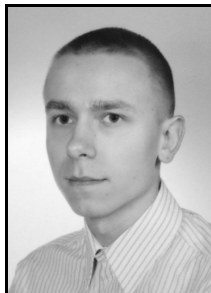


Mariusz CHILMON, Janusz SMULKOPOLITECHNIKA GDAŃSKA, WYDZIAŁ ELEKTRONIKI, TELEKOMUNIKACJI I INFORMATYKI,
KATEDRA OPTOELEKTRONIKI I SYSTEMÓW ELEKTRONICZNYCH, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk**Wyznaczanie rozdzielczości pomiarów widm Ramana****Mariusz CHILMON**

Student V roku Wydziału Elektroniki, Telekomunikacji i Informatyki Politechniki Gdańskiej. Interesuje się elektroniką cyfrową oraz wykorzystaniem narzędzi FLOSS w praktyce inżynierskiej. Jest autorem publikacji w czasopiśmie Elektronika dla Wszystkich opisujących opracowane układy elektroniczne.



e-mail: vmario@vmario.org

Dr hab. inż. Janusz SMULKO

Adiunkt w Katedrze Optoelektroniki i Systemów Elektronicznych na Wydziale Elektroniki, Telekomunikacji i Informatyki Politechniki Gdańskiej. Jest autorem lub współautorem ponad 100 publikacji (w tym 25 z tzw. listy filadelfijskiej). Zajmuje się metodami wykrywania gazów za pomocą pomiarów i analizy zjawisk fluktuacyjnych w rezystancyjnych sensorach gazów oraz miernictwem sygnałów losowych.



e-mail: jsmulko@eti.pg.gda.pl

Streszczenie

Opisano parametry wpływające na rozdzielczość pomiarów widm Ramana. Następnie przedstawiono sposób wyznaczania rozdzielczości dla przykładowego układu spektrometru, wykorzystywanego w projekcie badawczym budowy przenośnego spektrometru Ramana. Wyniki analizy przeprowadzonej na podstawie prążków występujących w kilku pomierzonych widmach potwierdziły zgodność obliczeń z obserwowaną rozdzielczością pomiarów w przedziale $8,5 \div 10,5 \text{ cm}^{-1}$.

Słowa kluczowe: rozdzielczość, widmo, spektroskopia Ramana.

Estimation of the Raman spectra resolution**Abstract**

The Raman phenomenon and its prospective application to chemistry are described in detail in the paper. The parameters that determine the Raman spectra resolution are given. The method for estimation of the Raman spectra resolution with use of an exemplary spectrometer is presented. The method called a Full Width at Half Maximum was applied to determine the spectra resolution. The spectrometer QE65000 by Ocean Optics company is used in a portable Raman spectrometer being under construction. The spectrometer component elements are presented as well. The equations describing the spectra resolution according to the used grating, CCD sensor and input light slit are enclosed. The results, obtained for a few selected spectra lines of diamond, silicon and the applied calibrating lamp confirmed the accuracy of the calculated values that belong to a range of $8,5 \div 10,5 \text{ cm}^{-1}$. The paper shows how the spikes observed in the Raman spectra of selected chemicals were approximated by Lorentz or Gauss functions to find the spike maximum that, in general, can be placed at Raman shift somewhere between the available CCD pixels. It can be concluded that the estimated resolution is close to the value predicted by theoretical considerations and is sufficient for the portable device.

Keywords: resolution, spectrum, Raman spectroscopy.

