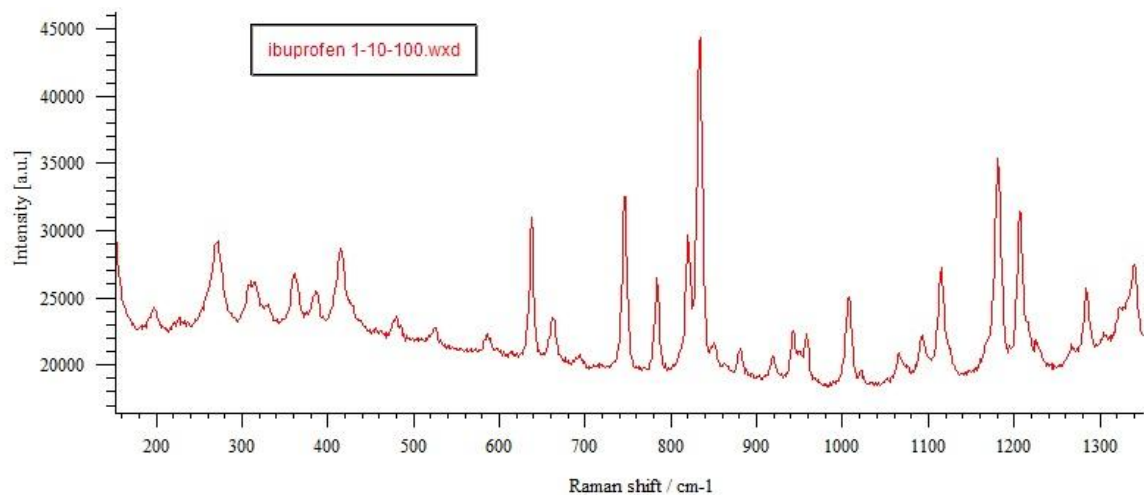
Pri meraní spektra omietky boli zvolené tieto parametre: doba merania 5 sekúnd, počet akumulácii 20, výkon laseru 50%. Stred rozptylu bol nastavený na  $1300\text{ cm}^{-1}$ . Pri tomto meraní bolo nutné zvýšiť čas merania na 5 sekúnd a počet akumulácii na 20 pre vysokú luminiscenciu materiálu. Z rovnakého dôvodu bol znížený výkon laseru na 50%.



Obr. 13. Spektrum omietky

- **Ibuprofen**

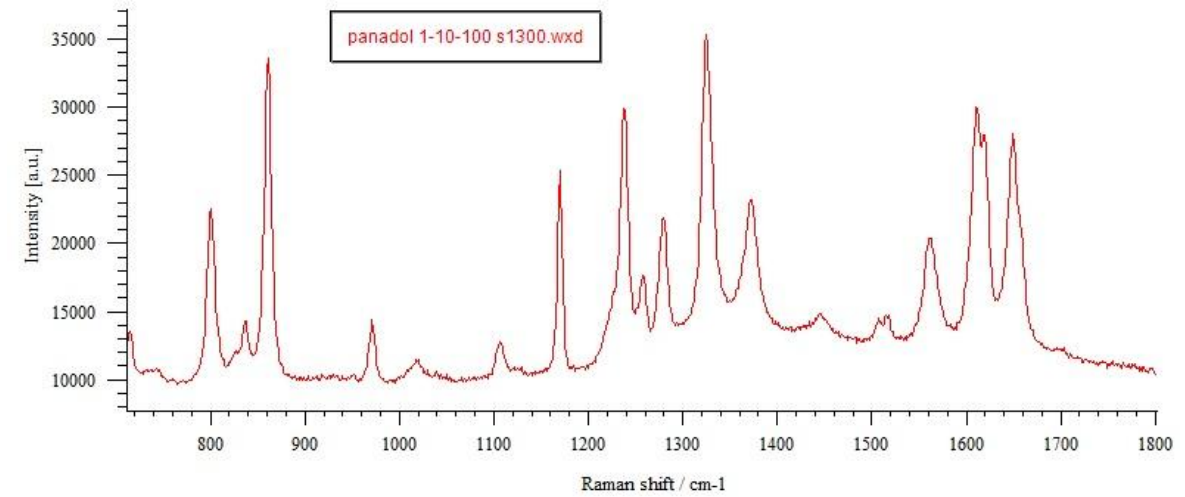
Pri meraní spektra ibuprofenu boli zvolené tieto parametre: doba merania 1 sekunda, počet akumulácií 10, výkon laseru 100%. Stred rozptylu bol nastavený na  $800\text{ cm}^{-1}$ .



Obr. 14. Spektrum ibuprofenu

- **Panadol**

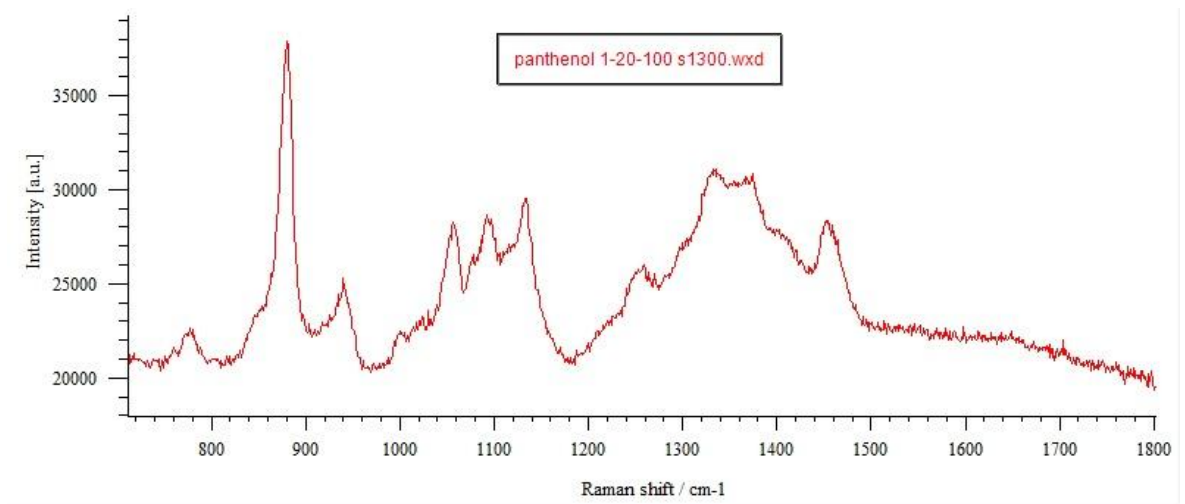
Pri meraní spektra ibuprofenu boli zvolené tieto parametre: doba merania 1 sekunda, počet akumulácií 10, výkon laseru 100%. Stred rozptylu bol nastavený na  $1300\text{ cm}^{-1}$ .



Obr. 15. spektrum panadolu

- **Panthenol**

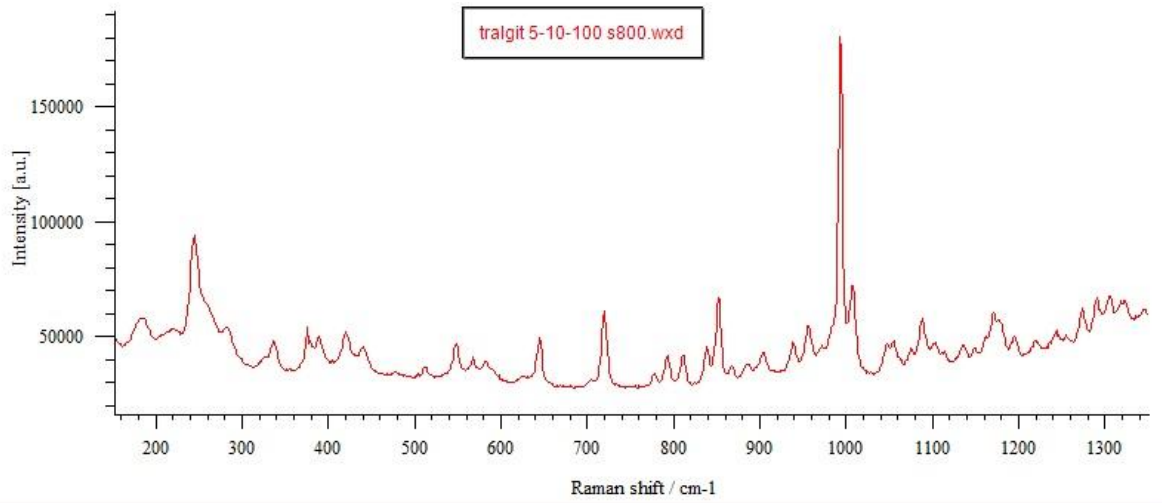
Pri meraní spektra panthenolu boli zvolené tieto parametre: doba merania 1 sekunda, počet akumulácii 20, výkon laseru 100%. Stred rozptylu bol nastavený na  $1300\text{ cm}^{-1}$ .



Obr. 16. Spektrum panadolu

- **Tralgit**

Pri meraní spektra panthenolu boli zvolené tieto parametre: doba merania 5 sekúnd, počet akumulácii 10, výkon laseru 100%. Stred rozptylu bol nastavený na  $1300\text{ cm}^{-1}$ .



Obr. 17. Spektrum tralgitu



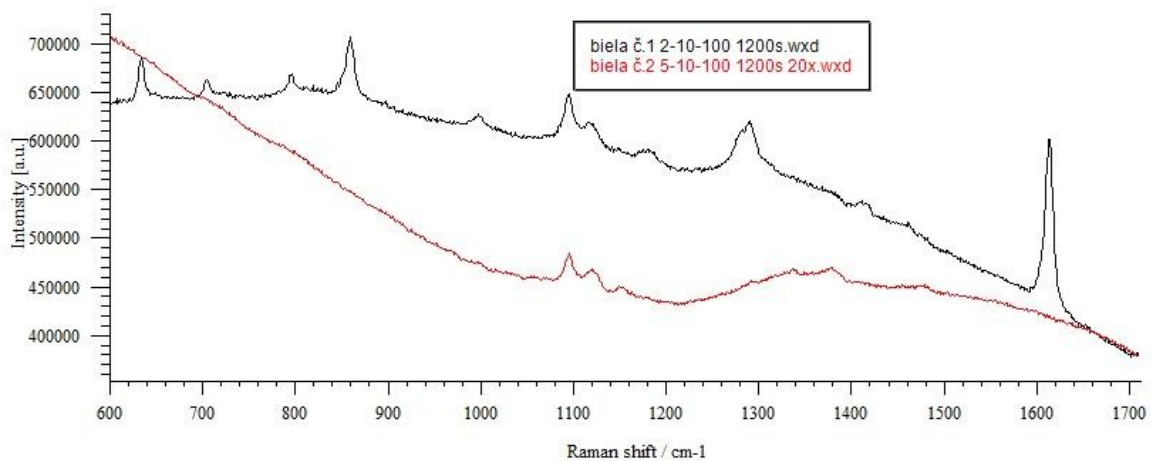
Obr. 18. Merané vzorky bielych práškov

### 3.1.2 Farby na textile

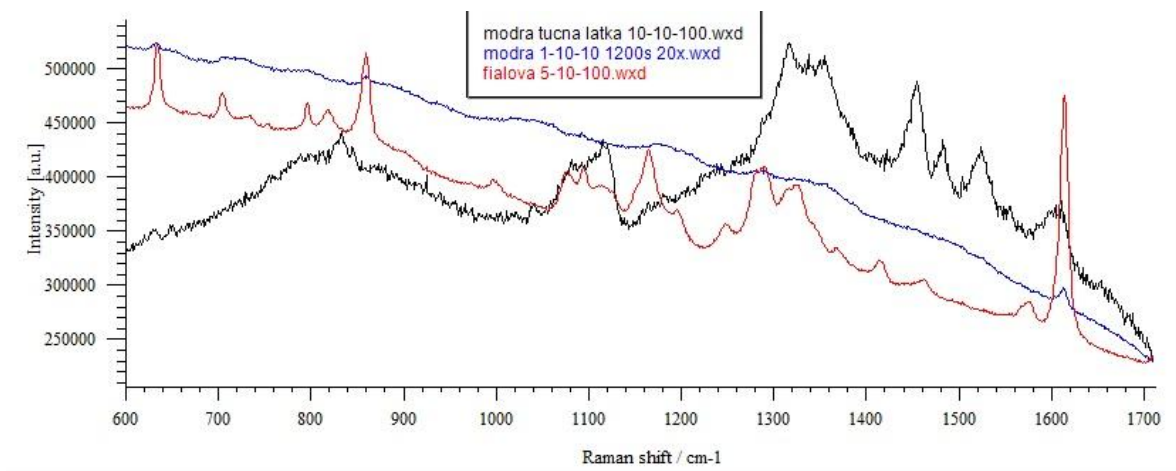
Stopy farbív na textíliách sú častou vzorkou pre vyšetovanie, preto boli ako druhý typ vzoriek zvolené stopy rôznych červených farieb na niekoľkých tkaninách. Ako prvé boli namerané spektrá látok. Spektrá pre bielu látku č.1, bielu látku č.2, modrú látku, fialovú

látku a hrubšiu modrú látku. Po ich porovnaní bola pre laboratórnu úlohu na základe nameraných spektier vybratá biela látka č.2, pretože jej spektrum nemalo vysokú fluorescenciu a nemalo príliš výrazné píky. Farby boli vybrané z bežných červených vecí, dva druhy laku na nechty, pastelka, rúž na ústa, gélové pero a temperová farba.

Na obrázku č. 19 a 20 sú zobrazené Ramanové spektrá všetkých meraných látok. Pre laboratórnu úlohu boli vybrané biela č.1 a biela č.2.



Obr. 19. Spektrum bielej látky č.1 a č.2

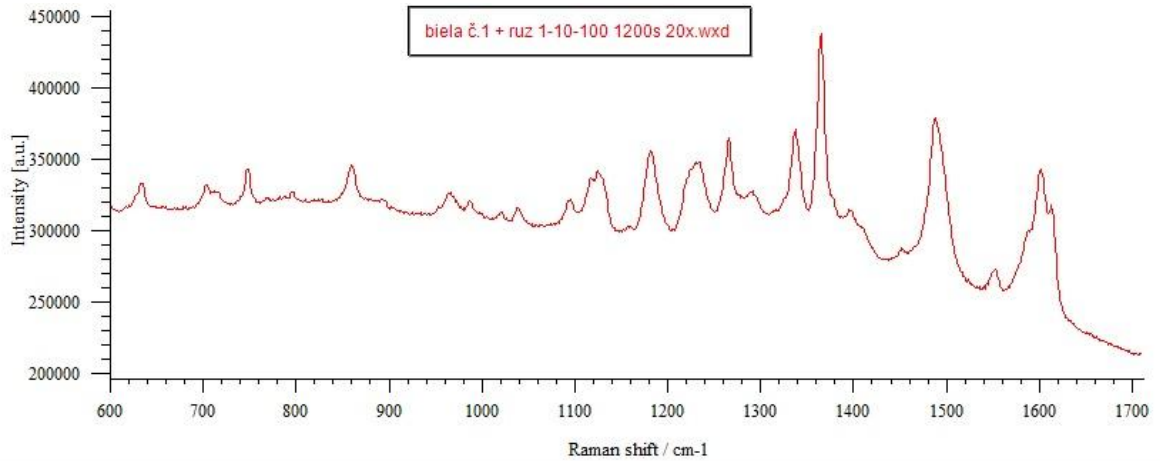


Obr. 20. Spektrá nepoužitých látok

Ďalšie merania boli merané na bielej látke č.2, okrem jedného merania na bielej látke č.1 pre možnosť merania v laboratórnej úlohe.

- **Biela látka č.1 so škvrou od rúžu**

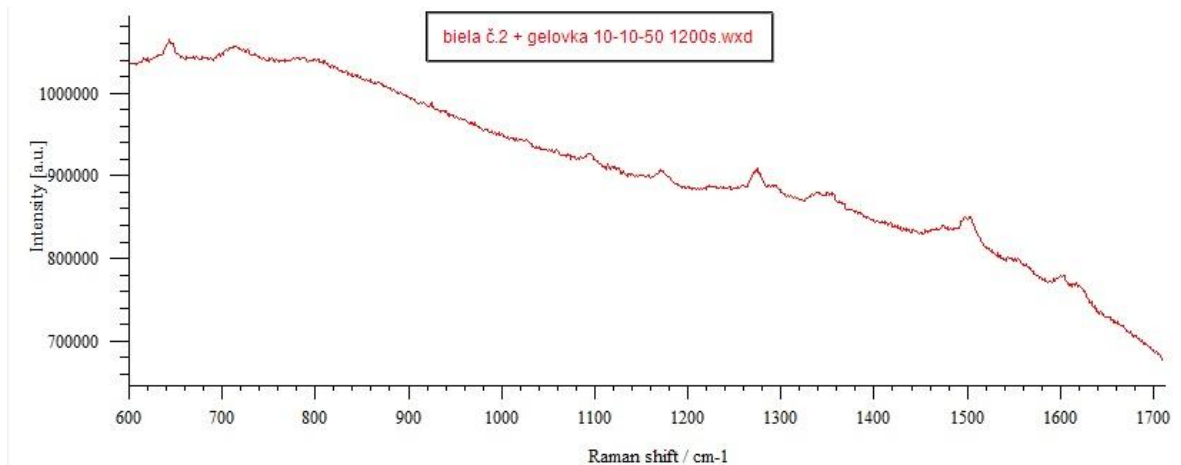
Pri meraní bielej látky č.1 s naneseným rúžom boli nastavené tieto parametre: doba merania 1 sekunda, počet akumulácií 10, výkon laseru 100%. Stred rozptylu bol nastavený na  $1200\text{ cm}^{-1}$ .



