



UNIVERSIDADE D  
**COIMBRA**

Carlos Manuel Neves Nabais

**OTIMIZAÇÃO DE UM SISTEMA DE ESPECTROSCOPIA  
MICRO-RAMAN PORTÁTIL**

**Tese de mestrado em Mestrado Integrado em Engenharia Física, especialidade em  
Instrumentação**

Outubro de 2020



FCTUC FACULDADE DE CIÊNCIAS  
E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Carlos Manuel Neves Nabais

# **OTIMIZAÇÃO DE UM SISTEMA DE ESPECTROSCOPIA MICRO-RAMAN PORTÁTIL**

**Dissertação de mestrado em Mestrado Integrado em Engenharia Física,  
especialidade em Instrumentação, apresentada a Faculdade de Ciências e  
Tecnologia da Universidade de Coimbra, orientada pelo Professor Doutor Francisco  
Paulo de Sá Campos Gil**

Outubro de 2020

## Agradecimentos

O primeiro agradecimento ao meu orientador, Senhor Professor Doutor Francisco Gil, pelo esforço que fez em conseguir ajustar esta tese ao âmbito do mestrado em Instrumentação, pela disponibilidade no esclarecimento de todas as dúvidas que surgiram bem como no constante feedback dado. Agradecer também o facto de me inculcaram a vontade de desenvolver capacidades em áreas que até então não suscitavam grande interesse.

Ao Senhor Professor Doutor César Teixeira pela disponibilidade em esclarecer dúvidas relacionadas com programação.

À minha namorada, Dina Batista, um agradecimento muito especial pela capacidade de, não só me entender e ajudar, mesmo nas alturas de maior stress, mas também na revisão de textos e em dar sugestões para a melhoria da elaboração desta tese.

Aos meus amigos, Daniel Ferreira, Daniel Lopes e Manuel Soeiro, pelo apoio moral mesmo não estando por perto.

À minha família, pais, tias e tio que sempre estiveram presentes e apoiaram todas as minhas decisões mesmo em tempos em que não estava tão presente

À minha avó, Maria Teresa dos Santos, por toda a educação que me deu e por ter-me criado, um agradecimento muito especial.

Por último, ao meu avô, Carlos Faria das Neves, que infelizmente já não me pode ver formado, mas que teve uma grande influencia na minha educação.



Resumo:

O presente trabalho consiste na otimização de um sistema de espectroscopia micro-Raman portátil, em termos de *hardware* e de *software*.

O sistema existente utiliza um laser de luz verde, depende de um computador de bancada e a imagem obtida das amostras através do microscópio é observada num visor, sem a possibilidade de gravação das imagens. Além disso, o programa informático de obtenção dos espectros não é adequado, uma vez que apresenta a escala em comprimento de onda (nm) em vez de número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) e não permite nenhuma manipulação dos espectros obtidos.

Assim, adaptou-se o sistema a um novo laser vermelho, alterando o sistema de filtros na sonda do microscópio, ajustando o monocromador, orientando a rede de difração inclusa, e calibrando o *software* de aquisição de espectros, utilizando uma lâmpada calibrada de mercúrio.

Outra adaptação feita foi a ligação da câmara de observação das amostras no microscópio diretamente ao computador, de modo a ser possível registar as imagens das amostras e focar devidamente o microscópio.

Finalmente, foi elaborado um novo software para recolha dos espectros, alterar a escala espectral de comprimento de onda (em nm) para desvio Raman (em  $\text{cm}^{-1}$ ), e manipulação dos espectros, podendo-se agora subtrair a linha de base, comparar espectros entre si e fazer operações matemáticas entre espectros.

Palavras-chave: Otimização; espectroscopia; micro-Raman; adaptação; *software*



## Abstract

This work consists in the optimization of a portable micro-Raman spectroscopy system, in terms of hardware and software.

The existing system uses a green light laser, depends on a bench computer and the image obtained from the samples through the microscope is observed on a display, without the possibility of registering the images. In addition, the software for obtaining the spectra is not suitable, since it displays the scale in wavelength (nm) instead of wavelength number ( $\text{cm}^{-1}$ ) and does not allow any manipulation of the obtained spectra.

Therefore, the system was adapted to a new red laser by changing the filter system in the microscope probe, adjusting the monochromator, guiding the inclusive diffraction network, and calibrating the spectra acquisition software using a calibrated mercury lamp.

Another adjustment made was the connection of the observation camera of the samples in the microscope directly to the computer, so that it was possible to register the images of the samples and properly focus the microscope.

Finally, a new software was developed to collect the spectra, change the spectral scale from wavelength (in nm) to Raman deviation (in  $\text{cm}^{-1}$ ), and manipulate the spectra, which can now be subtracted from the baseline, compare spectra with each other and perform mathematical operations between spectra.