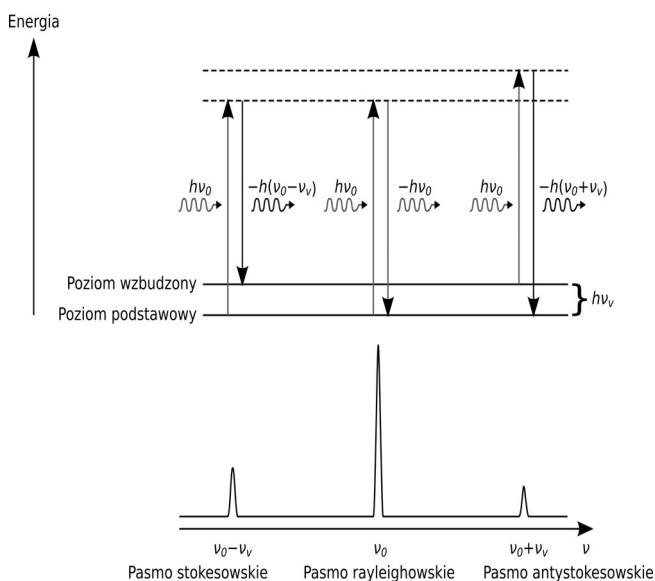
1. Wstęp

Zjawisko Ramana jest znane już od lat 20-tych poprzedniego stulecia. Jego istotą jest występowanie w widmie światła rozproszonego, podczas oddziaływania silnej wiązki promieniowania monochromatycznego z materią, trzech składowych (rys. 1):

- pasma Rayleigha o częstotliwościach takich samych jak w wiązce światła padającej na materię,
- pasma stokesowskiego Ramana o częstotliwościach niższych niż w padającej wiązce światła,
- pasma antystokesowskiego Ramana o częstotliwościach wyższych niż w pierwotnej wiązce światła [1].

Pierwsze pasmo powstaje podczas rozproszenia Rayleigha, któremu ulega większość rozpraszanych fotonów. W tym przypadku foton o częstotliwości ν_0 pod wpływem oddziaływania z cząsteczką ulega pochłanianiu, czemu towarzyszy emisja nowego fotonu o tej samej energii, co odpowiada tej samej częstotliwości ν_0 .

Pozostałe dwa pasma, położone symetrycznie wokół pierwszego, powstają, gdy foton kreowany ma mniejszą lub większą energię od fotonu padającego, w zależności czy różnica energii jest pochłaniana lub oddawana przez wiązania cząsteczkowe, na których zachodzi rozpraszanie. Takie rozpraszanie zdarza się raz na liczbę rzędu 10^7 fotonów rozpraszanych. Odstrojenie liczby fotonów rozpraszonych od liczby fotonów wzbudzących określa się jako przesunięcie Ramana.



Rys. 1. Diagram energetyczny i poglądowe widmo Ramana (nie zachowano skali)

Fig. 1. Energy level diagram with illustrative Raman spectrum (not to scale)

Ze względu na podane prawdopodobieństwo, intensywność promieniowania stokesowskiego i antystokesowskiego jest znacznie słabsza od składowej Rayleigha. Co ważne, widmo Ramana zależy od liczby i budowy cząsteczek rozpraszających, dlatego można je wykorzystać do identyfikacji substancji chemicznych.

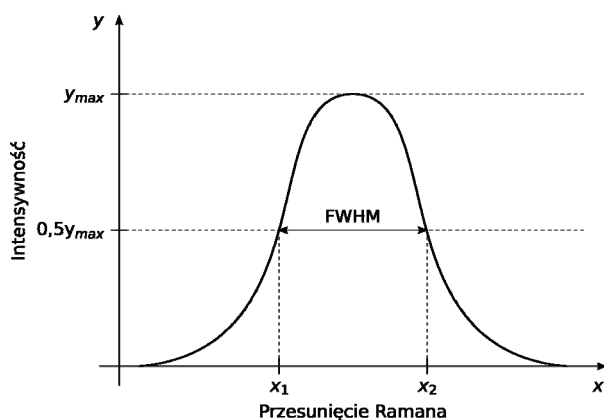
Ta właściwość widma Ramana jest obecnie wykorzystywana w wielu zastosowaniach. W szczególności, gdy ważna jest możliwość bezinwazyjnego badania właściwości chemicznych i fizycznych obiektu, np. w kryminalistyce do badania mikrośladów płynów ciała (próbki o objętości rzędu $10 \mu\text{l}$), ze szczególnym uwzględnieniem krwi; w medycynie do diagnostyki chorób (np. pęcherzycy na podstawie badania surowicy krwi), przy zabiegach konserwatorskich do datowania dzieł na podstawie składu barwników oraz wielu innych aplikacjach [2–5].