Obr. 21. Biela látka č.1 s naneseným rúžom

- **Biela látka č.2 so škvrou od gélového pera**

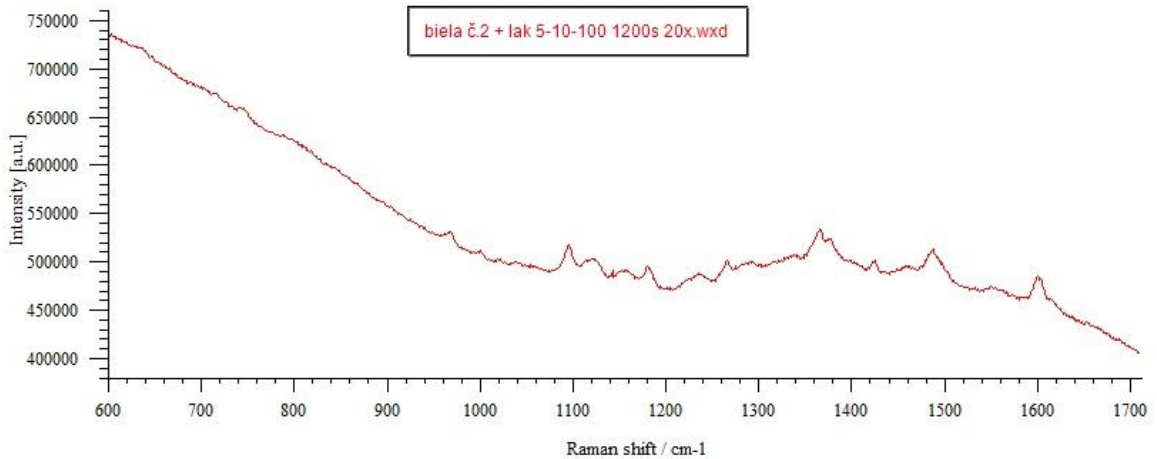
Pri meraní bielej látky č.2 s naneseným gélovým perom boli nastavené tieto parametre: doba merania 10 sekúnd, počet akumulácií 10, výkon laseru 50%. Stred rozptylu bol nastavený na  $1200\text{ cm}^{-1}$ .



Obr. 22. Biela látka č.2 s naneseným gélovým perom

- **Biela látka č.2 so škvrou od laku na nechty**

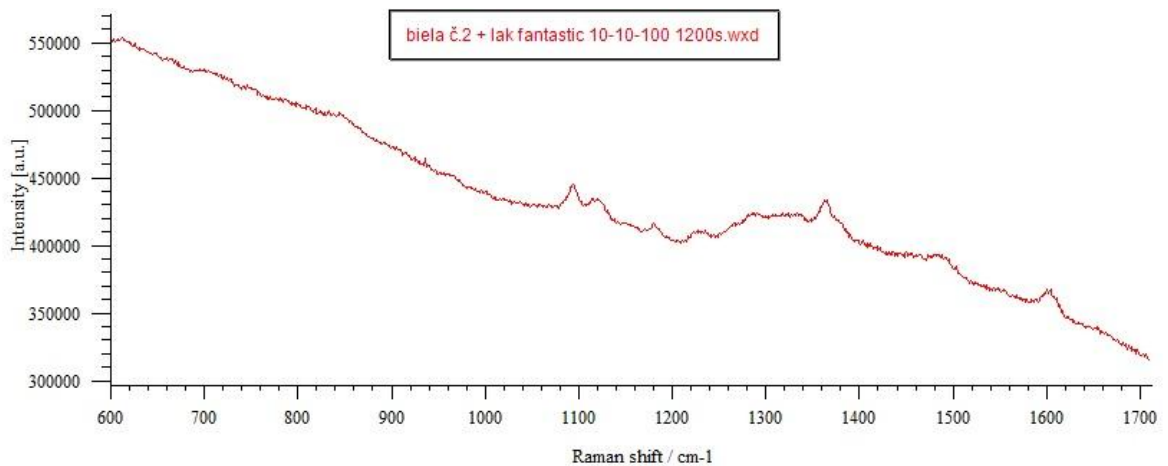
Pri meraní bielej látky č.2 s naneseným lakom na nechty boli nastavené tieto parametre: doba merania 1 sekunda, počet akumulácií 10, výkon laseru 100%. Stred rozptylu bol nastavený na  $1200\text{ cm}^{-1}$ .



Obr. 23. Biela látka č.2 s naneseným lakom na nechty

- **Biela látka č.2 so škvrou od laku Fantastic na nechty**

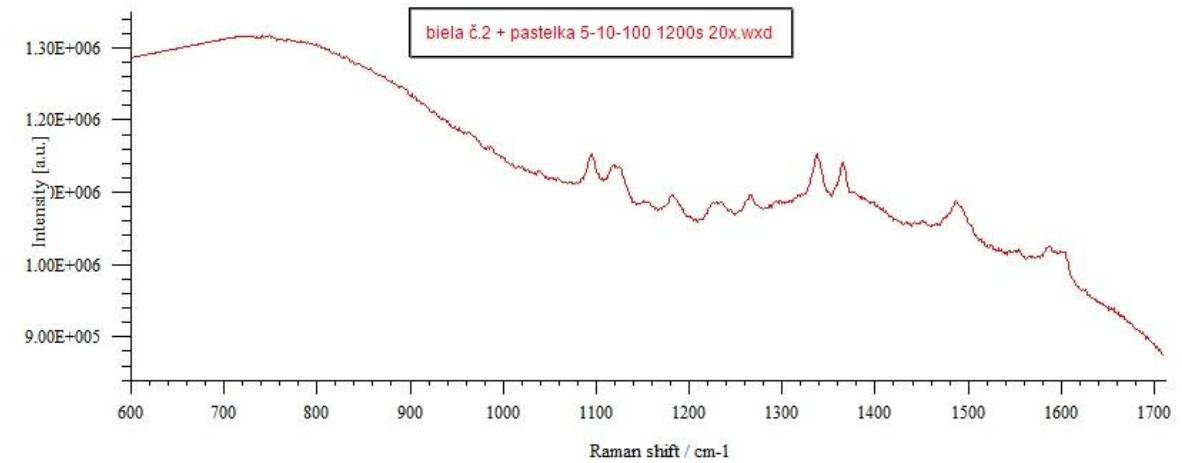
Pri meraní bielej látky č.2 s naneseným lakom Fantastic na nechty boli nastavené tieto parametre: doba merania 10 sekúnd, počet akumulácií 10, výkon laseru 100%. Stred rozptylu bol nastavený na  $1200\text{ cm}^{-1}$ .



Obr. 24. Biela látka č.2 s naneseným lakom na nechty Fantastic

- **Biela látka č.2 so škvrou od pastelky**

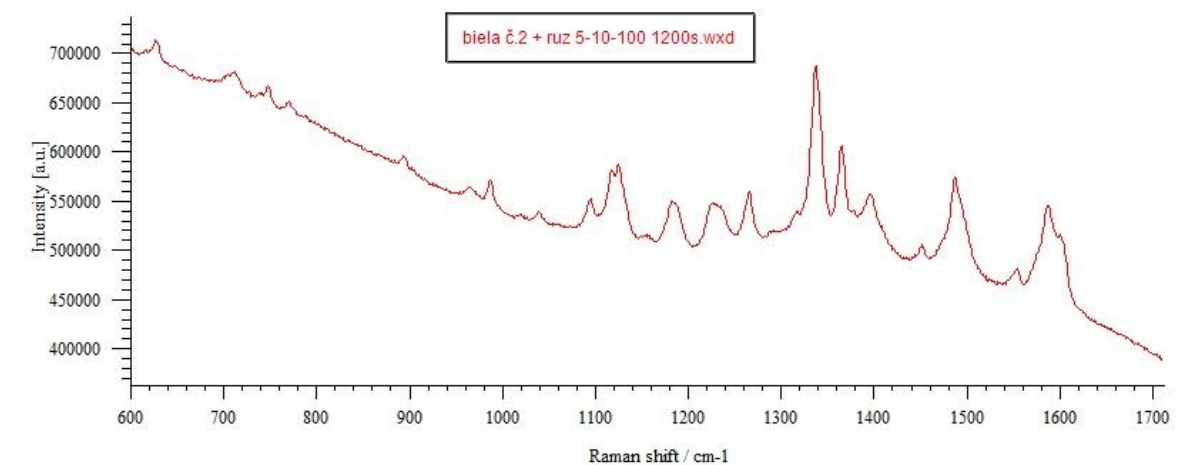
Pri meraní bielej látky č.2 s nanosenou pastelkou boli nastavené tieto parametre: doba merania 5 sekúnd, počet akumulácii 10, výkon laseru 100%. Stred rozptylu bol nastavený na  $1200\text{ cm}^{-1}$ .



Obr. 25. Biela látka č.2 s nanosenou pastelkou

- **Biela látka č.2 so škvrou od rúžu**

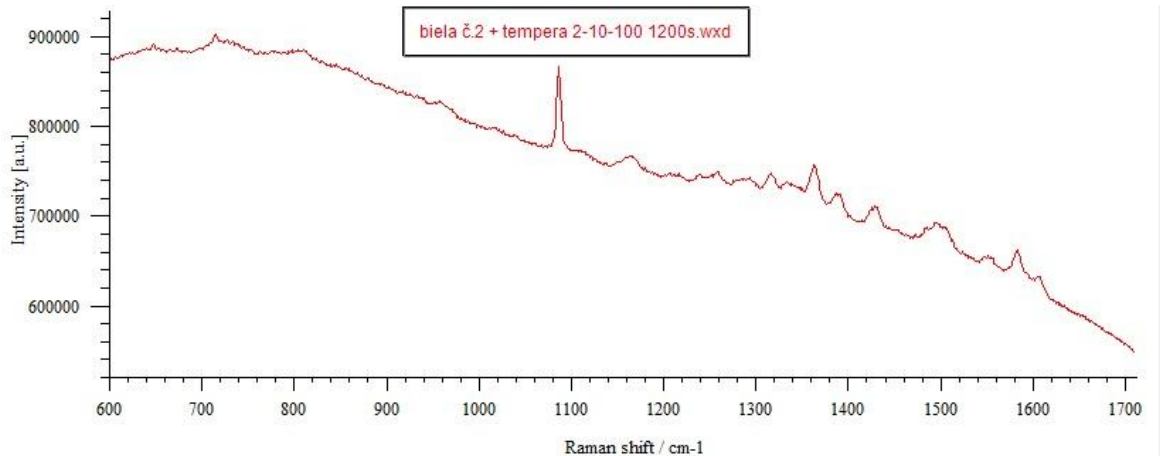
Pri meraní bielej látky č.2 s naneseným rúžom boli nastavené tieto parametre: doba merania 5 sekúnd, počet akumulácii 10, výkon laseru 100%. Stred rozptylu bol nastavený na  $1200\text{ cm}^{-1}$ .



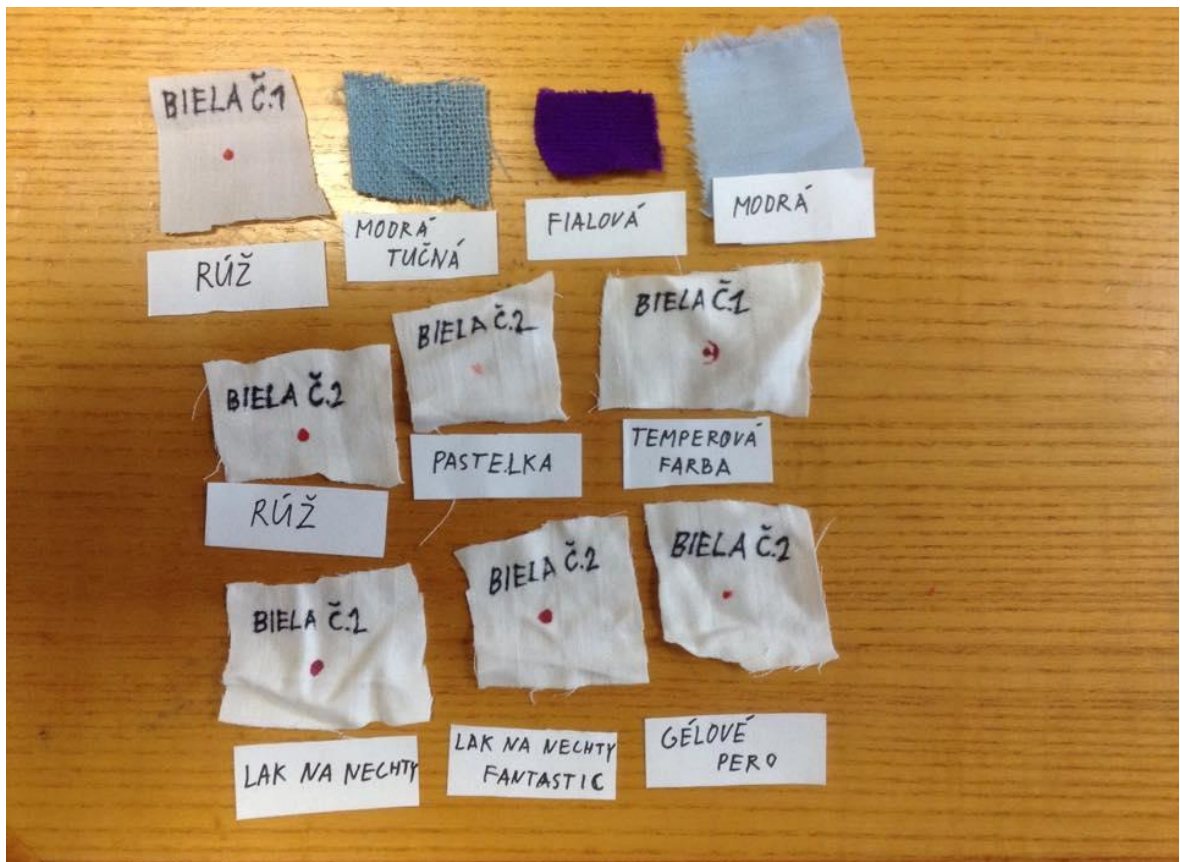
Obr. 26. Biela látka č.2 s naneseným rúžom

- Biela látka č.2 so škvrnou od temperovej farby

Pri meraní bielej látky č.2 s nanosenou temperovou farbou boli nastavené tieto parametre: doba merania 2 sekundy, počet akumulácií 10, výkon laseru 100%. Stred rozptylu bol nastavený na  $1200\text{ cm}^{-1}$ .



Obr. 27. Biela látka č.2 s nanosenou temperovou farbou



Obr.28. Merané vzorky látok so škvrnami

### 3.2 Popis přístroja

Ramanove spektrometri sa zvyčajne skladajú z týchto častí :

- Zdroj monochromatického svetla (zvyčajne laser)
- Prostriedok, ktorý vyžaruje svetlo na vzorku a zbiera rozptýlené svetlo ( často je to mikroskop )
- Prostriedok na odfiltrovanie všetkého svetla, okrem nepatrného množstva, ktoré bolo Ramanom rozptýlené (často holografický „vrub“ alebo dielektrické „okrajové“ filtre)
- Zariadenie pre rozdelenie Ramanom rozptýleného svetla do komponentu vlnovej dĺžky, spektrum (napríklad difrakčné mriežky)
- Zariadenie citlivé na svetlo, na detekciu tohto svetla (kamery s nábojovo citlivými súčiastkami „CCD kamery“)
- Počítač na ovládanie prístroja a motorov, a na analýzu dát [12]

Na vypracovanie meranie spektier bol použitý Ramanov mikroskop na Obr.29



Obr. 29. Ramanov mikroskop inVia Basic

- 1) Laser
- 2) Mikroskop
- 3) Spektrometer
- 4) CCD
- 5) Automatický stolík na uloženie vzoriek
- 6) Mikro a makro zaostrovanie
- 7) Ovládanie automatického stolíka

### 3.2.1 Postup merania

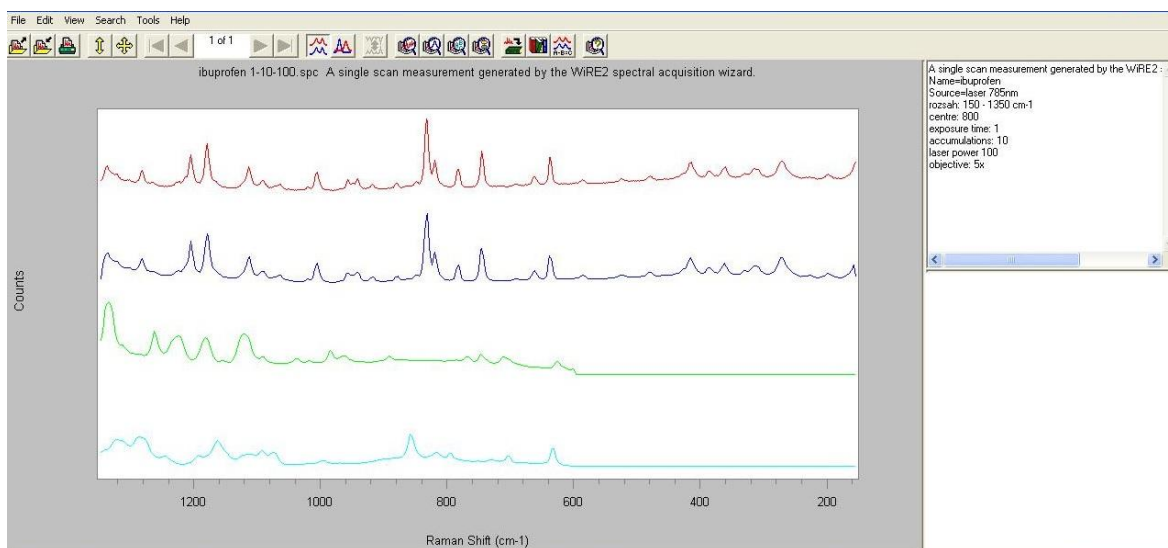
Pre meranie sa predpokladá zapnutý a skalibrovaný prístroj (vykoná vyučujúci)

- 1) Vložte vzorku pod mikroskop
- 2) Zaostríte pomocou makro zaostrenia pri objektíve so zväčšením 5x
- 3) Mikro doostrenie, alebo použitie automatizovaného stolíka
- 4) V prípade potreby zmeňte objektív na 20, alebo 50x a znova doostríte

- 5) Spustíte meranie
- 6) Nastavíte parametre merania v softwaru
- 7) Zmerajte spektrum
- 8) Ramanove spektrum uložte, v prípade potreby aplikujte nástroj na úpravu dát

### 3.3 Databázy Ramanových spektier

Pre účely vyhodnotenia Ramanových spektier, resp. identifikáciu meraných materiálov, sa využívajú databázy Ramanových spektier. Na základe prítomnosti charakteristických píkov sa dá porovnaním s uloženými spektrami nájsť zhoda a určiť o aký materiál sa jedná. Pre potreby laboratórných úloh, bola vytvorená databáza z nameraných spektier s názvom Laboratorní úlohy 1 v programovom prostredí SpectralID, na obrázku č.30 je ukážka porovnávania nameraného spektra zo spektrami vo vytvorenej databáze. Databáze sú k dispozícii v laboratóriu Ramanovej spektroskopie na Fakulte aplikovanej informatiky.