Keywords: Optimization; spectroscopy; micro-Raman; adaptation; *software*





## Lista de Figuras

Figura 1.1 – Esquemática da experiência de C. V. Raman (Adaptado de [1]) .....	1
Figura 1.2 – Transições relativas às difusões de Rayleigh, Stokes e Anti-Stokes (Adaptado de [5]) .....	3
Figura 1.3 - Simetria das linhas de intensidade de Stokes e Anti-Stokes relativamente à linha da difusão de Rayleigh.(Adaptado de [6]) .....	3
Figura 1.4 – Contração e distensão, simétricas, das ligações moleculares. Caso das moléculas de $O_2$ e $N_2$ (Adaptado de [8]) .....	4
Figura 1.5 – Modos Vibracionais de uma molécula. (Adaptado de [9]) .....	4
Figura 1.6 – Níveis vibracionais de uma molécula de água (Adaptado de [10]) .....	6
Figura 1.7 – Movimentos vibratórios do $CO_2$ e como estes afetam a sua polarizabilidade e o seu dipolo elétrico. a) Detetado pela espectroscopia Raman. b) e c) Detetados pela Absorção de Infravermelhos (Adaptado de [5]). .....	7
Figura 1.8 – Transições possíveis a partir das regras de seleção dependente das coordenadas rotacionais. (Adaptado de [13]) .....	8
Figura 2.1 – Esquema de todo o processo de aquisição de dados para Micro-Raman. (Adaptado de [15]) .....	10
Figura 2.2 – Esquemática do processo de aquisição de espectros Raman (Adaptado de [16]) .....	11
Figura 2.3 – Imagem do Laser obtida no laboratório.....	12
Figura 2.4 – Esquema típico da sonda (Adaptado de [16]) .....	12
Figura 2.5 – Gráfico de transmissão do filtro de interferência para o laser verde (Adaptado de [18]) .....	13
Figura 2.6 – Gráfico de transmissão do filtro edge para o laser verde (Adaptado de [19]) .....	14
Figura 2.7 – Gráfico de transmissão do filtro <i>edge</i> para o laser verde ampliado (Adaptado de [19]) .....	14
Figura 2.8 – Montagem da sonda no suporte de bancada.....	15
Figura 2.9 – Esquema do adaptador utilizado (Adaptado de [20]) .....	15
Figura 2.10 – Configuração das lentes (Adaptado de [20]) .....	15
Figura 2.11 – Imagem obtida do adaptador no laboratório .....	16
Figura 2.12 – Esquemática típica de um monocromador e difração sofrida pela luz (Adaptado de [21]) .....	16
Figura 2.13 – Monocromador MicroHR (Adaptado de [22]) .....	17
Figura 2.14 – Monocromador MicroHR montado no laboratório .....	18
Figura 2.15 – esquematização do funcionamento de um PDA (Adaptado de [23]) .....	18
Figura 2.16 – PDA Signature da Horibe Jobin Yvon .....	19
Figura 2.17 – a) pico de largura natural de uma luz monocromática. b) espectro obtido por um espectrómetro real de uma luz monocromática. (Adaptado de [24]) .....	20
Figura 4.1 – a) Espectro do pigmento Ultramarino experimental. b) Espectro da literatura do pigmento Lazurite. (Adaptado de [25]) .....	23
Figura 4.2 – a) Espectro do pigmento Amarelo de Cobalto experimental. b) Espectro da literatura do pigmento Amarelo de Cobalto. (Adaptado de [25]) .....	23
Figura 4.3 – a) Espectro do pigmento Vermelhão experimental. b) Espectro da literatura do pigmento Vermelhão. (Adaptado de [25]) .....	24
Figura 4.4 – a) Espectro do pigmento Hematite experimental. b) Espectro da literatura do pigmento Hematite. (Adaptado de [25]) .....	24

Figura 4.5 – a) Espectro do pigmento branco de Zinco experimental. b) Espectro da literatura do pigmento branco de Zinco (Adaptado de [25]) .....	25
Figura 4.6 – a) Espectro do pigmento branco de Calcite experimental. b) Espectro da literatura do pigmento branco de Calcite (Adaptado de [25]) .....	25
Figura 4.6 – LCD disponível para a focagem .....	26
Figura 4.7 – Cabo Din 8 pinos .....	27
Figura 4.8 – Circuito integrante do LCD .....	27
Figura 4.9 – Adaptador RCA para USB .....	28
Figura 4.10 – Feixe de luz laser a irradiar a mostra para posterior focagem .....	28
Figura 4.11 – Esquema para que seja possível a focagem da luz laser na amostra ...	29
Figura 4.12 – adaptação para tripé .....	29
Figura 4.13 – Sonda acoplada no tripé .....	30
Figura 4.14 – Laser <i>OXXIUS</i> e dissipador de calor .....	31
Figura 4.15 – Fonte de alimentação para o laser .....	31
Figura 4.16 – Influência do filtro no laser .....	32
Figura 4.17 – Esquematização da sobreposição das gamas de aceitação dos filtros de interferência e de <i>edge</i> (Adaptado de [26]) .....	32
Figura 4.18 – fluxograma ilustrativo do programa desenvolvido para sobreposição dos filtros .....	33
Figura 4.19 – Ampliação da sobreposição das gamas de aceitação dos filtros de interferência e de <i>edge</i> (Adaptado de [26]) .....	34
Figura 4.20 – Espectro de uma lâmpada calibrada de Mercúrio (Adaptado de [27]) ...	35
Figura 4.21 – Espectro de calibração com lâmpada de Mercúrio. Rede de difração na posição 250 nm .....	37
Figura 4.22 – Espectro de calibração com lâmpada de Mercúrio. Rede de difração na posição 300 nm .....	37
Figura 4.23 – Espectro de calibração com lâmpada de Mercúrio. Rede de difração na posição 400 nm .....	38
Figura 4.24 – Espectro de calibração com lâmpada de Mercúrio. Rede de difração na posição 500 nm .....	38
Figura 4.25 – Espectro de calibração com lâmpada de Mercúrio. Rede de difração na posição 600 nm .....	39
Figura 4.26 – Espectro de calibração com lâmpada de Mercúrio. Rede de difração na posição 700 nm .....	39
Figura 4.27 – Comparação dos espectros da substância ultramarino obtidos com o laser verde e laser vermelho .....	41
Figura 4.28 - Espectro do pigmento azul cerúleo .....	42
Figura 4.29 – Espectro do pigmento Lazurite .....	42
Figura 4.30 – Espectro do pigmento amarelo de cobalto .....	43
Figura 4.31 – Espectro do pigmento amarelo de crómio .....	43
Figura 4.32 – Espectro do pigmento amarelo chumbo e estanho .....	44
Figura 4.33 – Espectro do pigmento amarelo de óxido de chumbo .....	44
Figura 4.34 – Espectro de vermelhão obtido com o laser vermelho .....	45
Figura 4.35 – Espectro do pigmento vermelho de chumbo .....	46
Figura 4.36 – Espectro de pigmento calcite .....	46
Figura 4.37 – Espectro de Branco de gesso .....	47
Figura 4.38 – Espectro de branco de chumbo .....	47
Figura 4.39 – Espectro do branco de zinco .....	48
Figura 4.40 – Espectro de branco de titânio .....	48
Figura 4.41 – <i>Layout</i> do programa desenvolvido .....	50
Figura 4.42 – Conversão de comprimento de onda em o número de onda .....	50