Metody analizy widm obejmują wstępną obróbkę, polegającą na usuwaniu sygnału tła oraz filtracji, za pomocą różnych znanych algorytmów [2, 6]. W kolejnym etapie można na podstawie widma Ramana dokonać identyfikacji badanej substancji chemicznej lub jej mieszaniny. W tym celu wykorzystuje się bardziej złożone algorytmy, takie jak PCA (*Principal Component Analysis*), SIMCA (*Soft Independent Modeling of Class Analogy*) lub PLS-DA (*Partial Least Squares Discriminant Analysis*), a także z użyciem logiki rozmytej [5, 7]. W takim procesie niezbędna jest biblioteka wzorcowych widm, charakterystycznych dla poszczególnych zidentyfikowanych substancji. Jednym z parametrów takich widm jest rozdzielczość, z jaką zostały pomierzone i są następnie używane w procesie identyfikacji. Stąd, istotnym jest, aby określić rozdzielczość, z jaką wyznaczono widma Ramana.

2. Rozdzielczość widmowa

Widmo Ramana ma postać zbioru prążków charakterystycznego dla danej substancji chemicznej. Rozdzielczość, z jaką jest rejestrowane widmo, informuje o minimalnych szerokościach prążków, jakie można zarejestrować i minimalnych odstępach pomiędzy prążkami, przy których można je zidentyfikować. Prążki ulegają poszerzeniu na skutek niedoskonałości zastosowanego układu optycznego oraz detektora. Ponadto, układ optyczny zachowuje się w różny sposób przy różnych zakresach długości fali (wartościach przesunięcia Ramana prążków). Stąd, przy określaniu rozdzielczości należy uwzględnić kilka odrębnych czynników lub dokonać pomiarowo oceny rozdzielczości w stosowanym do pomiarów widm spektrometrze.

Rozdzielczość pomiarów widma dla danego przesunięcia definiuje się jako równą szerokości prążka w połowie wysokości (amplitudy, rys. 2), określanej skrótem FWHM (ang. *Full Width at Half Maximum*). W praktyce, wartość rozdzielczości FWHM wyznacza się najdokładniej gdy w widmie do tego celu wybierze się prążki jak najwęższe (o szerokości własnej znacznie mniejszej od rozdzielczości spektrometru), o możliwie dużej amplitudzie.



Rys. 2. Ilustracja kryterium rozdzielczości pomiarów widma FWHM
Fig. 2. Spectrum resolution FWHM

Do najważniejszych czynników decydujących o rozdzielczości należy zaliczyć [8]:

- szerokość szczeliny wejściowej spektrometru,
- stałą siatki dyfrakcyjnej,
- długość ogniskowej,
- rozdzielczość matrycy.

Dla uzyskania możliwie najlepszej rozdzielczości należy wybrać jak najmniejszą wartość apertury, co niestety ogranicza czułość spektrometru (intensywność wchodzącego promieniowania). Podobnie, w przypadku stosowania coraz gęstszej siatki dyfrakcyjnej uzyskujemy poprawę rozdzielczości, ale ograniczamy zakres przesunięć jakie mogą być mierzone przez spektrometr, co wynika z równania siatki:

$$d(\sin \Theta_n + \sin \Theta_i) = n\lambda, \quad (1)$$

gdzie: d – stała siatki, Θ_n – kąt, pod jakim widziany jest prążek, Θ_i – kąt, pod jakim promień światła pada na siatkę, n – rząd widma, λ – długość fali.

Dla widma pierwszego rzędu maksymalna długość fali λ_{\max} , którą można zarejestrować na matrycy, zależy od kątów Θ_n , Θ_i oraz stałej siatki d :

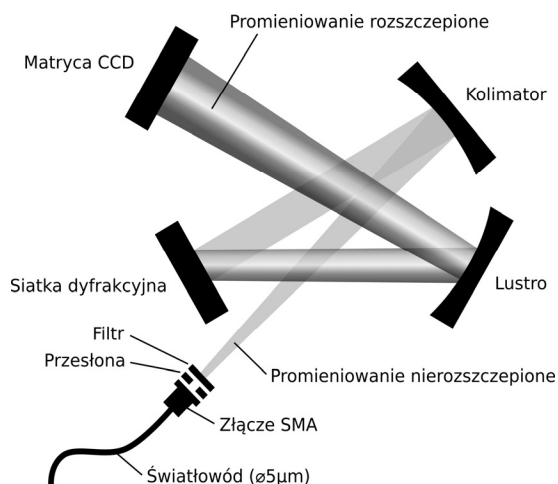
$$\lambda_{\max} = d(\sin \Theta_n + \sin \Theta_i). \quad (2)$$

Analogiczny efekt występuje przy zwiększaniu długości ogniskowej, co poprawia rozdzielczość kosztem zakresu badanych długości fal oraz zwiększenia gabarytów aparatury.

