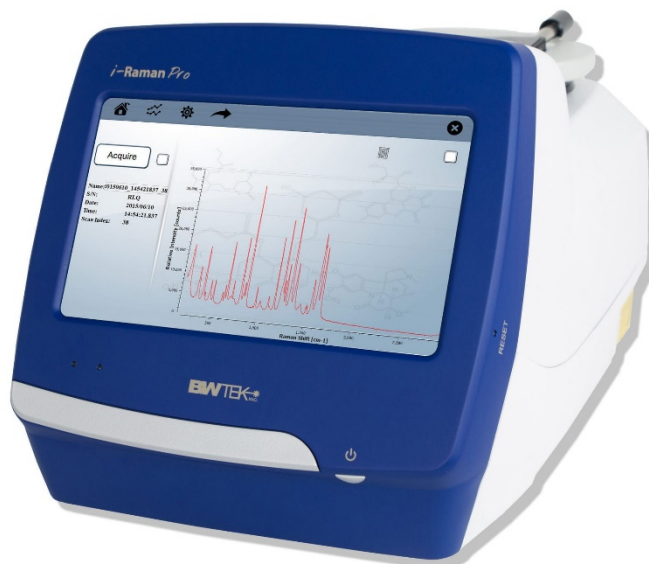


STANDARDNÍ PRACOVNÍ POSTUP

pro použití přenosného Ramanova spektrometru i-Raman Pro



1 Oblast použití

Tento standardní pracovní postup obsahuje základní instrukce a pokyny k ovládání přenosného **Ramanova spektrometru i-Raman Pro** pro uživatele – odborné pracovníky LTL na úrovni „Operátor“.

2 Určení přístroje

Přenosný Ramanův spektrometr i-Raman Pro (B&W Tek) je určen pro identifikaci neznámých látek nebo potvrzení přítomnosti sledovaných chemických látek pomocí Ramanovy spektrometrie s využitím laseru o vlnové délce 785 nm (výkon < 420 mW).

Konstrukce spektrometru umožňuje použití v podmínkách rozmístění v místě zásahu (zpravidla mobilní laboratoři nebo zásahovém vozidle) nebo v místě poskytování technické a analytické podpory.

Z hlediska technik měření může být využita metoda „point-and-shoot“, která umožňuje měření chemických látek skrze jejich obal, pokud je dostatečně transparentní pro laser. Takto je možné identifikovat látku a charakterizovat její nebezpečnost i bez nutnosti přímého otevření obalu. V případech, kdy je to vhodné, mohou být dále využity chráněné držáky vialek nebo květ, který jsou určeny zejména pro kapalné vzorky.

Vzorkem může být všeobecně čistá nebo koncentrovaná pevná, kapalná, pastovitá nebo gelovitá látka.

3 Základní pokyny pro uvedení do provozu

Spektrometr je nutné umístit na vhodném místě, které je chráněno před nepříznivými povětrnostními vlivy, silnými vibracemi, zvýšenou vlhkostí a prašností nebo nežádoucí kontaminací. Doporučené rozmezí pracovní teploty pro optimální provoz je 0 až 35 °C.

Úplné požadavky pro provoz stanovuje návod k použití dodaný výrobcem.

Dlouhodobý provoz spektrometru je závislý na dodávce elektrické energie. Je možné ho napájet ze standardní elektrické sítě, nabíječkou do autozásuvky nebo pomocí velkokapacitní powerbanky dodané se spektrometrem.

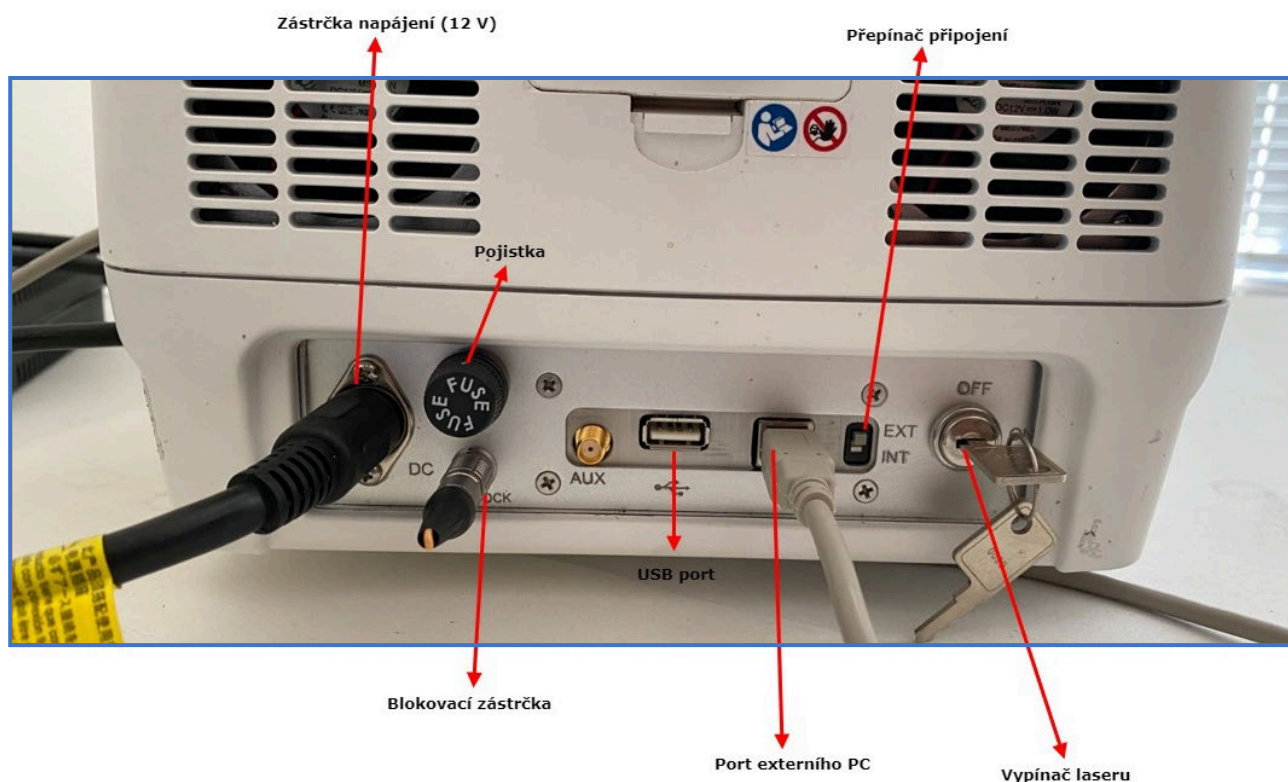
Používaný model spektrometru i-Raman Pro je možné díky integrovanému dotykovému tabletu provozovat samostatně nebo ve spojení s externí mobilní pracovní stanicí.

