



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**FAKULTA ELEKTROTECHNIKY
A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ**

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION

ÚSTAV AUTOMATIZACE A MĚŘICÍ TECHNIKY

DEPARTMENT OF CONTROL AND INSTRUMENTATION

**MĚŘENÍ VLASTNOSTÍ VODY OPTOVLÁKNOVÝMI
SNÍMAČI**

MEASUREMENT OF WATER PARAMETERS WITH FIBER OPTIC SENSORS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Dominik Vybíral

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Zdeněk Havránek, Ph.D.

BRNO 2018

Bakalářská práce

bakalářský studijní obor **Automatizační a měřicí technika**

Ústav automatizace a měřicí techniky

Student: Dominik Vybíral

ID: 186238

Ročník: 3

Akademický rok: 2017/18

NÁZEV TÉMATU:

Měření vlastností vody optovláknovými snímači

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

- 1) Zpracujte přehled metod a snímačů pro měření vlastností vody s využitím optických vláken. Zaměřte se zejména na spektroskopické metody.
- 2) Navrhněte měřicí řetězec pro měření jednoho ze základních chemických parametrů vody (obsahu rozpuštěného kyslíku ve vodě, případně pH). Předpokládejte použití spektrometru Ocean Optics USB4000 pro vyhodnocení optických signálů z optovláknových sond.
- 3) Sestavte základní měřicí řetězec s optickými vlákny, optovláknovou sondou, zdrojem světla a spektrometrem pro měření zvoleného parametru vody.
- 4) Vytvořte počítačovou aplikaci v prostředí LabVIEW pro vyhodnocování změny spekter optických signálů získávaných z vláknových sond a měřených spektrometrem Ocean Optics.
- 5) Prakticky ověřte měřicí schopnost celé vyhodnocovací aparatury pro analýzu vybraného parametru vody a navrhnete způsob kalibrace tohoto systému.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

- [1] Lakowitz, J. R. Principles of Fluorescence Spectroscopy. Third Edition. Maryland, USA: Springer, 2006. ISBN 0-387-31278-1.
- [2] Seitz, W. R. Chemical sensors based on fiber optics. Analytical Chemistry, 56(1), 16A-34A. 1984. ISSN 0003-2700.

Termín zadání: 5.2.2018

Termín odevzdání: 21.5.2018

Vedoucí práce: Ing. Zdeněk Havránek, Ph.D.

Konzultant:

doc. Ing. Václav Jirsík, CSc.
předseda oborové rady

UPOZORNĚNÍ:

Autor bakalářské práce nesmí při vytváření bakalářské práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce je zaměřena na měření koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vodě, zejména na optovláknové přístroje pracující na principu hašení fluorescence. Byl sepsán přehled optovláknových sond. Byl navržen měřicí řetězec skládající se z optovláknové sondy FOXY-R, spektrometru USB4000, zdroje monochromatického světla LLS-470 a optického děliče BIF 600. Byla navržena měřicí aplikace v prostředí LabVIEW.

KLÍČOVÁ SLOVA

Fluorescence, optovláknové snímače rozpuštěného kyslíku, spektroskopie, hašení fluorescence, LabVIEW

ABSTRACT

This bachelor's thesis is focused on measuring of concentration of dissolved oxygen in water, particularly on fiber optics sensors based on fluorescence quenching. An overview of fiber optics probes was written. An integration was designed using fiber optics probe FOXY-R, spectrometer USB4000, monochromatic light source LLS-470 and bifurcated optical fiber BIF 600. Measuring application was designed using LabVIEW.

KEY WORDS

Fluorescence, fiber optics sensor of dissolved oxygen, spectroscopy, quenching of fluorescence, LabVIEW

Bibliografická citace:

VYBÍRAL, D. *Měření vlastností vody optovláknovými snímači*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2018. 59 s.
Vedoucí bakalářské práce Ing. Zdeněk Havránek, Ph.D.

Prohlášení

„Prohlašuji, že svou bakalářskou práci na téma Měření vlastností vody optovláknovými snímači jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této bakalářské práce jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

V Brně dne: 21. května 2018

.....
podpis autora

Poděkování

Děkuji vedoucímu bakalářské práce Ing. Zdeněk Havránek, Ph.D. za účinnou metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a další cenné rady při zpracování mé bakalářské práce.

V Brně dne: 21. května 2018

.....
podpis autora

Obsah

1	Úvod	10
2	Spektroskopie	11
2.1	Princip spektrometru	11
3	Optovláknové sondy	12
3.1	Princip funkce	12
3.2	Indikační látka	12
3.3	Výhody	12
3.4	Nevýhody	13
4	Druhy sond	14
4.1	Kyslíková sonda	14
4.1.1	Dynamické hašení fluorescence	14
4.2	Sonda CO ₂	15
4.3	Sonda pH	15
5	Návrh řetězce pro měření kyslíku	17
5.1.1	Spektrometr USB4000	17
5.1.2	Kalibrace	17
5.1.3	Driver pro LabView	19
5.2	Světelný zdroj LLS-470	21
6	Návrh řetězce pro měření pH	22
6.1	Kalibrace	23
7	Návrh měřicí aplikace v prostředí LabVIEW	24
7.1	Připojení spektrometru k PC	24
7.2	Propojení s VISA	26
7.3	Front Panel	29
7.3.1	Settings	30
7.3.2	Controls	33
7.4	Block Diagram	35
7.5	SubVIs	35
7.6	Algoritmus LabVIEW programu	38
8	Kalibrace kyslíkové sondy	39
8.1	Lineární (Stern-Volmerova) kalibrace	40
8.2	Kalibrace polynomem druhého řádu	40
8.3	Kalibrační roztoky (standardy)	40

9	Měření rozpuštěného kyslíku ve vodě	41
10	Měření v N ₂ O atmosféře, ve vzduchu a vakuu	42
10.1	Měření kyslíku při různém tlaku	44
11	Závěr	47
12	Seznam literatury	48

Seznam obrázků

Obrázek 1:	Spektrometr [3]	11
Obrázek 2:	Dynamické hašení [2]	14
Obrázek 3:	Útlum světelného spektra pro různé pH [7]	16
Obrázek 4:	Schéma zapojení řetězce pro měření kyslíku	17
Obrázek 5:	Kalibrační zdroj HG-1 [7]	18
Obrázek 6:	Spektrum kalibračního zdroje[7].....	18
Obrázek 7:	Základní virtuální nástroje obsažené v driveru pro USB4000	19
Obrázek 8:	Virtuální nástroj pro inicializaci spektrometru	19
Obrázek 9:	Virtuální nástroj pro ukončení spektrometru	19
Obrázek 10:	Konfigurační nástroje.....	20
Obrázek 11:	Nástroje Action-Status	20
Obrázek 12:	Zdroj LLS, přední pohled [6]	21
Obrázek 13:	Schéma zapojení pro ověření vlnové délky zdroje LLS-470	21
Obrázek 14:	Navžený řetězec pro měření pH	22
Obrázek 15:	SpectraSuit se správně nainstalovaným spektrometrem	24
Obrázek 16:	Nesprávně nainstalovaný spektrometr	25
Obrázek 17:	SpectraSuit s nesprávně nainstalovaným spektrometrem	25
Obrázek 18:	National Instruments MAX.....	26
Obrázek 19:	Aktualizace ovladačů pro USB4000	27
Obrázek 20:	USB4000 jako zařízení VISA	28
Obrázek 21:	Spektrometr připojený k MAXu	28
Obrázek 22:	Úspěšně propojený spektrometr s LabVIEW.....	29
Obrázek 23:	Aktualizace ovladačů USB4000	29
Obrázek 24:	Front Panel	30
Obrázek 25:	Korekce offsetu vypnuta	30
Obrázek 27:	Spektrum pro Average = 1	31
Obrázek 26:	Korekce offsetu zapnuta.....	31
Obrázek 28:	Spektrum pro Average = 10	32
Obrázek 29:	Spektrum pro Smooth = 1	32
Obrázek 30:	Spektrum pro Smooth = 10	33
Obrázek 31:	Překročení rozsahu spektrometru	33
Obrázek 32:	Export dat, TDMS Viewer	34
Obrázek 33:	Import spekter	34
Obrázek 34:	Normalizace spekter	35
Obrázek 35:	Set Default Parameters SubVI	35

Obrázek 36: Export SubVI	36
Obrázek 37: Import SubVI	36
Obrázek 38: Noise Filter SubVI	36
Obrázek 39: Electrical Dark Correction SubVI.....	37
Obrázek 40: Check Intensity Range SubVI.....	37
Obrázek 41: Average SubVI.....	37
Obrázek 42: O2Concentration SubVI.....	38
Obrázek 43: Algoritmus programu	38
Obrázek 44: OOISensors software [4].....	39
Obrázek 45: Naměřené spektrum pro vzorek s nízkou (zelená) a vysokou (červená) koncentrací kyslíku	41
Obrázek 47: Detail naměřených spekter pro vakuum (modrá), vzduch (červená) a N ₂ O (zelená).....	42
Obrázek 46: Naměřená spektra pro vakuum (modrá), vzduch (červená) a N ₂ O (zelená)	42
Obrázek 48: Naměřená spektra pro vzduch (červená) a N ₂ O (zelená)	43
Obrázek 49: Naměřená spektra pro měření ve vzduchu pro tlak 0 baru (červená), 0,5 baru (zelená) a 1 bar (modrá).....	43

Seznam tabulek

Tabulka 1: Porovnání vybraných světelných zdrojů od Ocean Optics	15
Tabulka 2: Kalibrace sondy, maxima intenzity červeného světla	44
Tabulka 3: Naměřená koncentrace kyslíku pro různé tlaky vzduchu	45

Seznam příloh

Příloha 1: Program	49
--------------------------	----

1 Úvod

Měření parametrů vody jako je pH nebo obsah kyslíku, je důležité pro celou řadu aplikací, mezi které patří např. měření kvality vody ve vodních nádržích, měření odpadních vod, atd.

Pomocí optovláknových snímačů lze kromě samotné vody měřit celou řadu kapalin, pro které je příslušná sonda určena (sonda pH, sonda pro měření rozpuštěného kyslíku, sonda pro měření CO_2). Optovláknové přístroje jsou obzvlášť vhodné pro měření nízkých koncentrací rozpuštěného kyslíku a to proto, že jsou zde nejcitlivější a nespotřebovávají měřený kyslík.

Tato bakalářské práce se zaměřuje zejména na měření pomocí kyslíkové sondy FOXY-R od firmy Ocean Optics a návrhem měřicího řetězce pro tuto sondu. V teoretické části jsou vysvětleny principy jednotlivých druhů sond, jejich výhody a nevýhody. Vzhledem k podobnému principu fluorescence, je v této části popsán i teoretický měřicí řetězec pH a v neposlední řadě také způsob kalibrace kyslíkové sondy.

Cílem praktické části je navrhnout měřicí software v prostředí LabVIEW 2017, který bude ovládat spektrometr USB4000 od Ocean Optics. Spektrometr je nedílnou součástí každého měřicího řetězce a to z toho důvodu, že vyhodnocuje měřené spektrum vyzařené sondou. Sonda tedy slouží jako čidlo pro měřenou veličinu, pro vyhodnocení je však nutný spektrometr.

Tato aplikace by mimo jiné měla umět průměrovat několik naměřených spekter, potlačit rušení (vyhladit měřené spektrum), ale také umožnit uživateli exportovat naměřená data ve formě screenshotu a excelovského souboru. Dále by měla umět import dříve naměřených spekter pro porovnání s měřeným spektrem, typicky referenčních hodnot pro nulový a maximální obsah kyslíku. Na závěr je ověřena funkčnost měřicího řetězce pro měření při různém tlaku vzduchu.

2 Spektroskopie

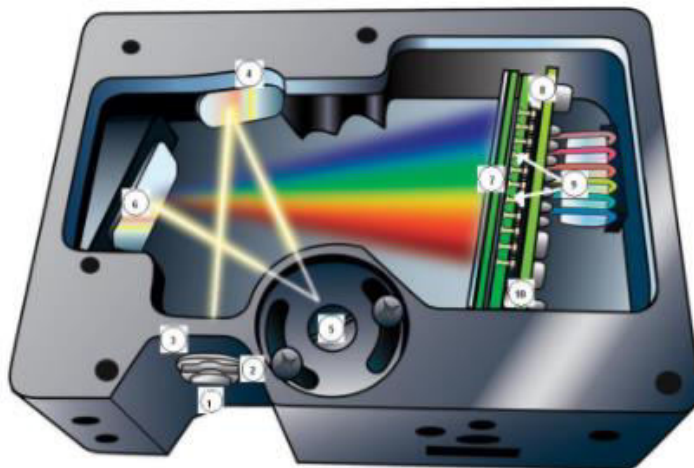
2.1 Princip spektrometru

Spektrometr je přístroj, který rozkládá světlo na jednotlivé vlnové délky a vyhodnocuje jejich intenzitu, po případě další vlastnosti světla. Princip spektrometru je takový, že na vstup spektrometru přivedeme světelný paprsek, např. připojením optického vlákna na vstupní konektor SMA 905.

Na vstupu se nachází tenká štěrbinu, jejíž tloušťka se dá regulovat. Změnou tloušťky štěrbinu se mění intenzita vstupního světla a také rozlišení světelného signálu. Aby mohlo dojít k rozložení světla na jednotlivé vlnové délky, difrakci světla, musí být šířka štěrbinu srovnatelná s vlnovou délkou světla. Obvykle se její rozměry dají nastavit od 5 μm do 200 μm . Za vstupní štěrbinu lze umístit optický filtr, širokopásmový nebo úzkopásmový. Používají se zejména tehdy, když měříme jen určité vlnové délky a chceme omezit ostatní nepotřebné složky spektra.

Paprsek je následně zpracován systémem zrcadel, který způsobí rozložení světla na spektrální složky. Nejdříve světelný paprsek dopadne na kolimační zrcadlo, jehož úkolem je zaostřit vstupní paprsek a odrazit ho na difrakční mřížku. Difrakční mřížka zajistí samotný rozklad světelného paprsku na jednotlivé vlnové délky. Hustota drážek určuje, jak přesně dokážeme oddělit vlnové délky a tedy i rozlišení spektrometru. Rozložené spektrum dopadne na zaměřovací zrcadlo, které rozložené spektrum odrazí na detektor.

Před samotným detektorem může být umístěná sběrná čočka, která se používá v případech, kdy se měří při malých intenzitách světla. Sběrná čočka soustředí světlo z vysoké vstupní štěrbinu na užší detektor. Detektor převádí světelný signál na digitální. Používá se CCD detektor, každý pixel, na který dopadá světlo, je zdrojem digitální informace. Podle toho, které pixely detekují světlo, lze určit, jakou vlnovou délku a o jaké intenzitě měříme.[3]



Obrázek 1: Spektrometr [3]

3 Optovláknové sondy

3.1 Princip funkce

Sondy z optického vlákna pracují na principu fluorescence (rychle zhasínající luminiscence). Na měřicím konci sondy je nanesen hydrofobní sol-gel (syntetický gel), ve kterém je zachycena indikační látka (ruthenium nebo barviva citlivá na různé látky). Jako světelný zdroj se typicky používá monochromatické nekoherentní světlo, v našem případě použijeme modré světlo s $\lambda = 470$ nm. Na měřicím konci sondy toto světlo dopadá na indikační látku zachycenou v sol-gelu. Dopadající světlo předá svou energii a indikační látka excituje na vyšších vlnových délkách, v našem případě v oblasti červeného světla ($\lambda = 580$ nm). Zdroj fluorescenčního záření se označuje také jako *fluorofor*. [1]

3.2 Indikační látka

V ideálním případě je měřená látka intrinzicky fluorescenční, tzn. excituje na konstantní vlnové délce. V reálném případě látky jako CO_2 nebo kyslík nejsou fluorescenční a je třeba, aby jako zdroj fluorescence byla použita jiná látka. Tato indikační látka reaguje s měřeným např. kyslíkem a díky této reakci se mění intenzita její fluorescence. [1]

3.3 Výhody

Měření s optickými sondami je univerzální. Na základě optických jevů s nimi lze měřit např. koncentraci látek, sílu jejich vazby, látkovou výměnu buněk a další biologické procesy. Vyhodnocuje se např. intenzita fluorescence, útlum fluorescence, tvar spektra, atd. Tím lze získat více informací během jednoho měření.

Hlavní výhodou je vysoká citlivost sondy při nízkých koncentracích analytu (měřené látky). Sonda nezpůsobuje žádnou chemickou reakci a nenarušuje koncentraci analytu. Tohle je hlavní výhoda kyslíkových sond vůči kyslíkovým elektrodám. Sonda nespotřebovává měřený kyslík a nemůže tak dojít k tomu, že při nízkých koncentracích se kyslík vyčerpá a naměří se nulová koncentrace. Z těchto důvodů jsou sondy vhodné pro měření nízkých koncentrací látek.

Měřicí sonda nemusí být umístěna přímo v měřeném médiu. V případě měření pH, koncentrace kyslíku nebo CO_2 v tekutinách je možné umístit tzv. náplast na vnitřní stěnu kádinky s měřenou tekutinou, tato náplast nahrazuje sol-gel na špičce měřicí sondy. Princip je tedy takový, že přivedeme světelný paprsek na náplast, která je v kontaktu s měřeným médiem a vyhodnocujeme její fluorescenci. Výhodou je to, že není třeba zavést sondu přímo do média.

Mezi další výhody patří odolnost vůči rušení. Světelný signál nelze znehodnotit elektromagnetickým zářením s výjimkou velmi silných polí. [1]

3.4 Nevýhody

Intenzita světla, která se vyhodnocuje je závislá na rozměrech sondy. Menší rozměry znamenají méně dopadajících fotonů. To může mít za následek zmenšení odstupu mezi signálem a šumem. Sonda nerozlišuje mezi užitečným světelným signálem a okolním zářením. Z toho plyne, že okolní světlo ovlivňuje měření. Pro potlačení okolního záření lze použít úzkopásmové optické filtry.

Měření je problematické v tekutinách, které obsahují fluorescenční složky. Tyto složky jsou zdrojem nežádoucího světelného signálu, který sonda zaznamenává. Převodní charakteristika (závislost mezi vstupní a výstupní veličinou) sondy není lineární. U sondy měřící koncentraci kyslíku má tvar hyperboly. Kromě toho, pokud měříme v agresivních kapalinách, může dojít k poškození sol-gelové vrstvy. Chemicky citlivá vrstva pak přestane fungovat a je třeba, aby sonda byla recoatována. [1]

Další nevýhodou je vysoká pořizovací cena. K sestavení měřicího řetězce je kromě samotné sondy zapotřebí také zdroj světla o dostatečném výkonu (pro kyslíkovou sondu úzkopásmový zdroj modrého světla s typickou vlnovou délkou 470 nm, pro pH sondu širokopásmový zdroj, typicky halogenová žárovka). Dále je potřeba spektrometr měřící v oblasti viditelného světla spolu s měřícím softwarem, v kterém se nastaví parametry měření jako integrační perioda nebo počet měření pro averaging.

4 Druhy sond

4.1 Kyslíková sonda

Kyslíková sonda je založená na principu dynamického hašení fluorescence. Na měřicím konci sondy je nanesen *sol-gel*, ve kterém je jako indikační látka, která je zdrojem fluorescence (fluorofor), zachycen platinový kov, typicky *ruthenium*. Modré světlo ze zdroje dopadající na ruthenium způsobí fluorescence, záření na vlnové délce okolo 580 nm. Tato fluorescence je "hašena" kyslíkem, tzn. její intenzita klesá s rostoucím obsahem kyslíku v měřeném médiu. Intenzita červeného světla je pak vyhodnocena pomocí spektrometru. [1]

4.1.1 Dynamické hašení fluorescence

Hašením fluorescence se rozumí jakýkoli proces, při kterém dochází k útlumu fluorescence. Aby mohlo k hašení docházet, tak je nutné, aby *fluorofor* (látka, která je zdrojem fluorescence) byl v kontaktu se *zhášecem*, v našem případě s kyslíkem. Z tohoto důvodu je nutné, aby *sol-gel*, po případě jiný použitý materiál či membrána, byl propustný pro kyslík a mohlo tak docházet k hašení. Pokud by tedy nedocházelo ke kontaktu kyslíku a ruthenia, nedocházelo by k dynamickému hašení a nebylo by možné měřit koncentraci kyslíku.

Hašení fluorescence je popsáno Stern-Volmerovou rovnicí:

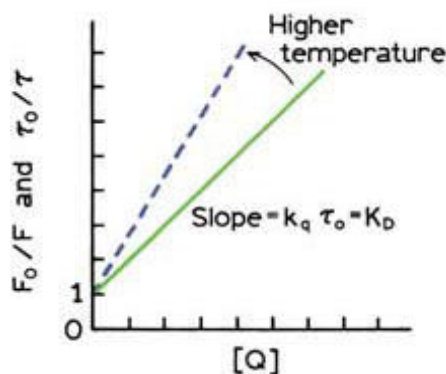
$$\frac{F_0}{F} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + K_D * [Q] \quad (1)$$

Kde F_0 a F jsou intenzity fluorescence v absenci a přítomnosti kyslíku; τ_0 a τ jsou doby života fluorescence v nepřítomnosti a přítomnosti kyslíku; K_D Stern-Volmerova konstanta dynamického hašení a $[Q]$ je koncentrace kyslíku (zhášedla).

Platí, že:

$$K_D = \kappa_q * \tau_0 \quad (2)$$

K_D je Stern-Volmerova konstanta dynamického hašení; τ_0 je doba života fluorescence v přítomnosti kyslíku a κ_q je bimolekulární zhášecí konstanta. [2]



Obrázek 2: Dynamické hašení [2]

Dalším druhem hašení je tzv. statické hašení, které závisí na optických vlastnostech měřeného média, toto hašení ale není předmětem této práce, proto se jím nebudeme dále zabývat.