Zwiększanie rozdzielczości matrycy wydaje się najbardziej oczywistym sposobem poprawy parametrów spektroskopu. Należy jednak pamiętać, że ograniczenia zastosowanego toru optycznego niwelują potencjalne korzyści wynikające z zastosowania matrycy o większej liczbie pikseli.

3. Budowa spektrometru QE65000

Zminiaturyzowany spektrometr QE65000 firmy Ocean Optics jest przyrządem, który znajduje zastosowanie w badaniach fluorescencyjnych, sekwencjonowaniu DNA i spektroskopii Ramana. Wiązka światła wprowadzana jest do spektrometru za pomocą światłowodu, przez złącze SMA. Bezpośrednio za złączem znajduje się wymienna szczelina wejściowa, której szerokość może wynosić 5, 10, 25, 50, 100 i 200 μm . Przy braku szczeliny, rozdzielczość jest zdeterminowana przez średnicę rdzenia światłowodu. Następnym elementem na drodze promieniowania jest filtr, tłumiący niepożądane fragmenty widma. Po filtracji promieniowanie pada na lustro, pełniące funkcję kolimatora, a następnie na siatkę dyfrakcyjną, lustro ogniskujące i matrycę CCD o rozdzielczości 1044×64 piksele (rys. 3).



Rys. 3. Układ optyczny spektrometru QE65000
Fig. 3. Optical setup of QE65000 spectrometer

Ze względu na możliwość zmiany kilku elementów spektrometru (szczelina, siatka dyfrakcyjna) według życzeń użytkownika, uzyskiwana w praktyce rozdzielczość spektrometru wymaga indywidualnego oszacowania na podstawie pomiarów.

W badanym systemie ramanowskim, wykorzystującym pobudzenie promieniowaniem laserowym o długości fali 785 nm, zastosowano spektroskop QE65000, pracujący w zakresie długości fali 730,99–1106,66 nm, wyposażony siatkę o gęstości 600 rys/mm. Zastosowano światłowód odbiorczy o średnicy rdzenia 200 μm oraz szczelinę wejściową spektrometru 5 μm . Rejestrowane widma były wzbudzane wiązką promieniowania laserowego.

wego o mocy do 400 mW i szerokości widmowej 0,15 nm z lasera półprzewodnikowego.

4. Szacowanie rozdzielczości widmowej

Do oszacowania rozdzielczości widmowej spektrometru Ramana, wykorzystującego laser 785 nm i spektroskop QE65000, użyto widma lampy rtęciowo-argonowej oraz widm Ramana kilku przykładowych substancji, w których widmach występują wąskie prążki przy różnych wartościach przesunięcia Ramana. Jak wspomniano wcześniej, budowa badanego układu optycznego jest przyczyną zmian w rozdzielczości widmowej spektrometru w różnych zakresach przesunięć Ramana. Dla zastosowanej matrycy CCD i przy mierzonym zakresie długości fali, różnica wartości przesunięć Ramana rejestrowanych przez sąsiednie piksele w zastosowanej matrycy CCD waha się od 6,2 cm⁻¹ dla zerowego przesunięcia Ramana, aż do 2,9 cm⁻¹ dla przesunięcia 3500 cm⁻¹. Stąd, można oczekiwać lepszej rozdzielczości dla prążków leżących w części widma, odpowiadającej większym wartościom przesunięcia Ramana.