Obr. 30. Hlavná strana databázy SpectralID

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 4 ZADANIE LABORATÓRNEJ ÚLOHY

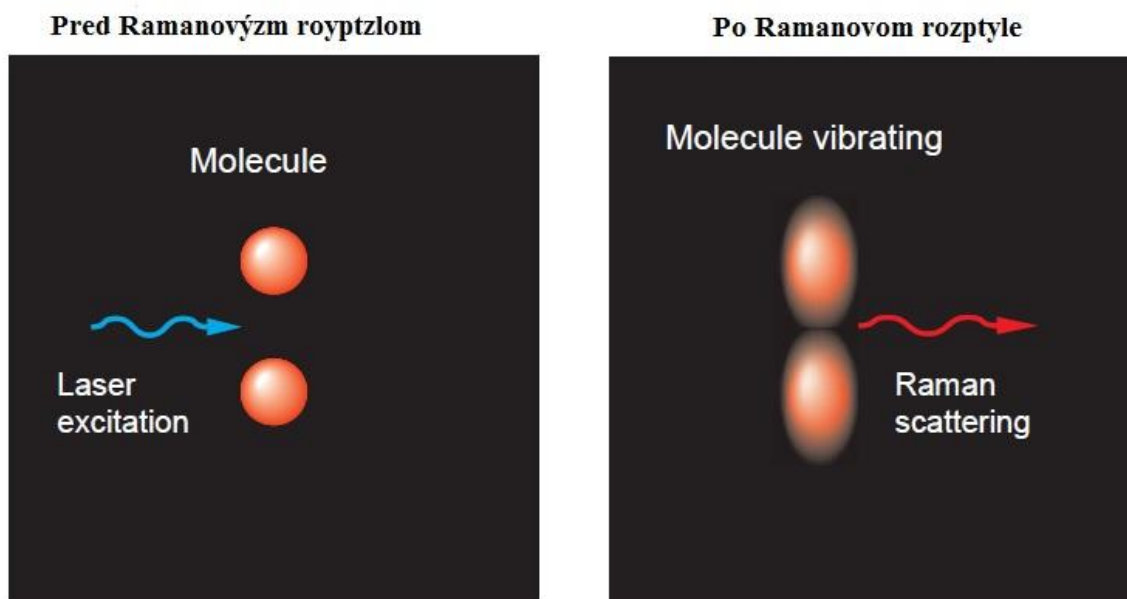
Na základe voľby vzoriek boli vytvorené dve samostatné laboratórne úlohy. Prvá na identifikáciu bielych práškov a druhá na identifikáciu farieb na textílii.

Teoretická príprava pre obe úlohy zahŕňujúca popis Ramanovho javu, stručného popisu softwaru a použitia programu spectralID je rovnaká. Zadanie laboratórných úloh je tiež spracované ako samostatný dokument, ktorý je uvedený v elektronickej prílohe k BP.

### 4.1 Teoretická príprava

- **Ramanov jav**

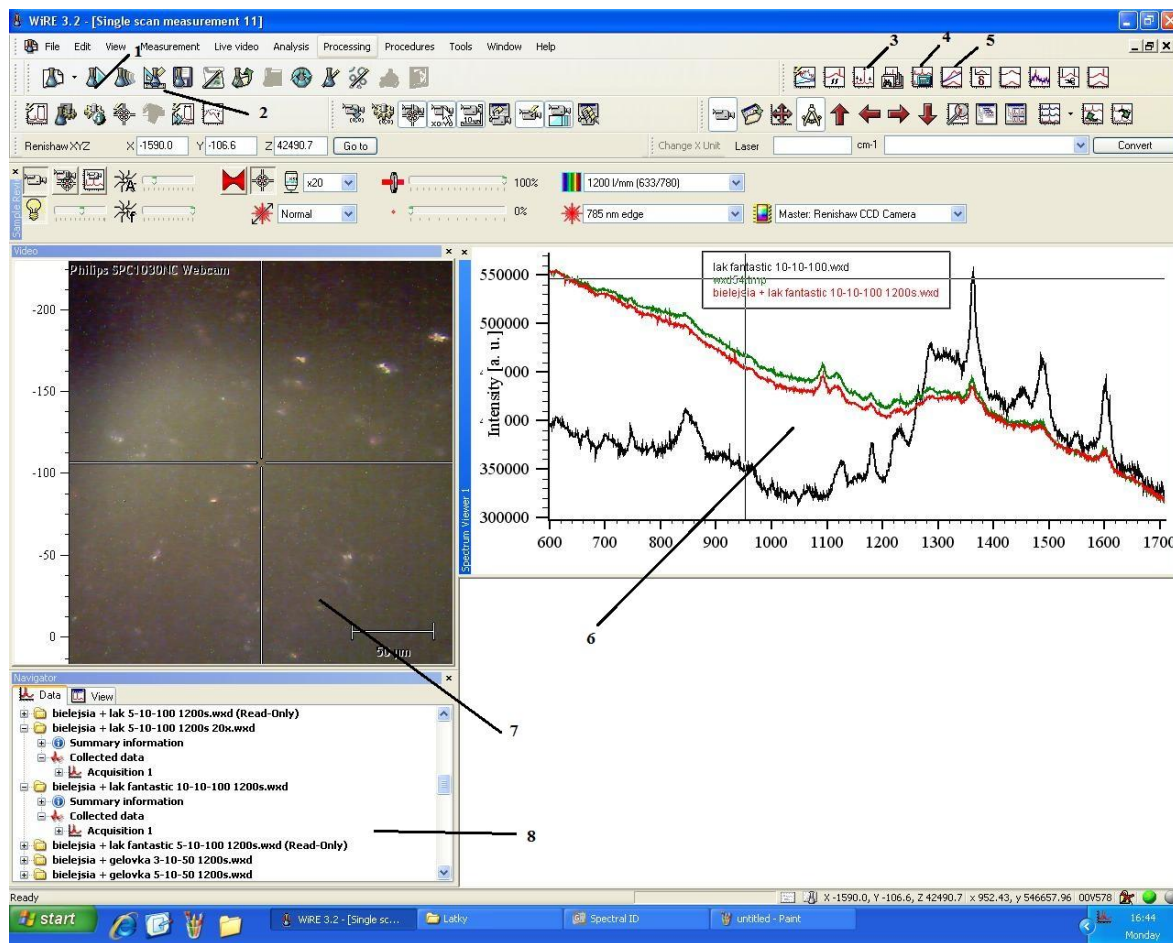
Monochromatické svetlo laseru sa po dopade na materiál rozptyľuje. Väčšina žiarenia sa rozptýli s nezmenenou vlnovou dĺžkou (Rayleighovo rozptýlené svetlo). Nepatrné množstvo svetla, asi 1 diel z 10 miliónov, sa rozptýli s mierne odlišnou vlnovou dĺžkou (Ramanove rozptýlené svetlo). Práve táto drobná časť je podstatná pre vznik Ramanovho spektra, ktoré odráža molekulárnu štruktúru študovaného materiálu. [12]



Obr. 31. Schéma Ramanovho efektu [12]

## 4.2 Popis využitého softwaru

Ramanov spektrometer, ktorým boli merania uskutočnené, využíva software WiRE 3.2. Tento software je veľmi prehľadný, intuitívny a celkovo sa s ním dobre pracuje. Ukážka s popisom najdôležitejších častí je na Obr. 32.



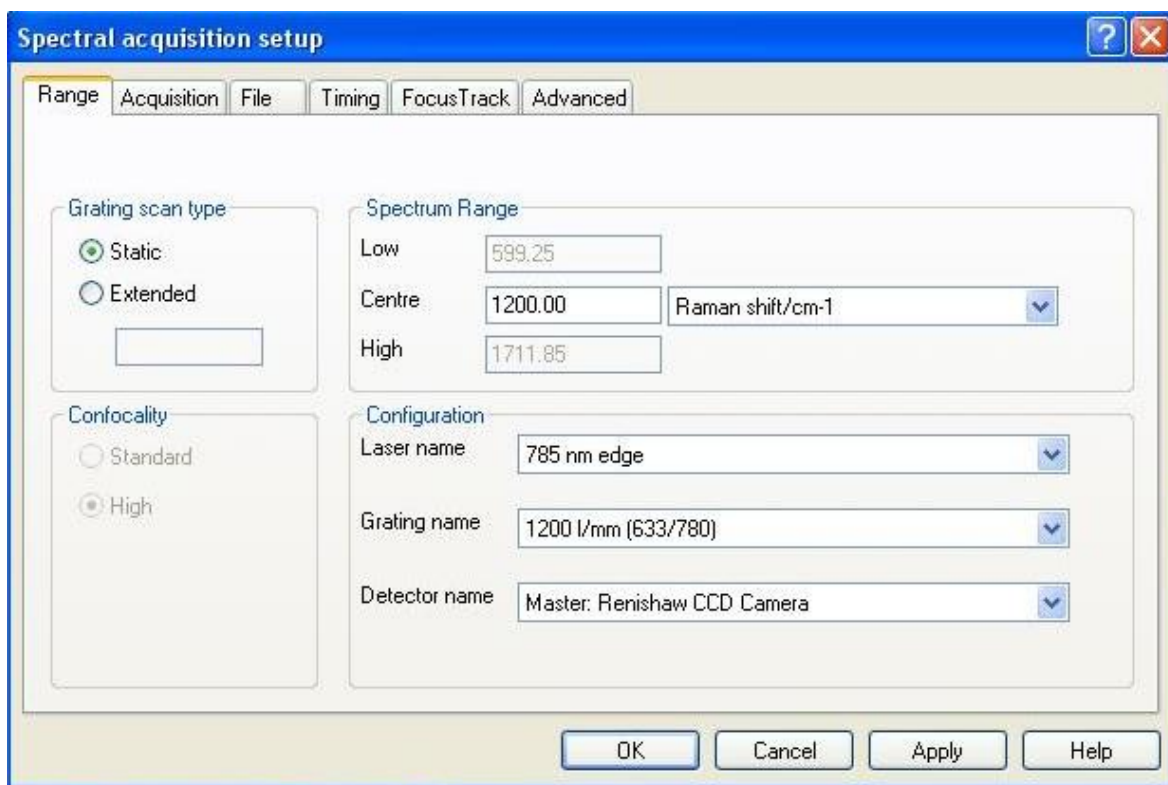
Obr. 32. Hlavná obrazovka WIRE 3.2

- 1) Spustenie merania.
- 2) Nastavenie parametrov merania
- 3) Zobrazenie polohy píkov (peak pick)
- 4) Odčítavanie spektier (data arithmetic)
- 5) Aproximácia grafu (subtract baseline)
- 6) Namerané spektrá
- 7) Kamera na vzorku
- 8) Namerané data

#### 4.2.1 Nastavenie parametrov merania

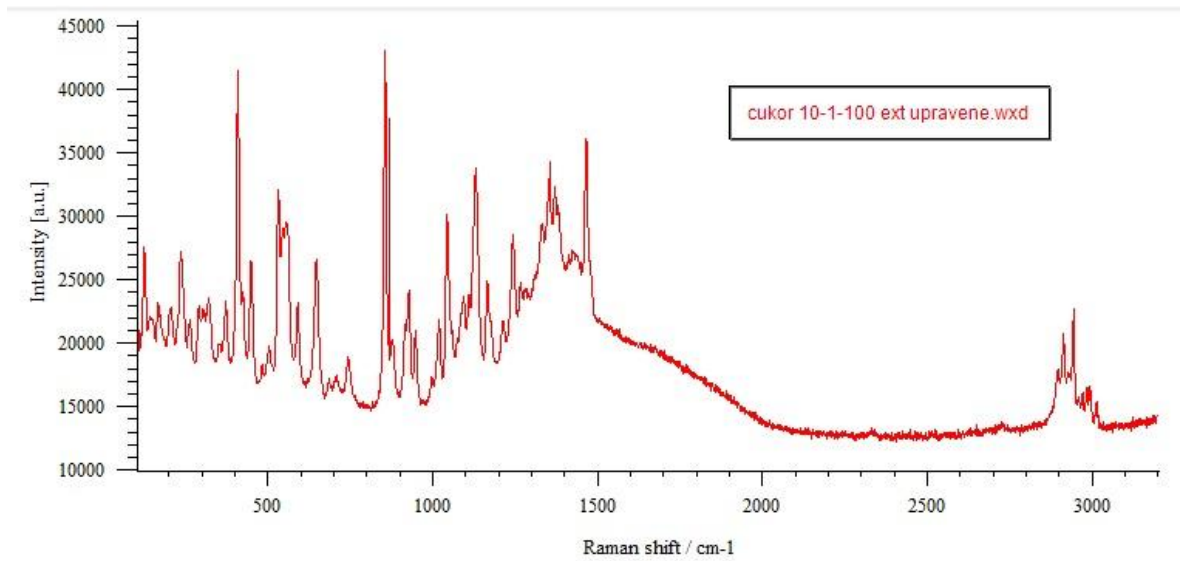
Pri každom meraní sa musia nastaviť parametre, ako sú rozsah spektra, dĺžka merania, počet opakovaní merania a výkon laseru. Software umožňuje viac nastavení, pre účely laboratórnej úlohy sú dostačujúce tieto zmienené. Parametre sa nastavujú podľa meraného materiálu za účelom získať čo najzreteľnejšie s minimálnym podielom šumu a čo najväčším potlačením prípadnej luminiscencie vzorky.

Na Obr. 33 je zobrazené nastavenie rozsahu spektra. Keď je zvolený režim statického skenovania, ako v tomto prípade, je nutné nastaviť požadovaný stred spektra. Pri rozšírenom (extended) meraní sa meria celé spektrum (od 0 do  $3200\text{ cm}^{-1}$ ), čo má ale za následok dlhšie meranie.