4.2 Sonda CO₂

Princip sondy pro měření oxidu uhličitého se mírně liší od sond pro měření kyslíku. Indikační látka (*fluorofor*) zde není obsažena v sol-gelu, ale je rozpuštěná v roztoku hydrogenuhličitanu. Vše je zapouzdřeno membránou, která propouští CO₂. Oxid uhličitý projde membránou a rozpustí se v tekutém hydrogenuhličitanu. To má za následek změnu pH roztoku. Tato změna je pak vyhodnocena jako změna intenzity fluorescence. Místo membrány se může použít hydrofobní polymer, který je vhodnější pro měření biochemických procesů, roztok hydrogenuhličitanu může být nahrazen tzv. *fázi měnícím činidlem*, ve kterém se fluorofor lépe rozpouští.

Sonda tedy neměří oxid uhličitý přímo, ale měří pH v roztoku hydrogenuhličitanu, které se mění podle toho, kolik je v ní rozpuštěného oxidu.[1][2]

4.3 Sonda pH

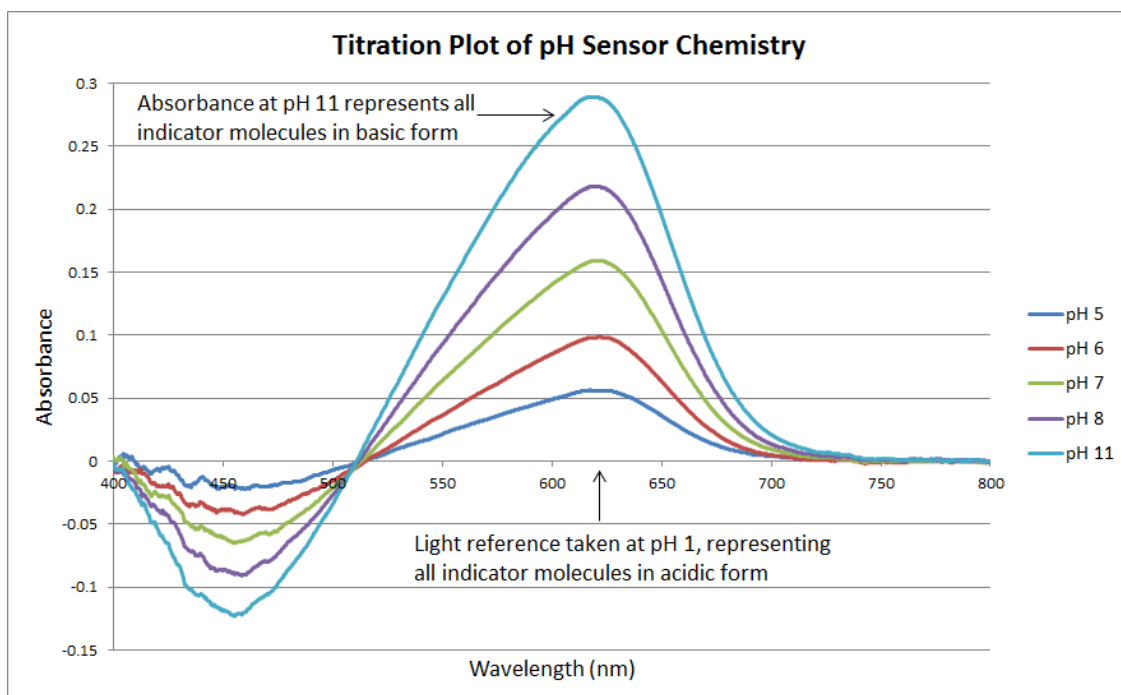
Obdobně jako u kyslíkové sondy se zde používá *sol-gel*, ve kterém je uvězně fluorofor (fluorescenční látka). Pro měření pH se však používá barvino citlivé na pH. Ionty vodíku pronikají do sol-gelu, kde reagují s tímto barvivem. Světelný zdroj není monochromatické modré světlo, jako u měření rozpuštěného kyslíku, ale širokospektrální zdroj viditelného světla. Typicky wolframová (halogenová) nebo deuteriová žárovka.

Model	Typ žárovky	rozsah λ [nm]
DT-MINI-2GS	deuterium & halogen	215-2500
DH-2000-BAL	deuterium & halogen	230-2500
DH-2000 Family	UV deuterium & halogen	190-2500
HL-3P-CAL Family	halogen	350-1100
HL-2000 Family	halogen	360-2400

Tabulka 1: Porovnání vybraných světelných zdrojů od Ocean Optics

Pokud sondu ponoříme do měřené kapaliny, tak při dopadu širokopásmového světla dojde k tomu, že pH citlivé barvivo utlumí část světelného spektra. Tento útlum je závislý na hodnotě pH měřené kapaliny. V praxi to znamená, že při rostoucím pH se tlumí určité barevné složky spektra. S rostoucím pH se světlo mění ze žlutého až do modrého světla, viz obrázek 3, z kterého je patrné, že při dalším nárůstu pH nedojde k útlumu světla s vlnovou délkou kratší než 510 nm. Tato vlnová délka se nazývá

isosbestický bod. Spektrometr tedy vyhodnocuje peak v oblasti žlutého světla a s rostoucím pH se tento peak přesune do oblasti modrého světla a to až na vlnovou délku *isosbestického bodu*. [2]

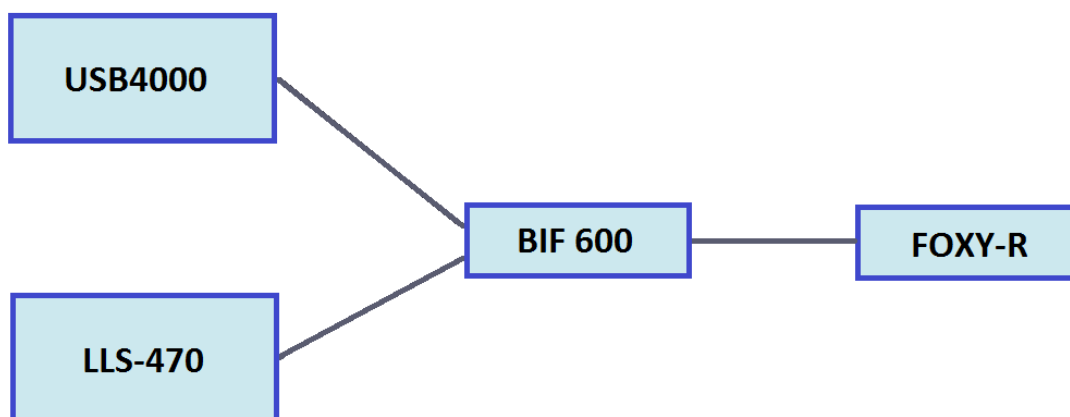


Obrázek 3: Útlum světelného spektra pro různé pH [7]

Sondami pH se měří roztoky v okolí $\text{pH} = 7$. Sonda není určena pro měření v příliš agresivních roztocích jako jsou silné kyseliny. Mohlo by dojít k poškození citlivé sol-gelové vrstvy na konci sondy a bylo by třeba sondu recoatovat.

5 Návrh řetězce pro měření kyslíku

Měřicí řetězec, který jsme se rozhodli realizovat je zobrazen na obrázku. Skládá se ze zdroje modrého světla LLS-470 s vlnovou délkou 470 nm. Modré světlo se šíří optickým vláknem přes optický dělič BIF 600 k měřicí sondě FOXY-R. Na měřícím konci sondy dojde k excitaci modrého světla na vyšší vlnové délce. S rostoucí koncentrací rozpuštěného kyslíku klesá intenzita tohoto světla. Obě vlnové délky (modré i červené světlo) se pak šíří zpět do optického vlákna, kde opět projdou optickým děličem a dopadnou na spektrometr USB4000, který vyhodnotí jejich intenzity. Software dodaný výrobcem zobrazuje intenzity ve světelném spektru a na základě intenzity červeného světla a Stern-Volmerovy rovnice (1) vypočte koncentraci kyslíku. Pro připojení jednotlivých přístrojů k optickému vláknu slouží konektor SMA-905.



Obrázek 4: Schéma zapojení řetězce pro měření kyslíku

5.1.1 Spektrometr USB4000

Princip spektrometru je popsán v kapitole 2.1. Spektrometr USB4000 od Ocean Optics je vybaven rozhraním USB pro připojení k počítači. Před jeho připojením je třeba nainstalovat software, který spektrometr ovládá a pomocí kterého se provádí samotné měření. Spektrometr je také vybaven zdrojem širokopásmového světla.

5.1.2 Kalibrace

Spektrometry jsou zkalibrovány výrobcem. Nicméně přesnost měření vlnových délek s časem klesá. Kalibrace slouží k tomu, aby se stanovily koeficienty I , C_1 , C_2 a C_3 následující rovnice, kterou se během měření řídí spektrometr.

$$\lambda_p = I + C_1 \cdot p + C_2 \cdot p^2 + C_3 \cdot p^3 \quad (3)$$

Kde λ_p je vlnová délka pixelu p (nm); I je vlnová délka pixelu 0 (nm); C_1 = první koeficient (nm/pixel); C_2 = druhý koeficient (nm/pixel²); C_3 = třetí koeficient (nm/pixel³).

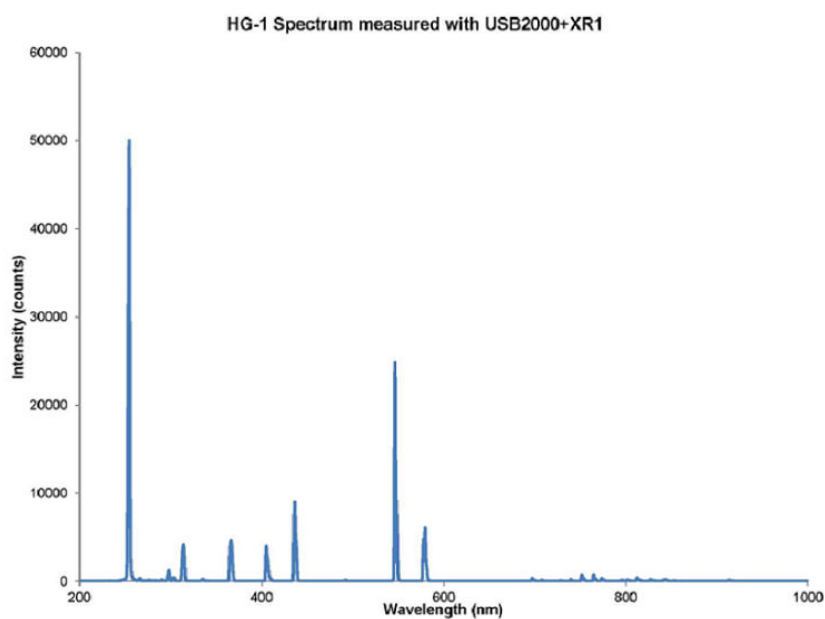


Obrázek 5: Kalibrační zdroj HG-1 [7]

Potřebujeme tedy řešit soustavu čtyř rovnic o čtyřech neznámých. Z toho plyne, že světelný zdroj použitý pro kalibraci musí mít ve svém spektru minimálně čtyři peaky v měřicím rozsahu spektrometru. Vhodný je zdroj HG-1 od Ocean Optics. [3]

Během kalibrace postupujeme následujícím způsobem.

- 1) Ke spektrometru připojíme kalibrační zdroj světla a nastavíme integrační periodu tak, aby byly v měřeném spektru patrné peaky.
- 2) Odečteme číslo pixelu pro každý peak pomocí kurzoru, zobrazené pod grafem.
- 3) Vypočítáme druhou a třetí mocninu pixelu.
- 4) Vyřešíme soustavu čtyř rovnic o čtyřech neznámých a stanovíme koeficienty. Porovnáme změřenou vlnovou délku s vypočtenou dle rovnice (3).



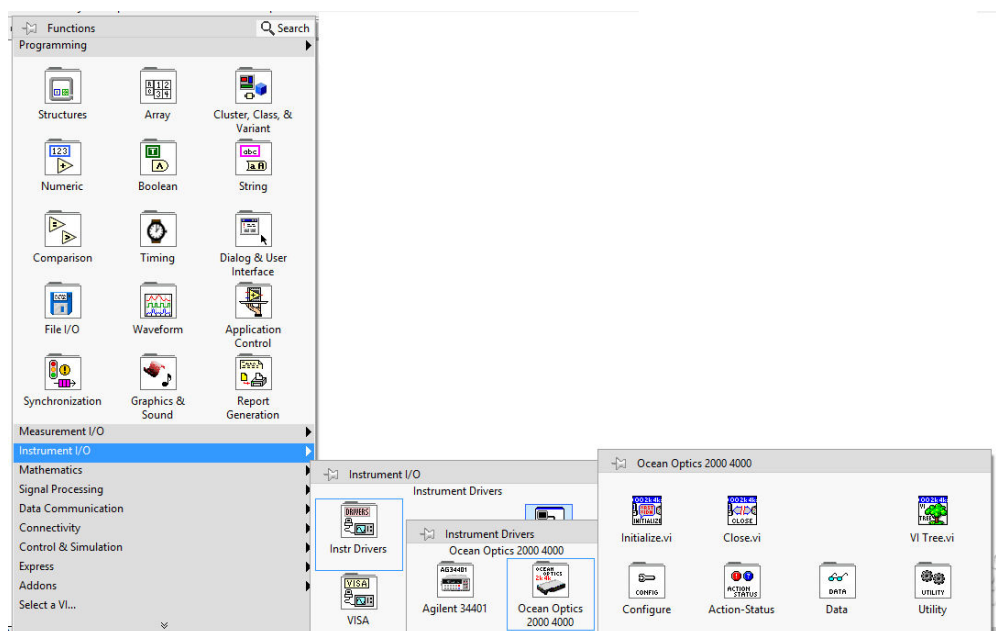
Obrázek 6: Spektrum kalibračního zdroje[7]

5.1.3 Driver pro LabVIEW

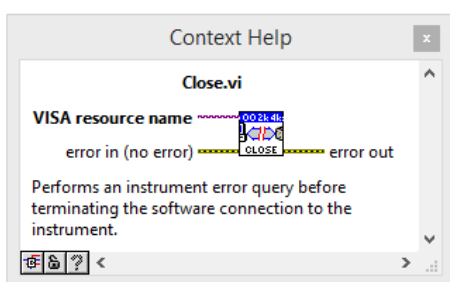
K vytvoření vlastního řídicího softwaru v prostředí LabVIEW je třeba ovladač kompatibilní se spektrometrem USB4000. Tento ovladač lze stáhnout ze stránek National Instruments:

http://sine.ni.com/apps/utf8/niid_web_display.download_page?p_id_guid=7833BD4A31DA1274E04400144FB7D21D

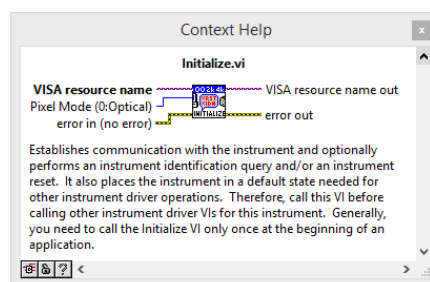
Po instalaci ovladače lze tvořit vlastní virtuální nástroje využívající funkce spektrometru USB4000. Virtuální nástroje pro USB4000 jsou dostupné přes paletu nástrojů. Nástroje obsažené v driveru jsou popsány níže.



Obrázek 7: Základní virtuální nástroje obsažené v driveru pro USB4000



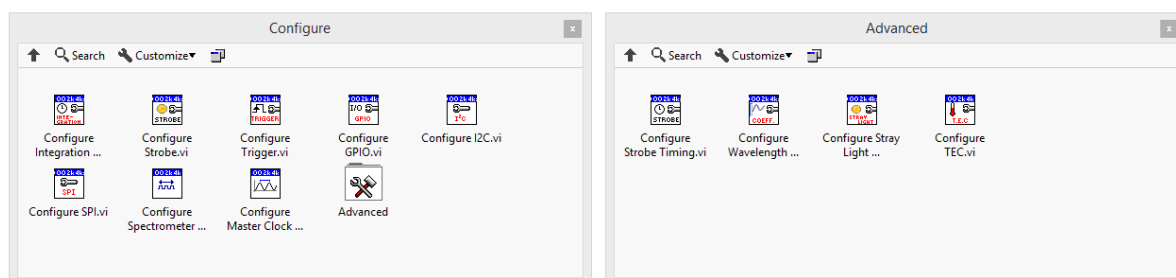
Obrázek 9: Virtuální nástroj pro ukončení spektrometru



Obrázek 8: Virtuální nástroj pro inicializaci spektrometru

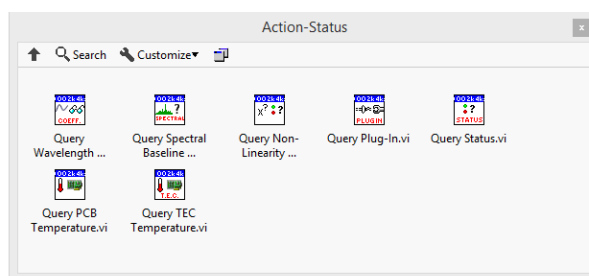
Nástroj pro inicializaci slouží k zahájení komunikace se spektrometrem, může také provádět reset přístroje. Tento blok je nutné použít vždy před ostatními bloky. V sekci Data se nachází nástroje sloužící k zobrazení měřeného spektra, korekci jeho nelinearity, atd. Konfigurační nástroje slouží k nastavení připojeného rozhraní, konfiguraci spektrometru a hodinových signálů na požadovanou hodnotu pro virtuální nástroj. Integrovaná perioda pro měření lze nastavit pomocí vlastního konfiguračního nástroje.

V sekci Advanced se nachází nástroje k potlačení okolního záření nebo pro měření v pulzním nebo kontinuálním režimu. Dále pak pro kalibraci a potlačení parazitního vlivu teploty.



Obrázek 10: Konfigurační nástroje

Nástroje Action-Status slouží k vrácení hodnot kalibračních koeficientů, hodnoty koeficientů pro potlačení nelinearity nebo aktuální teploty přístroje. Dále se zde nachází nástroje k určení počtu připojených zařízení a určení jejich konkrétního typu.



Obrázek 11: Nástroje Action-Status

5.2 Světelný zdroj LLS-470

Jedná se o úzkopásmový zdroj v oblasti modrého světla (470 nm), který pracuje v kontinuálním i pulzním režimu. V kontinuálním režimu zdroj nepřetržitě vyzařuje modré světlo. V pulzním režimu je modrá LED dioda externě spínána. Na zdroji lze spojitě nastavit intenzitu světla až 4,2 mW. Pro připojení k optickému vláknu je zdroj vybaven konektorem SMA-905.[6]



Obrázek 12: Zdroj LLS, přední pohled [6]

Světelný zdroj, jako jediný z potřebných přístrojů, jsme neměli k dispozici a bylo třeba jej objednat od výrobce. K ověření vlnové délky zdroje jsme použili spektrometr USB4000 zapojený dle obrázku 13.



Obrázek 13: Schéma zapojení pro ověření vlnové délky zdroje LLS-470

Změřená šířka pásma 25 nm pro pokles intenzity o 3 dB odpovídá údajům od výrobce.

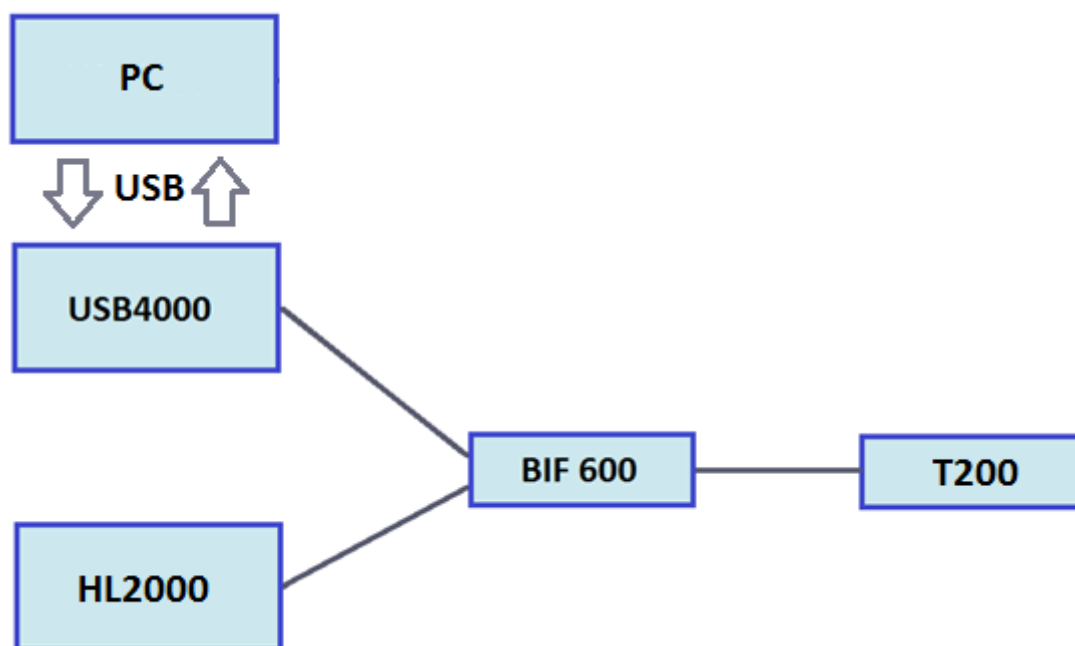
6 Návrh řetězce pro měření pH

Řetězec pro měření pH je zobrazen na obrázku 14. Od měřicího řetězce pro rozpuštěný kyslík se liší pouze v použité sondě (je třeba použít sondu pro měření pH) a ve zdroji světelného signálu. Rozhodli jsme se použít sondu z řady T200 od firmy Ocean Optics. K sondě je třeba zajistit také pH citlivé náplasti, které se do sondy umístí a díky kterým je sonda schopná měřit pH. Dalším možným řešením je umístění pH náplasti do kádinky s měřeným roztokem a pomocí sondy na náplast světelný signál nasměrovat. [8]

Pro měření pH je zapotřebí širokospektrální zdroj, jehož spektrum ovlivňuje na pH citlivá náplast na konci sondy. V našem případě použijeme světelný zdroj HL2000. S rostoucím pH roste útlum na určitých vlnových délkách, viz obrázek 3.