Na podstawie informacji producenta, w przypadku zastosowanej szczeliny o szerokości 5 μm rozdzielczość spektrometru QE65000 wyrażona w pikselach wynosi R_p=2,0 piksele [8]. W celu wyznaczenia rozdzielczości R, według definicji FWHM, wyrażonej w nanometrach, należy skorzystać ze wzoru:

$$R = R_p D = R_p S/N, \quad (3)$$

gdzie D jest dyspersją, wyrażoną w nm/piksel, zależną od zakresu spektralnego S zastosowanej siatki dyfrakcyjnej oraz liczby N detektorów w zastosowanej matrycy CCD. Wartość S jest wyznaczana jako różnica między dolnym i górnym krańcem zakresu mierzonych przesunięć Ramana. Uśredniona rozdzielczość spektroskopu R, wyznaczona z zależności (3), jest równa:

$$R = \frac{2,0 \cdot 375,67 \text{ nm}}{1044} \approx 0,72 \text{ nm}. \quad (4)$$

Po przeliczeniu na jednostki ramanowskie daje to rozdzielczość ok. 11,7 cm⁻¹ w pobliżu 0 cm⁻¹, ok. 8,8 cm⁻¹ w pobliżu 1700 cm⁻¹ i ok. 6,2 cm⁻¹ w otoczeniu 3500 cm⁻¹.

Uzyskany według (4) wynik został zweryfikowany dla przykładowych danych pomiarowych. Wykorzystano widma Ramana dla diamentu syntetycznego, krzemu oraz widmo emisyjne lampy kalibracyjnej argonowo-rtęciowej. Następnie przeanalizowano prążki, wybrane ze względu na wartość amplitudy oraz szerokość.

Szerokość FWHM każdego z wybranych prążków wynosi co najwyżej kilka pikseli. Stąd, należy się spodziewać, że maksimum prążka Ramana w wielu przypadkach leży pomiędzy kolejnymi pikselami przetwornika CCD i jest większe niż wartości wskazywane przez sąsiednie piksele. Z tego względu, w celu dokładnego określenia wartości maksymalnej i położenia, analizowane prążki zostały poddane aproksymacji funkcją Lorentza:

$$y = \frac{C}{\pi \gamma \left[1 + \left(\frac{x - x_0}{\gamma} \right)^2 \right]}, \quad (4)$$

gdzie C jest współczynnikiem skali, dopasowującym funkcję Lorentza do zakresu analizowanych danych; γ oraz x₀ to współczynniki rozkładu Lorentza.

Jeden z prążków w widmie lampy kalibracyjnej 809 nm, odpowiadający przesunięciu Ramana 381,75 cm⁻¹, przy pobudzeniu laserem 785 nm, aproksymowano funkcją Gaussa, która lepiej odwzoruje jego kształt i ma postać:

$$y = \frac{C_g}{\sigma \sqrt{2\pi}} \exp\left(\frac{-(x - \mu)^2}{2\sigma^2}\right), \quad (5)$$

gdzie C_g jest współczynnikiem skali wprowadzonym, aby dopasować funkcję Gaussa do zakresu analizowanych danych; μ oraz σ są parametrami rozkładu Gaussa.

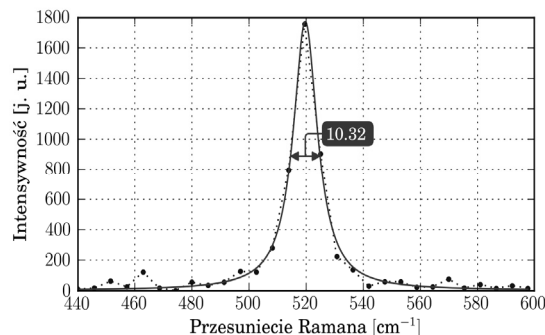
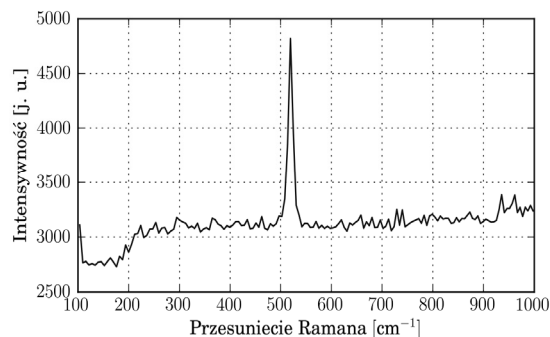
Aproksymacji dokonano za pomocą biblioteki *SciPy* języka programowania *Python*, która, wraz z interpreterem poleceń, stanowi darmowe środowisko do obliczeń matematycznych. W przykładach wykorzystano funkcję *leastsq* pakietu *optimize*, która znajdowała najlepsze, w sensie średniokwadratowym, dopasowanie punktów pomiarowych prążka do funkcji Lorentza.