Bezpečnostní pokyny ve vztahu k laseru třídy 3B

Každý uživatel spektrometru musí být prokazatelně proškolen z hlediska bezpečnostních opatření ve vztahu k ochraně života a zdraví osob a bezpečné manipulace a bezpečnostních opatření při měření neznámých nebo citlivých vzorků.

Popis přístroje a uvedení přístroje do provozu





- (a) Spektrometr se připojí ke zdroj napětí pomocí *Zástrčky napájení*. Na čelním panelu se zároveň rozsvítí *Indikátor napájení*.
- (b) Příklad se zapne pomocí *Vypínače* ☹ jeho přidržetím po dobu 3–5 sekund.
- (c) V případě ovládání spektrometru pomocí mobilní pracovní stanice se spektrometr s touto stanicí propojí USB kabelem přes *Port externího PC*. Zároveň je nutné mít *Přepínač připojení* v poloze „EXT“.
- Poloha „INT“ umožňuje práci pouze v integrovaném tabletu.
- (d) Spektrometr i-Raman Pro má dva **bezpečnostní prvky pro zabránění náhodného spuštění laseru**: laser aktivovaný speciálním klíčem a pojistkový kolík.
- Pro aktivaci laseru musí být vložen pojistkový kolík do *Blokovací zástrčky*.
- Poté musí být zasunut klíč do zámku laseru a otočen ve směru hodinových ručiček do polohy „ON“. Laser se následně během pěti až deseti sekund zapne.
- Klíč nemůže být vyjmut, je-li v pozici *zapnuto*.
- (e) E-Grade optická sonda se spínačem je trvale připojena ke spektrometru. Manipulaci s vlákny sondy provádí pouze určený odborný pracovníky LTL na úrovni „Supervisor“.
- Ramanova sonda je vybavena ruční závěrkou, kterou je třeba před měřením otevřít a po jeho skončení opětovně uzavřít. Toto opatření je jednak kvůli bezpečnosti a rovněž pro měření temného pole.



Sonda je vybavena distančním nástavcem, který umožňuje regulaci vzdálenosti sondy od vzorku. Standardní pracovní vzdálenost (vzdálenost čočky sondy a měřeného povrchu) je nastavena na 5,4 mm; pomocí distančního nástavce je možné ji regulovat tak, aby byl Ramanův signál co nejsilnější.

4 Techniky pro měření vzorku

Vzorky jsou nejčastěji měřeny rychlou metodou „point-and-shoot“, která umožňuje měření chemických látek skrze jejich obal.

Sonda se přiloží k danému objektu měření. Na konci laseru musí být umístěn distanční nástavec, aby byla dodržena správná ohnisková vzdálenost pro měření.

Měření je ovlivněno okolními světelnými podmínkami a může tak docházet k interferencím. V případě umělého osvětlení (zářivky) je nutné toto osvětlení po dobu měření vypnout.

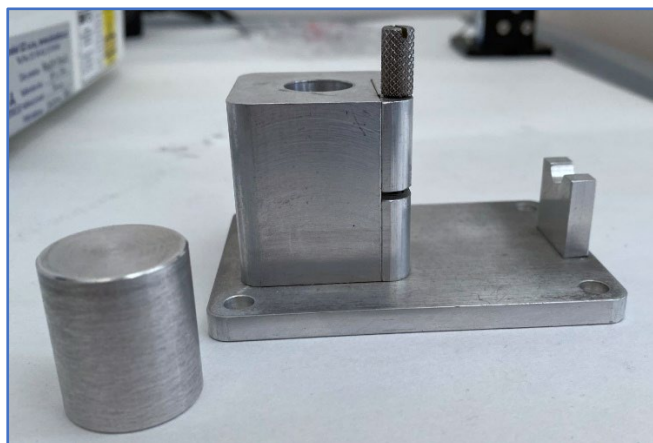
Příklady možného použití metody „point-and-shoot“:





Pro měření kapalných nebo pevných vzorků může být dále použit **chráněný držák vialek** vhodný pro měření v uzavřených i otevřených vialkách o objemu 1 ml nebo 4 ml.

Při tomto měření je zachována geometrie měření v souvislosti s používanými vialkami a chráněný držák vytváří stínění před možnými interferencemi; poskytuje proto přesnější spektrální údaje.



Ukázky možného použití držáků vialek:



Pro přesné měření kapalných vzorků, zejména pak velmi malých objemů, může být rovněž použit držák kapalinových kyvet vialek o standardní velikosti 9,5 mm.

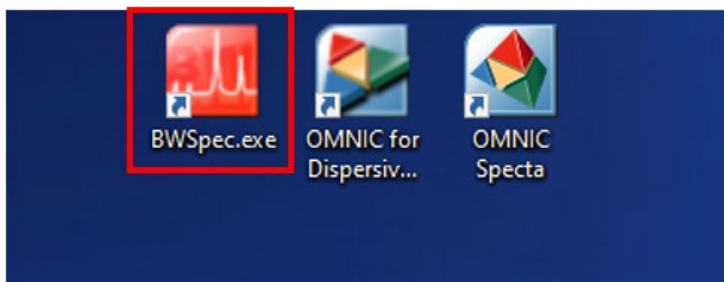


K dispozici jsou standardní kyvetky s optickou dráhou 10,0 mm o objemu 3 500 μ l, semi-mikrokyvetky o objemu 1 400 μ l a mikrokyvetky o objemu 700 μ l.