Figura 4.43 – Fluxograma ilustrativo do funcionamento da primeira parte do <i>software</i>	51
Figura 4.44 – Análise e visualização gráfica dos resultados obtidos.....	52
Figura 4.45 – Fluxograma ilustrativo da segunda parte do <i>software</i> desenvolvido.....	53
Figura 4.46 – Espectro do pigmento ultramarino com laser verde e remoção da linha de base .....	54
Figura 4.47 – Espectro do pigmento amarelo de cobalto com laser verde e remoção da linha de base .....	54
Figura 4.48 – Espectro do pigmento branco de zinco com laser verde e remoção da linha de base .....	55
Figura 4.49 – Espectro do pigmento ultramarino com laser vermelho e remoção da linha de base .....	55
Figura 4.50 – Espectro do pigmento lazurite com laser vermelho e remoção da linha de base .....	56
Figura 4.51 – Imagem de uma amostra de lazurite depois da focagem.....	56
Figura 4.52 – Espectro do pigmento vermelhão com laser vermelho e remoção da linha de base .....	57
Figura 4.53 – Espectro do pigmento vermelho de chumbo com laser vermelho e remoção da linha de base .....	57
Figura 4.54 – Comparação dos espectros de ultramarino, linha azul corresponde ao laser verde e linha vermelha ao laser vermelho.....	58
Figura 4.55 – Espectros de amarelo de crómio com o laser verde(linha azul) e com o laser vermelho (linha vermelha).....	59
Figura 4.56 – Normalização dos espectros de amarelo de crómio.....	60
Figura 4.57 – Normalização, com escolha do pico, dos espectros de amarelo de crómio .....	60
Figura 4.58 – Comparação de espectros de branco de zinco e de vermelho de chumbo .....	61
Figura 4.59 – Subtração do espectro de vermelho de chumbo ao de branco de zinco	62
Figura 4.60 – Ampliação do <i>layout</i> de opções de gravação do <i>software</i> . .....	62



## **Lista de Tabelas**

Tabela 4.1 - Lista de substâncias puras analisadas e registradas para a base de dados, bem como a sua composição química.....	22
Tabela 4.2 - Relação entre o número do pixel e o comprimento de onda, correspondentes aos picos de intensidade luminosa da lâmpada de Mercúrio calibrada .....	36
Tabela 4.3 - Lista de substâncias puras analisadas e registradas para a base de dados, bem como a sua composição química.....	40



# Índice

Secção 1 - Raman .....	1
1.1 - Efeito Raman .....	1
1.2 – Espectroscopia Raman .....	1
1.2.1 – Difusão de Rayleigh e Fluorescência .....	2
1.2.2 – Difusão de Stokes e Anti-Stokes .....	2
1.3 – Modos Vibracionais .....	4
1.4 – Polarizabilidade .....	6
1.5 – Regras de seleção .....	8
1.6 – Absorção no Infravermelho .....	9
Secção 2 - Hardware.....	9
2.1 – Espectroscopia MicroRaman .....	9
2.1.1 – Hardware típico .....	9
2.1.2 – Esquematização do Hardware .....	10
2.2 – Componentes .....	11
2.2.1 – LASER.....	11
2.2.2 – Sonda.....	12
2.2.3 – Adaptador de alinhamento e de otimização.....	15
2.2.4 – Monocromador .....	16
2.2.5 – Photodiode Array (PDA) .....	18
2.2.6 – Resolução do espectrómetro.....	19
Secção 3 - Software .....	20
3.1 – Descrição .....	20
Secção 4 – Resultados .....	21
4.1 – Base de dados de substâncias puras, Laser verde ( <b>532 nm</b> ).....	21
4.2 – Portabilidade .....	26
4.2.1 – LCD .....	26
4.2.2 – Portabilidade da Sonda.....	29
4.3 – Adaptação do laser vermelho ao equipamento.....	30
4.3.1 – Necessidade e características do Laser vermelho.....	30
4.3.2 – Filtros.....	31
4.3.2 – Calibração .....	34
4.3.3 - Base de dados de substâncias puras, Laser vermelho ( <b>642 nm</b> ).....	40
4.4 – <i>Software</i> desenvolvido .....	49
4.4.1 – Necessidade.....	49
4.4.2 – Descrição do <i>software</i> .....	49

4.4.3 –Utilização do <i>software</i> na manipulação dos dados.....	50
Conclusão e melhorias futuras .....	63
Bibliografia .....	64





# Secção 1 - Raman

## 1.1 - Efeito Raman

Quando falamos da interação da radiação eletromagnética com a matéria, esta pode ocorrer de quatro formas: reflexão, absorção, transmissão ou difusão. Neste âmbito só nos irá interessar a difusão, visto que é no que o fenómeno Raman se baseia. Este fenómeno foi verificado experimentalmente em 1928 pelo físico Chandrasekhara Venkata Raman.

A experiência que C. V. Raman levou a cabo teve como fonte de luz a luz solar focada por um telescópio. Com um filtro adequado seleccionou a luz violeta de modo a que esta fosse a única radiação incidente sobre a amostra utilizada. Raman verificou que a maior parte da radiação que saía da amostra continuava a ser violeta, algo que era espectável pelas conclusões da difusão de Rayleigh, mas verificou também que havia uma pequena parte da radiação difundida que não era violeta. Mais uma vez com a utilização de um filtro adequado, verificou que se tratava da cor verde. Esta descoberta fez com que este fenómeno fosse denominado efeito Raman e provou que a interação inelástica da radiação eletromagnética com a matéria poderia levar a que as moléculas do material fossem excitadas a nível vibracional (fenómeno que iremos discutir futuramente) de modo a que quando houver uma desexcitação a radiação libertada é menos energética do que a incidente tendo como consequência a visualização da cor verde. Devemos salientar que no efeito Raman não existe absorção. Na espectroscopia Raman existe difusão inelástica, e não há uma transição de níveis, mas sim uma mudança vibracional da molécula [1]. A experiência encontra-se demonstrada da figura 1.1.