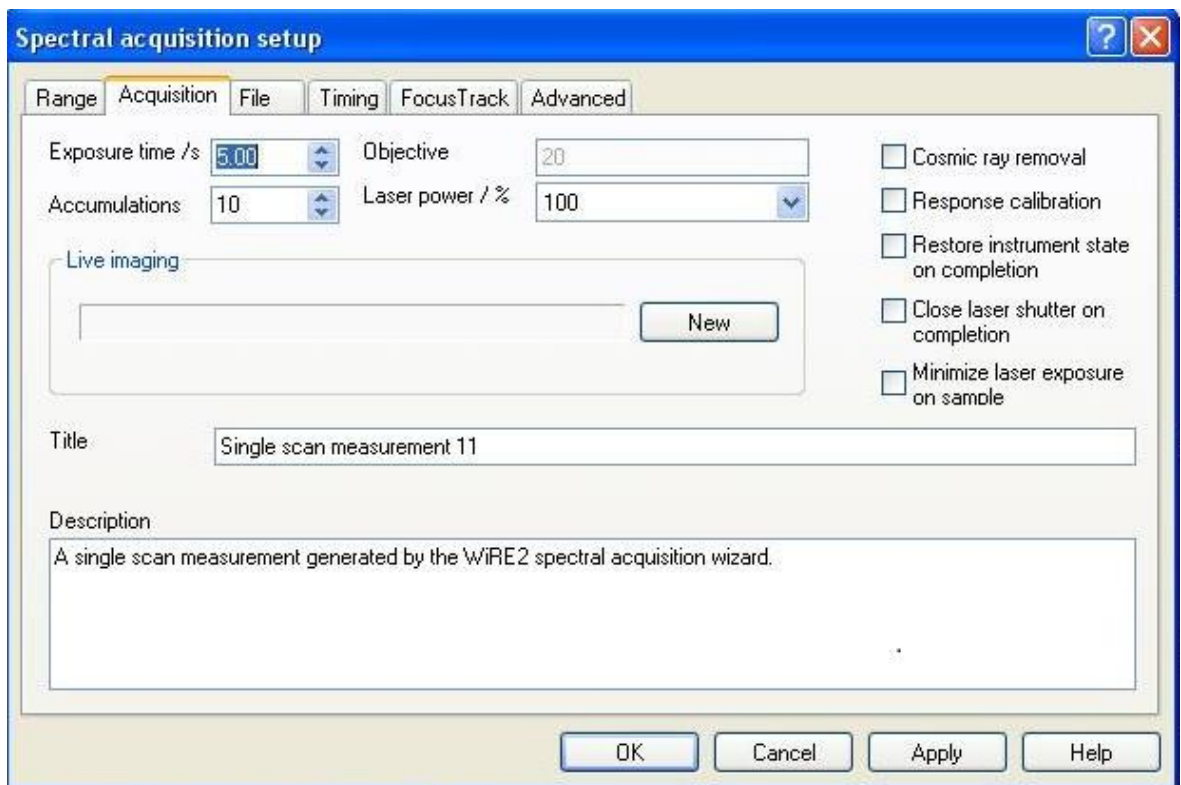


Obr. 33. Nastavenie dĺžky spektra

Na Obr. 34 je příklad extended merania vzorky cukru.



Obr. 34. Příklad rozšířeného merania



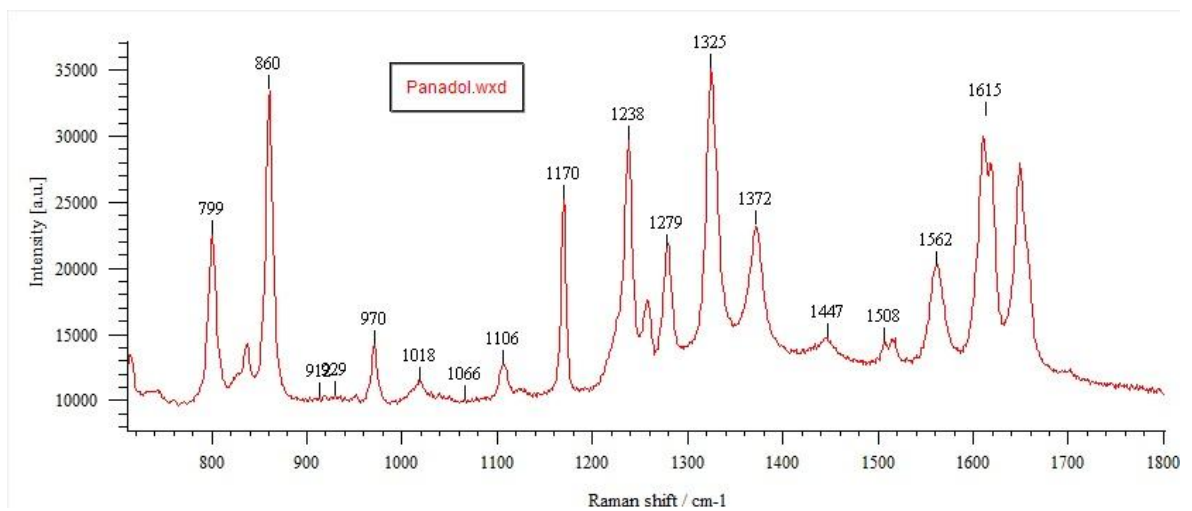
Obr. 35. Nastavenie dĺžky merania, počet opakovaní a výkon laseru

Na Obr. 35 je nastavenie dĺžky merania (Exposure time) v sekundách, počet opakovaní (Accumulatons) a výkon laseru (Laser power) v percentách. Zmenou dĺžky merania sa môže znížiť luminiscenciu, ale predlžuje sa trvanie merania. Počet opakovaní zlepšuje výsledné spektrum – signál oproti šumu, na základe priemeru opakovaných meraní. Výkon

laseru sa nastavuje podľa toho, aký materiál skúmame. Na materiály s väčšou fluorescenciou sa oplatí použiť nižší výkon, ako na materiály, ktoré majú luminiscenciu nižšiu.

#### 4.2.2 Zobrazenie polohy píkov (Peak pick)

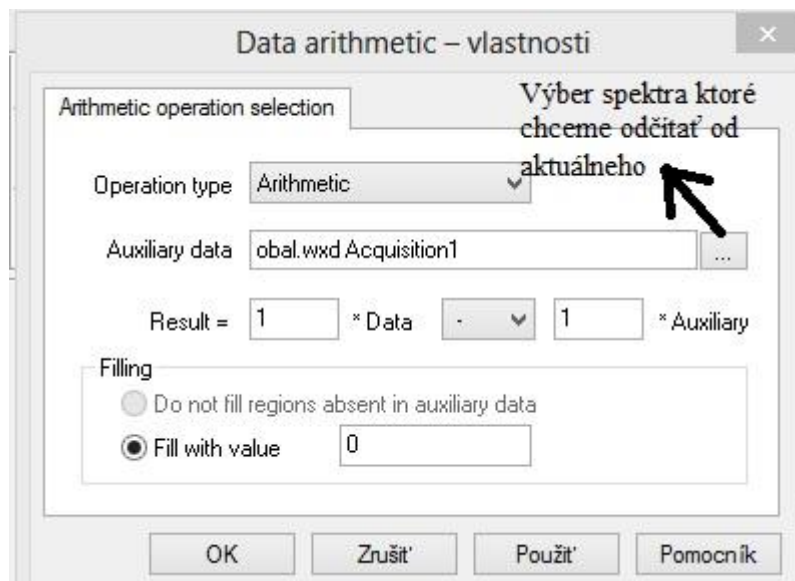
Peak pick je nástroj na úpravu výsledných spektier. Zobrazí presné polohy píkov v spektre, čo uľahčuje porovnávanie spektier, ako aj identifikáciu materiálu.



Obr. 36. Príklad spektra s využitím Peak pick

#### 4.2.3 Odčítavanie spektier (data arithmetic)

V prípade že potrebujeme odčítať spektrá, sa využíva nástroj Data arithmetic. Používa sa napríklad v prípade nameraných vzorkou cez obal.



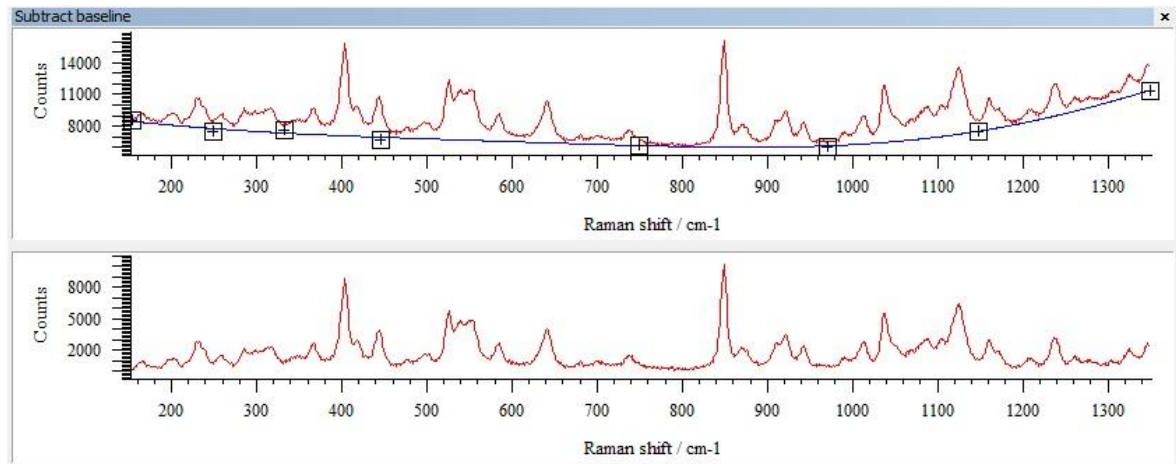
Obr. 37. Příklad nastavenia data arithmetic

Pri použití tohto nástroja si zvolíme spektrum od ktorého chceme odčítať ako aktívne (označené červenou farbou). Klikneme na ikonu s nástrojom a vyplníme podľa Obr.37.

Niektoré látky, ako napríklad liečivá majú intenzitu takú silnú, že spektrum obalu nie je vôbec viditeľné.

#### 4.2.4 Aproximácia grafu (subtract baseline)

Pri meraní niektorých vzorkou môže nastať situácia, keď vďaka luminiscencii alebo iným rušivým vplyvom je baseline spektra nesymetrická, posunutá na osi y. Tento nedostatok sa dá odstrániť použitím nástroja Subtract baseline. Nastavením potrebných bodov na spektre a následným využitím lineárneho alebo polynomiálneho prispôsobenia sa spektrum preloží krivkou a „vyrovná“.



Obr. 38. Príklad využitia nástroja subtract baseline

#### 4.2.5 Vyhľadávanie spektier v databázy SpectralID

Spektrum, ktoré má byť porovnávané s databázou musí byť uložené vo formáte .spc. Na hlavnej obrazovke programu SpectralID musí byť ako prvá načítaná správna databáza. Databáza vytvorená pre túto laboratórnu úlohu má názov Laboratorní úlohy 1. Nastavenie databázy sa prevedie kliknutím na záložku Tools – Choose libraries. Načítanie neznámeho spektra ktoré má byť porovnané s databázou uskutočnite kliknutím na File – Open unknown – v záložke Files of group vyberiete Raman a následne vyberiete požadované spektrum. Porovnávanie sa uskutoční kliknutím na Search – Spectrum search.

### 4.3 Laboratórna úloha č.1 : Analýza a rozpoznávanie bielych práškov Ramanovov spektroskopiou

Cieľom tejto laboratórnej úlohy je oboznámiť študentov s možnosťami Ramanovej spektroskopie, a metódu využiť pre rozoznávanie a identifikáciu bielych práškov, ktoré slúžia ako podozrivé látky.

#### 4.3.1 Úlohy

- 1) Namerajte Ramanove spektrá všetkých vzoriek bielych práškov. Meranie prevedte priamo na vzorku. Spektrá merajte v režime Static scan v rozsahu od 700-1800 $cm^{-1}$ .

- 2) Preved'te meranie dvoch zadaných vzoriek umiestnených v ochranných obaloch. Meranie preved'te cez obal. Porovnaním s nameranými spektrami z bodu 1) zistite o ktoré látky sa jedná.
- 3) Popíšte zvolené parametre (Exposure time, Accumulations, Laser power) pri meraní všetkých vzoriek, zdôvodnite výber nastavení.
- 4) Popíšte kedy a prečo ste použili prídavné nástroje na úpravu spektier.
- 5) Namerané spektrá porovnajte s databázou a identifikujte všetky liečivá.
- 6) Vypracujte protokol z laboratórnej úlohy obsahujúci všetky body zadania.

#### **4.4 Laboratórna úloha č.2 : Analýza a rozpoznávanie farebných stôp na textile pomocou Ramanovej spektroskopie**

Cieľom tejto laboratórnej úlohy je oboznámiť študentov s možnosťami Ramanovej spektroskopie pri skúmaní farebných stôp na textile a zisťovaní zhody medzi nimi.

##### **4.4.1 Úlohy**

- 1) Namerajte spektrá všetkých farieb na bielej látke č.2, všetky látky merajte v rozsahu  $600-1700\text{cm}^{-1}$  v režime Static scan.
- 2) Namerajte Ramanove spektrum vzorky na bielej látke č.1, porovnajte ju s nameranými spektrami z úlohy 1 a zistite o aké farbivo sa jedná.
- 3) Na základe nameraných spektier, identifikujte 3 zadané vzorky na základe databáze.
- 4) Namerajte vzorku na bielej látke č.1, porovnajte ju s nameranými spektrami z úlohy 1 a zistite o aké farbivo sa jedná.
- 5) Popíšte postup merania a výber nástrojov na úpravu pri všetkých meraniach.
- 6) Vypracujte protokol z laboratórnej úlohy obsahujúci všetky body zadania.

## 5 VYPRACOVANIE LABORATÓRNYCH ÚLOH

V tejto kapitole uvádzam oba vzorové vypracované protokoly zo zadania z bodu 4.

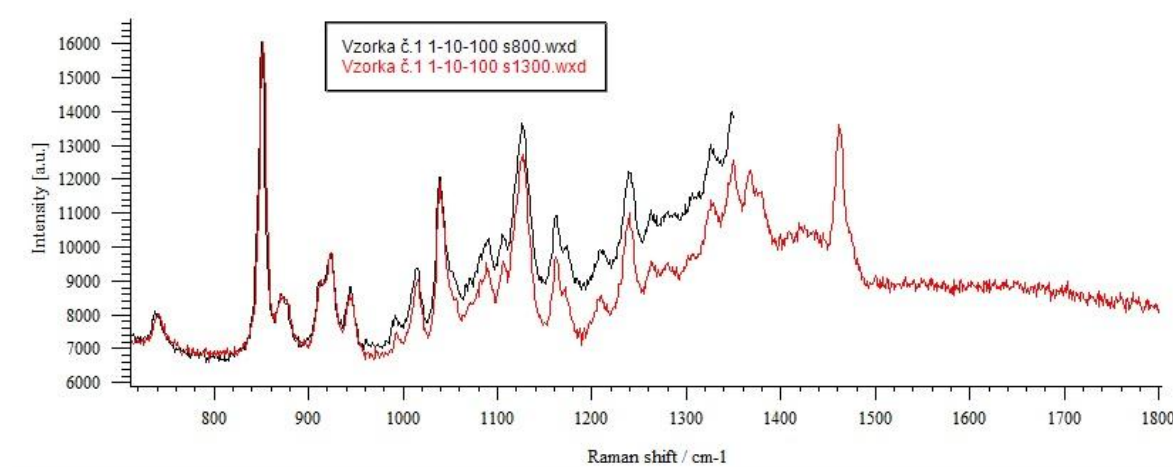
### 5.1 Vypracovanie laboratórnej úlohy č.1: Analýza a rozpoznávanie bielych práškov Ramanovov spektroskopiou

Po zapnutí spektrometru bolo treba počkať, kým sa prístroj zahreje. Pre meranie je nutné nachystať si vzorky. Keďže boli uložené vo veľkom množstve v plastových obaloch, bolo odobraté malé množstvo, ktoré sa uložili na kovovú podložku. V ovládacom programe spektrometru WiRE 3.2, bolo nastavené nové meranie. Pod mikroskop bola vložená prvá vzorka a začalo sa merať. Úlohy č. 3,4 sú vypracované spolu s ostatnými úlohami, preto neboli uvedené individuálne.

#### 5.1.1 Úloha č.1 – Meranie spektier všetkých vzoriek bielych práškov

Každé meranie bolo opakované niekoľko krát, s rôznymi parametrami.

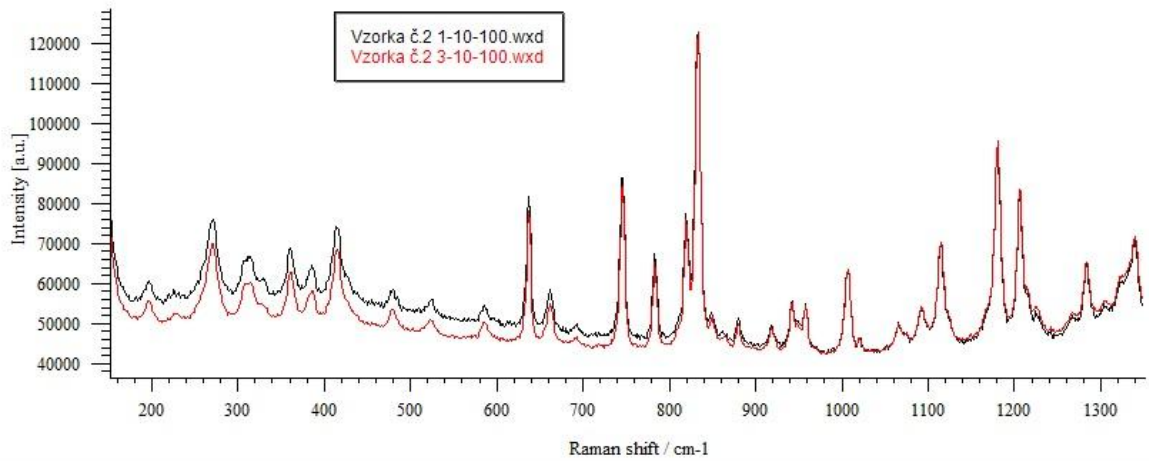
- Namerané spektrá pre vzorku č.1



Obr. 39. Spektrá vzorky č.1

Ako prvé boli nastavené parametre na dĺžku merania 1sekundu, 10 akumulácii a 100% výkon laseru so stredom rozptylu na  $800 \text{ cm}^{-1}$ . Ďalšie meranie bolo vykonané so stredom rozptylu na  $1300 \text{ cm}^{-1}$ .