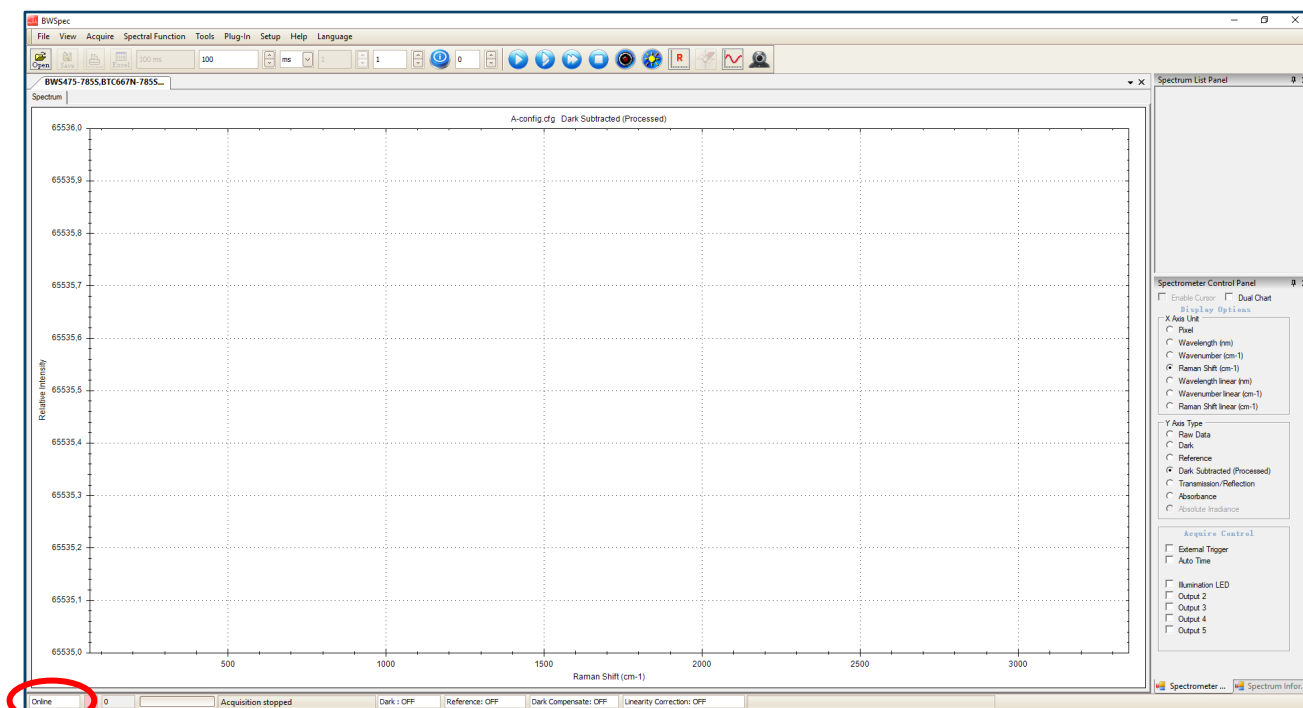


5 Příprava na měření vzorku

- (a) Pro ovládání spektrometru se na externí pracovní stanici spustí program **BWSpec.exe**.



- (b) Po spuštění programu se objeví odpočet času, který je nutný pro zahřátí spektrometru. Jakmile se v levém dolním rohu objeví stav **Online**, je přístroj připravený k měření.



- (c) Po náběhu přístroje do provozních podmínek je nutné nastavit základní parametry měření. Spektrometr neumožňuje použití automatických režimů.

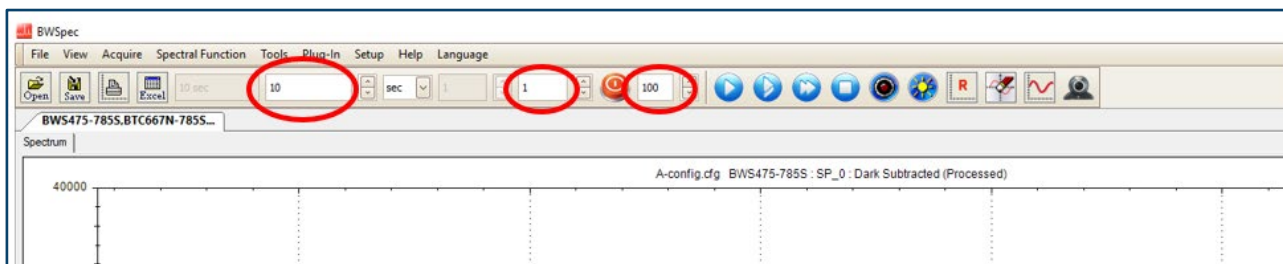
Pozornost je zaměřena zejména na tři základní experimentální parametry:

- integrační čas – dobu akumulace signálu ($\mu\text{s}/\text{ms}/\text{sec}/\text{min}$);
- počet opakovaných akumulací (skenů), které mají být v rámci jednoho měření změřeny;
- výkon laseru (% plného výkonu).

Hodnota integračního času souvisí s intenzitou Ramanova rozptylu. Vyšší intenzitu detekovaného Ramanova signálu lze dosáhnout vyšší hodnotou integračního času, zároveň se ale prodlužuje čas měření.

Optimální integrační čas je vždy experimentálně upraven tak, aby nejvyšší úroveň intenzity Ramanova signálu byla těsně pod úrovní saturace detektoru.

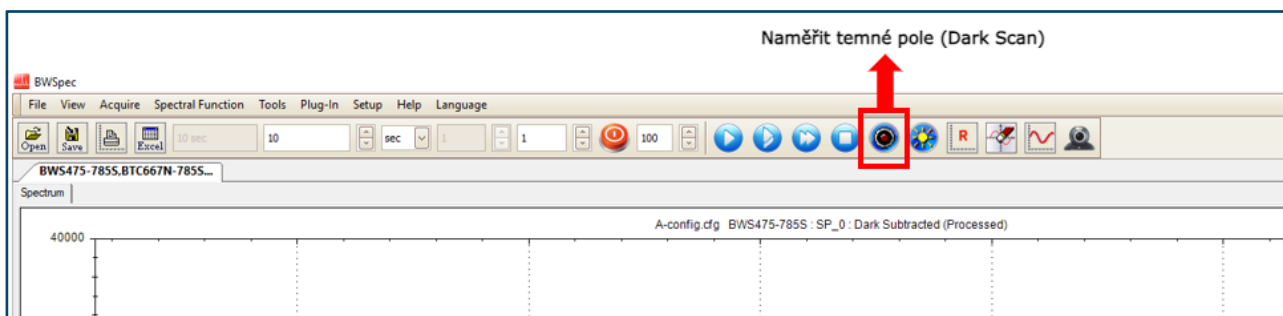
V případě neznámých vzorků je doporučeno zpočátku měřit s nižším výkonem, orientačně 30–50 % plného výkonu, velmi rychlým integračním časem a pouze jedním skenem. Na základě předběžných výsledků parametry měření optimalizovat.