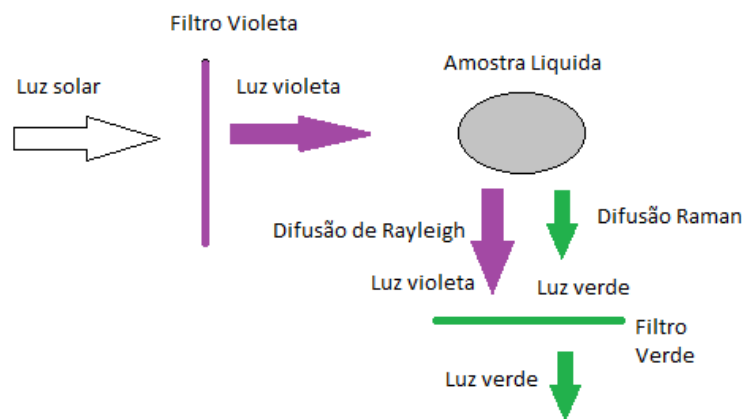


Figura 1.1 – Esquemática da experiência de C. V. Raman (Adaptado de [1])

Podemos afirmar que o efeito Raman é a base de trabalho para a espectroscopia Raman.

## 1.2 – Espectroscopia Raman

Usando luz monocromática é verificada a interação/difusão que esta tem com a matéria. Experimentalmente está comprovado que a maioria da luz difundida é do mesmo comprimento de onda, ou com uma variação quase desprezável, da luz incidente,

querendo com isto dizer que a interação é elástica. Em alguns casos, cerca de 0.0000001%, o comprimento de onda da luz emitida é diferente [2].

Para o método em questão interessa analisar o caso em que a luz emergente tem um comprimento de onda diferente da luz incidente.

De modo a compreendermos o fenómeno em causa temos de mencionar os modos vibracionais das moléculas, tema que iremos aprofundar na secção 1.3, os quais são únicos para cada molécula.

### **1.2.1 – Difusão de Rayleigh e Fluorescência**

A difusão de Rayleigh necessita de ser filtrada para que possamos analisar o que pretendemos. Na secção do equipamento utilizado no método é mencionado como filtrar esta difusão aquando da aquisição dos dados. O efeito de Fluorescência é um efeito concorrente, onde existe uma mudança de nível eletrónico por causa da possível elevada energia dos fotões incidente nas moléculas. Para que possamos minimizar ou eliminar este efeito iremos usar um laser com maior comprimento de onda e como tal menos energético. Existe uma outra forma de minimizar este efeito que consiste em aumentarmos o tempo de exposição da amostra ao feixe laser para que possamos saturar o efeito de fluorescência e consequentemente excluí-lo, mas há que se ter muito cuidado visto que quanto maior o tempo de exposição da amostra ao feixe laser maior o risco de danificar a amostra [3].

### **1.2.2 – Difusão de Stokes e Anti-Stokes**

Iniciamos agora a base do estudo da Espectroscopia Raman. Estes dois tipos de difusão são, como dito anteriormente, devidas a interações inelásticas da radiação com a matéria. Da difusão de Stokes resulta a libertação de fotões menos energéticos (ou com um maior comprimento de onda), já da difusão Anti-Stokes resultam fotões com maior energia (ou com menor comprimento de onda) [4].

Voltando a ter a luz emergente com comprimento de onda diferente em foco, ficou provado experimentalmente que duas situações acontecem. A primeira é quando a luz emergente é menos energética do que a incidente. Esta situação é conhecida como a difusão de Stokes. A segunda é quando a luz emergente é mais energética sendo esta situação conhecida como difusão Anti-Stokes.

O que distingue estas duas situações é que quando a matéria interage com a luz incidente as moléculas que constituem o alvo podem não estar todas no nível fundamental e como tal há comportamentos diferentes quando estas são excitadas e passam para níveis vibracionais virtuais. Na difusão de Stokes as moléculas estão no estado fundamental e com a interação destas com a luz incidente passam para os já mencionados níveis virtuais de excitação e ao desexcitarem não retornam para o nível fundamental permanecendo num estado excitado, resultando na libertação de fotões com energia menor.

Na difusão Anti-Stokes acontece o contrário do Stokes, ou seja, a molécula encontra-se num nível vibracional mais elevado e ao dar-se a interação com a luz incidente passa para um nível superior. Ao desexcitar volta ao estado fundamental, e como tal a energia libertada é superior em relação à incidente [4].

Na figura 1.2 podemos verificar, de forma esquematizada, o que foi mencionado relativamente aos três tipos de difusão.

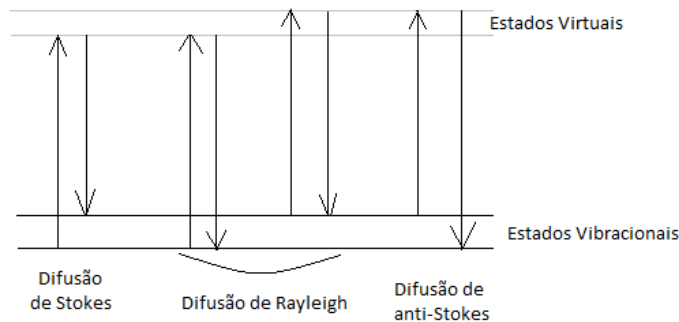


Figura 1.2 – Transições relativas às difusões de Rayleigh, Stokes e Anti-Stokes (Adaptado de [5])

As linhas de intensidade de Stokes e de Anti-Stokes estão simetricamente deslocadas da linha de Rayleigh. Esta simetria deve-se simplesmente à diferença de energia entre os fótons difundidos e os incidentes ser a mesma. No caso de Stokes o fóton perde energia porque parte da sua energia fica contida na molécula, resultando na permanência desta, não no estado fundamental, mas sim num estado vibracional superior. No caso de Anti-Stokes o fóton ganha energia depois da difusão. Isto acontece porque a molécula encontra-se num estado vibracional superior e dada a difusão existe uma transferência de energia para o fóton o que faz com que a molécula retorne para o estado fundamental. Nos dois casos a energia é a mesma. A difusão de Stokes tem uma probabilidade maior de acontecer visto que existe uma maior população de moléculas no estado fundamental do que em estados vibracionais excitados. Podemos confirmar o que foi dito pela figura 1.3.