Výsledné spektrum se šíří optickým vláknem až ke spektrometru USB4000, který vyhodnocuje útlum způsobený měřeným pH. Celé měření je řízeno pomocí softwaru od výrobce, ve kterém lze nastavit parametry měření.

Další možnost, jak ovládat měření, je pomocí LabVIEW. Výrobce dodává vlastní driver, ve kterém jsou obsaženy virtuální nástroje potřebné k vytvoření vlastní aplikace.



Obrázek 14: Navržený řetězec pro měření pH

6.1 Kalibrace

Existují dva způsoby, jak kalibrovat pH sondu. Úplná kalibrace využívající 6 pH pufrů a kalibrační reset (obnovení továrního nastavení) využívající 3 pH pufrů. Při kalibraci je třeba udržovat konstantní podmínky, jako intenzita zdroje. Po celou dobu kalibrace se optický kabel nesmí odpojit a nesmí se s ním ani se sondou hýbat. Při pohybu vlákna by došlo ke změně intenzity napájecího světla a kalibrace by byla chybná.

Při úplné kalibraci je třeba použít pufrů o hodnotě pH 1, 5, 6, 7, 8 a 11. Tato kalibrace je nejpřesnější a je doporučeno ji provést před měřením, u kterého jsou vysoké nároky na přesnost. Dojde k vytvoření nových kalibračních koeficientů.

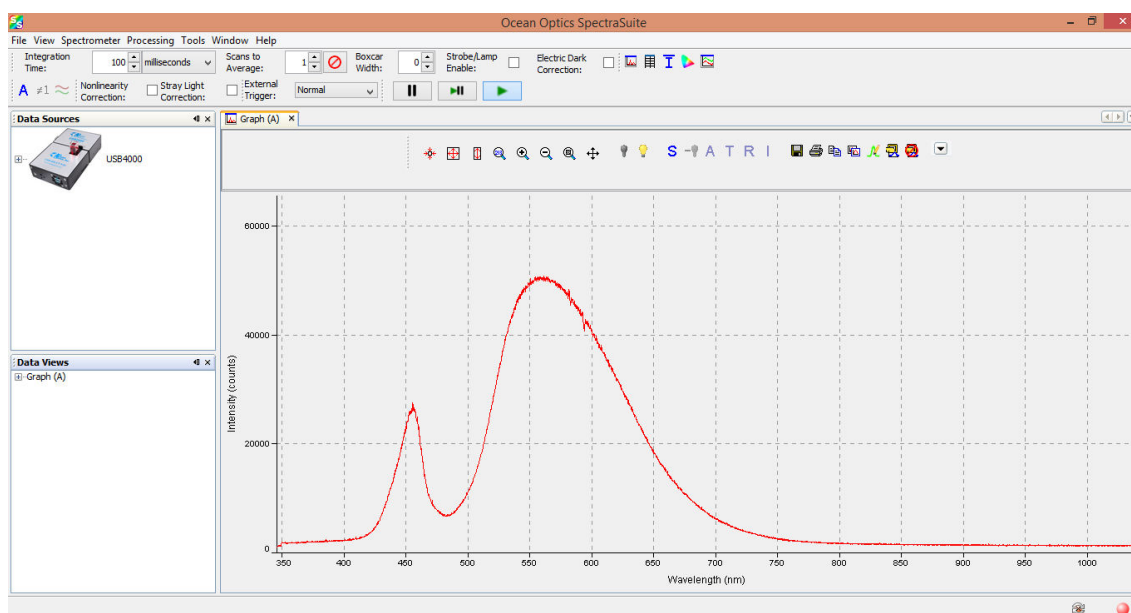
Kalibrační reset je časově méně náročný než úplná kalibrace a využívá pufrů o hodnotě pH 1, 8 a 11. Tato kalibrace využívá kalibračních koeficientů a pufrů k úpravě tvaru základní charakteristiky sondy. Nedochází tedy ke změně kalibračních koeficientů.

Po dokončení kalibrace je možné kalibraci uložit do speciálního souboru, který lze kdykoli použít k opětovnému zkalibrování sondy bez toho, aby se musely použít pH pufrů. Tuto metodu lze však použít jen tehdy, pokud se nezmění optické vlastnosti měřicího řetězce, jinak by došlo k chybě. Vzhledem k vysoké citlivosti pH sondy (0,01 pH) je třeba, aby pH kalibračního pufru bylo přesné na setiny, jinak by došlo k chybnému zkalibrování. [7][8]

7 Návrh měřicí aplikace v prostředí LabVIEW

7.1 Připojení spektrometru k PC

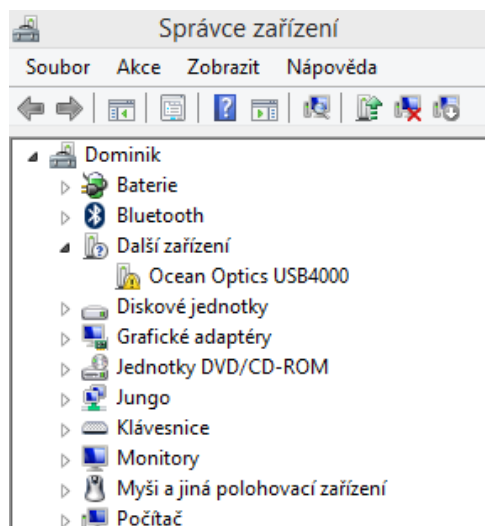
Pro vytvoření měřicí počítačové aplikace v prostředí LabVIEW 2017 je nejdříve potřeba správně připojit spektrometr USB4000 ke stolnímu počítači. K tomu je kromě standardního USB kabelu zapotřebí také software od výrobce, který slouží k vyhodnocování a řízení měření pomocí spektrometru. V našem případě se jedná o software SpectraSuite.



Obrázek 15: SpectraSuite se správně nainstalovaným spektrometrem

Při instalaci je třeba provést následující kroky a to v přesně definovaném pořadí. V opačném případě nedojde ke správnému nainstalování driverů pro spektrometr a nebude tedy možné, aby s ním LabVIEW komunikovalo.

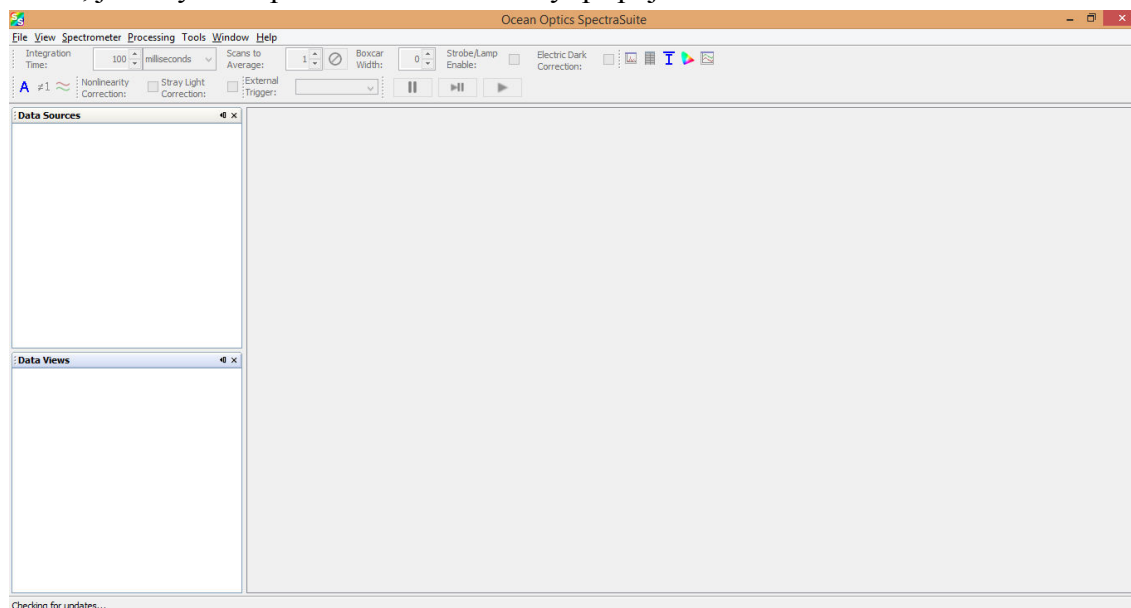
- Nainstalujte software SpectraSuite
- Spustěte SpectraSuite
- Pomocí USB kabelu připojte spektrometr USB4000 k počítači



Obrázek 16: Nesprávně nainstalovaný spektrometr

Úspěšnost instalace lze zkontrolovat pomocí Správce zařízení Windows. Pokud byl spektrometr nainstalován korektně, měl by být viditelný pod záložkou Ocean Optics. V opačném případě, pokud byl nejprve připojen spektrometr a až poté nainstalována SpectraSuit, se spektrometr USB4000 objeví v záložce Další zařízení. V takovém případě je nutné odinstalovat drivery i SpectraSuit a celou instalaci zopakovat ve správném pořadí.

Další možností, jak ověřit, že spektrometr správně komunikuje s počítačem, je pomocí SpectraSuit. Po úspěšné instalaci a připojení spektrometru můžeme po zapnutí SpectraSuit vidět měřené spektrum jako na obrázku 15. Pokud spektrometr není správně nainstalovaný, SpectraSuit nezobrazí žádné spektrum, viz obrázek 17. Aplikace se tedy chová, jako by k ní spektrometr vůbec nebyl připojen.



Obrázek 17: SpectraSuit s nesprávně nainstalovaným spektrometrem

V případě, že se nepodaří správně nainstalovat drivery spektrometru a to i přes to, že byl přesně dodržen postup pro instalaci spektrometru stanovený výrobcem, je nutné odinstanovat drivery i SpectraSuit. Poté ze stránek Ocean Optics získat jinou (novější) verzi SpectraSuit a celý postup instalace zopakovat.

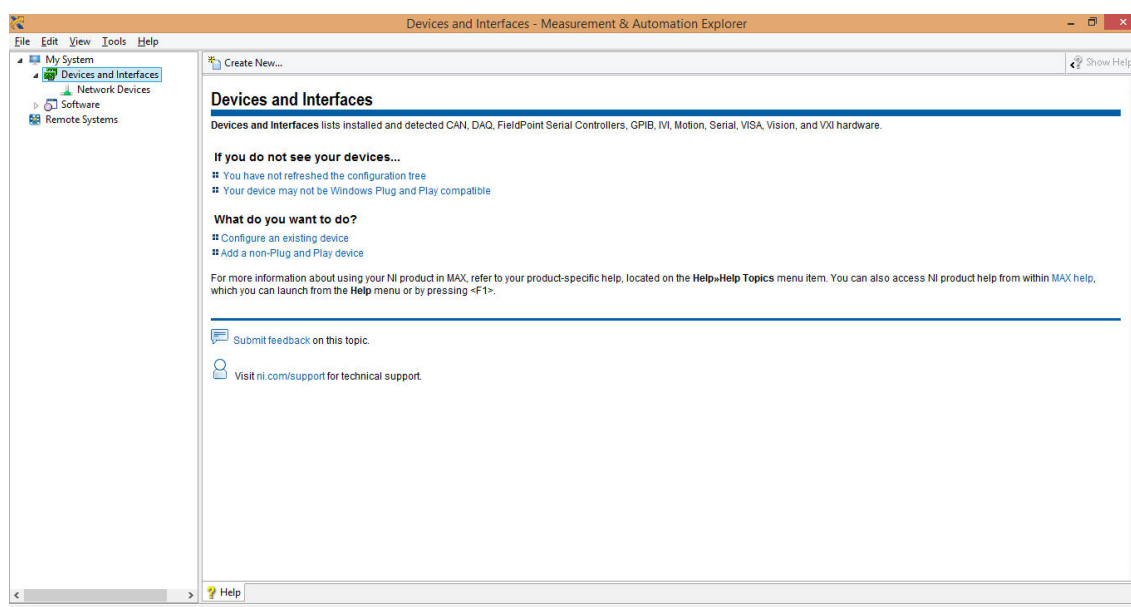
Aktuální verzi SpectraSuit lze stáhnout zdarma, protože aktivační klíč se zadává až během instalace. Je tedy kdykoli možné starší verzi vyměnit za novou. SpectraSuit je dostupná pro počítačové platformy využívající Windows, ale i Mac nebo Linux a to jak 32-bitové, tak i 64-bitové verzi.

Při práci se spektrometrem USB4000, který je zároveň propojen s širokospektrálním zdrojem světla je vždy nutné, aby byl nejdříve připojen napájecí adaptér do sítě a až poté propojen spektrometr se stolním počítačem pomocí USB kabelu. Pokud by tento postup nebyl dodržen, došlo by ke smazání konfigurace driveru (firmwaru) a počítač by nedokázal spektrometr rozpoznat. V takovém případě je jediným řešením nahrát nový firmware.

7.2 Propojení s VISA

Jakmile je spektrometr úspěšně nainstalovaný, zbývá pouze nastavit rozhraní VISA pro správnou komunikaci a nainstalovat driver pro LabVIEW určený pro ovládání spektrometru USB4000. Driver je navržen tak, že pro propojení využívá rozhraní VISA. K nakonfigurování rozhraní se využívá National Instruments Measurement & Automation Explorer (MAX).

Po správné instalaci USB4000 by se měl spektrometr objevit v sekci Devices and Interfaces. Pomocí MAXu lze nakonfigurovat parametry jako např. baud rate.

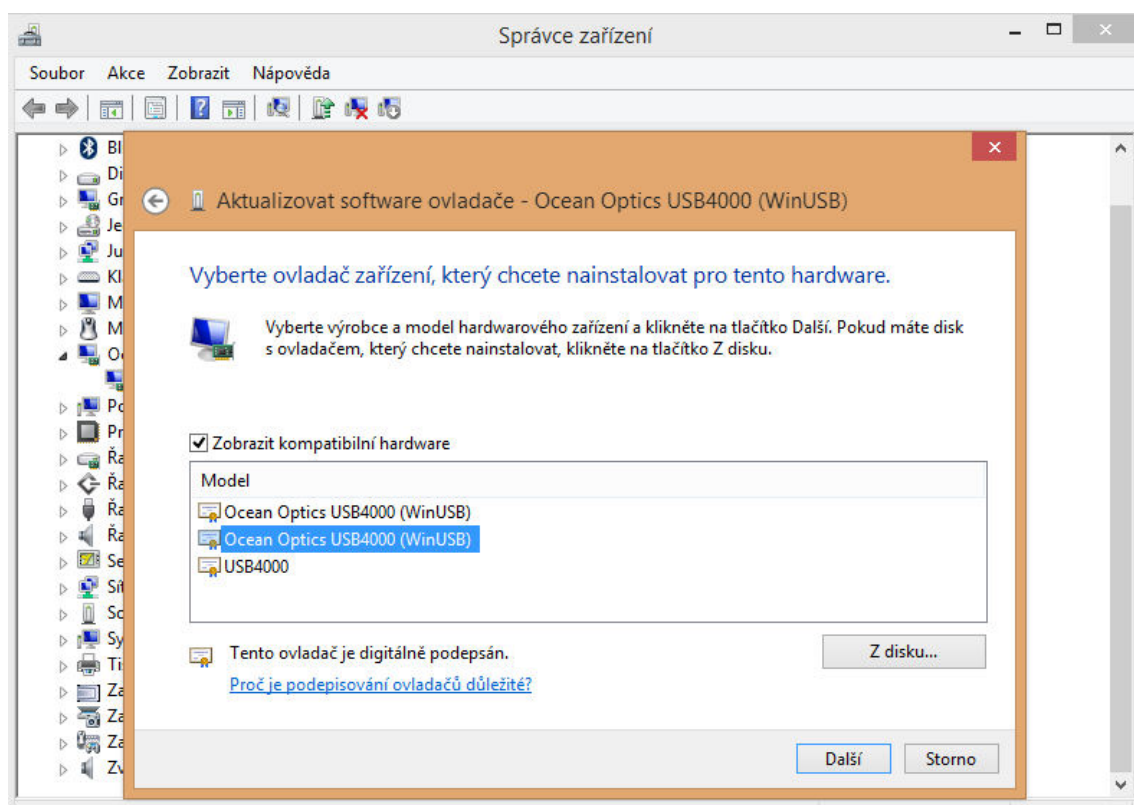


Obrázek 18: National Instruments MAX

Bohužel i přes to, že je spektrometr správně nainstalován a správně komunikuje se SpectraSuit, se v MAXu neobjeví. Důvodem je driver od Ocean Optics, který je navržen k zajištění komunikace se SpectraSuit. Není však navržen ke komunikaci s LabVIEW prostřednictvím rozhraní VISA. Řešením je pomocí Windows Device Manageru aktualizovat ovladače spektrometru.

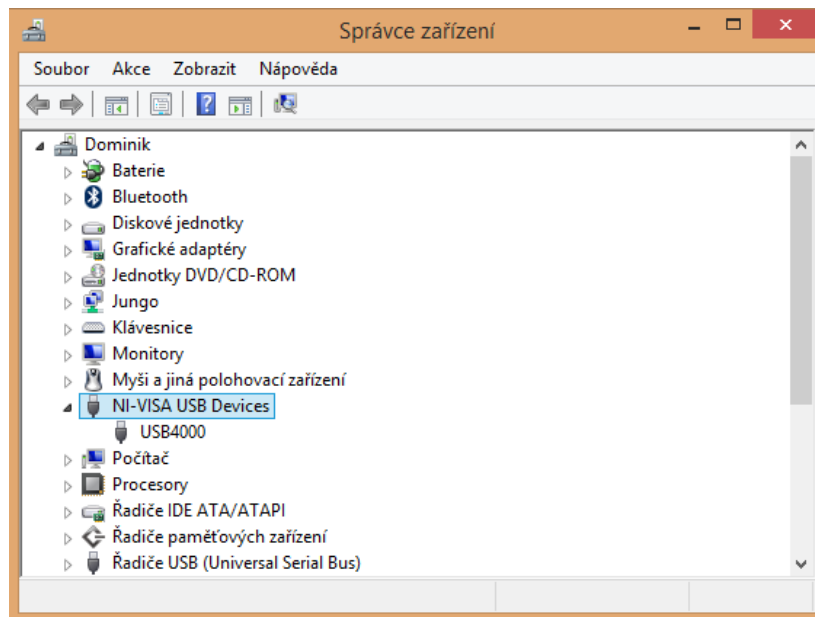
K tomu je nejdříve potřeba mít v LabVIEW nainstalovaný driver pro spektrometr USB4000, viz kapitola 5.1.3. Driver umožňující komunikaci se spektrometrem prostřednictvím rozhraní VISA se nachází v adresáři C:\Program Files\National Instruments\LabVIEW 2017\instr.lib\Ocean Optics 2000 4000\VISA_USB\USB4000. Podrobný popis a instrukce se nachází v souboru Ocean Optics 2000 4000 Readme.html nacházejícím se v adresáři C:\Program Files\National Instruments\LabVIEW 2017\instr.lib\Ocean Optics 2000 4000.

Nyní stačí pouze pomocí Device Manageru aktualizovat ovladače spektrometru. Stačí jen zvolit možnost pro vyhledání ovladačů v tomto počítači a nastavit cestu do adresáře se správným driverem.



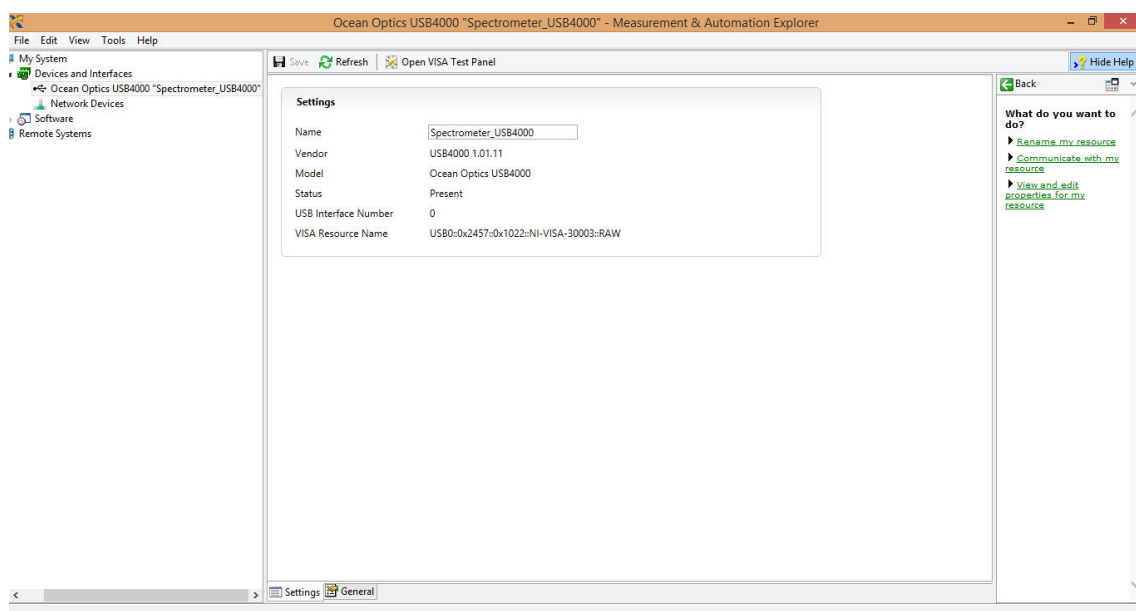
Obrázek 19: Aktualizace ovladačů pro USB4000

Po úspěšné aktualizaci driveru si lze všimnout, že v Device Manageru došlo ke změně jména, pod kterým se spektrometr nachází. Nyní je spektrometr uložen jako VISA zařízení, viz obrázek 20.