Pokud ikona má **modrou** barvu  – laser je **vypnutý**

Pokud ikona má **červenou** barvu  – laser je **zapnutý**

(d) Po zadání základních parametrů měření nejprve naměřit temné pole (*dark scan*) pomocí ikony *Dark Scan*. Ruční uzávěra na těle sondy je v poloze „Close“.




Po dokončení proměření temného pole se na spodní liště objeví růžově podkreslené oznámení **Dark: ON**

(e) Před samotným měřením se ujistit, že ruční uzávěra na těle sondy je v poloze „Open“, laser je zapnutý a spektrometr indikuje jeho zapnutí na čelním panelu.

Při zapnutém laseru je potřeba dbát zvýšené pozornosti a opatrnosti, dodržování bezpečnostních zásad a používání předepsaných ochranných pracovních prostředků (zejména speciálních ochranných brýlí).

6 Vlastní měření vzorků

- (a) Pomocí ikony  se naměří jedno spektrum a přidá se do pracovního okna.

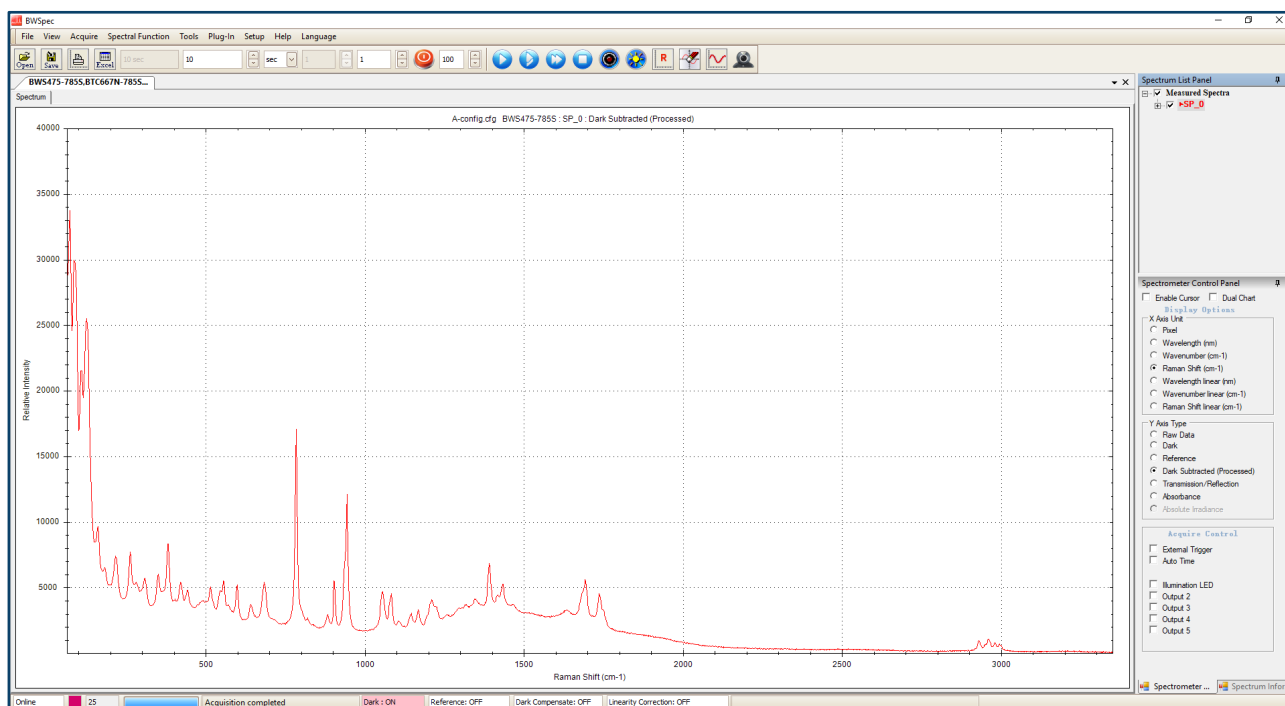
V případě naměření dalšího spektra bude předchozí spektrum vymazáno z pracovního okna.