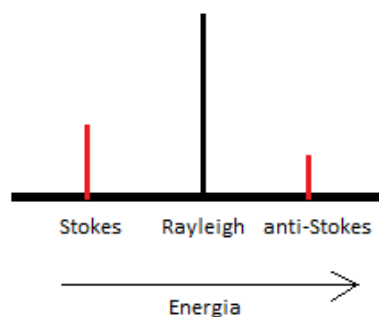


Figura 1.3 - Simetria das linhas de intensidade de Stokes e Anti-Stokes relativamente à linha da difusão de Rayleigh.(Adaptado de [6])

Estas linhas têm intensidades proporcionais a  $(n + 1)$  no caso da difusão de Stokes e  $n$  para Anti-Stokes, onde  $n$  representa a energia mencionada, das partículas emitidas.

A conclusão que tiramos da figura 1.3 é que a intensidade da difusão de Stokes é a mais intensa, excluindo a de Rayleigh, e como tal é aquela que é detetada e analisada na Espectroscopia Raman.

Existem, contudo, algumas aplicações em que são necessárias as aquisições das duas difusões. A mais usual é a determinação da temperatura através da razão entre as intensidades da difusão de Stokes e Anti-Stokes para o mesmo pico de Raman.

### 1.3 – Modos Vibracionais

Faz sentido fazer uma introdução aos modos vibracionais das moléculas e em como estes se alteram quando há interação com a radiação eletromagnética, de modo a que seja de mais fácil compreensão tudo o que está relacionado com as difusões de Stokes e Anti-Stokes referidas anteriormente.

Podemos caracterizar os movimentos das moléculas em 3 tipos: translação, rotação e vibração.

Ao separarmos as moléculas em diatómicas e poliatómicas podemos dizer que as primeiras só demonstram um tipo de movimento vibracional, enquanto as moléculas poliatómicas demonstram vibrações mais complexas. Estes movimentos vibratórios são conhecidos como modos normais e serão aprofundados mais a frente nesta secção [7].

Como exemplo podemos considerar a figura 1.4. Nesta está demonstrado o caso de modos vibracionais de moléculas diatómicas. Temos de ter em consideração a simetria das vibrações pois têm uma grande importância para o efeito Raman como será explicado na secção 1.4.

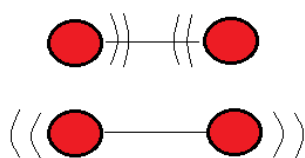


Figura 1.4 – Contração e distensão, simétricas, das ligações moleculares. Caso das moléculas de  $O_2$  e  $N_2$  (Adaptado de [8])

No caso das moléculas poliatómicas, estas possuem vibrações mais complexas como foi referido e estes tipos de vibrações podem ser observados na figura 1.5.

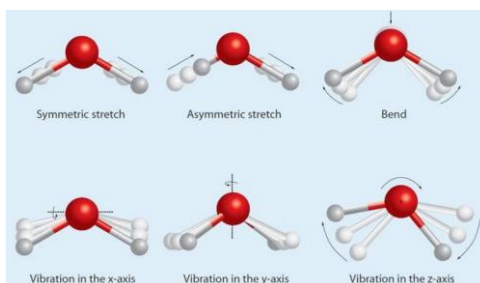


Figura 1.5 – Modos Vibracionais de uma molécula. (Adaptado de [9])

Estes modos vibracionais são característicos dos modelos de espectroscopia Raman e de Absorção no Infravermelho. As moléculas diatómicas simétricas, como  $O_2$  e  $N_2$ , apenas são observadas na espectroscopia Raman devido ao facto de na Absorção no Infravermelho terem de existir mudanças nos dipolos permanentes e como o tipo de

moléculas referidas não os possuem não são detetadas pela Absorção no Infravermelho. As únicas moléculas diatómicas que são detetadas pela Absorção no Infravermelho são as moléculas assimétricas, como por exemplo uma molécula de  $CN$ .

De modo a podermos analisar estas vibrações usamos um modelo físico, sendo o mais simples para o fazer o modelo de oscilador harmónico. Este modelo tem como base a proporcionalidade entre a força que se opõe ao desvio do núcleo relativamente a posição de equilíbrio e o valor desse desvio, ou seja, a força necessária para que o núcleo volte para a posição de equilíbrio é tanto maior quanto maior for o desvio do núcleo em relação à posição de equilíbrio.

Com este modelo podemos descrever os movimentos vibracionais dos núcleos como sendo uma sobreposição de movimentos periódicos em que cada um possui a sua frequência de oscilação. Todos os núcleos que constituem a molécula contribuem para o modo normal, mas nem todos da mesma forma, ou seja, uns contribuem mais significativamente enquanto outros têm uma contribuição quase nula ou desprezável. [10]

A linearidade também influencia os modos de vibração. Enquanto que para uma molécula linear existem  $3N - 5$  modos de vibração, para uma molécula não linear há  $3N - 6$ , sendo  $N$  o número de átomos ou iões que constituem a molécula, cada um deles considerado um oscilador harmónico. [7]

Para quantizarmos a energia de cada oscilador podemos usar a equação 1.1

$$E_{vib} = \left( n_v - \frac{1}{2} \right) h\nu \quad (1.1)$$

Onde  $h$  corresponde à constante de Planck e  $\nu$  é a frequência do modo normal. Observando o número quântico vibracional,  $n_v$ , este toma valores inteiros (0, 1, 2, ...) e a sua degenerescência é unitária para todos os seus valores.