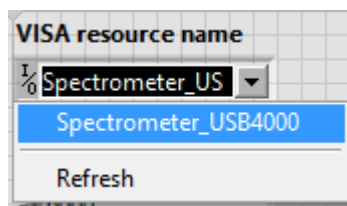
Obrázek 20: USB4000 jako zařízení VISA

Nyní, pokud otevřeme MAX, vidíme, že je spektrometr správně propojen s LabVIEW, pro správnou komunikaci není třeba měnit žádný z parametrů jako např. baud rate. Pro budoucí programování v LabVIEW je žádoucí spektrometr vhodně přejmenovat.



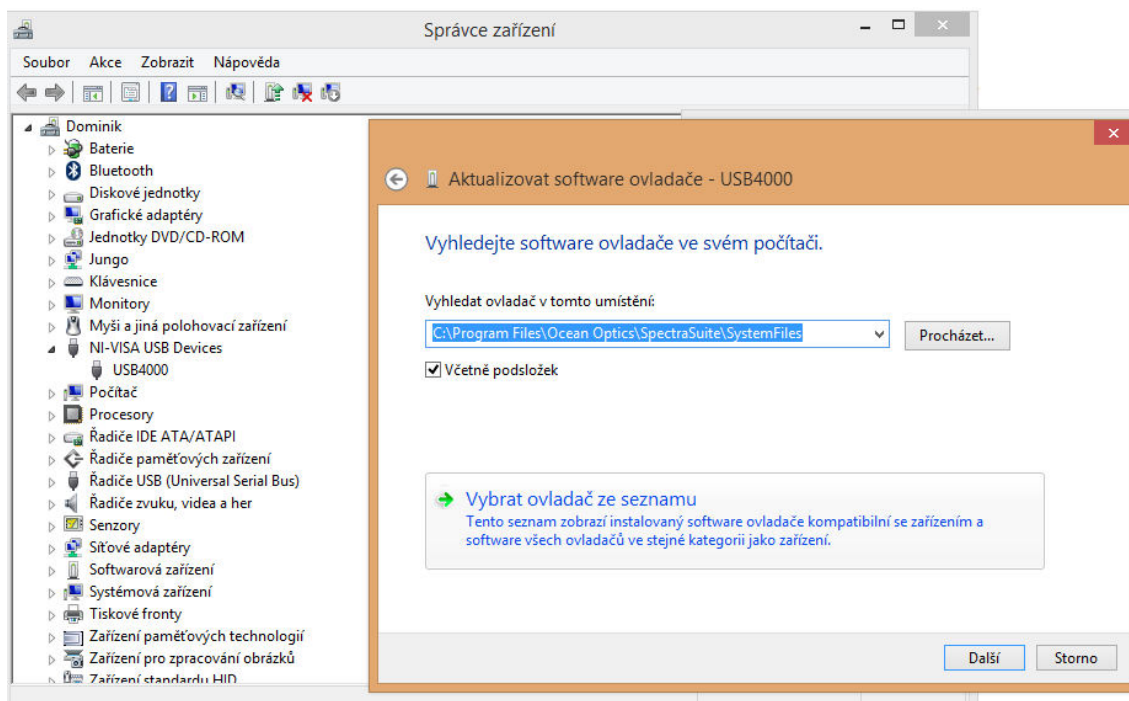
Obrázek 21: Spektrometr připojený k MAXu

Jakmile je spektrometr připojený k MAXu, zbývá jen ověřit, zda jej lze pomocí LabVIEW ovládat. K tomu je vhodný jeden z ukázkových programů obsažených v nainstalovaném driveru pro LabVIEW, po případě lze vytvořit program vlastní. Pokud takovýto ukázkový program otevřeme, můžeme si na front panelu všimnout VISA Resource Name. Pokud tento ovladač rozklikneme, měl by být vidět spektrometr pod jménem, jaké mu bylo pomocí MAXu uděleno.



Obrázek 22: Úspěšně propojený spektrometr s LabVIEW

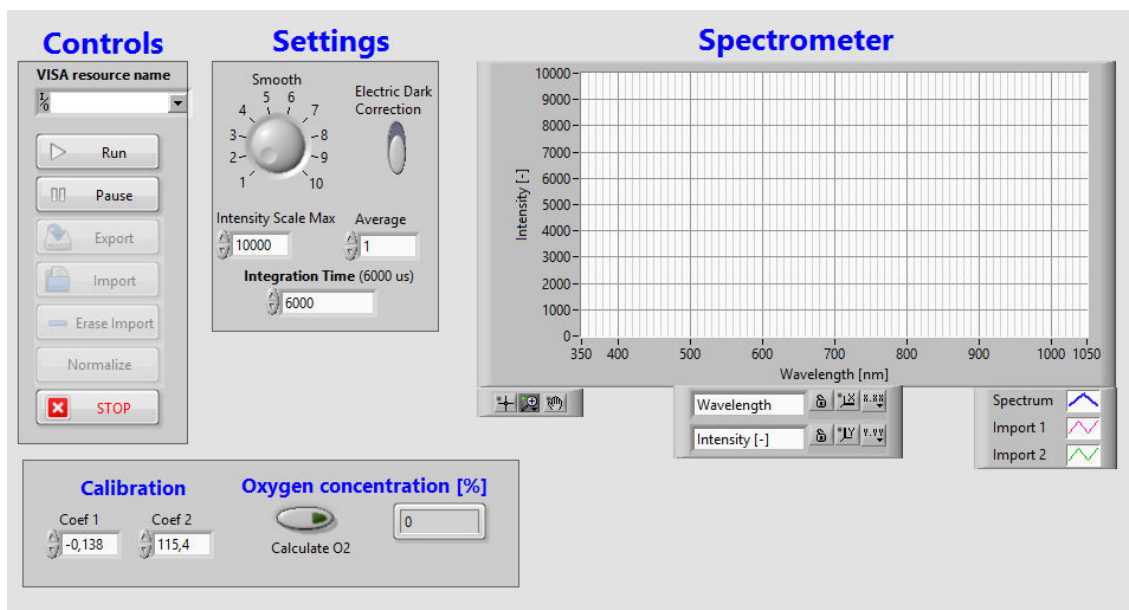
Nyní je spektrometr úspěšně připojen k LabVIEW a může být použit pro samotný program. Problém nastane, pokud bychom nyní chtěli používat SpectraSuit. Jelikož jsme změnili ovladače za ty, které umožňují komunikaci s LabVIEW, není možné, aby spektrometr komunikoval i se SpectraSuit. Pokud bychom chtěli používat SpectraSuit, je opět potřeba aktualizovat ovladače, tentokrát na ty, které jsou určeny pro SpectraSuit. Kdykoli lze tedy aktualizovat ovladače a začít používat ty, které jsou určeny buď pro LabVIEW, nebo SpectraSuit. Druhou možností je použít jiný USB port.



Obrázek 23: Aktualizace ovladačů USB4000

7.3 Front Panel

Na front panelu navržené aplikace se nachází prvky pro nastavení parametrů měření (settings), jako jsou vyhlazení (smooth), průměrování (average) a další. Funkce těchto prvků bude vysvětlena níže. Dále se zde nachází tlačítka ze skupiny controls, pomocí kterých se měření ovládá. Tato tlačítka se dynamicky aktivují a deaktivují podle toho, v jaké fázi se program nachází, např. import i export dat je umožněn až po zahájení měření pomocí tlačítka Run.

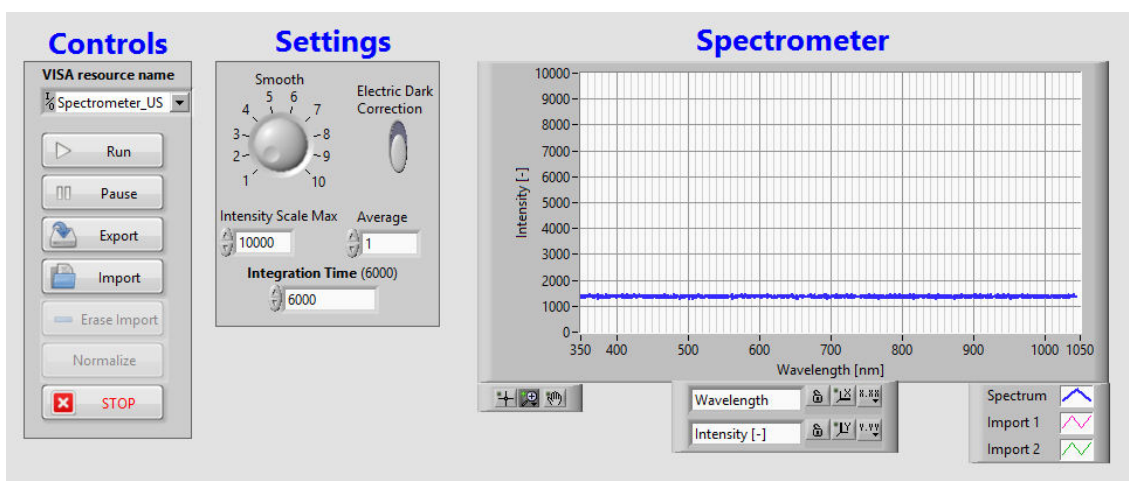


Obrázek 24: Front Panel

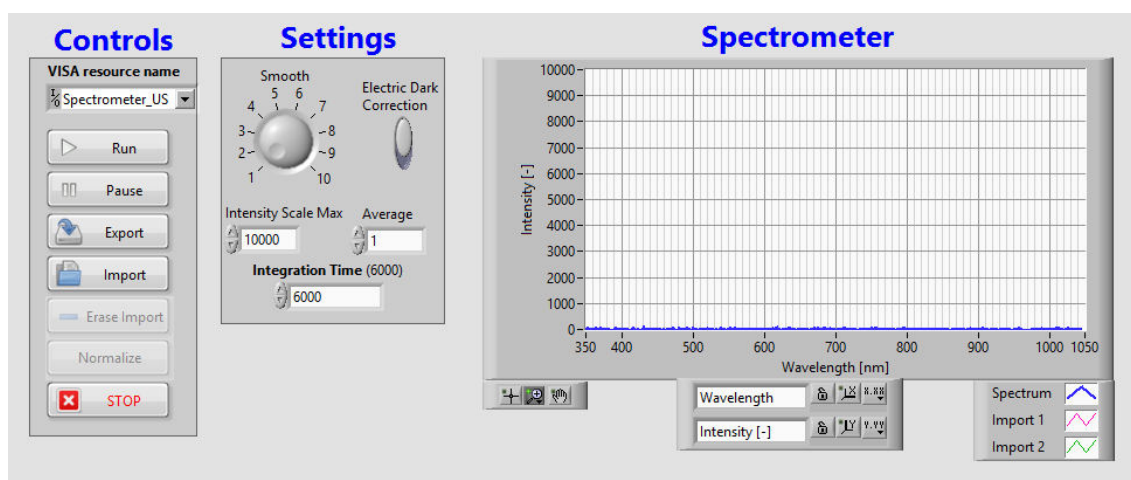
7.3.1 Settings

Mezi ovládací prvky ze skupiny settings patří Smooth, Averaging, korekce offsetu, maximální hodnota měřené intenzity a integrační doba.

Korekce offsetu (electric dark correction) slouží k posunutí měřeného spektra tak, aby v nepřítomnosti měřeného signálu byla hodnota intenzity nulová. Tento offset je způsoben CCD detektorem. Na obrázcích níže je zobrazen rozdíl mezi zapnutou a vypnutou korekcí.

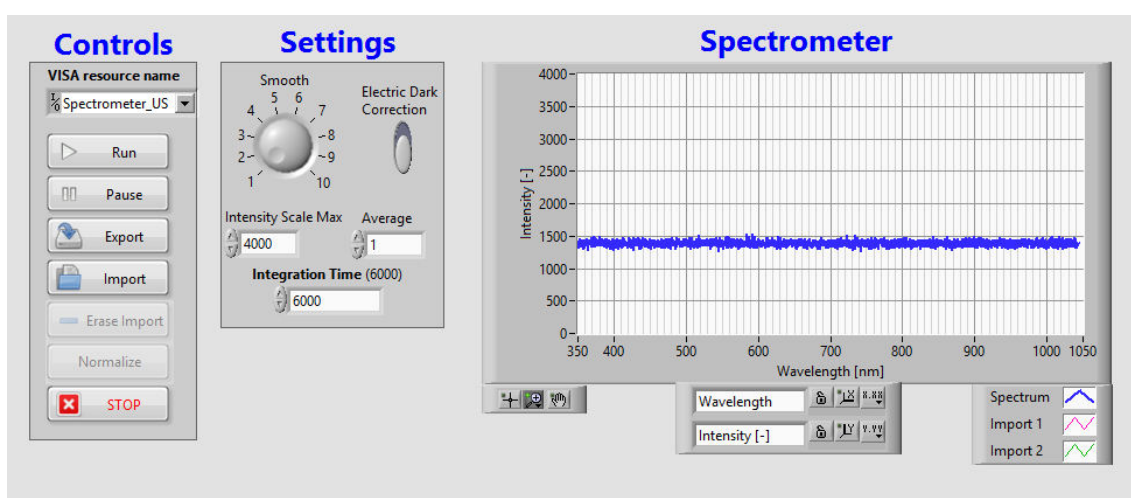


Obrázek 25: Korekce offsetu vypnuta

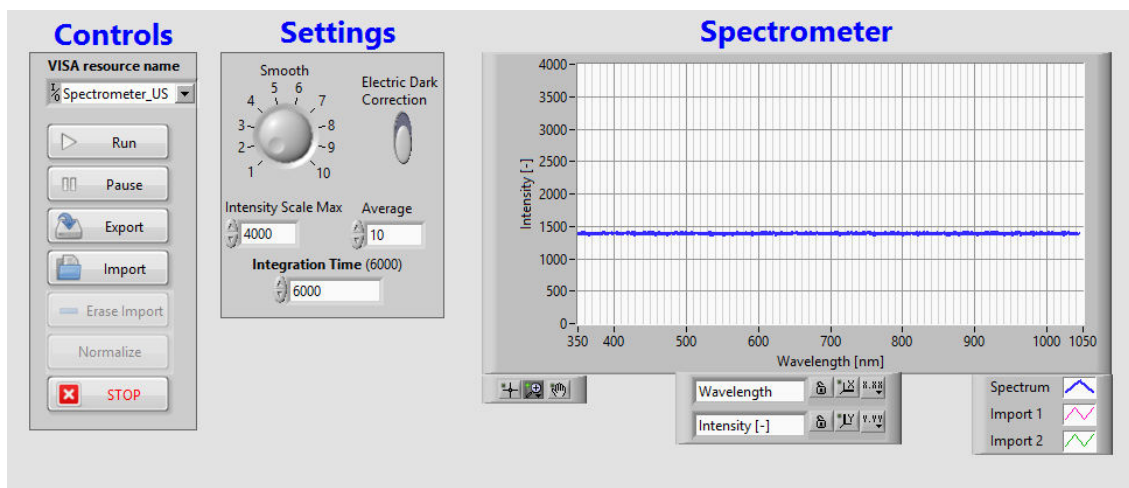


Obrázek 26: Korekce offsetu zapnuta

Pro vyhlazení měřeného signálu (odšumění spektra) existují dvě možnosti. První možností je průměrování hodnot z několika měření. Počet průměrovaných měření se nastaví pomocí numeric controlu Averaging. Tímto způsobem lze dosáhnout efektivního vyhlazení spektra. Oproti vyhlazení pomocí Smooth zde nedochází k chybě (posunu spektra v důsledku algoritmu vyhlazování). Nevýhodou je však fakt, že pro deset průměrovaných měření bude měření desetkrát pomalejší. Proměnná Average je nastavena tak, aby bylo možné zadat 1 až 100 měření pro průměrování. Na obrázcích níže je zobrazeno spektrum pro různý počet měření.

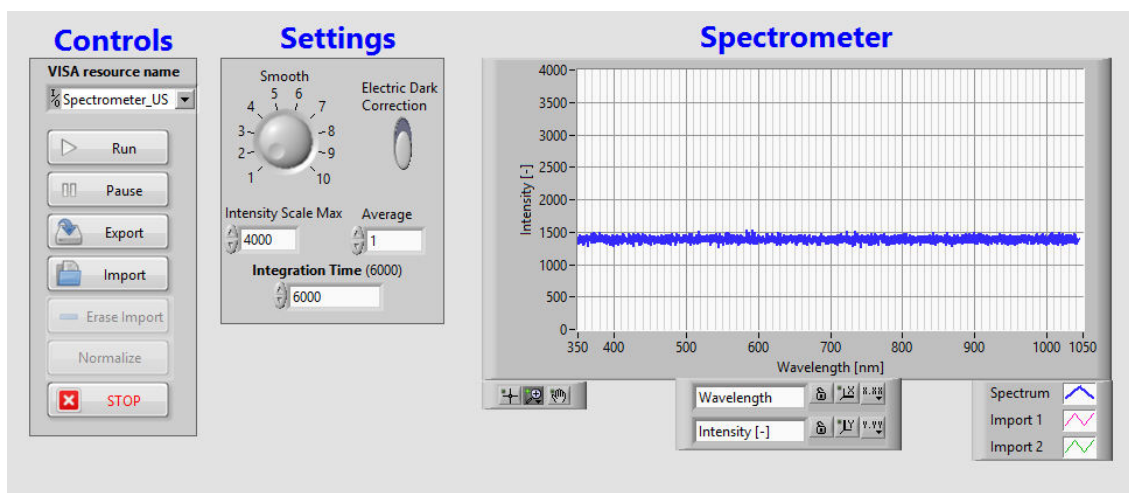


Obrázek 27: Spektrum pro Average = 1

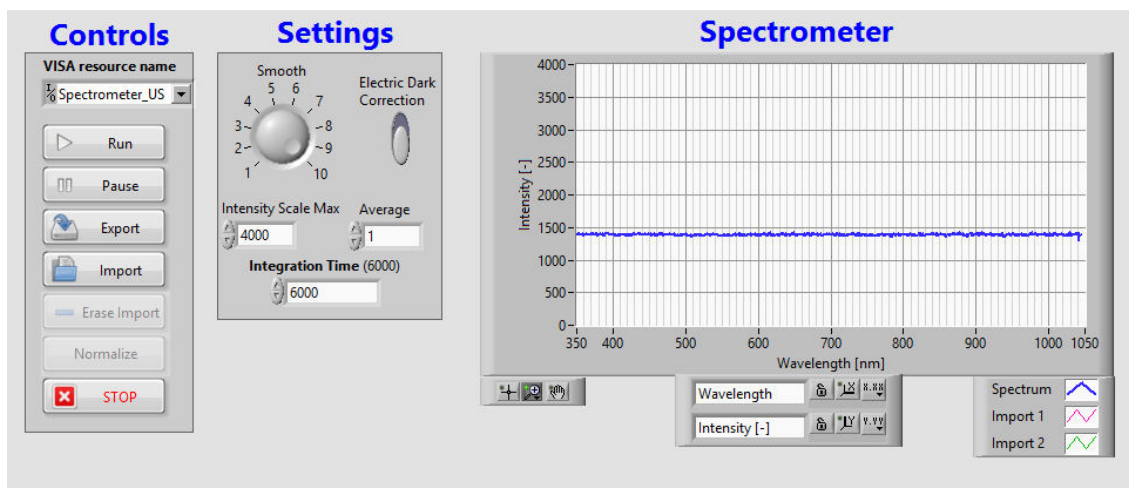


Obrázek 28: Spektrum pro Average = 10

Druhou možností, jak odstranit šum měřeného signálu, je jeho vyhlazením. Algoritmus vyhlazení je založen na průměrování několika sousedních hodnot. Při hodnotě Smooth = 5 se pro každý měřený pixel uvažuje pět sousedních bodů vlevo a vpravo. Zprůměrováním těchto hodnot získáme měřený pixel. Tato metoda je rychlá, nedochází zde k značnému prodloužení doby měření jako u průměrování. Nevýhodou je však posun spektra při průměrování velkého počtu sousedních hodnot. Vzhledem k nízkému rozlišení spektrometru (cca 0,2 nm) se tato chyba znatelně projevuje. Proto je maximální hodnota Smooth omezena na deset. Na obrázcích níže je zobrazen rozdíl spektra pro různé hodnoty Smooth.