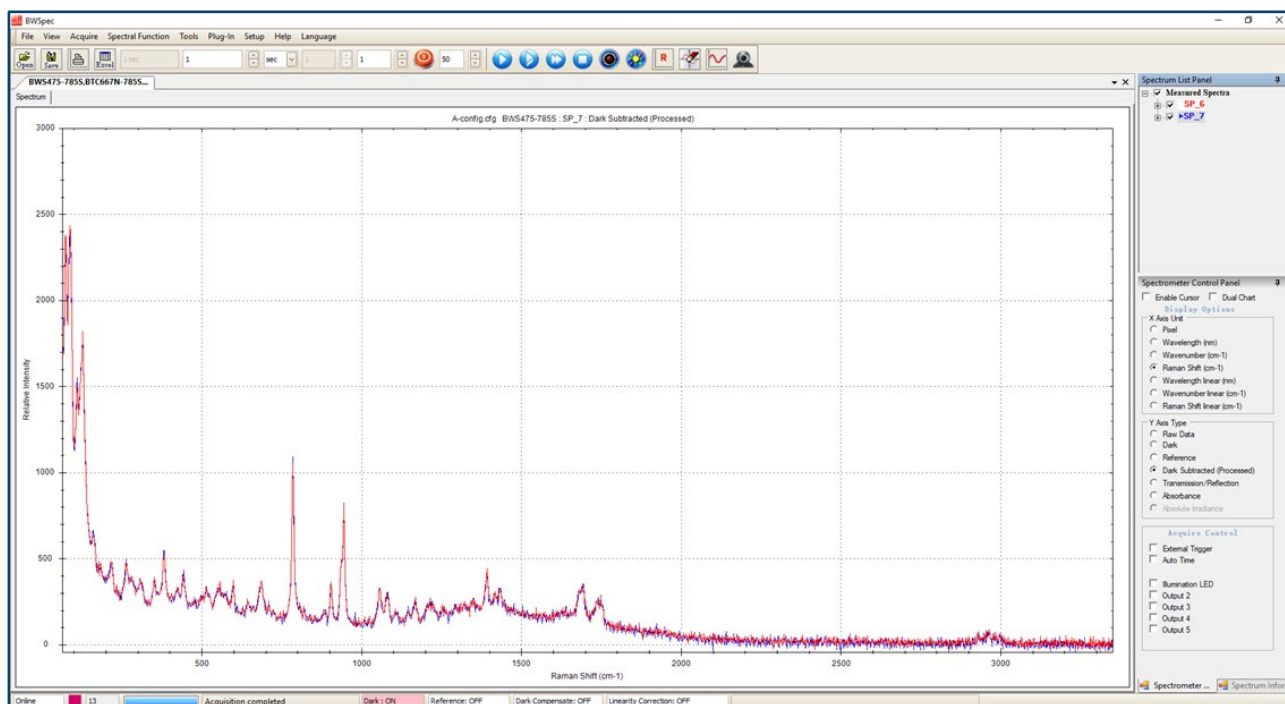
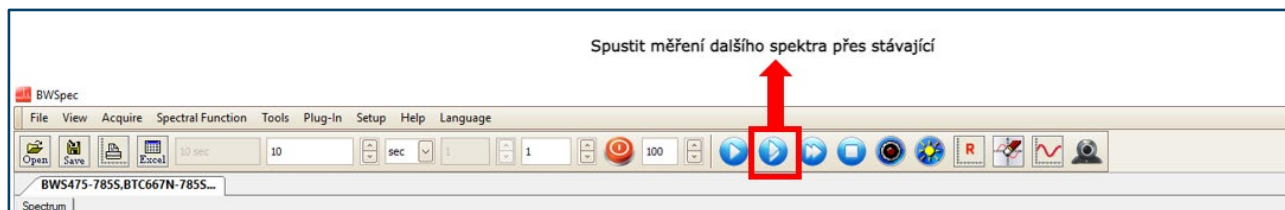
- V případě potřeby zastavení měření se použije ikona Stop 


Pro případné vymazání všech zobrazených spekter se použije ikona 

Pro optimalizaci naměřeného spektra je možné upravovat parametry nastavení (doba svitu laseru, počet opakování, výkon laseru). Po každé změně vždy změřit temné pole.



- (b) Pomocí ikony  se naměří další spektrum přes stávající doposud naměřená spektra. Spektra se zobrazí v jednom okně překryvu.

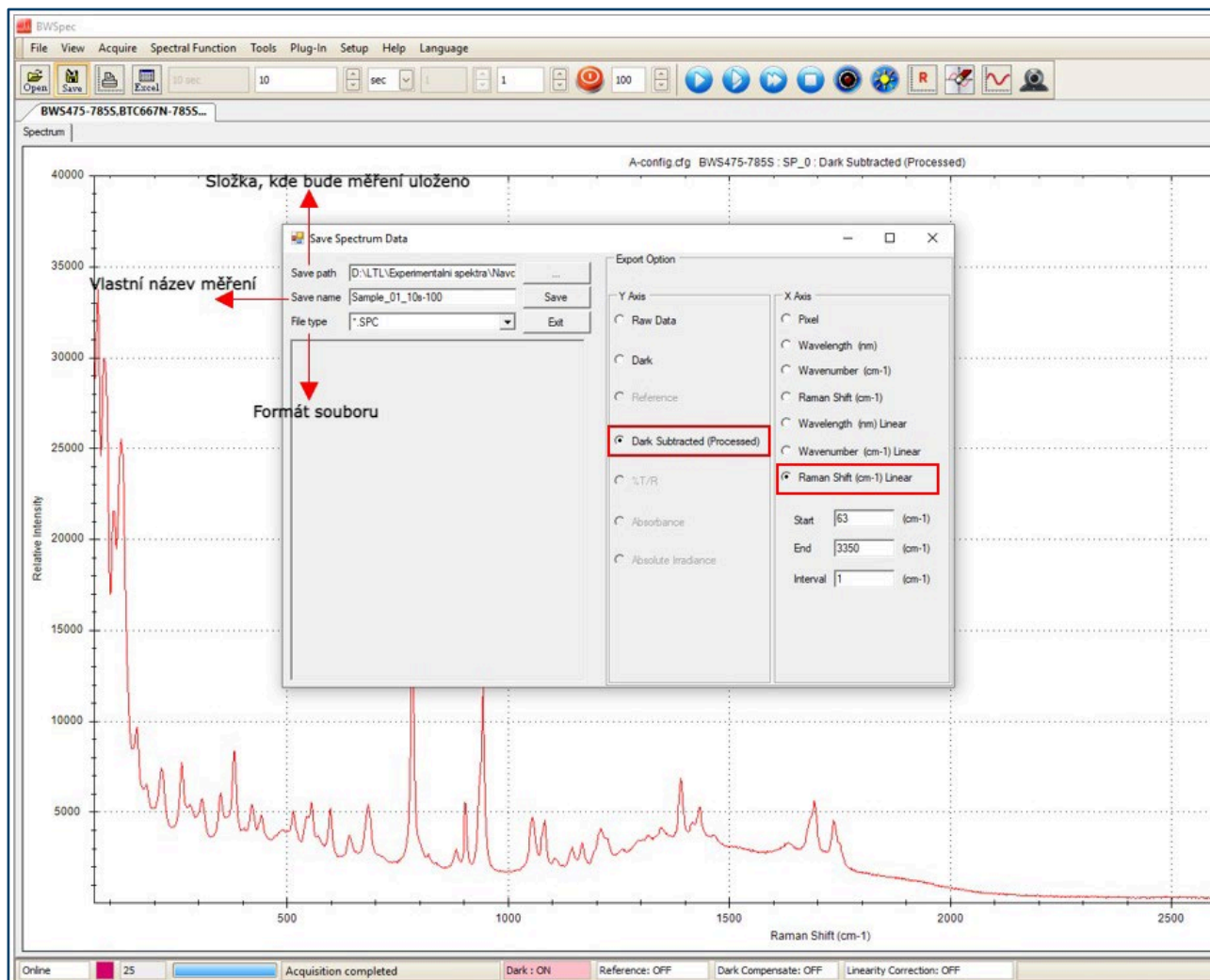


- (c) Pomocí ikony  je možné měřit spektra kontinuálně. Rychlost obnovování nově naměřených spekter je shodné s integračním časem.
- (d) K uložení vybraného spektra na disk pracovní stanice se použije ikona Save.