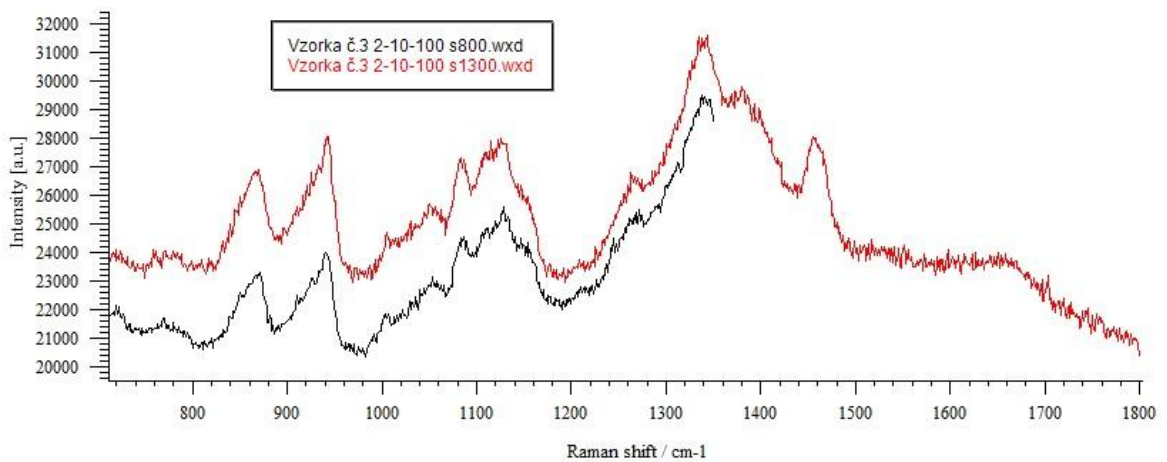
- Namerané spektrá pre vzorku č.2



Obr. 40. Spektrá pre vzorku č.2

Podobne ako v prvom prípade boli parametre najprv nastavené na dĺžku merania 1 sekundu, počet akumulácií na 10 a výkon laseru na 100%. Po prvom meraní bol zaznamenaný menší šum, ktorý sa podarilo eliminovať zvýšením doby merania na 3 sekundy.

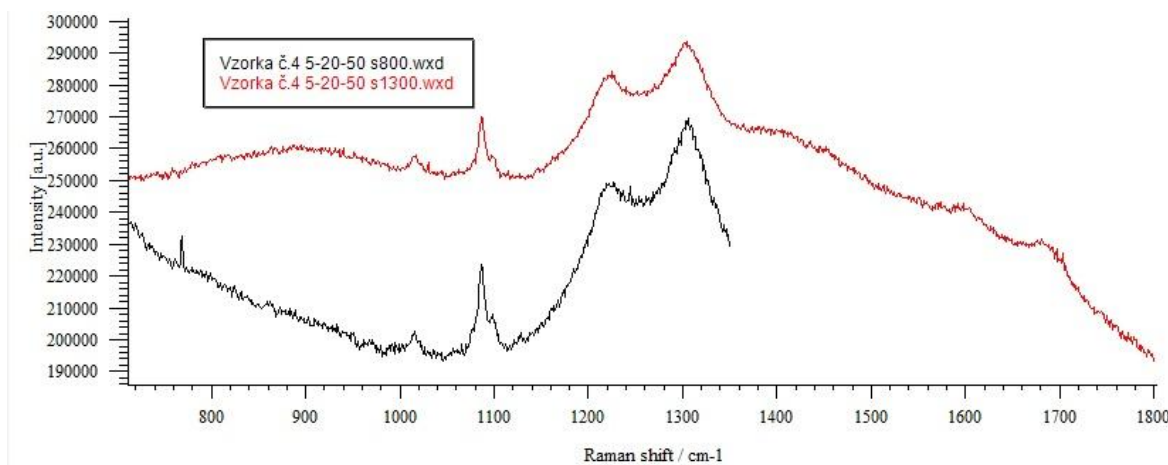
- **Namerané spektrá pre vzorku č.3**



Obr. 41. Spektrá pre vzorku č.3

V tomto prípade sa postupovalo rovnako ako pri meraní vzorky číslo 1. Jediný rozdiel je v dĺžke merania ktorá bola od začiatku nastavená na 2 sekundy.

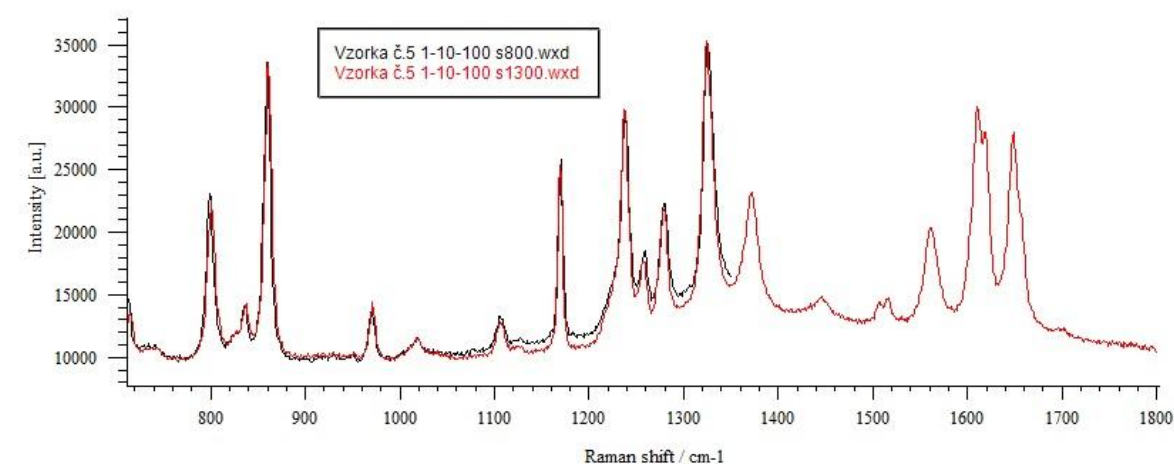
- **Namerané spektrá pre vzorku č.4**



Obr. 42. Spektrá pre vzorku č.4

Meranie tejto vzorky vykazovalo vysokú luminiscenciu, s tohto dôvodu trvalo dlhšiu dobu nájsť správne parametre pre meranie. Po niekoľkých pokusoch sa podarilo znížiť luminiscenciu s parametrami: dĺžka merania 5 sekúnd, počet akumulácií 20 a výkon laseru 50%. Spektrum stále vykazuje známky šumu, ale charakteristické píky sú jasne zreteľné.

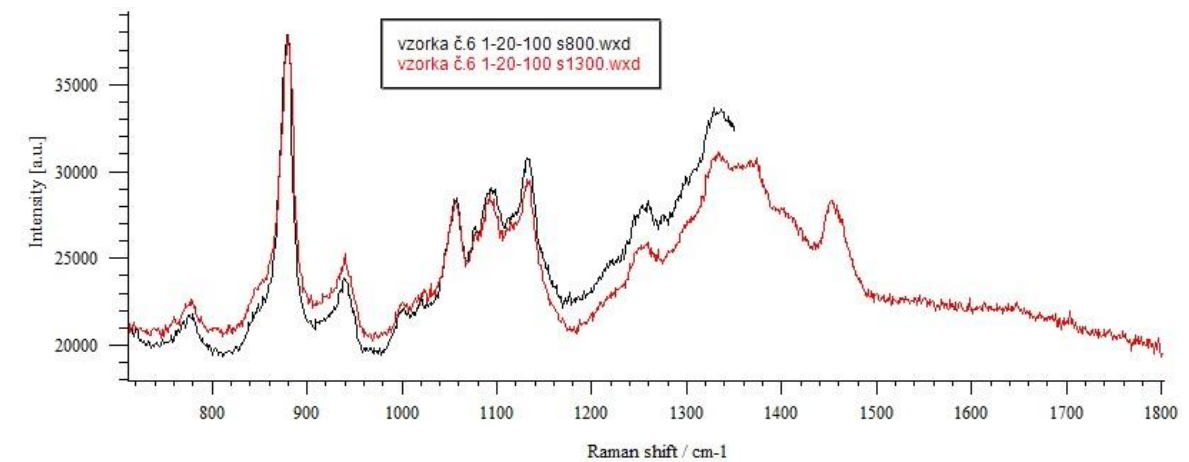
- **Namerané spektrá pre vzorku č.5**



Obr. 43. Spektrá pre vzorku č.5

Meranie tejto vzorky prebiehalo úplne rovnako ako meranie vzorky číslo 1.

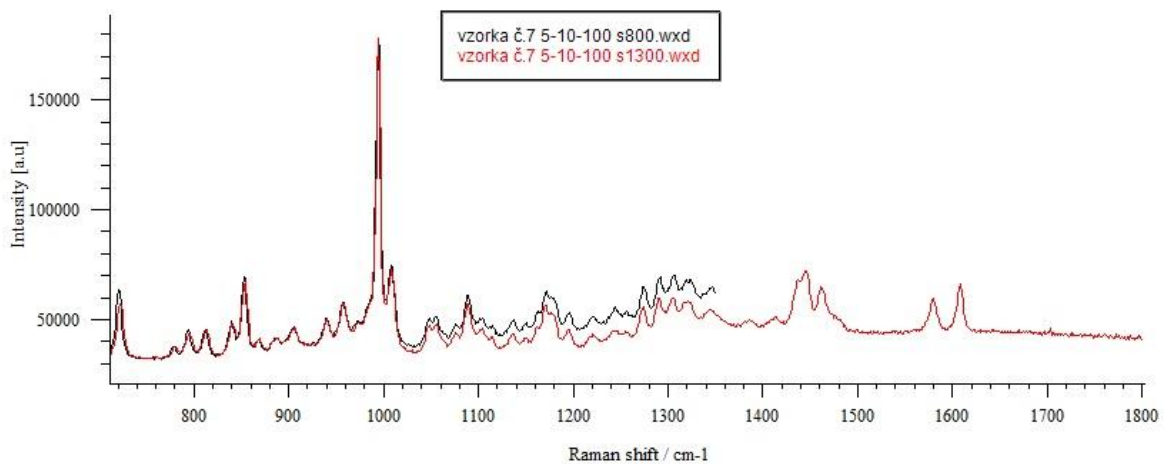
- **Namerané spektrá pre vzorku č.6**



*Obr. 44. Spektrá pre vzorku č.6*

Opäť obdobné meranie ako v prvom prípade. Jediná zmena bola v počte akumulácii, ktorú bolo nutné zdvihnúť na 20 s dôvodu zvýšeného šumu.

- **Namerané spektrá pre vzorku č.7**



*Obr. 45. Spektrá pre vzorku č.7*

Meranie poslednej vzorky č.7 bolo znova obdobné prvému. Jediná zmena bola v dĺžke merania ktorá bola v tomto prípade nastavená na 5 sekúnd.

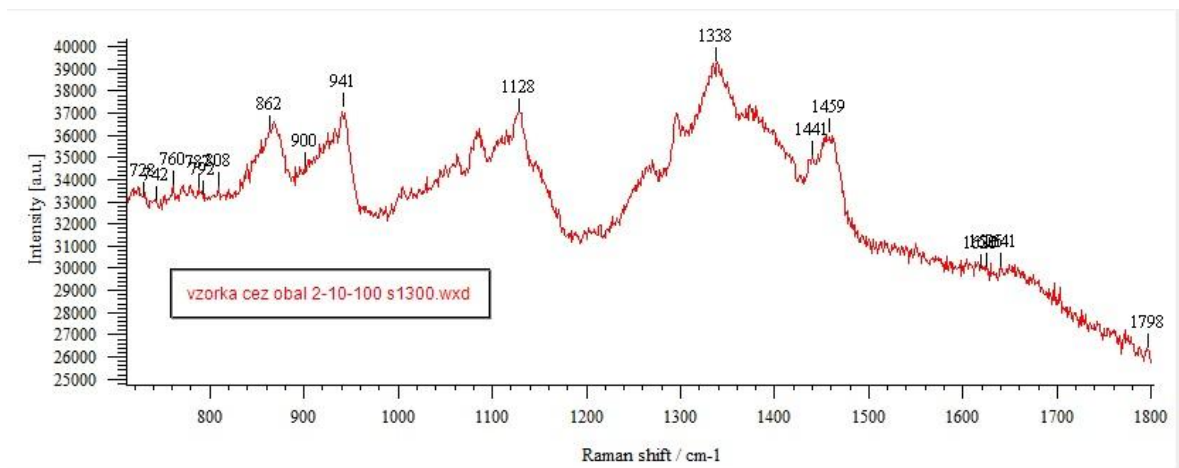
### 5.1.2 Úloha č.2 – Meranie vzorky v ochrannom obale

Pri vykonávaní tejto úlohy boli ako prvé namerané vzorky v ochrannom obale. Ochranný obal bolo plastové uzavierateľné vrecko. Toto vrecko aj so vzorkou bolo vložené pod mikroskop, ktorý sa zaostril na časť vzorky. Následne bolo namerané spektrum samotného vrecka. Pomocou nástroja Peak pick boli zistené polohy najvýraznejších píkov v spektre

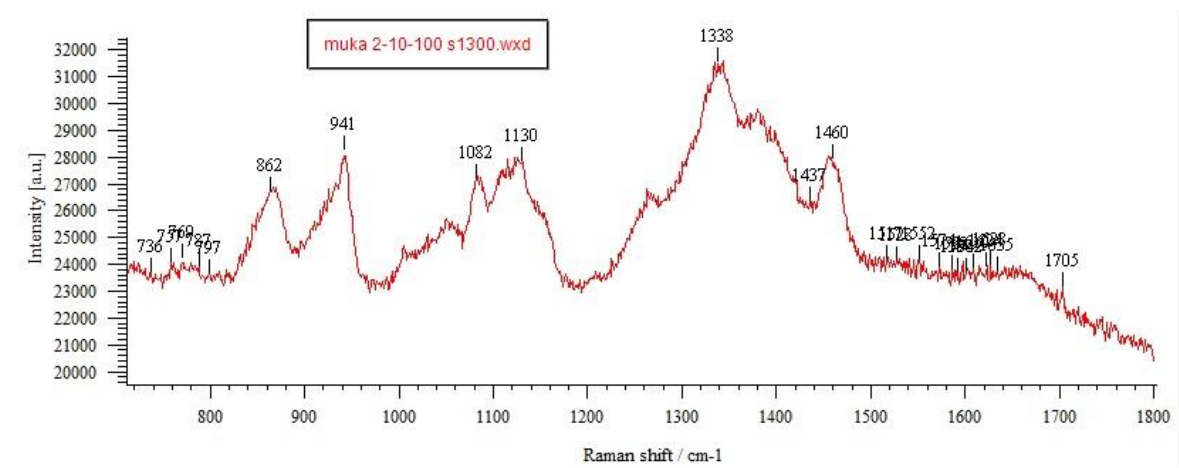
vzorky, ktoré boli následne porovnávané s databázou uloženou v počítači, ktorý je pripojený k spektrometru.

Po odčítaní obalu pomocou nástroja Data arithmetic vyšlo spektrum vzorky č.1 takmer totožné so spektrom vzorky č.3 v úlohe 1. Podľa databázy sa zistilo že meraná vzorka č.1 je múka.

Spektrum nameranej vzorky nie je úplne totožné so spektrom v databázy, pretože tam je vplyv ochranného obalu.

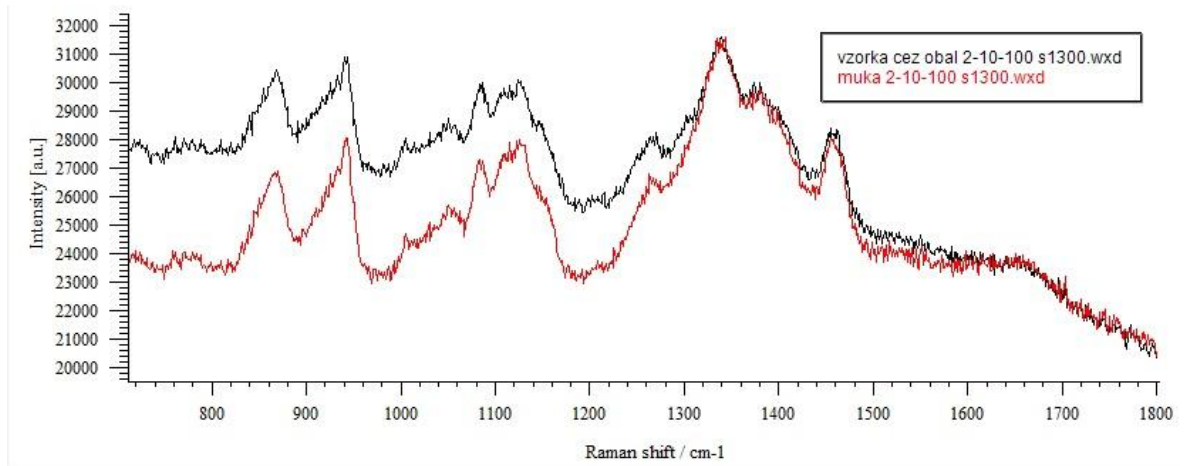


Obr. 46. Vzorka č.1 nameraná cez obal



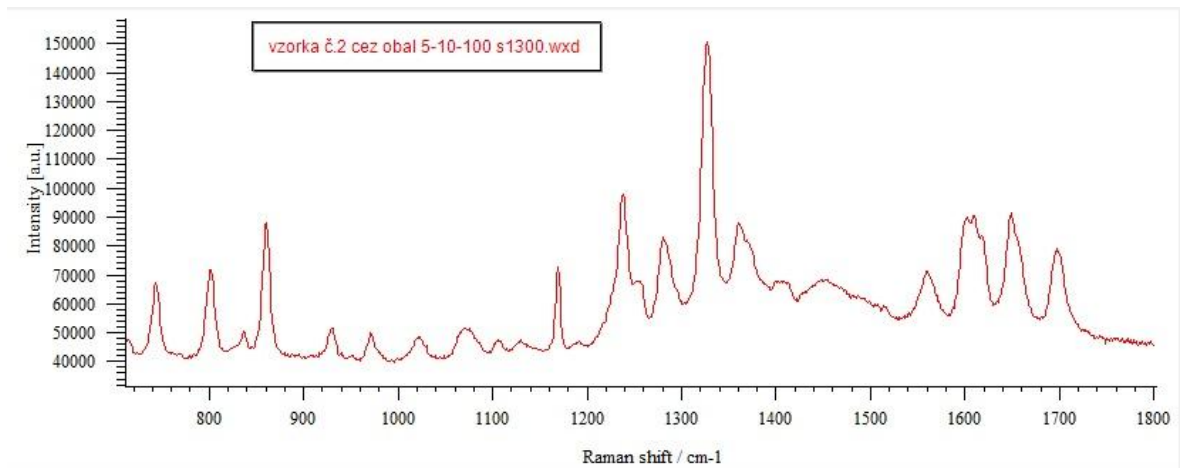
Obr. 47. Spektrum múky z databázy

Pre kontrolu bolo urobené odčítanie obalu od nameranej vzorky. Z Obr. 48 je jasné že sú látky totožné.