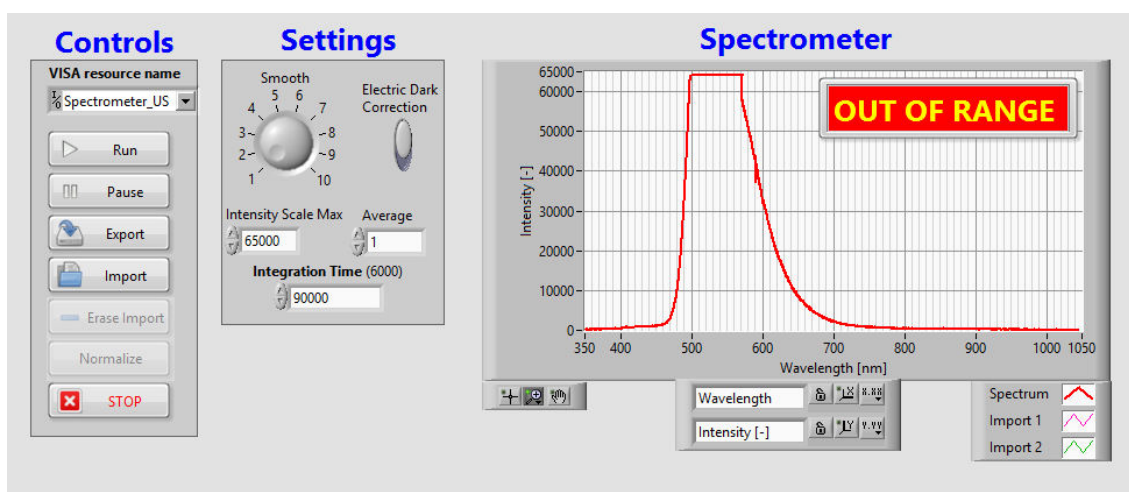


Obrázek 29: Spektrum pro Smooth = 1



Obrázek 30: Spektrum pro Smooth = 10

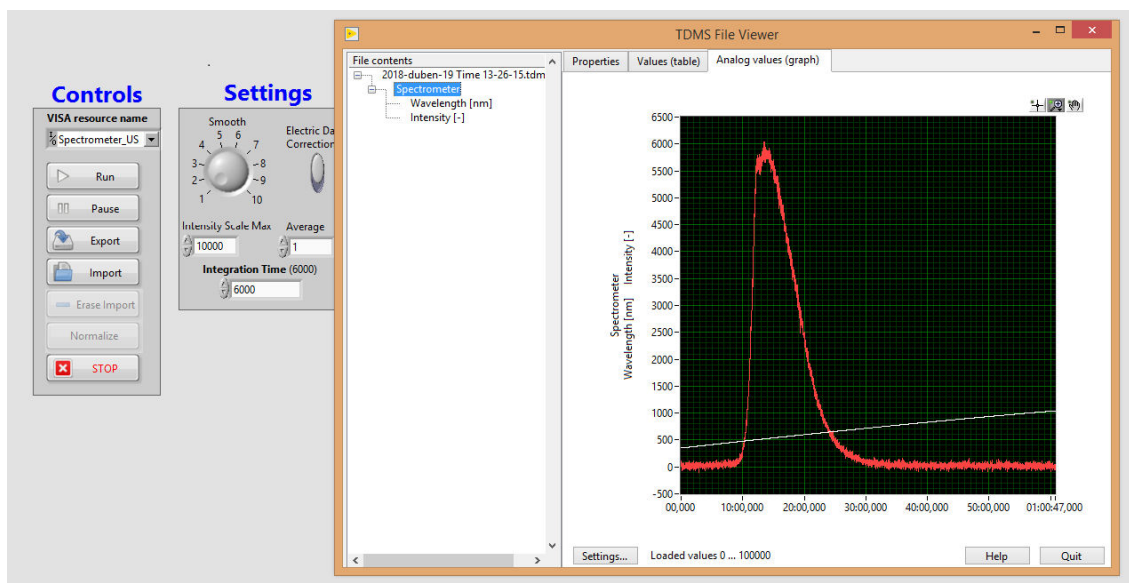
Poslední z nástrojů ze skupiny settings je integrační doba, neboli doba měření. Je tedy zřejmé, že pro větší hodnoty integrační doby, bude mít měřené spektrum vyšší intenzitu. Maximální intenzita, kterou spektrometr dokáže změřit je 65 000. Po překročení této hodnoty se zobrazí výstražný nápis a spektrum změní barvu na červenou.



Obrázek 31: Překročení rozsahu spektrometru

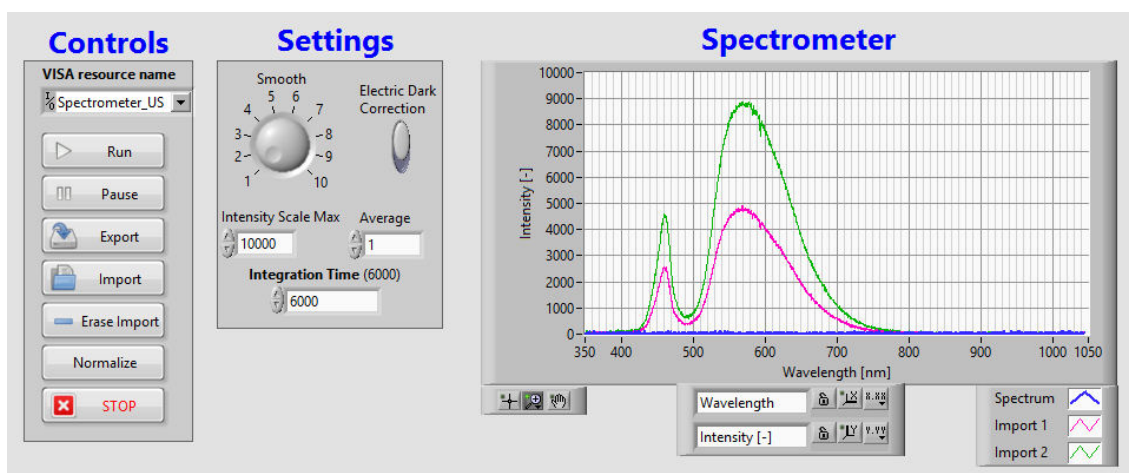
7.3.2 Controls

Tato skupina tlačítek slouží k samotnému ovládání měření. Patří sem tlačítka Run, Pause, Export, Import, Erase Import, Normalize a Stop. Tato tlačítka se dynamicky aktivují a deaktivují (zašednutí) v průběhu měření podle aktuálních podmínek jako např. zahájení měření tlačítkem Run nebo po nainportování spektra. Jakmile je měření zahájeno tlačítkem Run, je možné exportovat data pomocí tlačítka Export. Exportovaná data se uloží ve složce Measured Data, která se vytvoří ve stejném adresáři, v jakém se nachází samotná aplikace. V této složce se pak vytvoří další adresář pojmenovaný podle aktuálního data a času. Zde se uloží screenshot spektra, soubor pro excel (hodnoty vlnové délky a intenzity) a TDMS soubor, který se využije v případě importu dat.



Obrázek 32: Export dat, TDMS Viewer

Po zahájení měření lze také naimportovat až dvě spektra z dříve exportovaného TDMS souboru. Tato možnost tedy umožňuje naimportovat spektrum roztoku s nulovou koncentrací rozpuštěného kyslíku, spektrum se 100% koncentrací kyslíku a tyto spektra porovnat se spektrem měřeným.

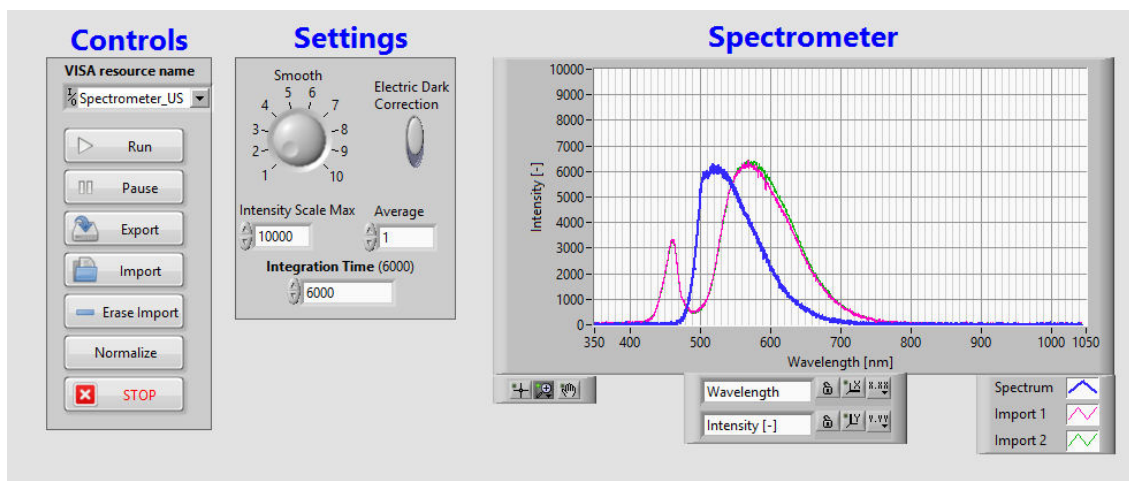


Obrázek 33: Import spekter

Pro lepší porovnání měřeného a importovaného spektra lze využít tlačítka Normalize, které normalizuje velikost importovaných spekter vůči měřenému spektru. Normalizované spektrum se spočítá dle rovnice (4). Importovaná spektra lze kdykoli vymazat tlačítkem Erase Import.

$$I_{norm} = \frac{I_{import}}{I_{importMax}} * I_{max} [-] \quad (4)$$

Kde I_{norm} je normalizované importované spektrum; I_{import} je importované spektrum; $I_{importMax}$ je maximální hodnota importovaného spektra a I_{Max} je maximum měřeného spektra (na obrázku níže vyznačeno modře).



Obrázek 34: Normalizace spekter

7.4 Block Diagram

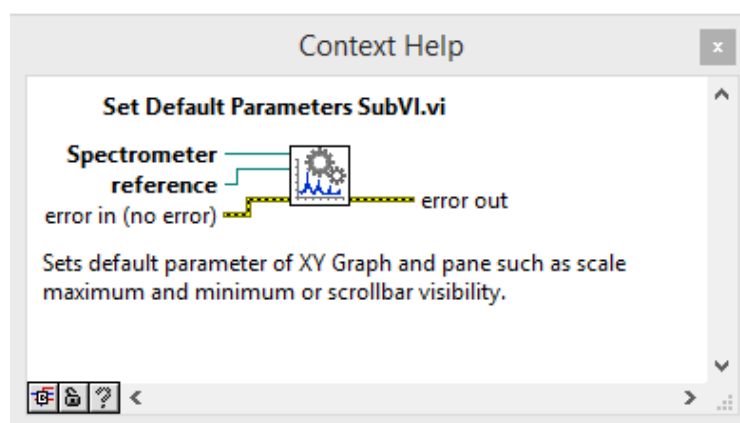
Program je navržen pomocí šablony Producer/Consumer, která zajišťuje optimální využití výkonu procesoru. Další výhodou této šablony je snadnější debugování a modifikování programu.

Smyčka Producer obsahuje Event Structure, která detekuje události jako např. stisknutí tlačítka a tuto informaci pomocí frondy dále posílá do smyčky Consumer, kde dochází k samotnému měření a zpracování těchto událostí. Blokový diagram je uveden v příloze.

7.5 SubVIs

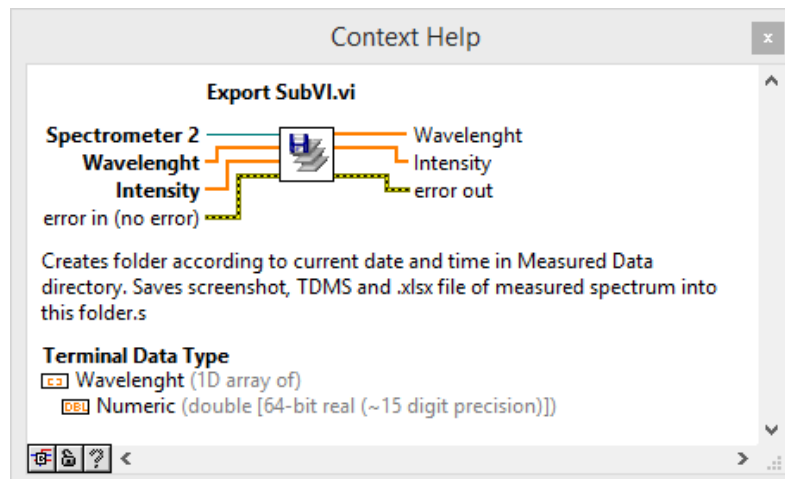
Pro zpřehlednění kódu bylo navrženo několik SubVIs. A to Average SubVI, Check Intensity Range SubVI, Electrical Dark Correction SubVI, Export SubVI, Import SubVI, Noise Filter SubVI, Set Default Parameters SubVI a O2Concentration SubVI.

Set Default Parameters SubVI slouží k nastavení defaultních minim a maxim os na XY grafu po spuštění tlačítkem Run. Zároveň vypíná scrollbar.



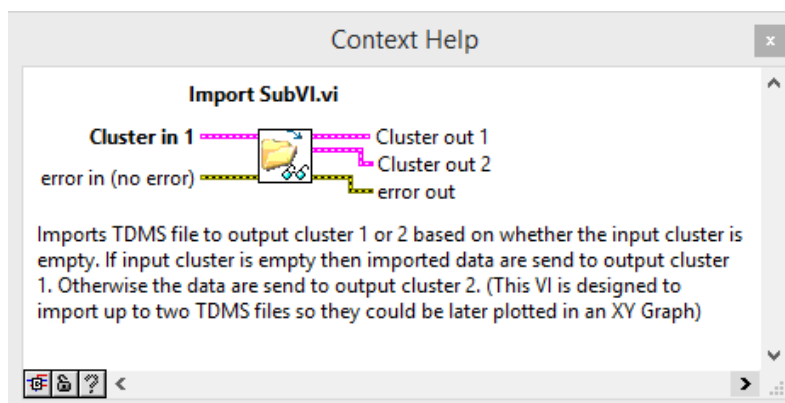
Obrázek 35: Set Default Parameters SubVI

Export SubVI založí adresář Measured Data, do kterého vloží složku pojmenovanou podle aktuálního data a času, v této složce se nachází screenshot XY grafu, TDMS a .xlsx soubor.



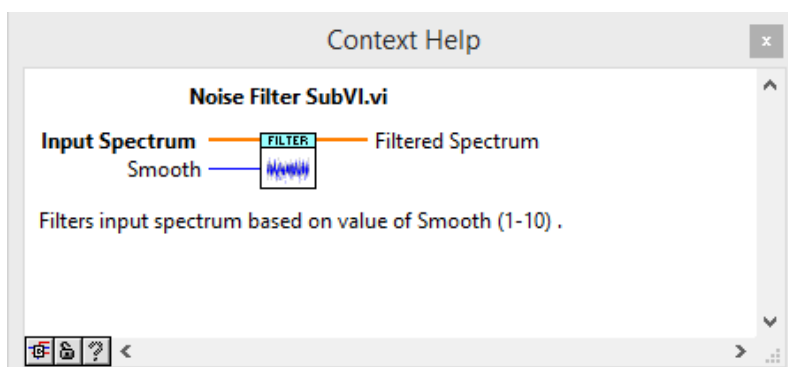
Obrázek 36: Export SubVI

Import SubVI importuje až dva TDMS soubory. Pokud je vstupní cluster prázdný (první import), tak se data naimportují do prvního výstupního clusteru. Při importu druhého souboru (vstupní cluster není prázdný), se data naimportují do druhého výstupního clusteru.



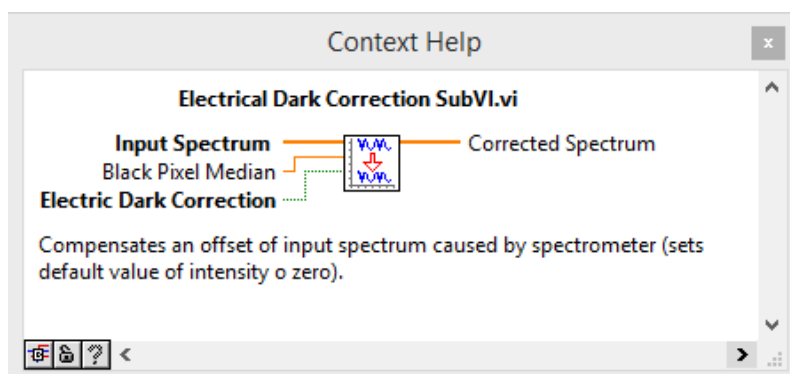
Obrázek 37: Import SubVI

Noise Filter SubVI potlačuje šum (vyhlazuje spektrum) na základě hodnoty Smooth a algoritmu popsáném v kapitole 7.3.1.



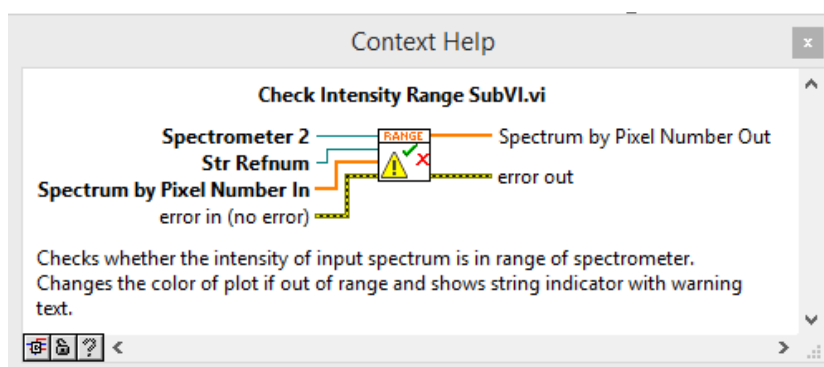
Obrázek 38: Noise Filter SubVI

Electrical Dark Correction SubVI odstraní offset popsaný v kapitole 7.3.1. Od všech prvků vstupního spektra odečítá konstantu Black Pixel Median a tím odstraní offset. Tato hodnota je získána z VI obsažené v driveru pro spektrometr.



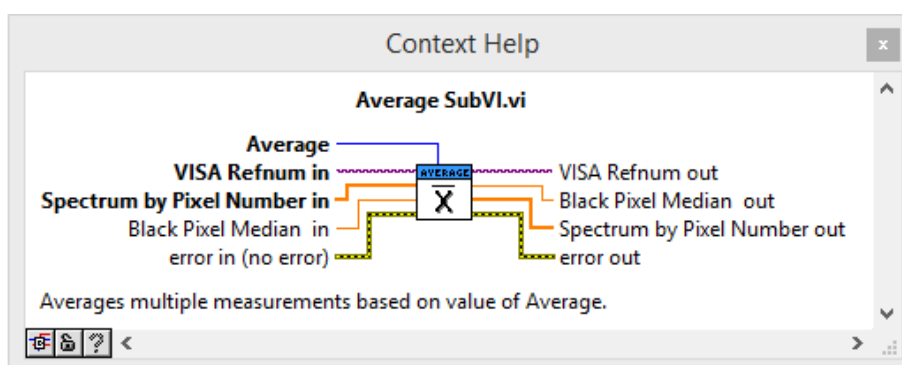
Obrázek 39: Electrical Dark Correction SubVI

Check Intensity Range SubVI kontroluje, zda nedošlo k překročení rozsahu intenzity spektrometru. Pokud dojde k překročení, barva spektra se změní na červenou a aktivuje se string indikátor signalizující, že intenzita je mimo rozsah.



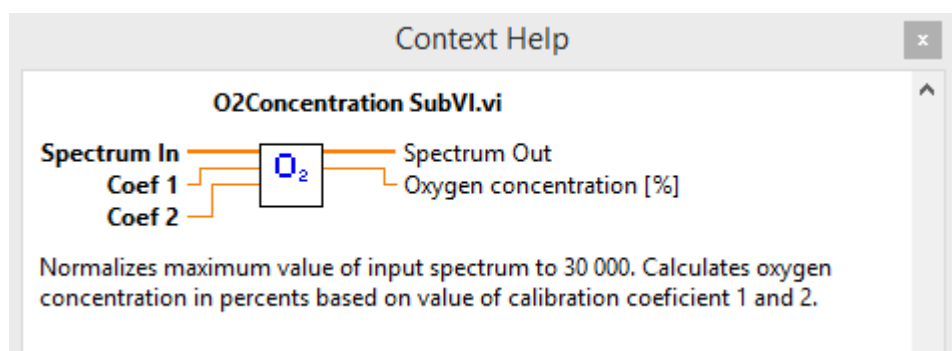
Obrázek 40: Check Intensity Range SubVI

Average SubVI průměruje několik měření podle vstupní hodnoty Average. Kromě samotného spektra průměruje také hodnotu Black Pixel Median, kterou lze později použít pro korekci offsetu.



Obrázek 41: Average SubVI

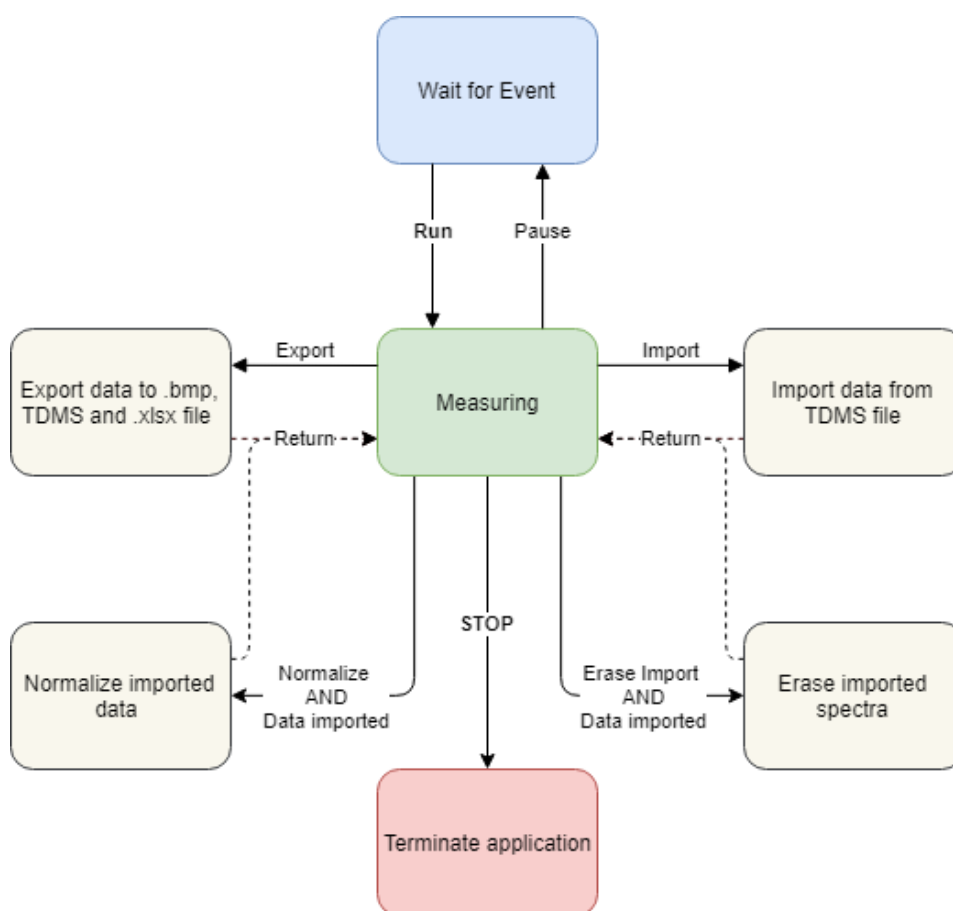
O2Concentration SubVI normalizuje velikost spektra na intenzitu 30 000 a na základě kalibračních koeficientů spočítá koncentraci kyslíku v procentech. V programu lze kdykoli změnit hodnoty koeficientů a tím nastavit vlastní kalibraci.