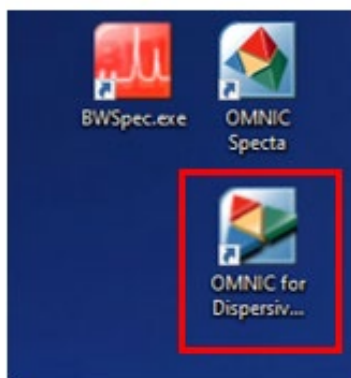
Vybrané spektrum (spektra) se ukládá ve formátu SPC (*.spc), zvolí se námi vybraná složka, kam bude dané spektrum uloženo a zadá se vlastní název měření.

V nabídce *Export Option* se ve sloupci *Y Axis* označí *Dark Subtracted* a ve sloupci *X Axis* - *Raman Shift (cm-1) Linear*. Číselné hodnoty se nepřepisují.

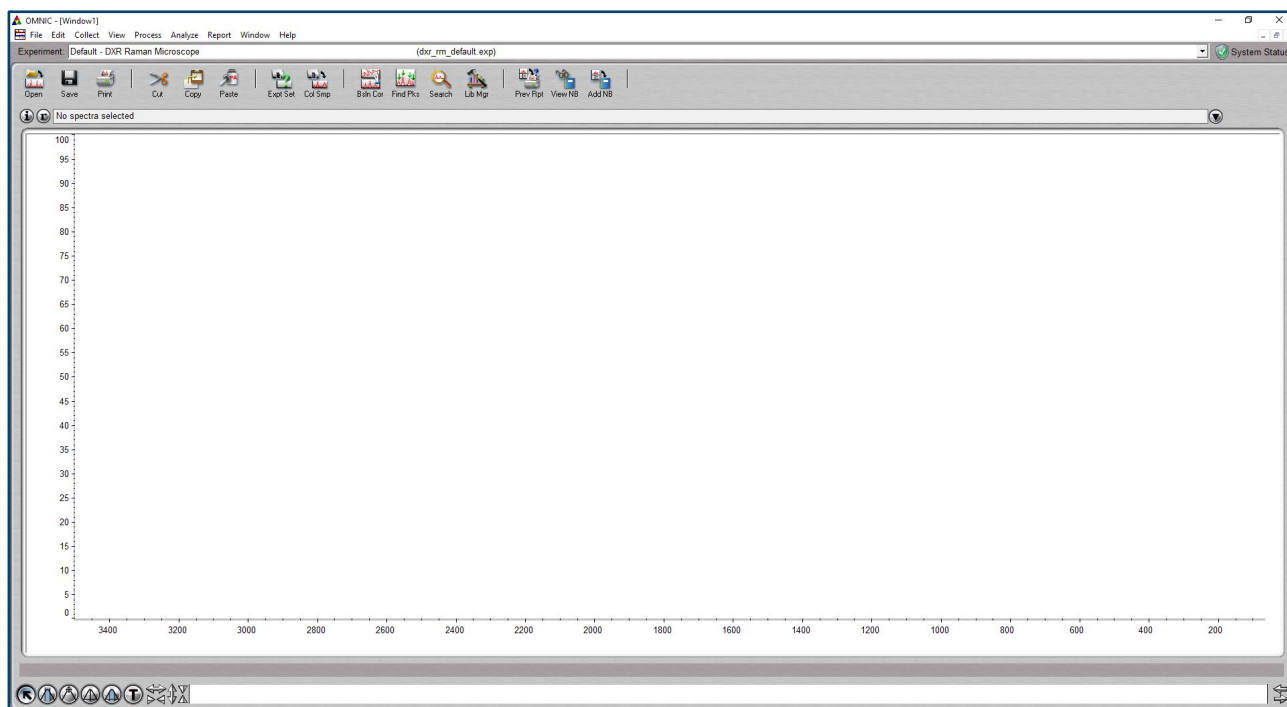


7 Vyhodnocení měřených spekter