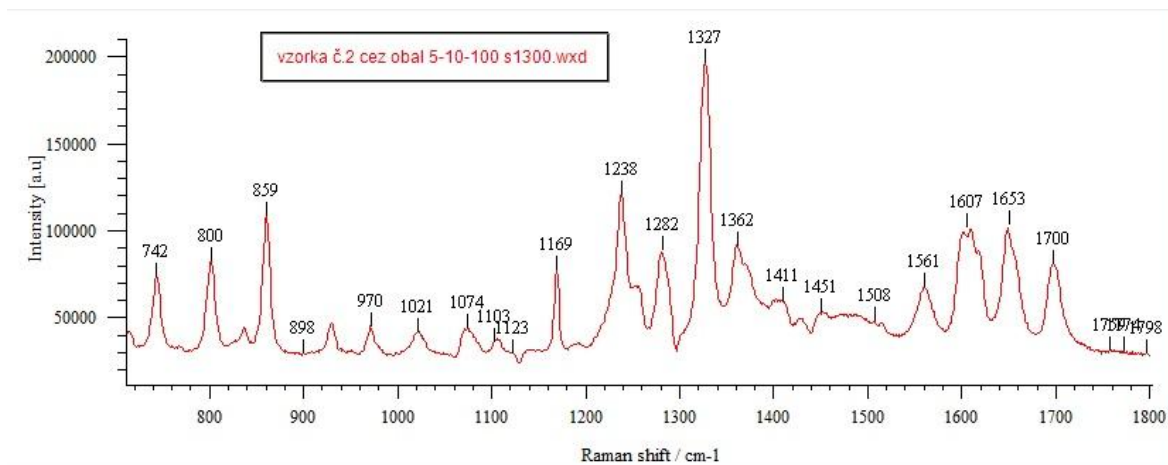
Obr. 48. Odčítaný obal od meranej vzorky č.1

Namerané spektrum pre vzorku č.2 cez obal.

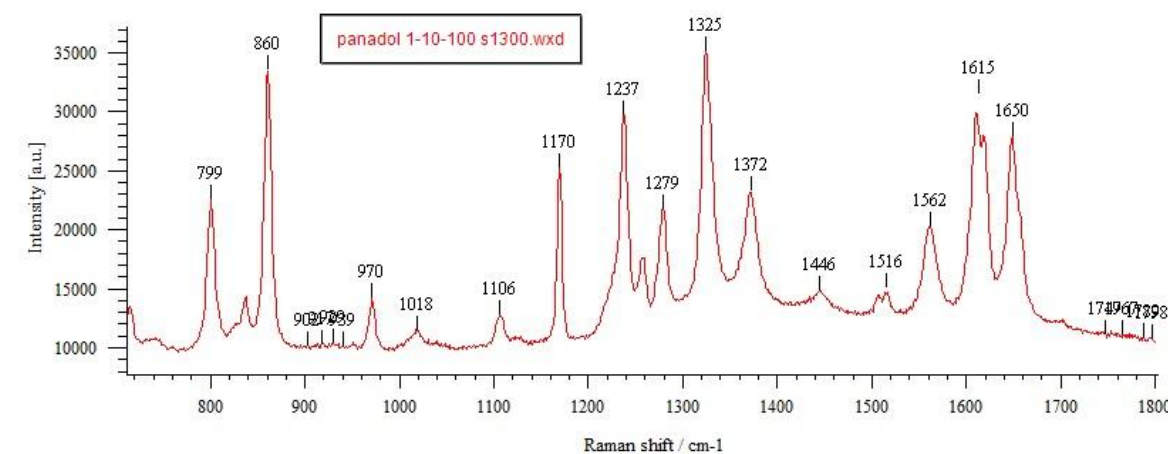


Obr. 49. Spektrum vzorky č.2 cez obal

Spektrum vzorky č.2 je skoro totožné so spektrom vzorky č.6 nameranej v úlohe 1. Pomocou nástroja Peak pick boli zistené polohy píkovo. S týchto polôh je jasné že sú vzorky totožné. V tomto prípade sa obalový materiál skoro vôbec neprejavil.



Obr. 50. Vzorka č.2 nameraná cez obal s použitým nástrojom Peak pick

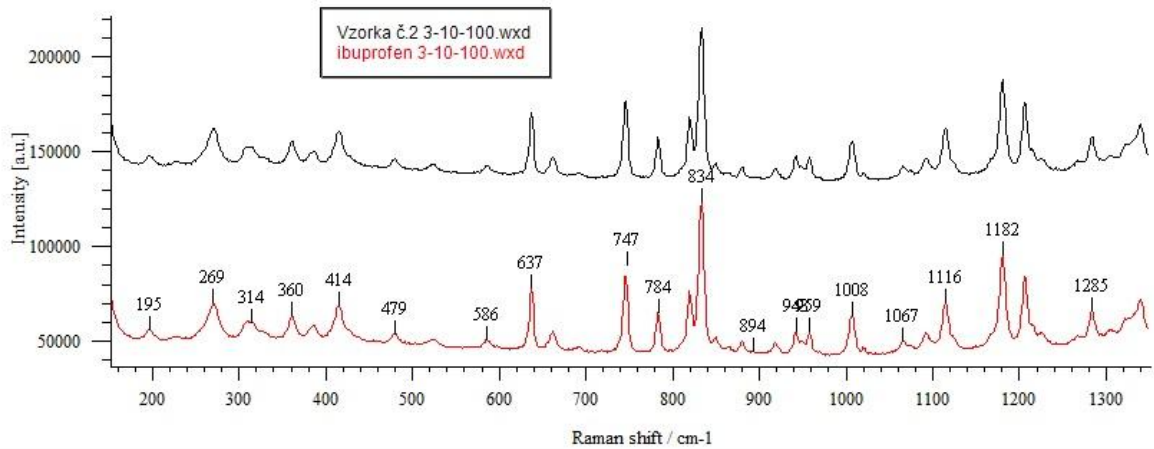


Obr. 51. Spektrum panadolu s databáze s použitým nástrojom Peak pick

### 5.1.3 Úloha č.5 – Identifikácia liečiv medzi vzorkami

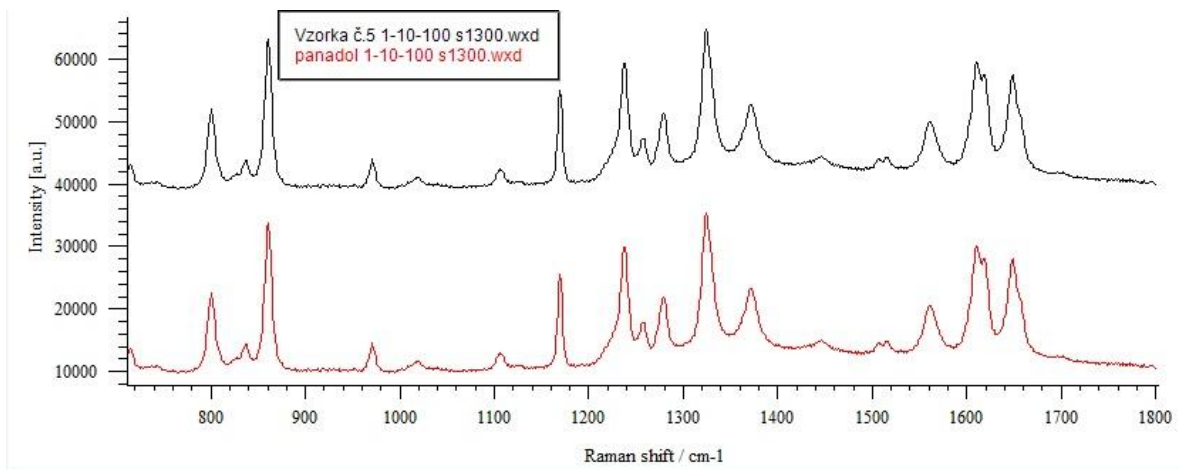
Pomocou databázy uloženej na počítači v laboratóriu Ramanovej spektroskopie s názvom Laboratorní úlohy 1, boli porovnávané všetky namerané vzorky s liečivami v databázy. Po porovnaní všetkých vzoriek bolo zistené, že štyri z nich sú liečivá. Porovnanie prebiehalo jednoducho, nakoľko majú liečivá veľmi výrazné spektrá. Porovnať sa v týchto prípadoch dalo na prvý pohľad, ale napriek tomu bolo pri niektorých vzorkách porovnanie pomocou nástroja peak pick, ktorý nám zobrazil presnú polohu píkovo daného spektra.

- **Vzorka č.2 – Ibuprofen**



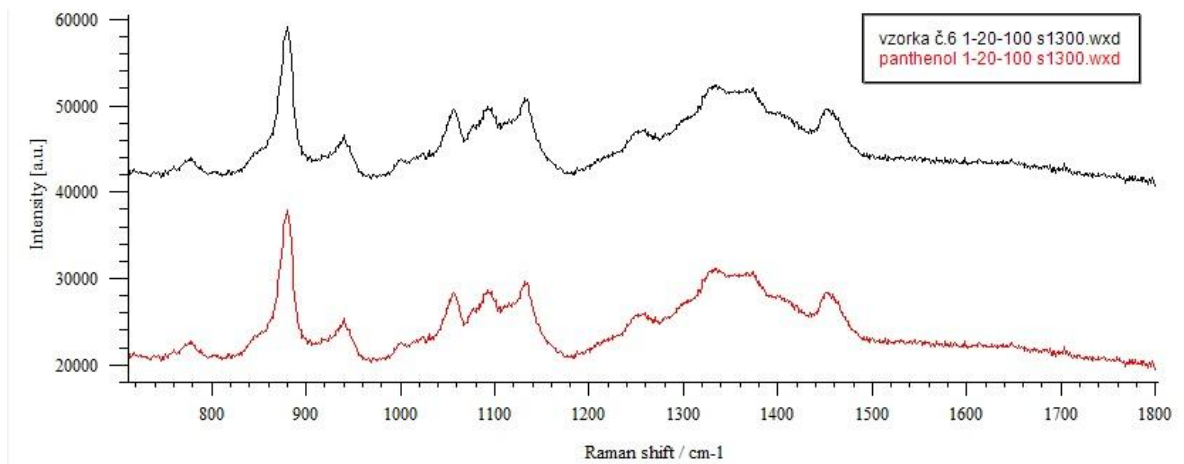
Obr. 52. Porovnanie vzorky č.2 so spektrom Ibuprofenu z databáze

- **Vzorka č.5 – Panadol**



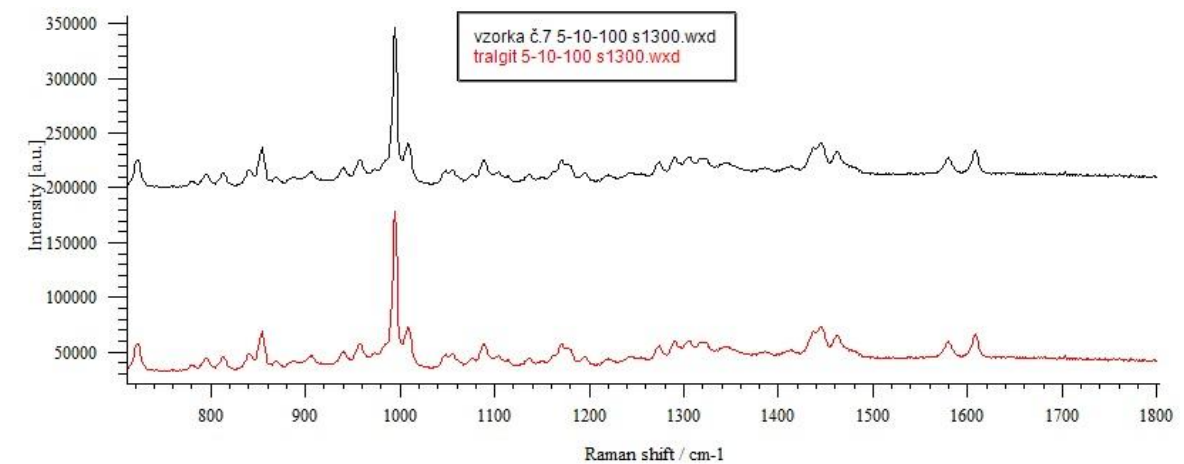
Obr. 53. Porovnanie vzorky č.5 so spektrom Panadolu z databáze

- **Vzorka č.6 – Panthenol**



Obr. 54. Porovnanie vzorky č.6 so spektrom Panthenolu z databáze

- **Vzorka č.7 – Tralgit**



Obr. 55. Porovnanie vyorky č.7 so spektrom Tralgitu z databáze

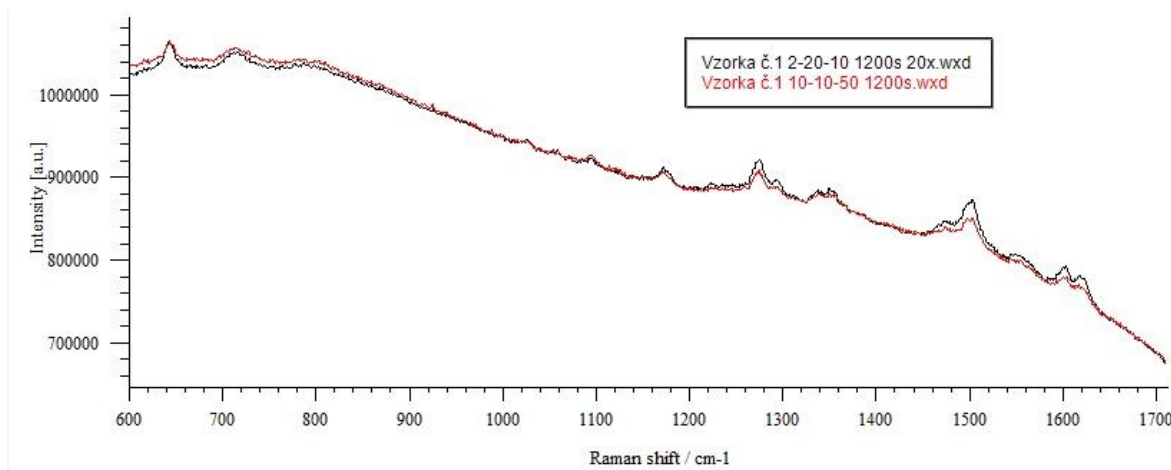
## 5.2 Vypracovanie laboratórnej úlohy č.2: Analýza a rozpoznávanie farebných škvŕn na textile pomocou Ramanovej spektroskopie

Vzorky látok s nanosenou farbou boli už pripravené, pre analýzu ich stačilo umiestniť pod mikroskop. V ovládacom programe spektrometru WiRE 3.2, bolo nastavené nové meranie.

### 5.2.1 Úloha č.1 - Meranie spektier farieb na bielej látke č.2

K dispozícii bolo šesť rôznych druhov farbív na bielej látke č.2. Vzorky boli vkladane pod mikroskop celé, bez akýchkoľvek úprav pred meraním. Meranie každej vzorky bolo merané niekoľko krát s rôznymi parametrami.