Se a este modelo aplicarmos uma distribuição de Boltzmann verificamos que com o aumento de  $\nu$  iremos ter uma diminuição de população em cada aumento de nível, tendo sempre em consideração que a temperatura não varia pois caso contrário esta conclusão pode não ser válida.

Para fazer a ligação entre a constante de força, que relaciona a força de oposição ao desvio da posição de equilíbrio e o desvio nuclear, e a frequência do oscilador temos a equação 1.2

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (1.2)$$

Onde  $k$  é a constante de força e  $\mu$  a massa reduzida.

Podemos assim concluir que quanto maior for essa constante de força maior vai ser a frequência do oscilador.

Os níveis vibracionais são caracterizados indicando os números quânticos vibracionais de cada modo normal constituinte da molécula.

Usando a molécula de água,  $H_2O$ , como exemplo, verificamos na figura 1.6 a divisão dos níveis vibracionais e podemos concluir que numa molécula poliatómica, com grande número de osciladores, a energia vibracional pode ser muito expressiva e que a densidade de estados também aumenta claramente com a energia vibracional total.

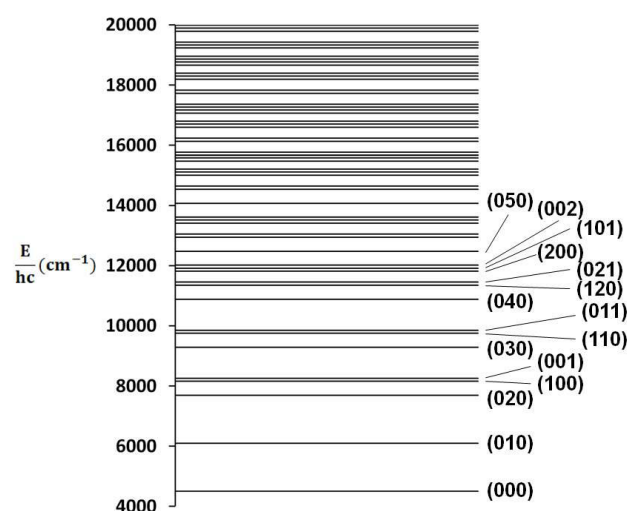


Figura 1.6 – Níveis vibracionais de uma molécula de água (Adaptado de [10])

Os números que visualizamos dizem respeito ao nível vibracional de cada átomo constituinte da molécula, ou seja, para o caso dos números (000) significa que a molécula se encontra no nível fundamental. No caso dos números (010) significa que a molécula se encontra num nível excitado. [10]

Temos sempre de ter em atenção à energia das transições de níveis vibracionais. Se a energia for muito elevada, pode haver transições eletrónicas, revertendo em fluorescência. Se for menor, pode haver absorção vibracional e/ou difusão. Para haver absorção vibracional (terá de ser no infravermelho), a condição é que haja alteração do momento dipolar elétrico. Para haver difusão inelástica (pode ser luz visível ou infravermelha), a condição é que haja variação da polarizabilidade. Na Secção 1.4 falaremos do que é a polarizabilidade bem como esta define se os modos vibracionais são Raman ativos ou Absorção no Infravermelho ativos.

## 1.4 – Polarizabilidade

Podemos definir polarizabilidade como a afinidade que uma molécula tem de adquirir um momento dipolar elétrico quando sujeita a um campo elétrico. De uma maneira mais simples podemos referir-nos a polarizabilidade como a facilidade de alterar a disposição original dos eletrões numa molécula.

A polarizabilidade de uma molécula diminui com o aumento da densidade eletrónica, com o aumento das forças de ligação e com a diminuição do tamanho das ligações. Para o primeiro caso podemos fazer a analogia com uma garrafa com água, se a garrafa estiver com água até meio, podemos movê-la que a água desliza de um lado para o outro dentro da garrafa. Caso a garrafa esteja completamente cheia não conseguimos ver movimento na água. [11] O mesmo acontece no caso dos eletrões, quantos mais houver mais difícil será de os mover dificultando a alteração da polarizabilidade. No segundo caso, quanto mais forte for a ligação mais difícil será movimentarmos a molécula, ou seja, teremos de fornecer muito mais energia para que a consigamos mover. No último caso, sendo a ligação curta existirão muito mais forças de resistência quer dos núcleos envolvidos quer dos eletrões de cada átomo por isso teremos

novamente de fornecer muito mais energia para que haja alteração do estado original. [12]

Para que seja de mais fácil compreensão será pertinente darmos exemplos das situações em que há mudança na polarizabilidade e conseqüentemente casos de estudo para a Espectroscopia Raman. Na figura 1.7 há um caso onde há mudança de polarizabilidade e dois outros em que não se dá a mudança da mesma, mas sim têm uma mudança de dipolo elétrico. Neste exemplo usamos a molécula de dióxido de carbono.