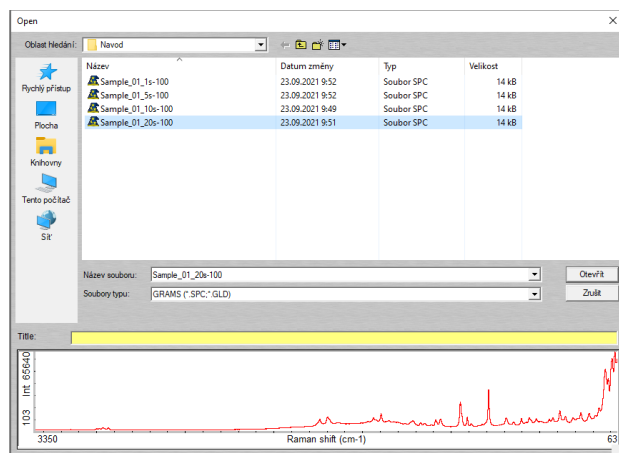
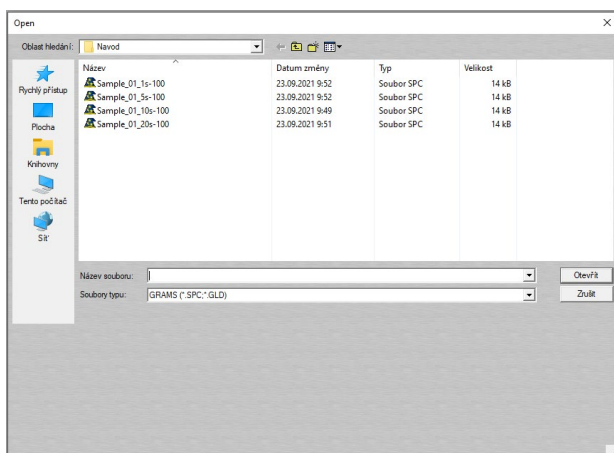
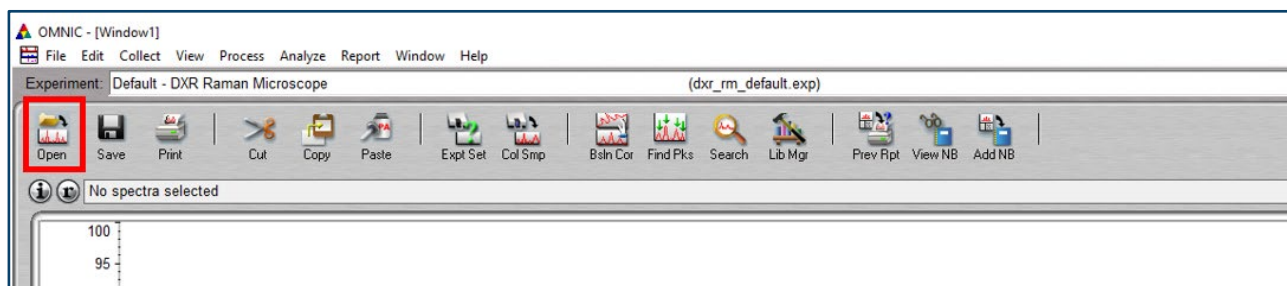
(a) Pro vyhodnocení naměřených spekter se použije program *Omnic for dispersive Raman*.



(b) Po spuštění programu se zobrazí hlavní okno programu.

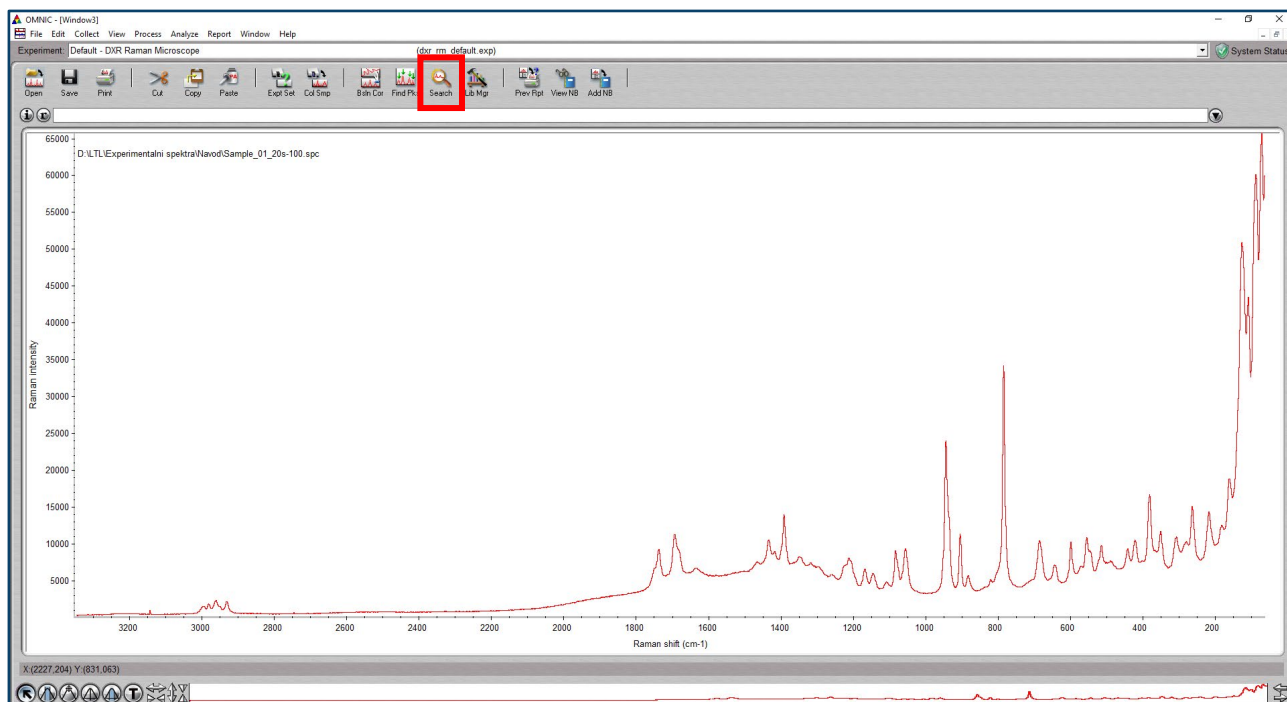


(c) Pro otevření složky s daty se použije ikona *Open* nebo pomocí menu *File* → *Open*. Pomocí okna *Vyhledávání souborů* se vybere naměřené spektrum.