Obliczone współczynniki γ i x₀ oraz uzyskane wartości rozdzielczości widmowej (FWHM) przytoczono w tabeli 1.

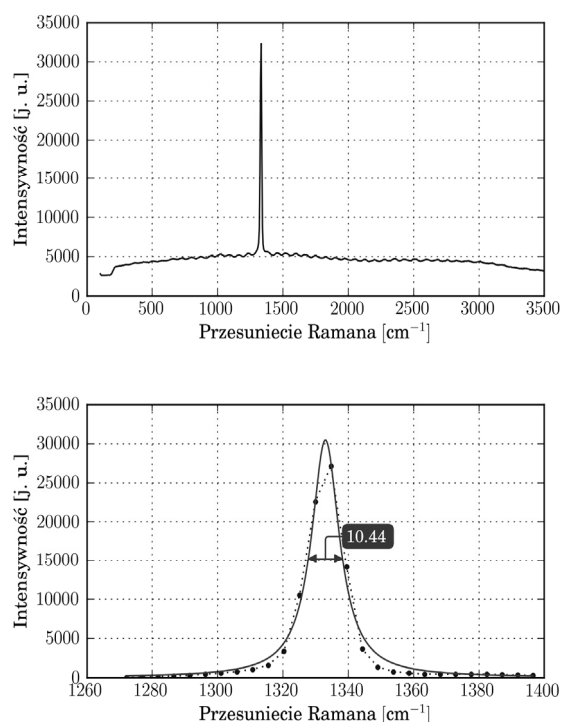
Tab. 1. Wyniki pomiarów rozdzielczości widmowej
Tab. 1. Results of spectral resolution estimation

Źródło	x ₀	γ	C	FWHM
Krzem	519,78	5,1594	28741	10,32 cm ⁻¹
Diament	1333,0	5,2211	499497	10,44 cm ⁻¹
Lampa kalibracyjna	3575,9	5,0350	331498	10,07 cm ⁻¹
Lampa kalibracyjna	381,75	3,8145	118054	10,07 cm ⁻¹

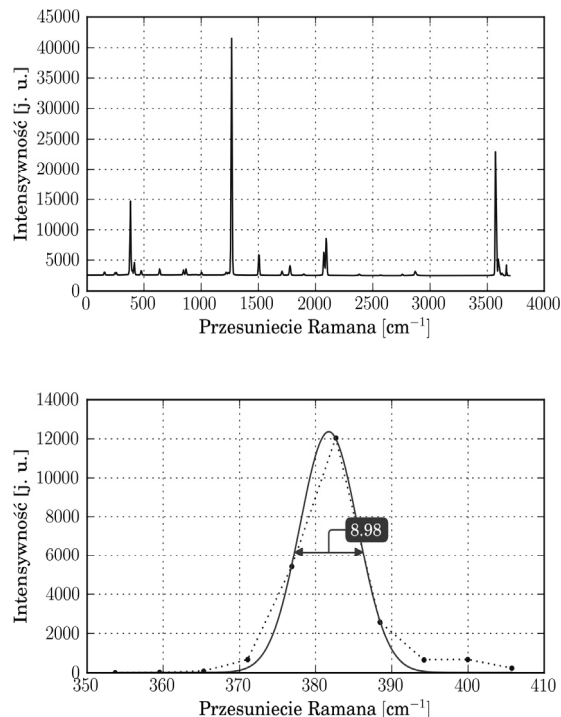
Na przytoczonych wykresach (rys. 4, rys. 5, rys. 6) przedstawiono wykorzystywane linie widmowe.