Obrázek 42: O2Concentration SubVI

7.6 Algoritmus LabVIEW programu

Samotný algoritmus odpovídá blokovému diagramu níže, program neustále čeká na vznik události, jako je stisknutí tlačítka. Vždy, když dojde k nějaké události (import nebo export dat), dojde k jejímu zpracování a návratu k měření spektra.



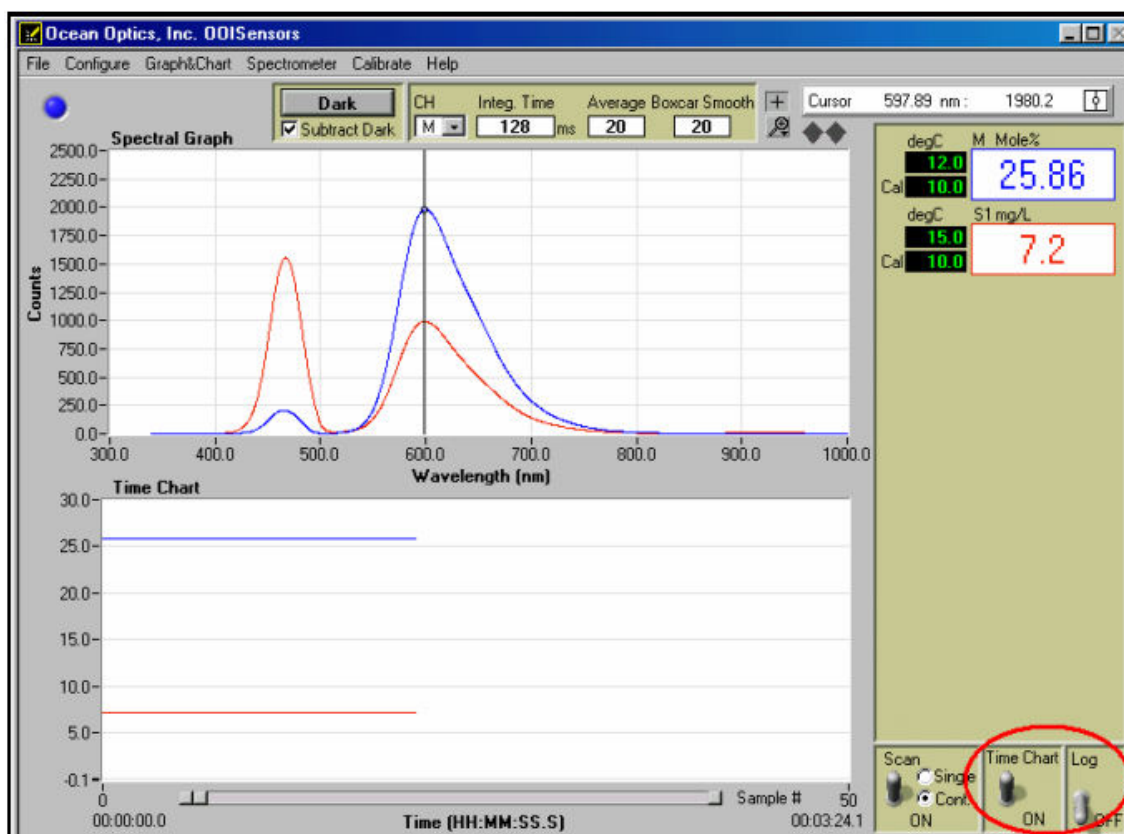
Obrázek 43: Algoritmus programu

8 Kalibrace kyslíkové sondy

Pro kalibraci sondy FOXY-R je určen softwar OOISensors od firmy Ocean Optics. Tento software poskytuje více algoritmů pro kalibraci. Kromě lineární kalibrace, která je vhodná pro měření obsahu kyslíku do 30%, umožňuje také kalibraci polynomem druhého řádu, která je přesnější a odolnější na výkyvy teploty. Mezi další funkce softwaru OOISensors patří také přímé měření pH nebo rozpuštěného kyslíku. Dokáže také ovládat až pět spektrometrů současně nebo zobrazit měřenou koncentraci kyslíku, po případě pH v závislosti na čase.[4]

Kalibraci sondy je nutno provést:

- Alespoň jednou ročně
- Po použití v prostředí, které škodí fluorescenční vrstvě (sol-gelu)
- Pokud je sonda vystavena příliš dlouho zdroji modrého světla, což má za následek tzv. fotobělení ruthenia
- Po nanesení nové chemické vrstvy na měřicím konci sondy
- Po sterilizaci sondy např. autoklávem nebo zářením gamma



Obrázek 44: OOISensors software [4]

Před zahájením kalibrace je nutné promyslet, jestli je nutné provést také teplotní kompenzaci pro případ, že se během měření bude měnit teplota vzorku, a jakou metodu kalibrace je třeba zvolit. [4]

8.1 Lineární (Stern-Volmerova) kalibrace

K této kalibraci jsou zapotřebí minimálně dva kalibrační standardy. První standard musí mít nulovou koncentraci rozpuštěného kyslíku. Koncentrace druhého standardu se musí pohybovat v okolí maximální koncentrace, kterou budeme měřit. Tato kalibrační metoda předpokládá konstantní teplotu. V ideálním případě by všechna měření se sondou měla být prováděna za stejné teploty, jako při které byla zkalibrována. Tato metoda vychází ze Stern-Volmerovy rovnice, viz rovnice (1). Za předpokladu, že teplota a tlak jsou stabilní, je parciální tlak kyslíku úměrný pouze jeho koncentraci (lineární závislost).

Tato kalibrační metoda je nejpřesnější při malých koncentracích kyslíku (do 30%), k chybě dochází při vyšších koncentracích. Pokud měříme vyšší koncentrace kyslíku, kde by se lineární kalibrace ukázala jako nedostatečná, je nutné provést kalibraci polynomem druhého řádu. [4]

8.2 Kalibrace polynomem druhého řádu

Ke kalibraci polynomem druhého řádu jsou zapotřebí minimálně tři kalibrační standardy. První standard musí mít nulovou koncentraci rozpuštěného kyslíku. Koncentrace třetího standardu se musí pohybovat v okolí maximální koncentrace, kterou budeme měřit. Druhý standard musí mít koncentraci mezi prvním a třetím standardem. Tato kalibrační metoda vychází z následujícího vztahu.

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_1 * [Q] + K_2 * [Q]^2 \quad (5)$$

Kde F_0 a F jsou intenzity fluorescence v absenci a přítomnosti kyslíku; K_1 a K_2 kalibrační koeficienty a $[Q]$ je koncentrace kyslíku. [4]

8.3 Kalibrační roztoky (standardy)

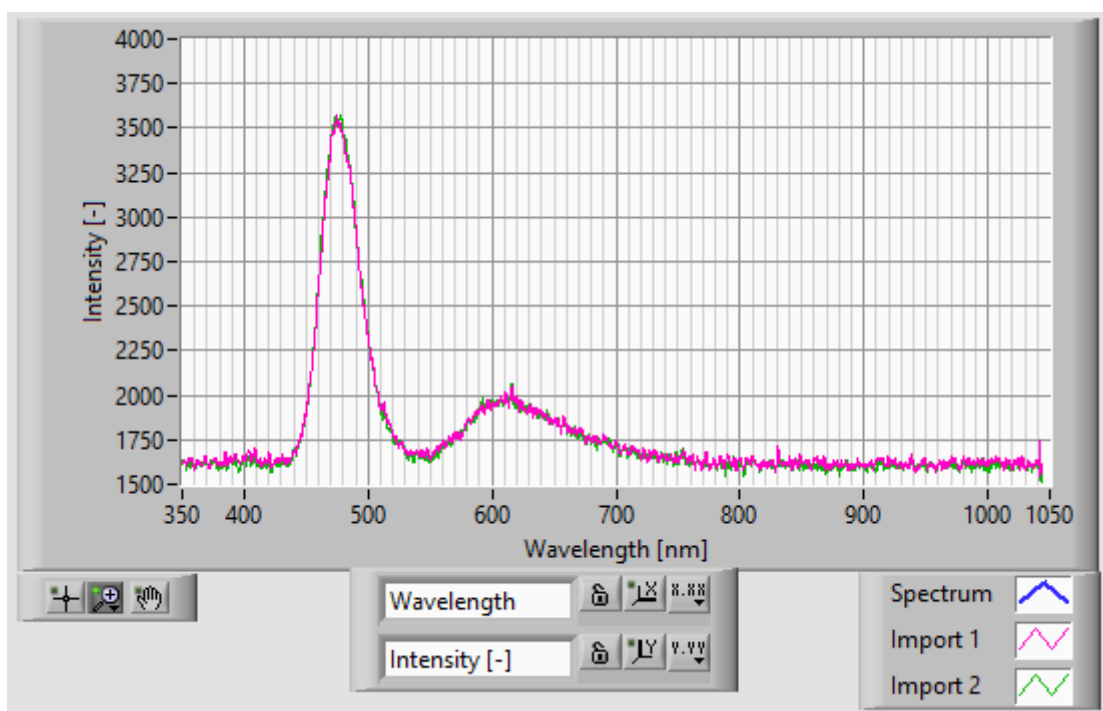
Pokud sonda měří kyslík v plynech a ne v kapalině, tak se jako kalibrační standardy mohou použít dusík (pro koncentraci kyslíku 0%), vzduch (koncentrace 20,9%) nebo čistý kyslík (pro 100% koncentraci).

V případě, že chceme měřit v kapalném médiu je příprava kalibračních standardů problematičtější. Abychom získali standard o nulové koncentraci rozpuštěného kyslíku, můžeme do vzorku vody přidat hydrosiřičitan sodný nebo hydrogenuhličitan sodný, který zajistí rychlý pokles koncentrace kyslíku na 0%.

K dosažení roztoku standardu s vysokou koncentrací kyslíku lze užít probublávání vody, nevýhodou tohoto řešení je, že v ideálním případě by se vzorek měl začít probublávat 24 hodin před začátkem kalibrace, aby došlo k ustálení obsahu kyslíku. [4]

9 Měření rozpuštěného kyslíku ve vodě

Pro měření byl použit řetězec dle obrázku 4. Byly změřeny dva roztoky. První, okysličená voda s maximálním obsahem kyslíku. Druhý, s nulovým obsahem kyslíku (voda, do které byla přidána soda). Během měření byla intenzita napájecího světelného zdroje konstantní. Dle teorie by ve změřeném spektru vzorku s nízkým obsahem kyslíku mělo být větší maximum v oblasti červeného světla (600 nm) než u vzorku s nízkým obsahem kyslíku. V obrázcích níže je červenou barvou vyznačeno spektrum vzorku s vysokým obsahem kyslíku. Zelená barva odpovídá spektru vzorku s nulovou koncentrací.

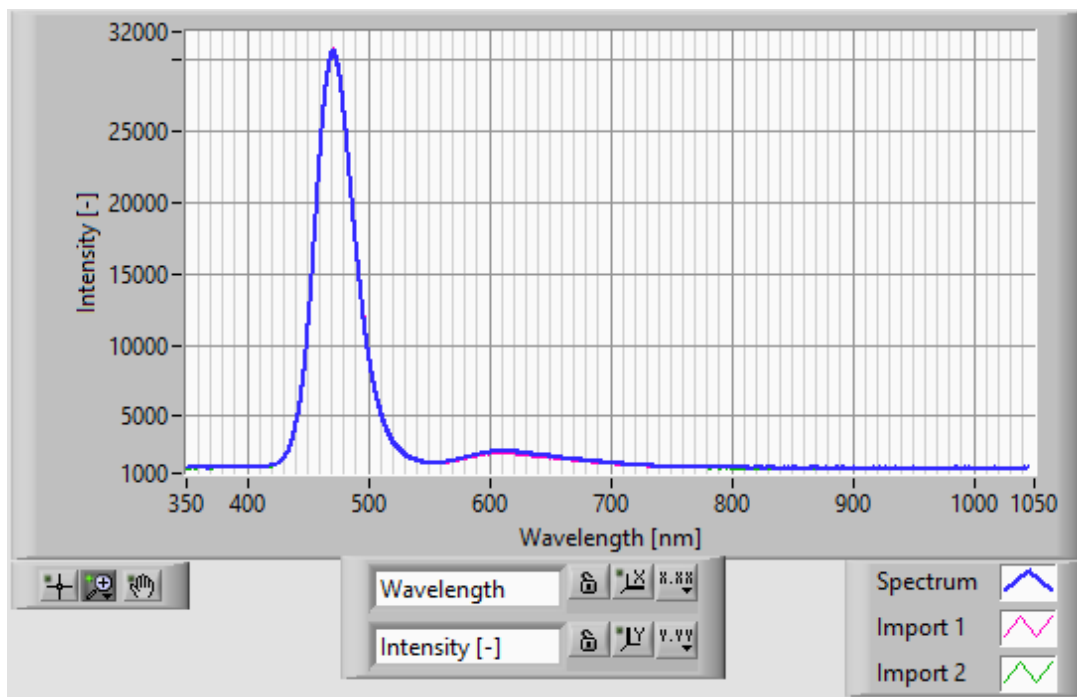


Obrázek 45: Naměřené spektrum pro vzorek s nízkou (zelená) a vysokou (červená) koncentrací kyslíku

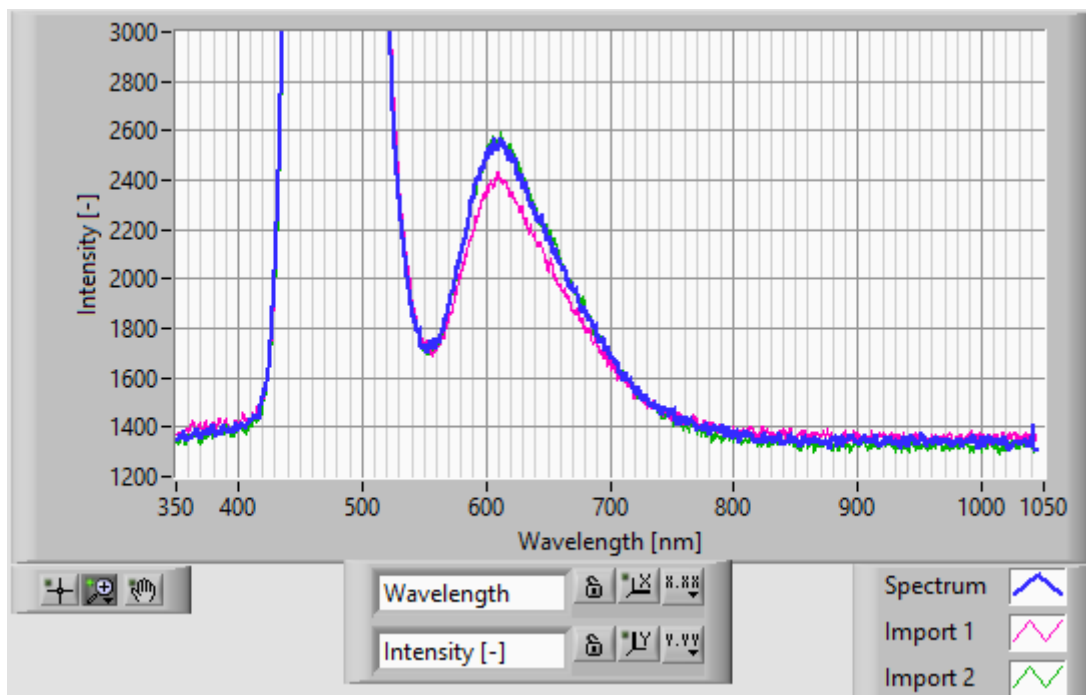
Integrační perioda během měření je 6 ms. Vyhlažování signálu je nastaveno na maximální hodnotu 10. Průměrování více dílčích měření je vypnuto. Naměřená spektra jsou téměř totožná, což neodpovídá teoretickým předpokladům. Důvodem může být nefunkční sol-gelová vrstva na konci sondy. Na dostupné sondě byla ale nanášena nová sol-gelová vrstva a sonda byla zkalibrována v dusíkové atmosféře a ve vzduchu od výrobce. Dalším důvodem by mohl být nedostatečný výkon napájecího modrého světla. V takovém případě by ale peak v oblasti okolo 600 nm vůbec nevznikl. Abychom se ujistili, že jsme se nedopouštěli soustavné chyby, zopakujeme měření v dusíkové atmosféře (0% kyslíku) a ve vzduchu.

10 Měření v N_2O atmosféře, ve vzduchu a vakuu

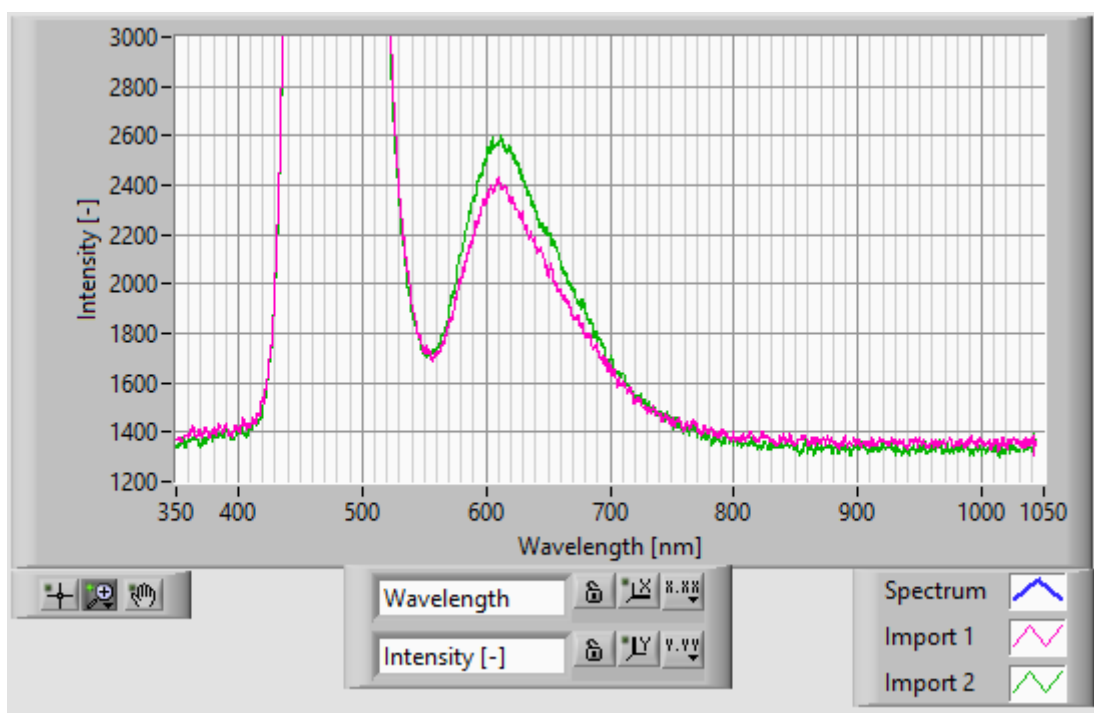
Vzhledem k neúspěchu minulého měření se pokusíme ověřit funkčnost měřicího řetězce tak, že zopakujeme měření v obdobných podmínkách, v jakých byla sonda kalibrována. Spektrum změříme v atmosféře oxidu dusného, ve vakuu (koncentrace kyslíku se blíží nule) a ve vzduchu. Naměřená spektra pro vakuum a N_2O by měla být stejná a vrchol v oblasti červeného světla (600 nm) by měl být nižší pro měření ve vzduchu.



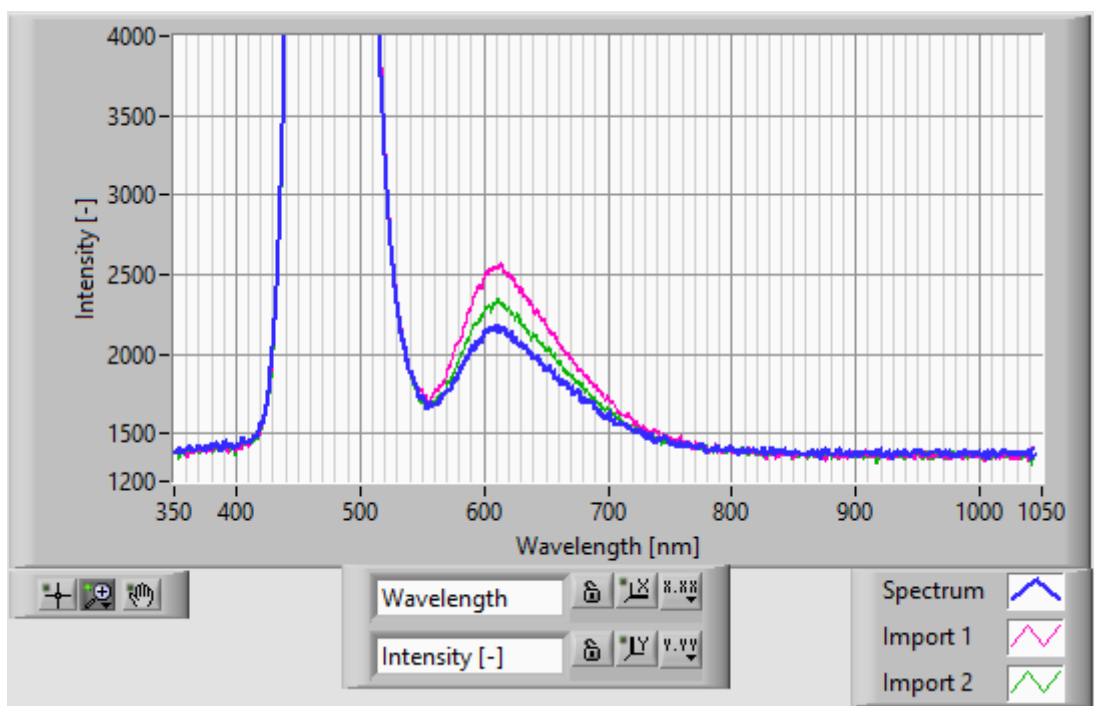
Obrázek 46: Naměřená spektra pro vakuum (modrá), vzduch (červená) a N_2O (zelená)



Obrázek 47: Detail naměřených spekter pro vakuum (modrá), vzduch (červená) a N_2O (zelená)



Obrázek 48: Naměřená spektra pro vzduch (červená) a N₂O (zelená)



Obrázek 49: Naměřená spektra pro měření ve vzduchu pro tlak 0 baru (červená), 0,5 baru (zelená) a 1 bar (modrá)

Pro všechna měření jsou nastaveny parametry integrační perioda 6 ms. Vyhlažování signálu je nastaveno na maximální hodnotu 10. Průměrování více dílčích měření je vypnuto. Pro obrázky 46, 47 a 48 je nastavena stejná intenzita napájecího modrého světla. Pro obrázek 49 je nastavena jiná intenzita než pro předchozí měření. Pro dílčí měření na obrázku 49 je intenzita napájecího světla konstantní.