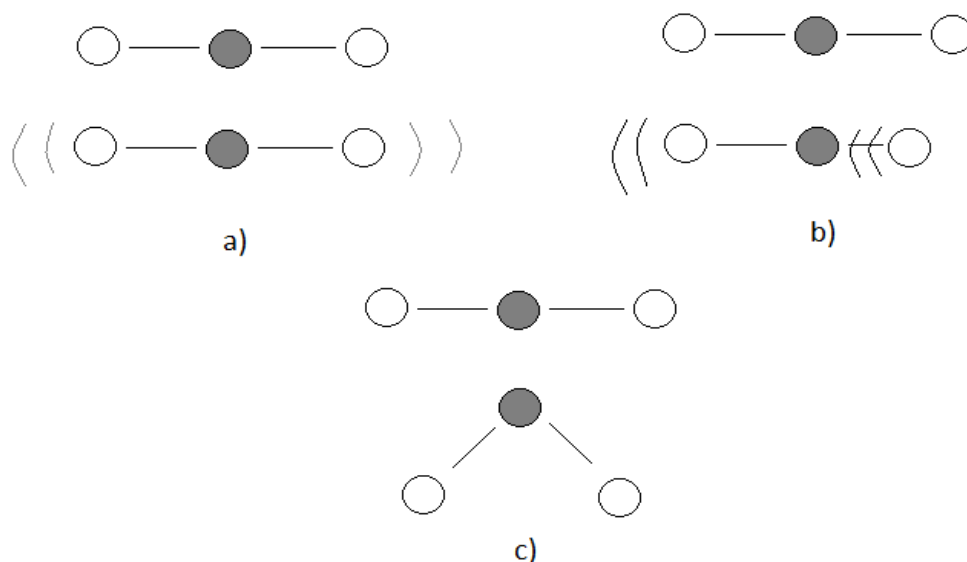


Figura 1.7 – Movimentos vibratórios do CO<sub>2</sub> e como estes afetam a sua polarizabilidade e o seu dipolo elétrico. a) Detetado pela espectroscopia Raman. b) e c) Detetados pela Absorção de Infravermelhos (Adaptado de [5]).

Na figura a) as ligações estão a ser esticadas simetricamente, ou seja, cada átomo de oxigênio está a afastar-se do átomo central de carbono e como tal dá-se uma mudança na polarizabilidade da molécula. Este efeito é detetado pela espectroscopia Raman, mas não pela Absorção no Infravermelho, visto que para ser detetado por esta última teria de haver uma mudança no momento dipolar elétrico, algo que não acontece. Na figura b) a ligação de um dos átomos de oxigênio está a ser esticada, afasta-se, enquanto que a do outro está a ser comprimida. Neste caso a facilidade na polarizabilidade do átomo que se afasta está a ser contrariada com a dificuldade do que se aproxima e como tal não há variação de polarizabilidade mas sim do momento dipolar elétrico. Por fim na figura c) a curvatura que está a acontecer com os dois átomos de oxigênio não altera a distância de ligação ao carbono e como tal a polarizabilidade mantém-se apenas alterando mais uma vez o momento dipolar elétrico. Estes dois últimos casos não são possíveis de se detetar na espectroscopia Raman mas são pela Espectroscopia de Absorção no Infravermelho.

De modo a quantizarmos a polarizabilidade podemos ter em atenção a relação entre o momento dipolar elétrico e a polarizabilidade descrita a partir da equação 1.3,

$$\mu_{ind} = \alpha E \quad (1.3)$$



Onde  $E$  é a intensidade de campo elétrico,  $\alpha$  a polarizabilidade e  $\mu_{ind}$  o momento dipolar elétrico induzido. [12]

### 1.5 – Regras de seleção

Neste momento temos capacidade de referir as regras de seleção que têm de ser seguidas para que se dêem as transições de nível na espectroscopia Raman. Como foi referido anteriormente para a espectroscopia Raman existe uma dependência tanto das coordenadas rotacionais como das vibracionais o que significa que as regras de seleção têm de ter em conta essas dependências.

No que diz respeito à dependência rotacional, temos que quando uma molécula gira a polarizabilidade desta em relação ao campo elétrico é alterada e tem como consequências a modelação do dipolo elétrico induzido devido a essa rotação e a capacidade de transitar de nível rotacional.

Posto isto, temos que a regra de seleção aplicada neste caso é  $\Delta J = 0, \pm 2$ , onde  $\Delta J = 0$  corresponde à difusão de Rayleigh,  $\Delta J = +2$  a Stokes e  $\Delta J = -2$  a Anti-Stokes. Podemos ver essas transições na figura 1.8 que se segue.

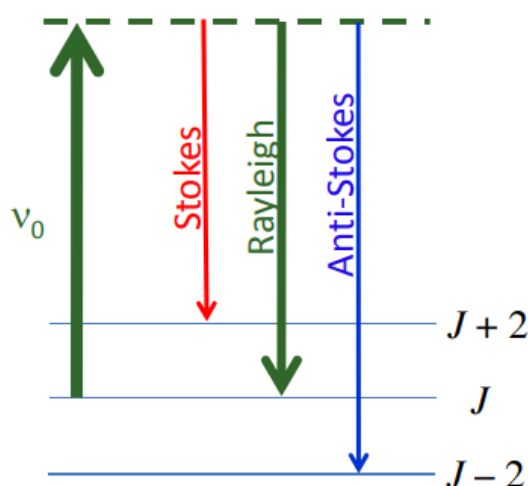


Figura 1.8 – Transições possíveis a partir das regras de seleção dependente das coordenadas rotacionais. (Adaptado de [13])

Estas transições rotacionais são difíceis ou mesmo impossíveis de detetar com o equipamento que é usado nesta tese. Devido a uma muito pequena diferença de energia relativamente à linha de difusão elástica, para que fosse possível a sua deteção seria necessário outro tipo de dispositivos ou então outras condições em que fossem realçadas difusões quase elásticas.

Quanto à dependência vibracional temos que a regra de seleção fundamental é a necessidade de mudança de polarizabilidade, ou seja,  $\frac{d\alpha}{dq} \neq 0$ . Resumindo, o modo normal tem de seguir a simetria demonstrada nas equações quadráticas, quando estas são transformadas.

Para moléculas diatómicas a regra de seleção é  $\Delta v = \pm 1$  sendo  $+1$  para Stokes e  $-1$  para Anti-Stokes. [13]

No caso de moléculas poliatómicas há que avaliar cada modo normal e verificar se a regra de seleção fundamental é cumprida.

## **1.6 – Absorção no Infravermelho**

Tal como foi referido no início iremos introduzir a Absorção no Infravermelho de modo a termos um outro método, para que possamos comparar e verificar como estes se podem complementar. Não estará em causa saber qual o método mais adequado visto que como referimos estes complementam-se e otimizam a análise de resultados.