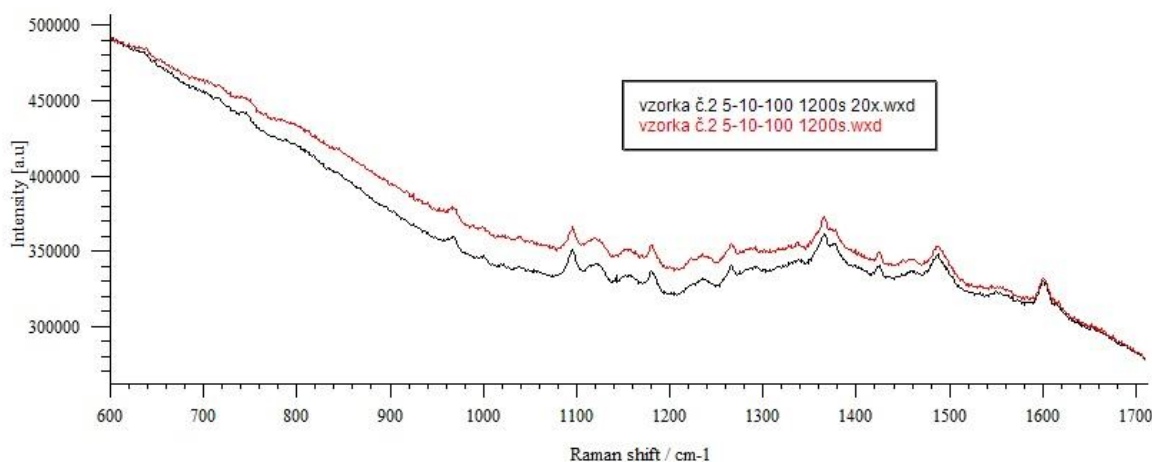
- **Namerané spektrá pre vzorku č.1**



Obr. 56. Spektrá pre vzorku č.1

Prvé merania tejto vzorky vykazovali zvýšený šum. Po niekoľkých testovacích meraniach sa podarilo uskutočniť meranie, ktoré vykazovalo niekoľko charakteristických pík. Prvé meranie s redukovaným šumom malo parametre nastavené na dĺžku merania 10 sekúnd, počet akumulácií 10 a výkon laseru 50% so stredom Ramanovho posunu na  $1200\text{ cm}^{-1}$ . Ďalšie meranie prebiehalo zo zväčšením na mikroskope 20x. Parametre pri tomto meraní boli nastavené na dĺžku merania 2 sekundy, počet akumulácií 20 a výkon laseru 10%. Toto namerané spektrum bolo skoro totožné s predchádzajúcim, až na viditeľnejšie píky.

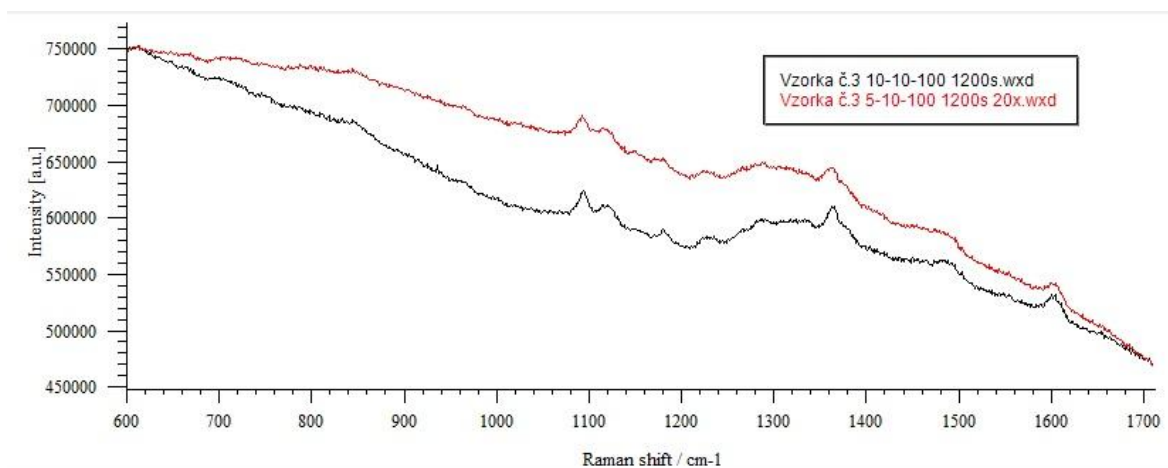
- **Namerané spektrá pre vzorku č.2**



Obr. 57. Spektrá pre vzorku č.2

Pri meraní tejto vzorky prebiehalo meranie rýchlejšie ako v prípade vzorky č.1. Parametre pri prvom meraní boli nastavené na dĺžku merania 5 sekúnd, počet akumulácií 10 a výkon laseru 100%. Druhé meranie malo rovnaké parametre, jediná zmena bola v zväčšení mikroskopu na 20x. Obe merania boli merané so stredom Ramanovho posunu 1200  $\text{cm}^{-1}$ .

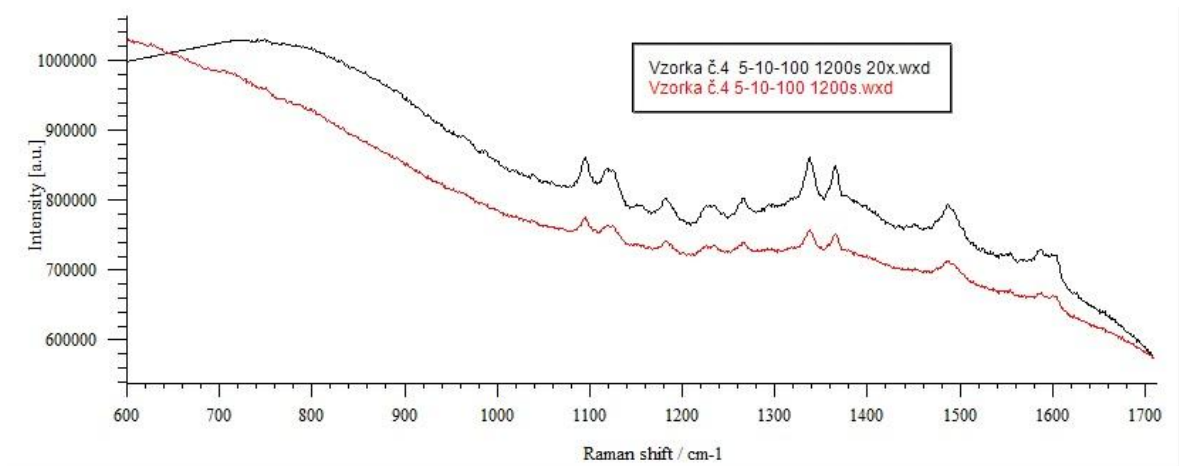
- **Namerané spektrá pre vzorku č.3**



Obr. 58. Spektrá pre vzorku č.3

Meranie tejto vzorky prebiehalo rovnako ako v prípade vzorky č.2. Jediný rozdiel bol v dĺžke merania pri základnom zväčšení, ktorý bol nastavený na 10 sekúnd.

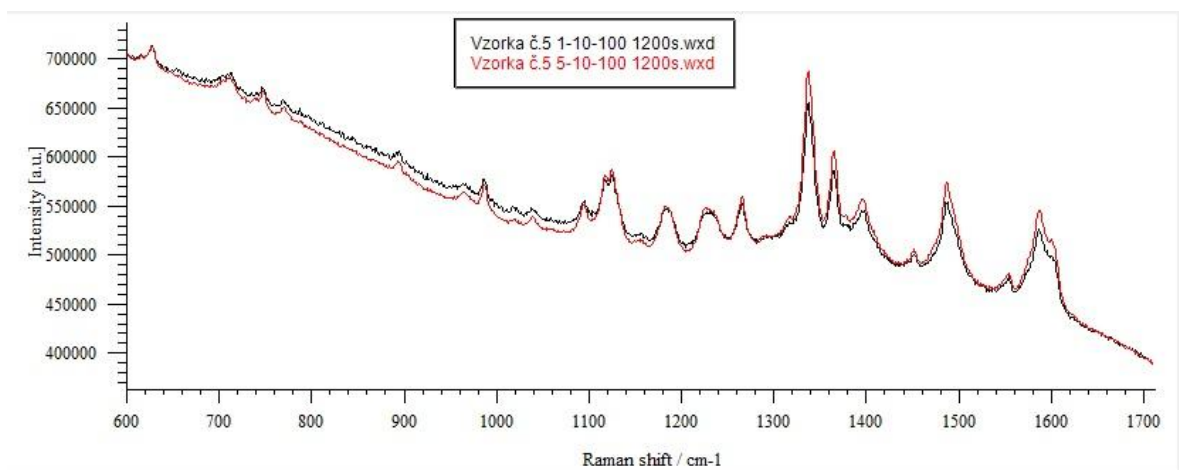
- **Namerané spektrá pre vzorku č.4**



Obr. 59. Spektrá pre vzorku č.4

Opäť meranie prebiehalo totožne so vzorkou č.2.

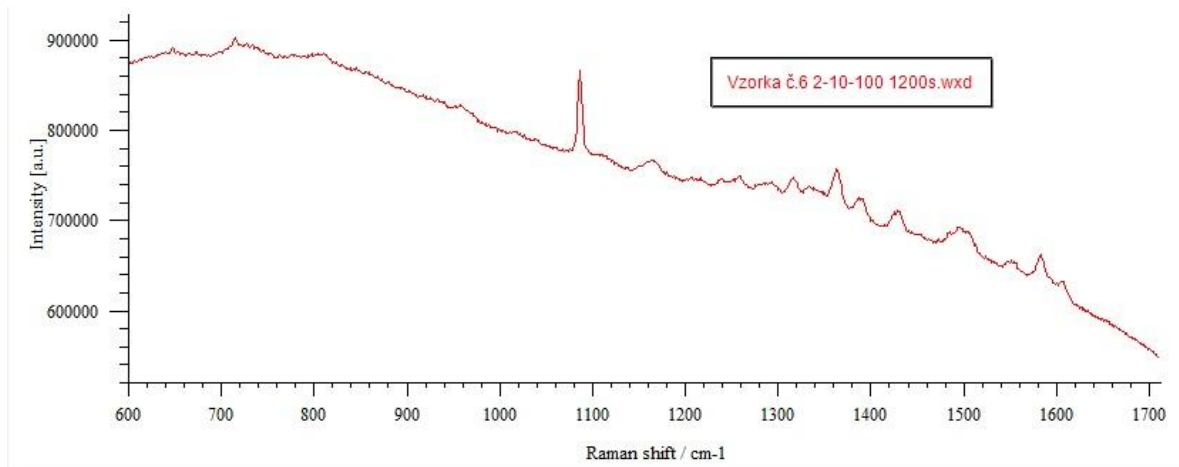
- **Namerané spektrá pre vzorku č.5**



Obr. 60. Spektrá pre vzorku č.5

Meranie tejto vzorky vykazovalo omnoho väčšiu rozmanitosť pikov oproti predošlým vzorkám. Pri meraní boli nastavené parametre na dĺžku merania 1 sekundu, počet akumulácii 10 a výkon laseru 100%. Druhé meranie je so zvýšenou dobou merania na 5 sekúnd.

- **Namerané spektrá pre vzorku č.6**



Obr. 61. Spektrum pre vzorku č.6

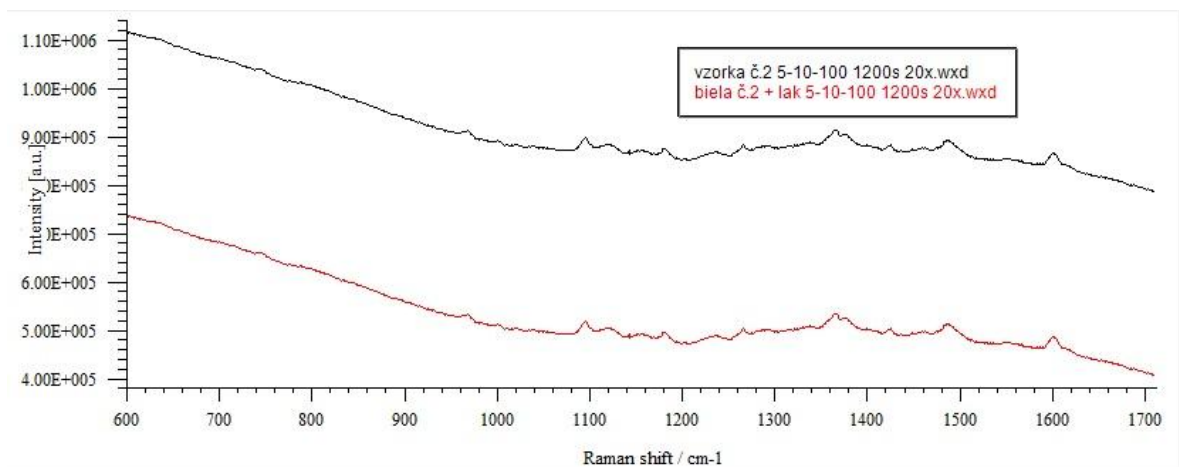
Meranie tejto vzorky prebiehalo lepšie ako ostatné. Už na prvý pokus vyšlo spektrum s minimálnym šumom a zreteľnými píkmi.

### 5.2.2 Úloha č.2 – Identifikácia zadaných vzoriek na základe databáze

Od vyučujúceho boli zadané tri vzorky, ktoré mali byť identifikované na základe databáze, ktorá je uložená v počítači, ktorý ovláda spektrometer.

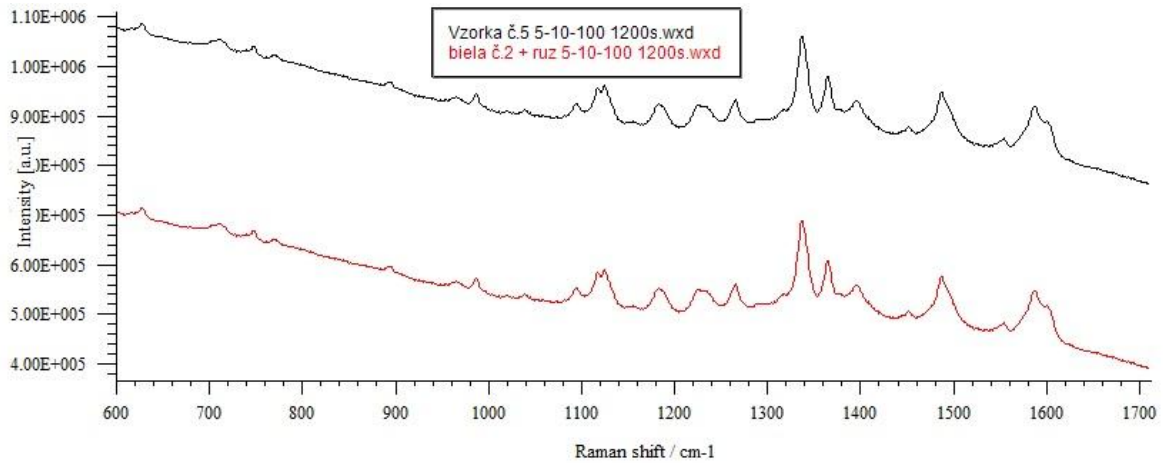
Podľa postupu uvedeného v teórii k laboratórnej úlohe boli porovnané spektrá. Porovnanie sa dá uskutočniť voľným okom, na základe podobnosti spektier, alebo sa využijú pomocné nástroje ako napríklad Peak pick.