Z obrázků 46 a 47 je patrné, že spektra pro oxid dusný a pro vakuum jsou podle očekávání totožná. Můžeme si tedy být jisti, že obsah kyslíku je nulový. Na obrázcích 47 a 48 jsou porovnána naměřená spektra v atmosféře oxidu dusného a ve vzduchu. Intenzita maxima v oblasti červeného světla (600 nm) je nižší při měření ve vzduchu, což odpovídá teoretickým předpokladům. Nicméně po porovnání se spektrem v katalogu (obrázek 44 červený průběh) je zřejmé, že intenzita tohoto peaku by měla být znatelně vyšší. Na obrázku 49 vidíme porovnání spekter pro různé tlaky vzduchu a to 0 baru, 0,5 baru a 1 bar. Nejvyšší intenzita peaku v oblasti červeného světla je při tlaku 0 baru (vakuum) a nejnižší při tlaku 1 bar. Je tedy prokázáno, že sol-gelová vrstva na kyslíkové sondě funguje a reaguje na změny kyslíku.

10.1 Měření kyslíku při různém tlaku

Před začátkem každého měření je nutné sondu zkalibrovat. Jakmile je měřicí řetězec zapojen a nastavena intenzita napájecího světla, může se s kalibrací začít. Celá soustava je velmi citlivá na pohyb, proto je nutné, aby se během kalibrace i později během měření nehýbalo se sondou ani s optickým vláknem, po případě jen pro nezbytnou manipulaci. Kalibrace se provádí ve dvou bodech. Měření i kalibrace musí probíhat při stejné intenzitě napájecího světla.

Po celou dobu kalibrace i měření musí být v programu zapnuty Electric Dark Correction a Calculate O₂. Nejdříve umístíme sondu do vakua nebo dusíkové atmosféry a provedeme měření pro různé hodnoty integrační periody. Pro tato měření určíme maximální intenzity červeného světla (okolo 600 nm) a zprůměrujeme je. Totéž provedeme ve vzduchu při tlaku 1 bar. Na základě naměřených hodnot a známého obsahu kyslíku ve vzduchu (21%) určíme kalibrační koeficienty pro rovnici přímky. Předpokládáme tedy lineární závislost obsahu kyslíku na intenzitě. Naměřené hodnoty jsou uvedeny níže. Lze si všimnout rozdílu kalibračních koeficientů pro obě měření. Z toho plyne nutnost kalibrace před začátkem každého měření. Pro další měření volíme kalibraci 2, pro kterou spočítáme kalibrační koeficienty.

t[ms]	Intenzita [-]			
	Kalibrace 1		Kalibrace 2	
	N ₂ O	Vzduch	N ₂ O	Vzduch
60	993,678	830,622	857,442	678,956
50	980,289	841,588	829,393	687,165
40	976,765	821,687	836,103	681,795
30	993,348	838,617	815,571	664,282
20	968,335	878,297	815,571	686,036
Průměr:	982,483	842,162	830,816	679,647

Tabulka 2: Kalibrace sondy, maxima intenzity červeného světla

Výpočet kalibračních koeficientů z průměrných hodnot intenzit červeného světla (kalibrace 2):

$$k = \operatorname{tg} \alpha = \frac{\text{Rozdíl Intenzit}}{\text{Rozdíl Koncentrací}} = \frac{21 - 0}{679,647 - 830,816} = -0,139$$

$$\text{O}_2[\%] = k * \text{Intenzita} + q$$

$$0 = -0,139 * 830,816 + q$$

$$q = 115,41$$

Po kalibraci se koncentrace kyslíku v závislosti na intenzitě spočítá dle vztahu:

$$\text{O}_2[\%] = -0,139 * \text{Intenzita} + 115,41$$

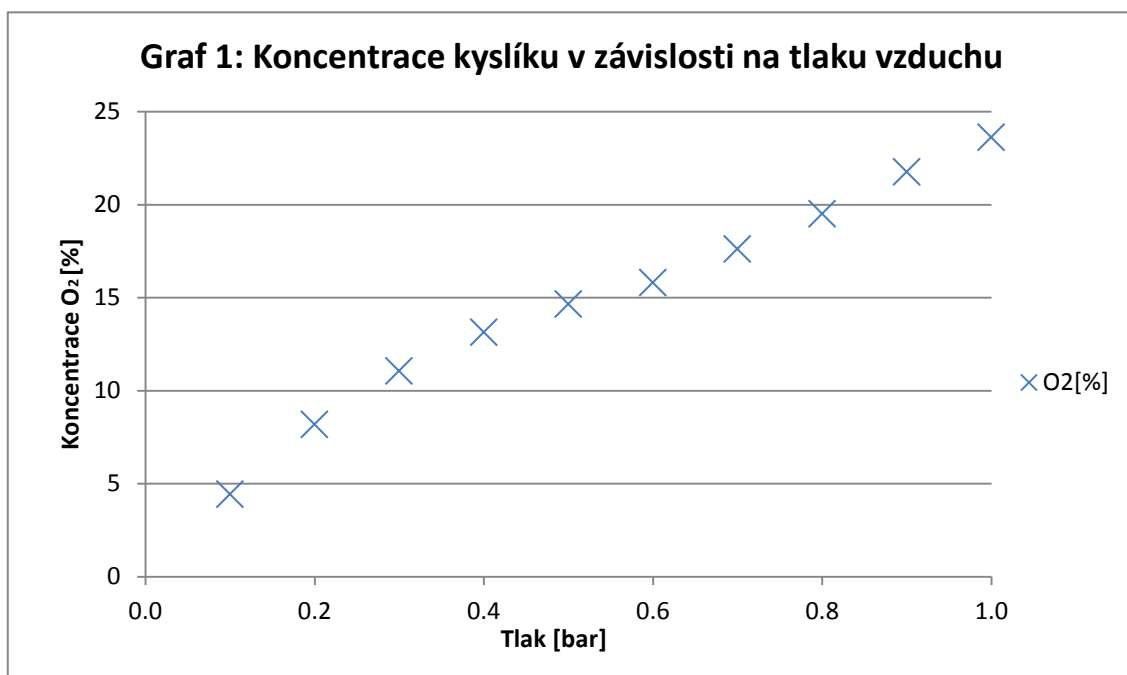
Kde intenzita představuje maximální intenzitu spektra v oblasti červeného světla.

Jakmile je kalibrace hotová, můžeme zahájit měření. V našem případě měříme obsah kyslíku ve vzduchu při tlaku 0 až 1 bar s krokem 0,1 baru. Integrační perioda je 60 ms. Intenzita zdroje je nastavena na maximum.

Tlak [bar]	O ₂ [%]
0,1	4,43
0,2	8,18
0,3	11,05
0,4	13,14
0,5	14,65
0,6	15,81
0,7	17,61
0,8	19,51
0,9	21,76
1,0	23,62

Tabulka 3: Naměřená koncentrace kyslíku pro různé tlaky vzduchu

Výsledek měření je také zobrazen v grafu níže. V tabulce výše si lze všimnout, že koncentrace kyslíku se při tlaku 0,5 baru neblíží teoretické hodnotě (10,5%) a že pro tlak 1 bar koncentrace kyslíku neodpovídá 21%. Tyto chyby mohou být způsobeny změnou podmínek během měření (otřesy, neúmyslný pohyb s měřicím řetězcem). Další možnou příčinou může být to, že kalibrace předpokládá lineární závislost intenzity červeného světla na koncentraci kyslíku. Pro budoucí měření je nutné tuto závislost ověřit a celý řetězec upravit tak, aby byl odolnější vůči změnám polohy, např. vhodnou délkou optických vláken nebo umístěním řetězce do společného přípravku.



11 Závěr

Princip optovláknové kyslíkové sondy je takový, že je během měření napájena modrým světlem o vlnové délce 470 nm. Podle koncentrace kyslíku se mění intenzita červené složky spektra, která vzniká na chemické vrstvě na konci sondy. Platí, že čím větší koncentrace kyslíku, tím je menší intenzita červeného světla. Tato intenzita je pak vyhodnocena spektrometrem a využita k výpočtu koncentrace kyslíku v procentech. V kapitole 4 jsem také popsal principy optovláknových sond pro měření pH a CO₂, které fungují na podobném principu fluorescence jako sonda kyslíková.

Z dostupných měřicích přístrojů jsem sestavil měřicí řetězec pro měření rozpuštěného kyslíku využívající spektrometr USB4000 od firmy Ocean Optics. Navrhnul jsem také teoretický řetězec pro měření pH. Hlavní rozdíl mezi řetězci je v napájecím zdroji. Kyslíková sonda vyžaduje monochromatický zdroj světla o vlnové délce 470 nm. Sonda pH potřebuje širokospektrální zdroj, jehož složky tlumí chemická vrstva na konci sondy v závislosti na hodnotě měřeného pH. Oba řetězce vyžadují spektrometr k vyhodnocení světelného spektra.

Vytvořil jsem LabVIEW aplikaci pro měření spektra pomocí optovláknové sondy (kapitola 7). Tato aplikace je navržena pomocí šablony Producer/Consumer pro optimální využití výkonu CPU. Umožňuje exportovat naměřená spektra (screenshot, TDMS a .xlsx soubor), importovat dříve změřený TDMS soubor (dokáže zobrazit až dvě importovaná spektra najednou) nebo také normalizovat importovaná spektra pro lepší porovnání s měřeným spektrem. Umožňuje nastavit různé parametry měření, jako jsou integrační doba nebo průměrování většího počtu měření. Dále také hodnotu kalibračních koeficientů, které se musí nastavit před každým měřením. Tyto koeficienty sice mají výchozí hodnotu, aby však nedošlo k zvětšení chyby, musí se koeficienty nastavit před každým měřením znovu. Na základě kalibračních koeficientů a měřeného spektra program počítá koncentraci kyslíku v procentech. Blokový diagram je uveden v příloze.

Funkčnost měřicího řetězce jsem ověřil nejprve pro roztoky s různou koncentrací rozpuštěného kyslíku. Vzhledem k neúspěchu experimentu jsem se rozhodl řetězec otestovat ve vakuu, vzduchu a atmosféře oxidu dusného. Během tohoto měření se prokázalo, že sonda reaguje na změny kyslíku a proto jsem se rozhodl proměřit závislost koncentrace kyslíku na tlaku vzduchu v rozmezí od 0 do 1 baru s krokem 0,1 baru. Pro toto měření předpokládám lineární závislost intenzity červeného světla na koncentraci kyslíku (lineární kalibrace).

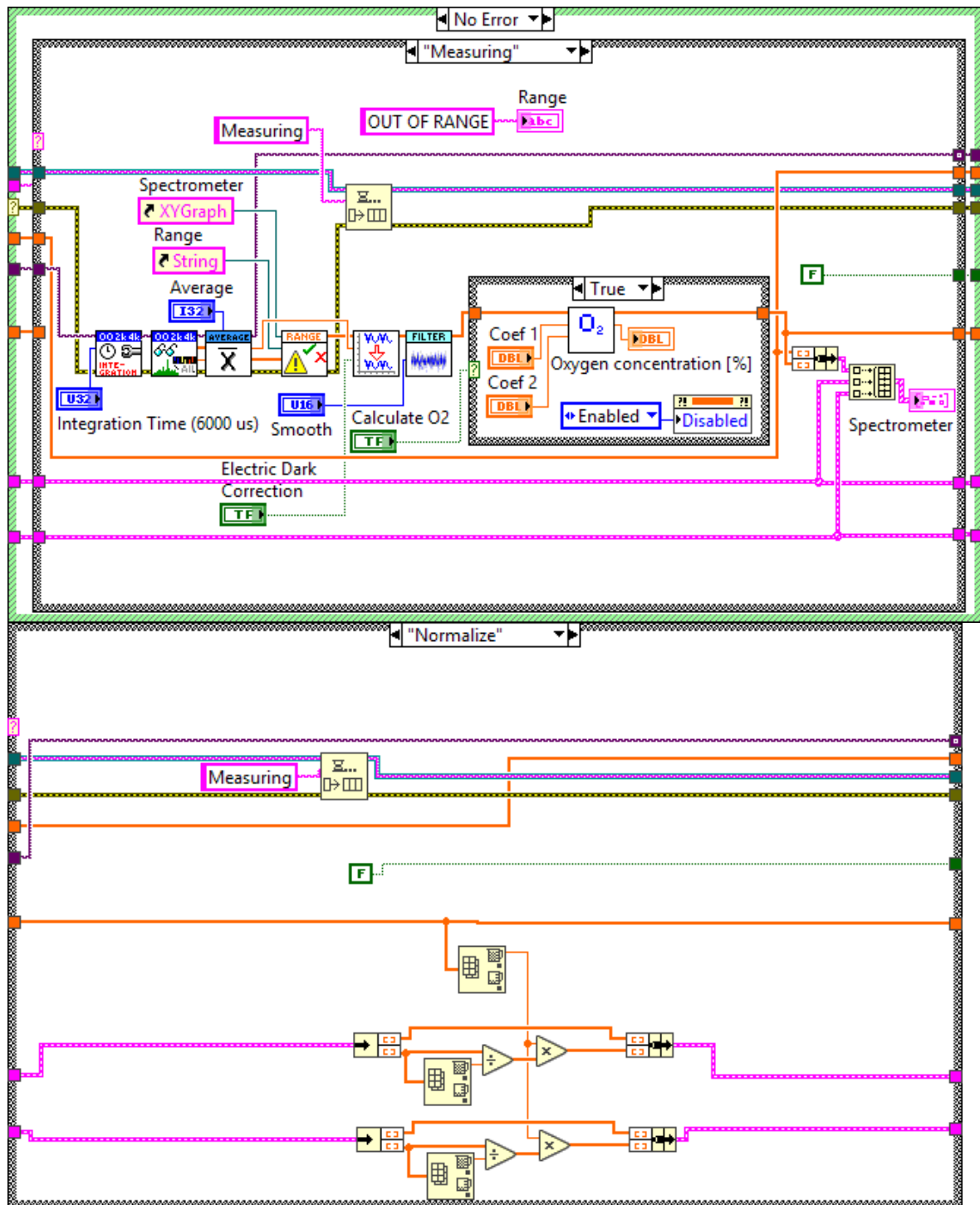
Při tlaku 0,5 baru se koncentrace kyslíku neblíží teoretické hodnotě (10,5%) a při tlaku 1 bar koncentrace kyslíku neodpovídá 21%. Tyto chyby mohou být způsobeny změnou podmínek během měření (otřesy, neúmyslný pohyb s měřicím řetězcem). Další možnou příčinou může být to, že kalibrace předpokládá lineární závislost intenzity červeného světla na koncentraci kyslíku. Pro budoucí měření je nutné tuto závislost ověřit a celý řetězec upravit tak, aby byl odolnější vůči změnám polohy, např. vhodnou délkou optických vláken nebo umístěním řetězce do společného přípravku.

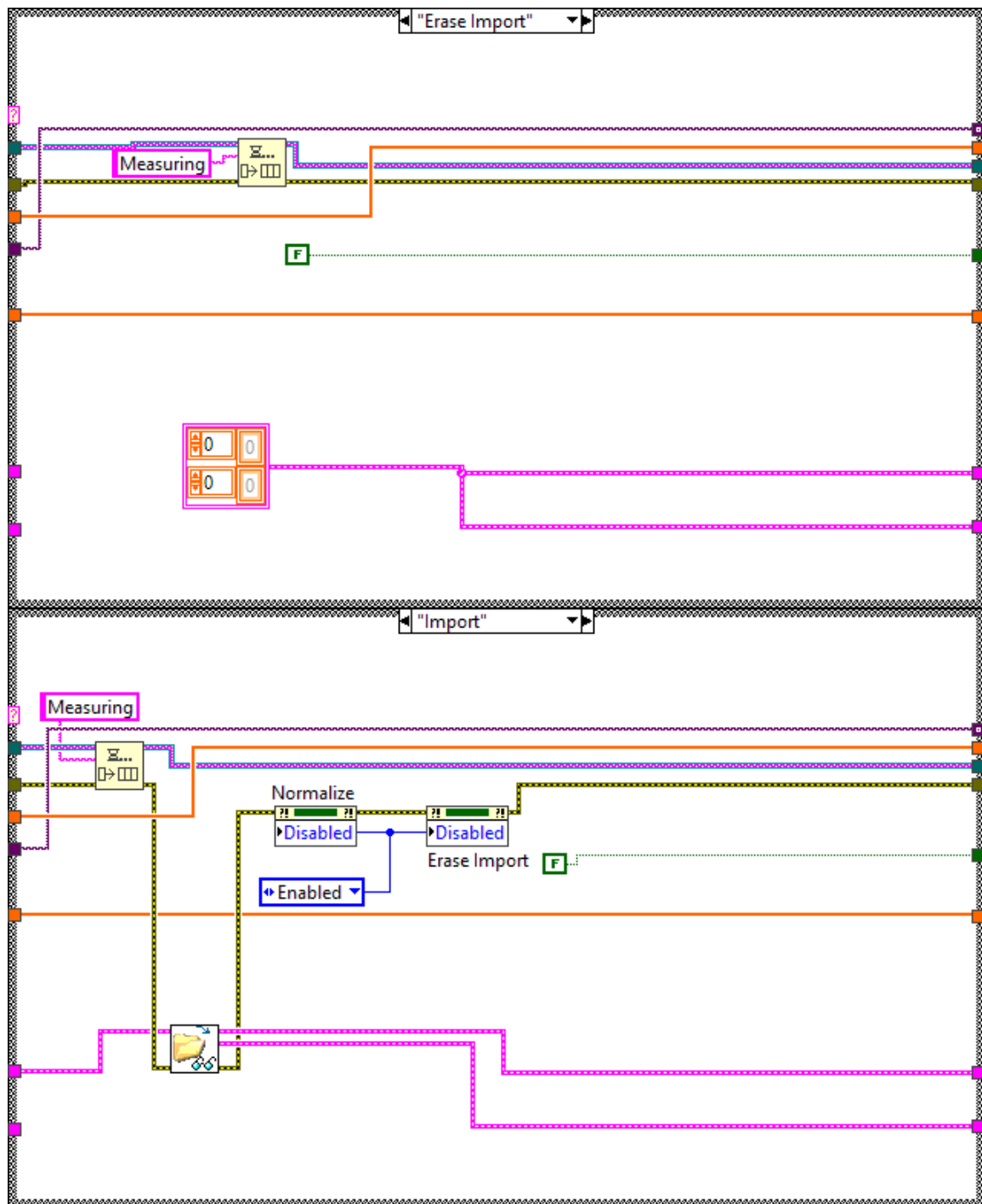
12Seznam literatury

- [1] THOMPSON, Richard. *FLUORESCENCE SENSORS and BIOSENSORS* [online]. Broken Sound Parkway NW: Taylor & Francis Group, 2006 [cit. 2017-11-12]. ISBN 978-0-8247-2737-6.
- [2] LAKOWICZ, Joseph R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Third Edition. Maryland, USA: Springer, 2006. ISBN 0-387-31278-1.
- [3] *USB4000 Fiber Optic Spectrometer Installation and Operation Manual* [online]. In: . 2008, s. 1-26 [cit. 2017-11-20]. Dostupné z: <http://oceanoptics.com/wp-content/uploads/USB4000OperatingInstructions.pdf>
- [4] *OOISensors Fiber Optic Sensors System* [online]. In: . s. 138 [cit. 2018-05-11]. Dostupné z: <https://oceanoptics.com/wp-content/uploads/OOISensors-Manual-FOXY-AL300.pdf>
- [5] *Fiber Optic Sensors System* [online]. In: . s. 138 [cit. 2017-12-03]. Dostupné z: <https://oceanoptics.com/wp-content/uploads/OOISensors-Manual-FOXY-AL300.pdf>
- [6] *LLS Series Light Sources Installation and Opertation* [online]. In: . s. 8 [cit. 2017-12-09]. Dostupné z: <http://oceanoptics.com/wp-content/uploads/LLS.pdf>
- [7] *Ocean Optics* [online]. [cit. 2017-12-09]. Dostupné z: <https://oceanoptics.com/>
- [8] *Fiber Optic Sensors System* [online]. In: . 2011, s. 38 [cit. 2018-01-13]. Dostupné z: <https://oceanoptics.com/wp-content/uploads/pH-Sensors-Patches-Probes-and-Cuvettes.pdf>