Rys. 4. Widmo ramanowskie monokrystalicznego krzemu – linia 520 cm⁻¹
Fig. 4. Raman spectrum of monocrystalline silicon – band at 520 cm⁻¹



Rys. 5. Widmo Ramana monokrystalicznego diamentu – linia 1332 cm^{-1}
 Fig. 5. Raman spectrum of monocrystalline diamond – band at 1332 cm^{-1}



Rys. 6. Widmo lampy kalibracyjnej argonowo-ręciowej; oś odczytów przeskalowano z jednostek długości fali na jednostki przesunięcia Ramana odpowiadające pobudzeniu laserem 785 nm w paśmie stokesowskim
 Fig. 6. Spectrum of Ar:Hg calibration lamp; abscissa axis was scaled from wavelength units to Raman shift units for laser excitation 785 nm and Stokes scattering

5. Wnioski

Większość uzyskanych wyników pomiarowych jest porównywalna lub nieznacznie tylko gorsza od obliczonych na podstawie danych z firmy Ocean Optics i wynosi około 10 cm^{-1} (tab. 1). Tylko dla niektórych prążków rozdzielczość była mniejsza i bliższa przewidywanej, wynosząc np. $8,98 \text{ cm}^{-1}$. Taki wynik wskazuje, że znaczący wpływ przy określaniu podaną metodą rozdzielczości widmowej spektrometru ma wybór prążka w widmie i jego rzeczywista szerokość określona tylko zachodzącym zjawiskiem Ramana, bez modyfikacji wprowadzanej przez układ optyczny spektrometru.

Przy wyborze zakresu przesunięcia Ramana i długości fali lasera wzbudzającego kierowano się potencjalnym zastosowaniem badanego spektrometru, w przygotowywanym przenośnym spektrometrze Ramana. Urządzenie może być przeznaczone do identyfikacji substancji np. podczas pracy służb ratowniczych, straży pożarnej, policji.

Jednocześnie można zauważyć, że rozdzielczość dla analizowanych widm nie zależy w istotny sposób od położenia prążka na osi odczytów (przesunięcia Ramana), co sugeruje, że istotny wpływ na wypadkową rozdzielczości widmowej ma w tym przypadku rzeczywista szerokość analizowanego prążka lub jakość toru optycznego, a nie rozdzielczość samej matrycy CCD (liczba pikseli).

Oceniając uzyskane wyniki można przypuszczać, że rozdzielczość spektrometru jest wystarczająca do skutecznego rozpoznawania substancji chemicznych przez porównywanie ich widm Ramana ze wzorcami w bibliotece. Według literatury poprawną klasyfikację uzyskiwano nawet dla spektrometrów o znacznie gorszej rozdzielczości [5].

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2009-2011 jako projekt rozwojowy O R00002907.

6. Literatura

- [1] Colthup N.B., Daly L.H., Wiberley S.E.: Introduction to infrared and Raman spectroscopy. Academic Press, 1964.
- [2] Camerlingo C., Zenone F., Perna G., Capozzi V., Cirillo N., Gaeta G.M., Lepore M.: An Investigation on Micro-Raman Spectra and Wavelet Data Analysis for Pemphigus Vulgaris Follow-up Monitoring. Sensors 8, 2008, s. 3656–3664.
- [3] Horiba Ltd.: Raman spectroscopy and its applications, 2010; materiały dostępne w Internecie: www.horiba.com/scientific/products/raman-spectroscopy/applications/.
- [4] McCreery L.R., Horn A.J., Spencer J., Jefferson E.: Noninvasive Identification of Materials inside USP Vials with Raman Spectroscopy and a Raman Spectral Library. Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 87 No. 1, 2000, s. 1–8.
- [5] Sikirzyński V., Virkler K., Lednev I.: Discriminant Analysis of Raman Spectra for Body Fluid Identification for Forensic Purposes. Forensic Science Int., Vol. 181 No. 1-3, 2008, 10, s. e1–e5.
- [6] Hu Y., Jiang T., Shen A., Wang X., Hu J.: A background elimination method based on wavelet transform for Raman spectra. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 85, 2007, s. 94–101.
- [7] Tutzo M.C., Perez-Pueyo R., Soneira M.J., Moreno S.R.: Fuzzy logic: a technique to Raman spectra recognition. J. Raman Spectroscopy, 37, 2006, s. 1003–1011.
- [8] Ocean Optics: Optical Resolution, 2010; materiały dostępne w Internecie: <http://www.oceanoptics.com/technical/opticalresolution.asp>.