- **Vzorka č.2 – Lak na nechty**



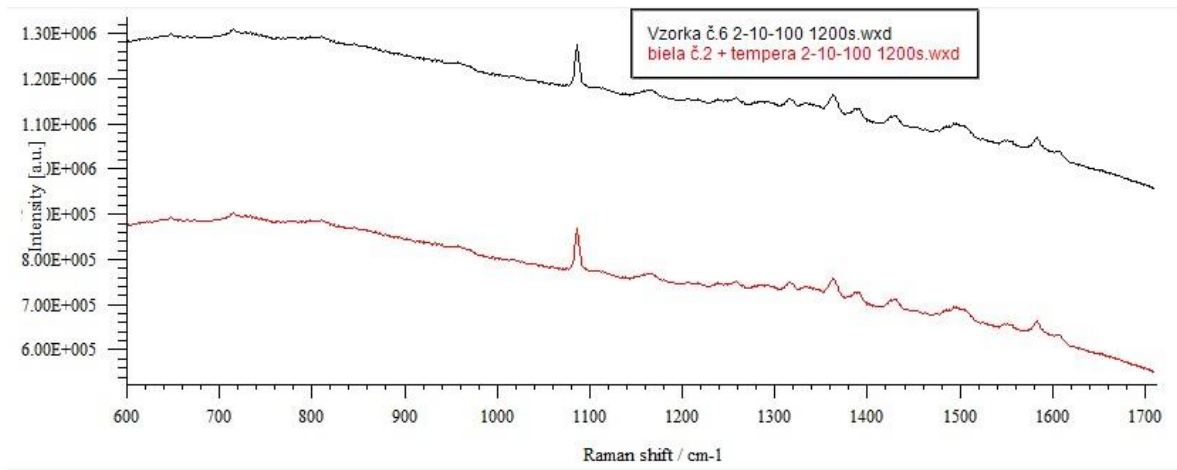
Obr.62. Porovnanie vzorky č.2 so spektrom laku na bielej látke č.2

- **Vzorka č.5 – Růž**



Obr. 63. Porovnanie vzorky č.5 so spektrom růžu na bielej látke č.2

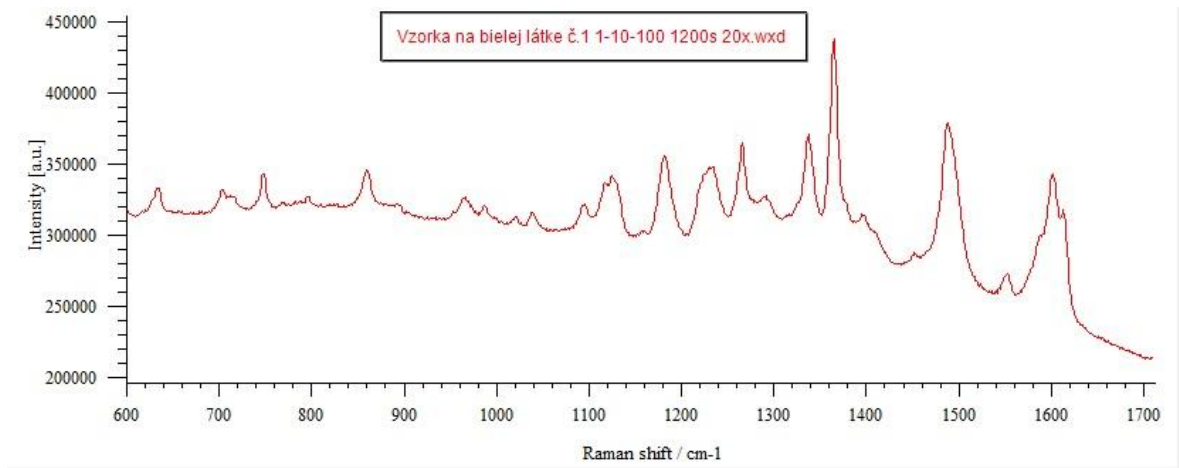
- **Vzorka č.6 – Temperová farba**



Obr.64. Porovnanie vzorky č.6 so spektrom temperovej farby na bielej látke č.2

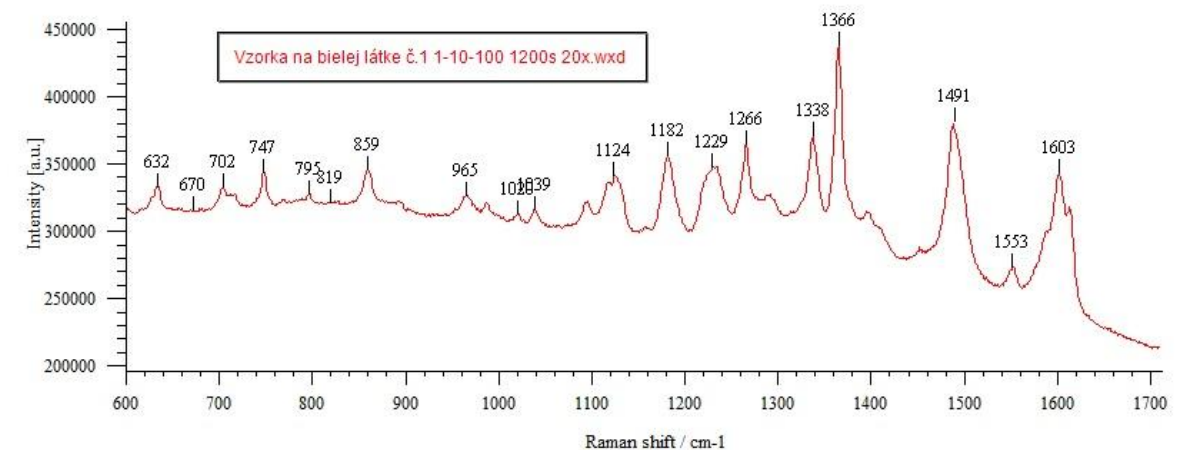
### 5.2.3 Úloha č.3 - Meranie vzorky na bielej látke č.1 a jej porovnanie

Pri plnení tejto úlohy bolo ako prvé namerané spektrum neznámeho farbiva na bielej látke č.1.

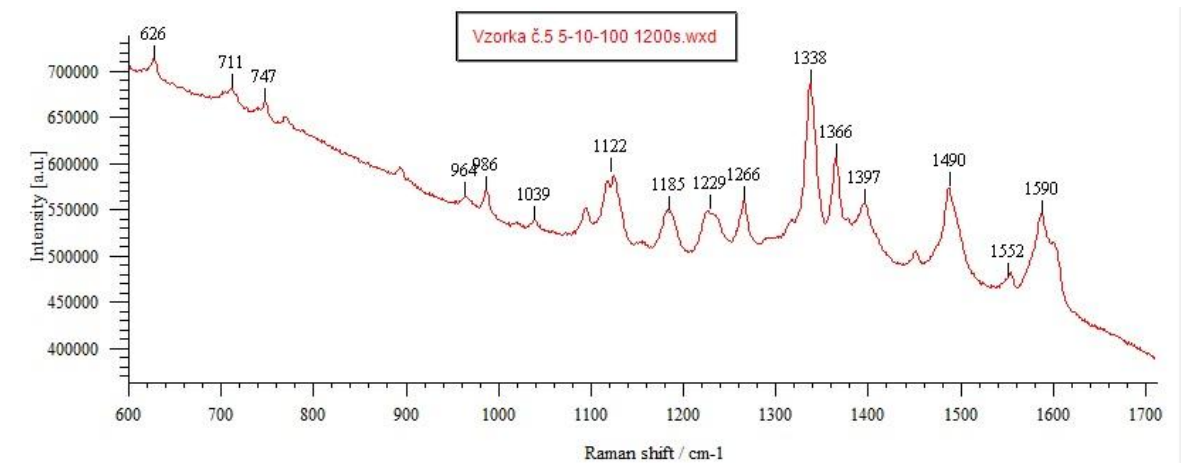


Obr. 65. Spektrum farbiva na bielej látke č.1

Porovnaním tohto spektra so spektrami nameranými v úlohe 1 bolo zistené, že jediná možná zhoda je so vzorkou č.5. Spektrá neboli úplne totožne a preto bol na obe vzorky použitý nástroj Peak pick.



Obr. 66. Spektrum farbiva na bielej látke č.1 + nástroj peak pick



Obr. 67. Spektrum vzorky číslo 5 na bielej látke č.2 + nástroj peak pick

Z Obr. 66 a Obr. 67 je jasné že farbivá sa zhodujú. Polohy najvýraznejších píkov sú zhodné. Rozdiely v spektrách sa teda môžu pripisovať rozdielnym spektrám látok.

V úlohe č.2 bolo zistené, že farbivo na vzorke č.5 je rúž. Z Obr. 66 a Obr. 61 je jasné že sú farbivá zhodné, preto môžeme s istotou povedať že farbivo na bielej látke č.1 je takisto rúž.

## ZÁVER

V tejto práci som sa zoznámil s Ramanovov spektroskopiou a možnosťami jej využitia ktoré je veľmi rozsiahle. Jedná sa rýchlo sa rozvíjajúcu metódu, ktorá je vhodná na skúmanie a identifikáciu látok v rôznych skupenstvách či teplotách. Veľkú budúcnosť majú prenosné Ramanove spektrometri, ktorými sa dá identifikovať a analyzovať materiál priamo na mieste, čo uľahčuje prácu napríklad policajným vyšetrovateľom, alebo archeológom.

V teoretickej časti som priblížil históriu metódy a princíp na ktorom funguje. V ďalšej kapitole som sa venoval možnostiam využitia Ramanovej spektroskopie, pri čom som kládol dôraz na forenzné účely. V poslednej kapitole teoretickej časti som sa venoval príprave a voľbe vzoriek na laboratórnu úlohu.

Praktická časť obsahuje stručnú teóriu k laboratórnym úlohám a zadanie úloh. Laboratórne úlohy som navrhol tak, aby trochu priblížili praktické využitie Ramanovej spektroskopie vo forenzných oblastiach. Skúmanie bielych práškov má priblížiť identifikáciu drog alebo liečiv a skúmanie farbív na textile porovnávanie farebných stôp s oblečenia po výtržnickej alebo násilnej činnosti.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] Asc: chemistry for life. Asc [online]. 2015 [cit. 2015-05-19]. Dostupné z: <http://www.acs.org/content/acs/en/education/whatischemistry/landmarks/ramaneffect.html>
- [2] STRAUCH, Bohuslav, Blanka VLČKOVÁ a Ivan NĚMEC. Chemické-listy. Infračervená a Ramanova spektroskopie na katedrách chemie přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze: Od historie k současnosti [online]. 2010 [cit. 2015-05-19]. Dostupné z: [http://chemicke-listy.cz/docs/full/2010\\_12\\_1210-1219.pdf](http://chemicke-listy.cz/docs/full/2010_12_1210-1219.pdf)
- [3] DENDISOVÁ, Marcela, Pavel ŽVÁTORA a Pavel MATĚJKA. RAMANOVA SPEKTROMETRIE. Vscht [online]. [cit. 2015-05-19]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/anl/lach2/RAMAN.pdf>
- [4] Princeton Instruments: Raman spectroscopy basic. Raman spectroscopy basic [online]. [cit. 2015-05-19]. Dostupné z: [http://www.princetoninstruments.com/Uploads/Princeton/Documents/Library/UpdatedLibrary/Raman\\_spectroscopy\\_Basics.pdf](http://www.princetoninstruments.com/Uploads/Princeton/Documents/Library/UpdatedLibrary/Raman_spectroscopy_Basics.pdf)
- [5] Encyclopaedia Britannica. Raman effect. [online]. [cit. 2015-05-19]. Dostupné z: <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/490453/Raman-effect/>
- [6] Otevřená věda. Jak vibrují atomy v molekulách. [online]. [cit. 2015-05-19]. Dostupné z: <http://archiv.otevrena-veda.cz/users/Image/default/C1Kurzy/NH2006pdf/15.pdf>
- [7] MATĚJKA, Pavel. Vscht. Techniky měření a interpretace IČ a Ramanových spekter [online]. [cit. 2015-05-19]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/anl/matejka/molekuly-01.pdf>
- [8] SCHRADER, Bernhard. Infrared and Raman spectroscopy: methods and applications. New York: VCH, 1995, xx, 787 p. ISBN 35-272-6446-9.
- [9] Horiba: Scientific. Raman Spectroscopy: SERS [online]. 1996 [cit. 2015-05-19]. Dostupné z: <http://www.horiba.com/scientific/products/raman-spectroscopy/raman-academy/raman-faqs/what-is-surface-enhanced-raman-scattering-or-sers/>
- [10] SMITH, Ewen a Geoffrey DENT. Modern Raman spectroscopy: a practical approach. Hoboken, NJ: J. Wiley, 2005, x, 210 p. ISBN 04-714-9794-0.

[11] CHALMERS, John M, Howell G EDWARDS a Michael D HARGREAVES. Infrared and Raman spectroscopy in forensic science. 1. Hoboken: Wiley, 2012, p. cm. ISBN 978-047-0749-067.

[12] RENISHAW. Introduction to Raman spectroscopy: Manuál 1. Old Town, Wotton-under-Edge, Gloucestershire GL12 7DW United Kingdom, 4 s. [cit. 2015-05-19].

[13] KOLEKTIV, Luděk Lukáš a. Bezpečnostní technologie, systémy a management: [teorie a praxe ochrany majetku a fyzické bezpečnosti]. 1. vyd. Zlín: VeRBuM, 2011. ISBN 978-808-7500-354.

[14] GREMLICH, Hans-Ulrich a Bing YAN. Infrared and raman spectroscopy of biological materials. New York: M. Dekker, 2001, ix, 581 p. ISBN 08-247-0409-6.

[15] BUZZINI, Patrick; MASSONNET, Genevieve; MONARD SERMIER, Florence. The micro Raman analysis of paint evidence in criminalistics: case studies. Journal of Raman Spectroscopy, 2006, 37.9: 922-931.

[16] RRUFF - Database of Raman spectra, X-ray diffraction and chemistry data for minerals  $\{\text{lbrack}\}$ online $\{\text{rbrack}\}$ . 2006. Dostupné z: <http://rruff.info/>

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

E	Elektrické pole
$v_0$	Význam druhé zkratky.
N	Počet
h	Planckova konstanta
Obr	Obrázok
ČSAV	Československá akadémia vied
SERS	Surface-enhanced Raman spectroscopy
a.u.	arbitrary units

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr. 1. C.V.Raman [1].....	11
Obr. 2. Laserový Ramanov spektroskop JRS - S1 [2].....	12
Obr. 3. Moderný Ramanov mikroskop inVia Basic .....	13
Obr. 4. Rayleighov, Stokesov a Anti-Stokesov rozptyl.....	14
Obr. 5. Schéma povrchom zosilneného Ramanovho rozptylu.....	15
Obr. 6. Biatomická molekula [6] .....	16
Obr. 7. Príklad pre molekulu vody [6].....	17
Obr. 8. Príklad Ramanovho spektra.....	17
Obr. 9. Porovnanie merania bez obalu a cez obal.....	19
Obr. 10. Meranie prenosným spektrometrom.....	22
Obr. 11. Spektrum cukru.....	24
Obr. 12. Spektrum múky.....	24
Obr. 13. Spektrum omietky.....	25
Obr. 14. Spektrum ibuprofenu .....	25
Obr. 15. spektrum panadolu.....	26
Obr. 16. Spektrum panadolu .....	26
Obr. 17. Spektrum tralgitu .....	27
Obr. 18. Merané vzorky bielych práškov .....	27
Obr. 19. Spektrum bielej látky č.1 a č.2 .....	28
Obr. 20. Spektrá nepoužitých látok .....	28
Obr. 21. Biela látka č.1 s naneseným rúžom .....	29
Obr. 22. Biela látka č.2 s naneseným gélovým perom .....	29
Obr. 23. Biela látka č.2 s naneseným lakom na nechty .....	30
Obr. 24. Biela látka č.2 s naneseným lakom na nechty Fantastic.....	30
Obr. 25. Biela látka č.2 s nanesenou pastelkou .....	31
Obr. 26. Biela látka č.2 s naneseným rúžom .....	31
Obr. 27. Biela látka č.2 s nanesenou temperovou farbou .....	32
Obr.28. Merané vzorky látok so škvŕnami .....	32
Obr. 29. Ramanov mikroskop inVia Basic .....	34
Obr. 30. Hlavná strana databázy SpectralID.....	35
Obr. 31. Schéma Ramanovho efektu [12].....	37
Obr. 32. Hlavná obrazovka WIRE 3.2.....	38

Obr. 33. Nastavenie dĺžky spektra .....	39
Obr. 34. Príklad rozšíreného merania .....	40
Obr. 35. Nastavenie dĺžky merania, počet opakovaní a výkon laseru .....	40
Obr. 36. Príklad spektra s využitím Peak pick.....	41
Obr. 37. Príklad nastavenia data arithmetic .....	42
Obr. 38. Príklad využitia nástroja subtract baseline .....	43
Obr. 39. Spektrá vzorky č.1 .....	45
Obr. 40. Spektrá pre vzorku č.2 .....	46
Obr. 41. Spektrá pre vzorku č.3 .....	46
Obr. 42. Spektrá pre vzorku č.4 .....	47
Obr. 43. Spektrá pre vzorku č.5 .....	47
Obr. 44. Spektrá pre vzorku č.6 .....	48
Obr. 45. Spektrá pre vzorku č.7 .....	48
Obr. 46. Vzorka č.1 nameraná cez obal .....	49
Obr. 47. Spektrum múky z databáze .....	49
Obr. 48. Odčítaný obal od meranej vzorky č.1 .....	50
Obr. 49. Spektrum vzorky č.2 cez obal.....	50
Obr. 50. Vzorka č.2 nameraná cez obal s použitým nástrojom Peak pick.....	51
Obr. 51. Spektrum panadolu s databáze s použitým nástrojom Peak pick .....	51
Obr. 52. Porovnanie vzorky č.2 so spektrom Ibuprofenu z databáze .....	52
Obr. 53. Porovnanie vzorky č.5 so spektrom Panadolu z databáze .....	52
Obr. 54. Porovnanie vzorky č.6 so spektrom Panthenolu z databáze .....	53
Obr. 55. Porovnanie vzorky č.7 so spektrom Tralgitu z databáze.....	53
Obr. 56. Spektrá pre vzorku č.1 .....	54
Obr. 57. Spektrá pre vzorku č.2 .....	55
Obr. 58. Spektrá pre vzorku č.3 .....	55
Obr. 59. Spektrá pre vzorku č.4 .....	56
Obr. 60. Spektrá pre vzorku č.5 .....	56
Obr. 61. Spektrum pre vzorku č.6.....	57
Obr.62. Porovnanie vzorky č.2 so spektrom laku na bielej látke č.2.....	57
Obr. 63. Porovnanie vzorky č.5 so spektrom rúžu na bielej látke č.2 .....	58
Obr.64. Porovnanie vzorky č.6 so spektrom temperovej farby na bielej látke č.2 .....	58
Obr. 65. Spektrum farbiva na bielej látke č.1 .....	59

---

Obr. 66. Spektrum farbiva na bielej látke č.1 + nástroj peak pick.....	59
Obr. 67. Spektrum vzorky číslo 5 na bielej látke č.2 + nástroj peak pick .....	60

## SEZNAM ELEKTRONICKÝCH PŘÍLOH

- P I    Laboratorna úloha    Analýza a rozpoznávanie bielych práškov Ramanovou spektroskopiou
- P II    Laboratorna úloha    Analýza a rozpoznávanie farebných stôp na textile Ramanovou spektroskopiou