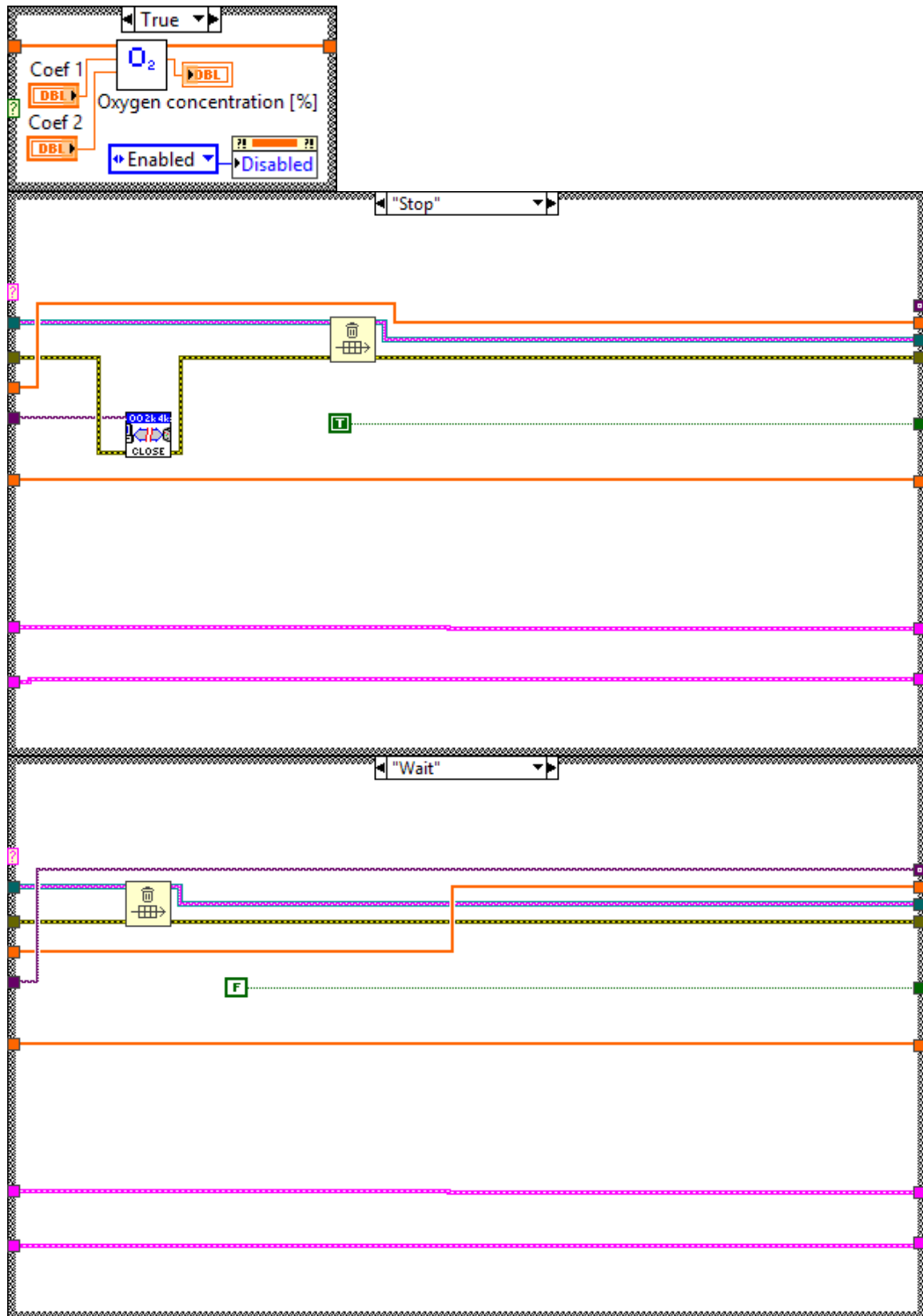
Block Diagram

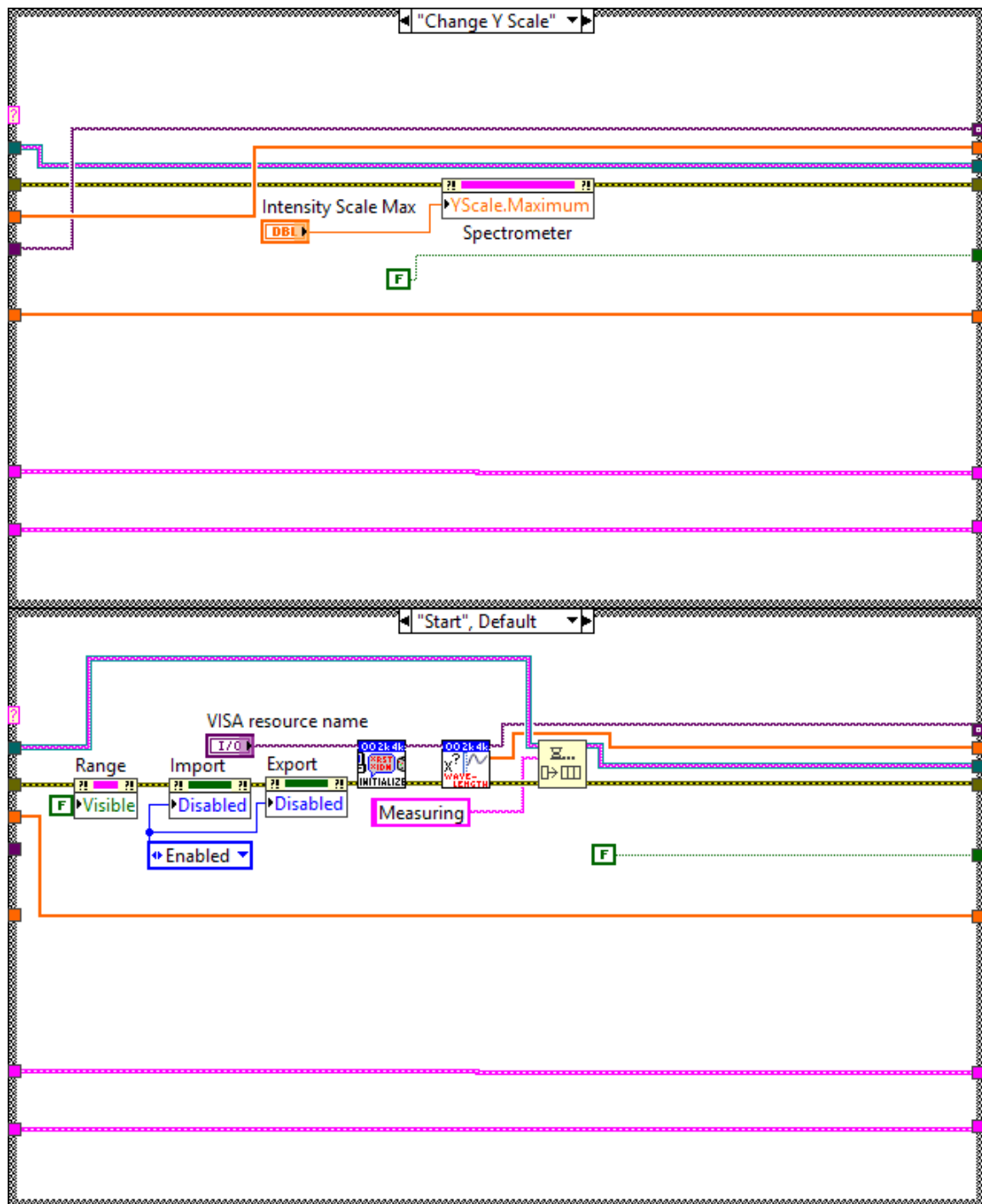


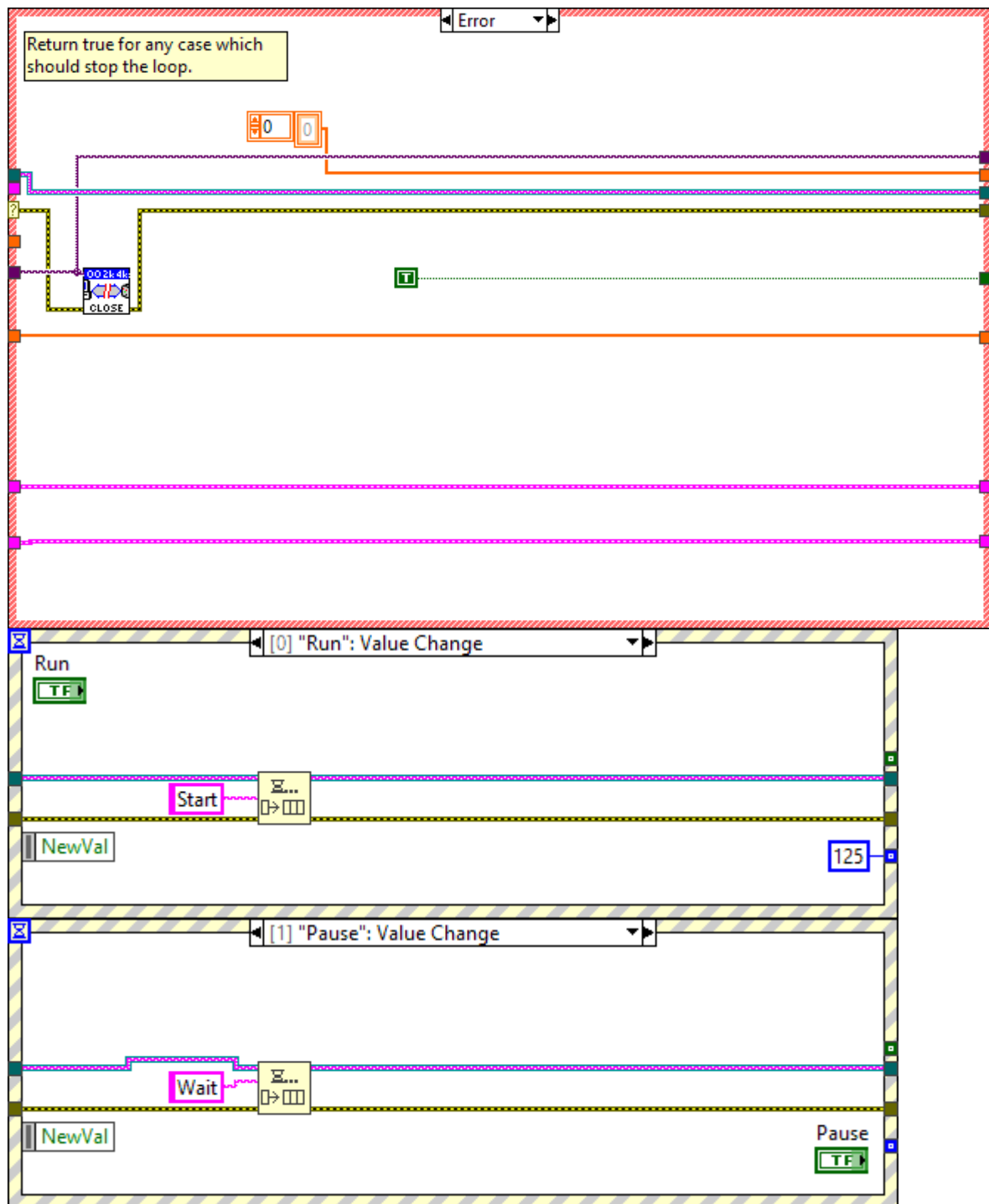


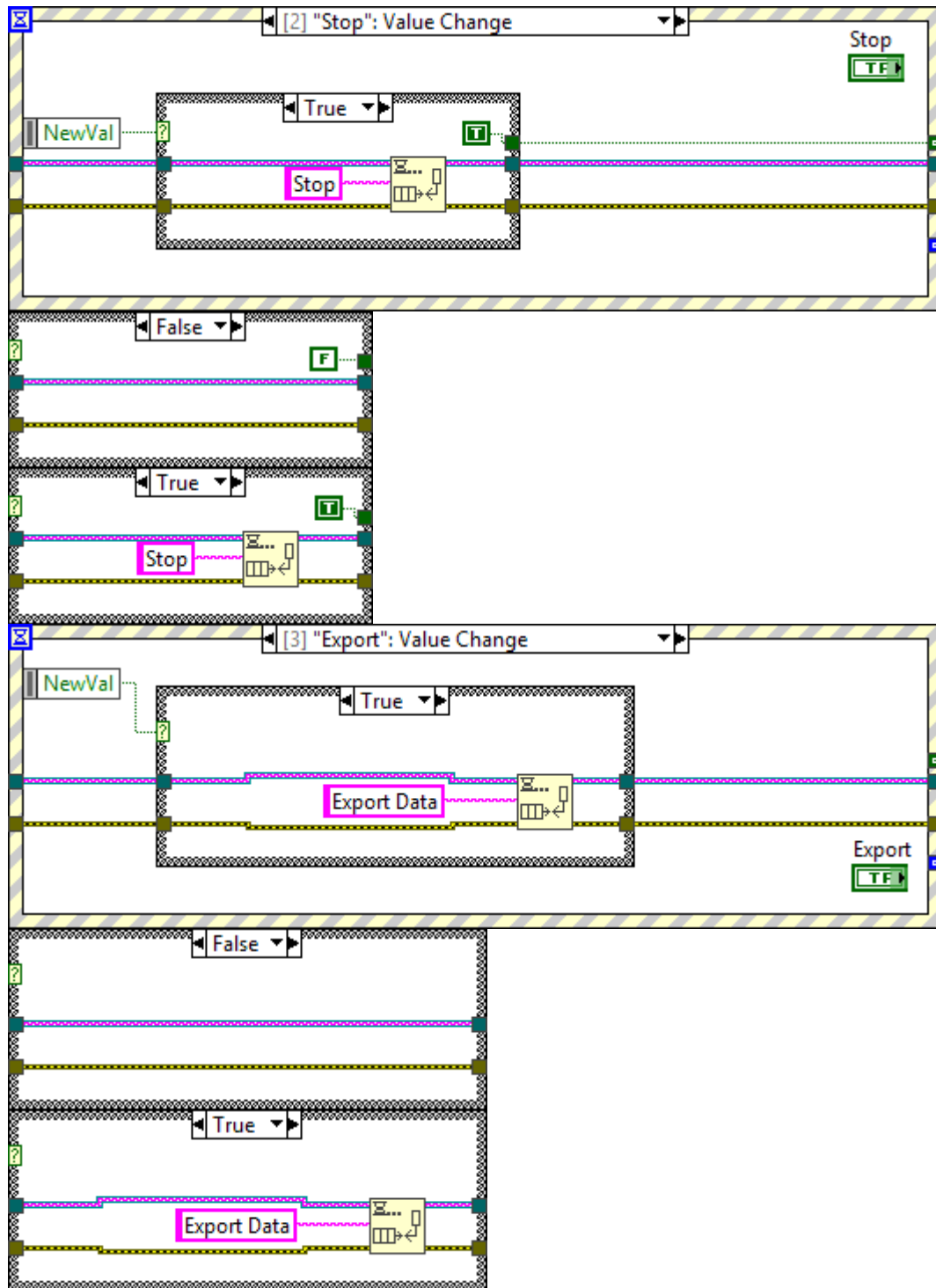


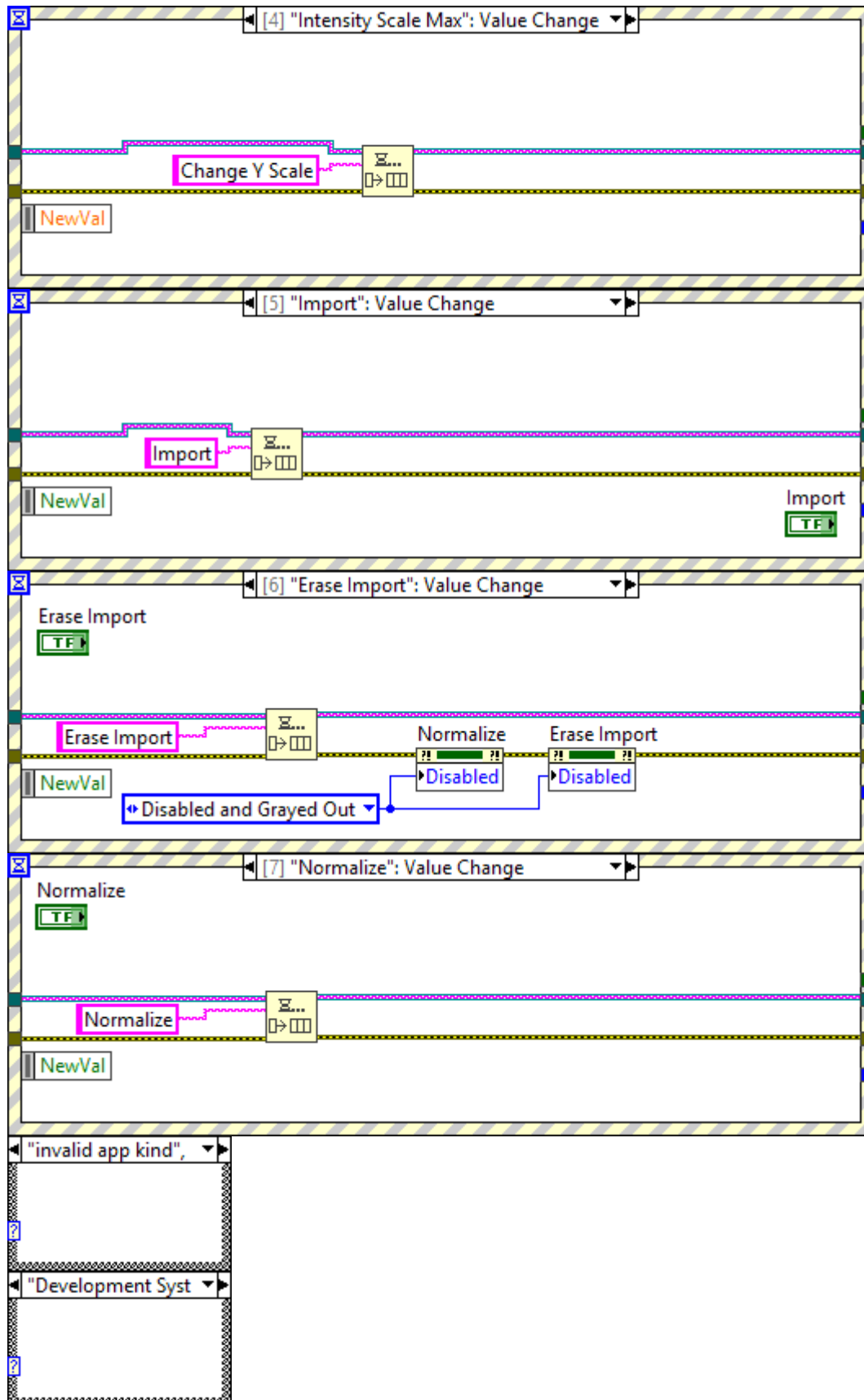


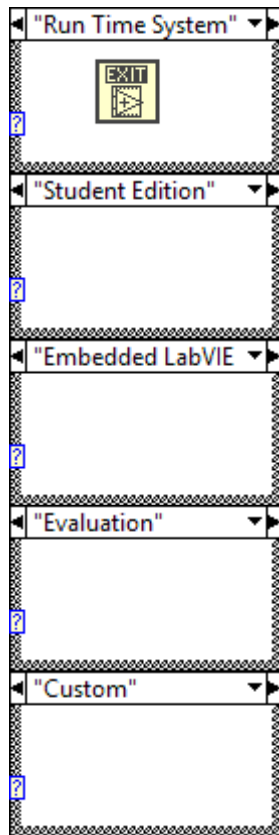












List of SubVIs and Express VIs



O2Concentration SubVI.vi

D:\Dokumenty\Winter is Here\BP\LabVIEW Code\Measured Data\2018-květen-14
n2o50ms\O2Concentration SubVI.vi



Ocean Optics 2000 4000.lvlib:Close.vi

C:\Program Files\National Instruments\LabVIEW 2017\instr.lib\Ocean Optics 2000
4000\Public\Close.vi



Electrical Dark Correction SubVI.vi

D:\Dokumenty\Winter is Here\BP\LabVIEW Code\Electrical Dark Correction SubVI.vi



Export SubVI.vi

D:\Dokumenty\Winter is Here\BP\LabVIEW Code\Export SubVI.vi



Average SubVI.vi

D:\Dokumenty\Winter is Here\BP\LabVIEW Code\Average SubVI.vi



Ocean Optics 2000 4000.lvlib:Initialize.vi

C:\Program Files\National Instruments\LabVIEW 2017\instr.lib\Ocean Optics 2000
4000\Public\Initialize.vi



Ocean Optics 2000 4000.lvlib:Calculate Wavelength.vi

C:\Program Files\National Instruments\LabVIEW 2017\instr.lib\Ocean Optics 2000
4000\Public\Data\Advanced\Calculate Wavelength.vi



Simple Error Handler.vi

C:\Program Files\National Instruments\LabVIEW 2017\vi.lib\Utility\error.lib\Simple Error

Handler.vi



Ocean Optics 2000 4000.lvlib:Configure Integration Time.vi

C:\Program Files\National Instruments\LabVIEW 2017\instr.lib\Ocean Optics 2000 4000\Public\Configure\Configure Integration Time.vi



Check Intensity Range SubVI.vi

D:\Dokumenty\Winter is Here\BP\LabVIEW Code\Check Intensity Range SubVI.vi



Ocean Optics 2000 4000.lvlib:Read Spectrum.vi

C:\Program Files\National Instruments\LabVIEW 2017\instr.lib\Ocean Optics 2000 4000\Public\Data\Read Spectrum.vi



Noise Filter SubVI.vi

D:\Dokumenty\Winter is Here\BP\LabVIEW Code\Noise Filter SubVI.vi



Set Default Parameters SubVI.vi

D:\Dokumenty\Winter is Here\BP\LabVIEW Code\Set Default Parameters SubVI.vi



Import SubVI.vi

D:\Dokumenty\Winter is Here\BP\LabVIEW Code\Import SubVI.vi