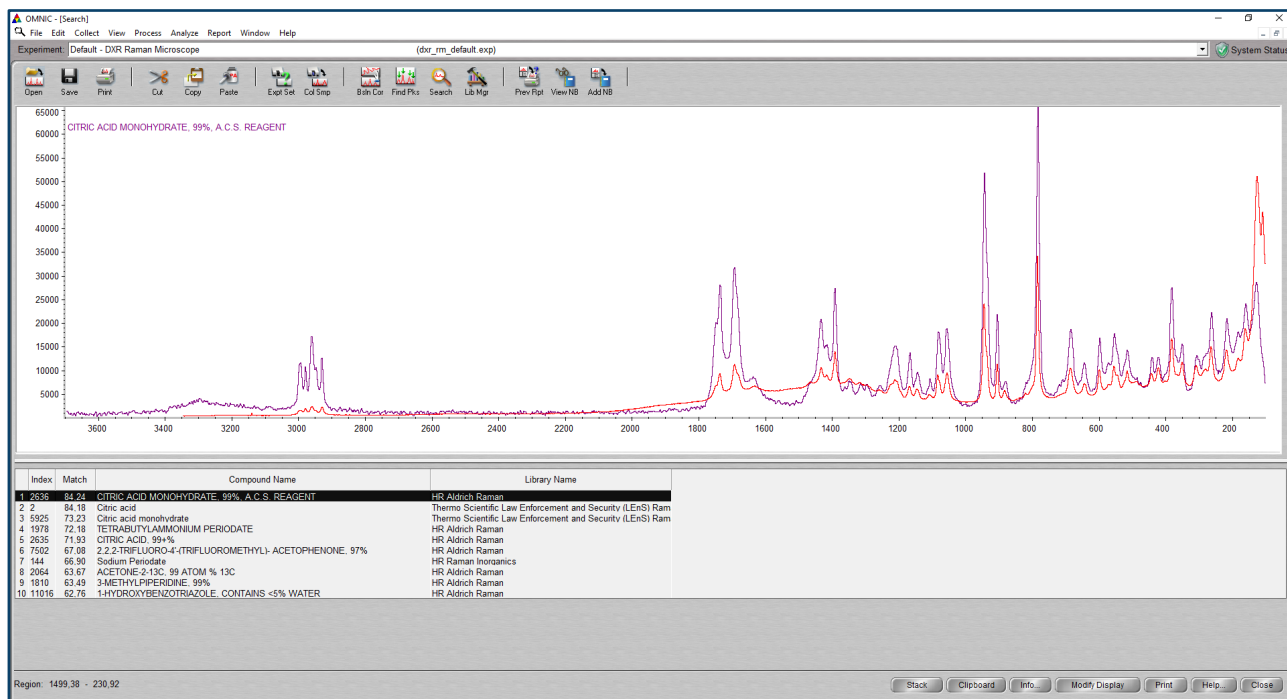


(d) Po vybrání naměřeného spektra se spektrum otevře v Hlavním okně programu.

K vyhledání spektra v knihovně se použije ikona *Search*.



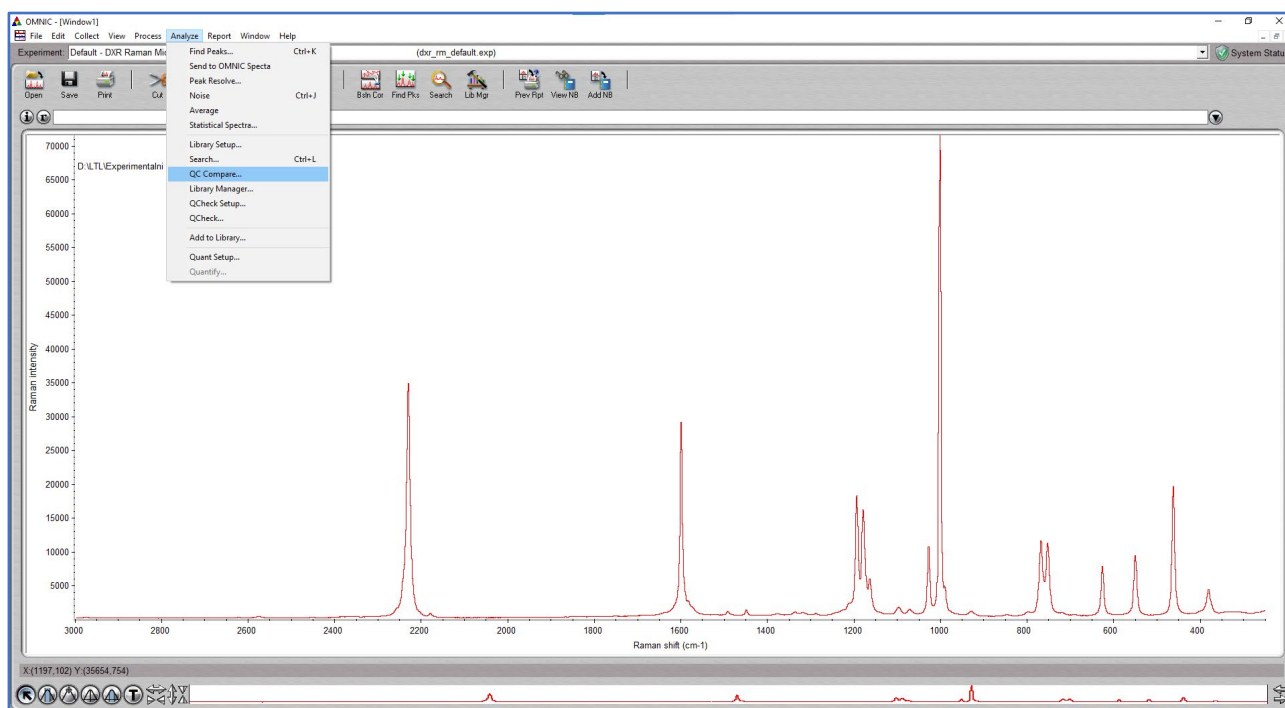
Pro identifikaci látky se použije automatický vyhledávací algoritmus, do kterého byly nastaveny vhodné parametry hledání. Pro komparaci výsledků se využívají komerční i konfirmační knihovny vytvořené v rámci činnosti LTL.



8 Ověření výkonosti spektrometru

K ověření výkonosti spektrometru a kontrole jeho správné funkce je používán referenční kontrolní vzorek (standard) – Benzonitrile (CAS: 100-47-0; grade 99+% for spectroscopy)

- (a) Referenční kontrolní vzorek se vloží do chráněného držáku vialek.
- (b) Základní parametry pro měření:
 - Integrační čas: 1000 ms;
 - Počet opakovaných akumulací: 3;
 - Výkon laseru: 100 %;
 - Vlnový rozsah: 250–3000 cm^{-1} .
- (c) Naměřené spektrum je uloženo ve formátu „QC_datum_zkratka_uzivatele_číslo měření“ do QC složky a je následně vyhodnoceno programem *Omnic for dispersive Raman*.
- (d) Po vložení spektra do programu *Omnic* je spuštěna funkce *QC Compare*.



- (e) Program provede automatické vyhodnocení na základě nastavených parametrů.

Zkouška je považována za vyhovující, pokud je shoda se spektrem v QC verifikační knihovně větší než 90 % (Threshold: 0.90).