Tal como o nome indica este método utiliza a região do infravermelho do espectro eletromagnético. A primeira diferença entre este e o Raman começa no modo de funcionamento. Enquanto que o Raman funciona através da deteção das difusões inelásticas da luz quando esta interage com a amostra, a Absorção no Infravermelho opera através da medição da quantidade de energia absorvida pela molécula.

Outra diferença é que para que haja uma transição detetável a molécula tem de sofrer uma mudança no momento dipolar elétrico, enquanto que no Raman tem de haver uma mudança posicional tanto da polarizabilidade como na nuvem eletrónica. [14]

Existem diversas vantagens e desvantagens que um método tem em relação ao outro, mas importa salientar que ao usarmos os dois métodos podemos obter resultados otimizados, pois como referido anteriormente os dois métodos complementam-se.

Nesta tese não vai ser usada a Absorção no Infravermelho, mas foi feita uma adaptação da Espectroscopia Raman disponível, usando um laser verde, para o uso de um laser de 642 *nm* de modo a podermos verificar picos de substâncias que de outra forma só com a Absorção no Infravermelhos poderíamos visualizar. Serão necessárias alterações a nível de filtros e da rede de difração para a obtenção de espectros coerentes com a literatura.

## **Secção 2 - Hardware**

### **2.1 – Espectroscopia MicroRaman**

Depois de tudo o que foi mencionado podemos agora entrar no verdadeiro método de aquisição que foi utilizado nesta tese, a espectroscopia MicroRaman. Este método é uma variação do método Raman, que foi descrito aqui e é constituído por um espectrómetro Raman integrado com um microscópio ótico. Ao usar este design experimental podemos adquirir espectros Raman de amostras microscópicas ou analisar áreas microscópicas de grandes amostras tendo assim acesso a detalhes que podem escapar ao usarmos o método tradicional da Espectroscopia Raman.

#### **2.1.1 – Hardware típico**

O espectrómetro MicroRaman é um instrumento integrado com o propósito de adquirir e analisar espectros Raman.

O design básico deste hardware permite a utilização de lasers de vários comprimentos de onda consoante o que o utilizador pretende adquirir e analisar de uma certa amostra. De modo a que a luz seja conduzida para o seguinte componente relevante de mencionar, a sonda, é usada uma fibra ótica com acoplamento apropriado ao laser. Passando agora para a sonda, estão contidos filtros e espelhos, essenciais para a otimização do feixe e para que possamos conduzir a luz pelo caminho pretendido. Estes filtros e espelhos estão colocados antes e depois do microscópio, necessário para a

espectroscopia MicroRaman, de modo a que a luz proveniente da amostra, depois de irradiada pela luz laser e recolhida pela objetiva, seja novamente filtrada e reencaminhada para a fibra ótica.

O microscópio mencionado não é mais que um conjunto de lentes e espelhos que permitem a ampliação de objetos microscópicos ou de áreas de objetos maiores, revelando detalhes que a “olho nu” são impossíveis de detetar. O objeto ou a área é irradiada pelo feixe laser através da objetiva que posteriormente recolhe a difusão Raman emanada da amostra. A luz captada pela objetiva é depois filtrada e reencaminhada para análise pelo espectrómetro Raman.

Ao entrar no dispositivo, a luz proveniente da amostra, é dividida nas várias “frequências de Stokes”, por uma rede de difração, que são únicas para cada molécula e como tal podem ser descritas como as “impressões digitais” de cada uma, por uma rede de difração. Posto isto, a luz difratada incide num *array* linear de detetores CCD (Charge Coupled Device) para avaliação e medição da intensidade luminosa de cada frequência incidente.

Por fim as leituras feitas pelo *array* de CCD são transferidas para um computador que faz um *display* gráfico da intensidade de luz difundida em função do desvio, em número de onda, do feixe incidente. [15]

Na figura 2.1 podemos ver esquematicamente o que foi mencionado até aqui acerca do processo de aquisição bem como os dispositivos que compõem o método.

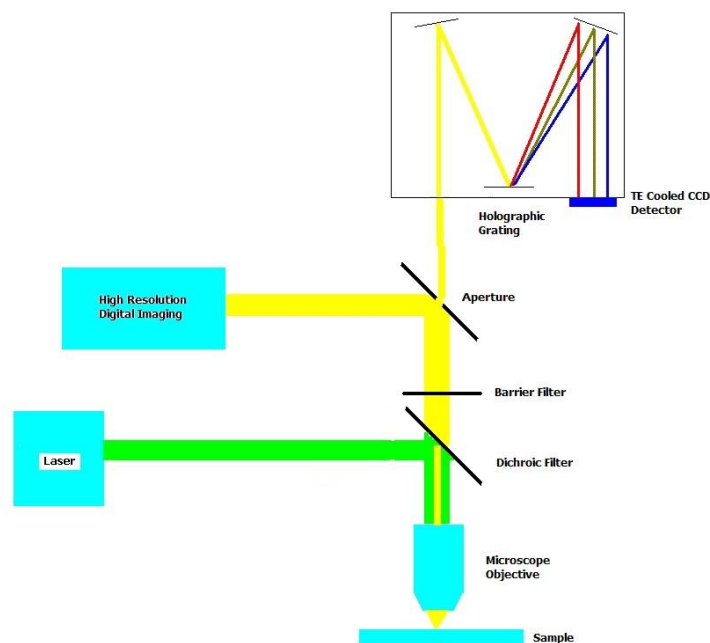


Figura 2.1 – Esquema de todo o processo de aquisição de dados para Micro-Raman. (Adaptado de [15])

### 2.1.2 – Esquematização do Hardware

Nesta secção iremos esquematizar o hardware utilizado para a recolha dos dados necessários.

Na secção 2.1.1 foi abordada uma esquematização genérica do hardware utilizado para obtenção de espectros Raman. A essência mantém-se a mesma do que já foi mencionado, mas por necessidade foram alterados/adicionados componentes.

Na imagem 2.2 temos uma esquematização do processo de aquisição dos espectros Raman que utilizamos nesta tese.

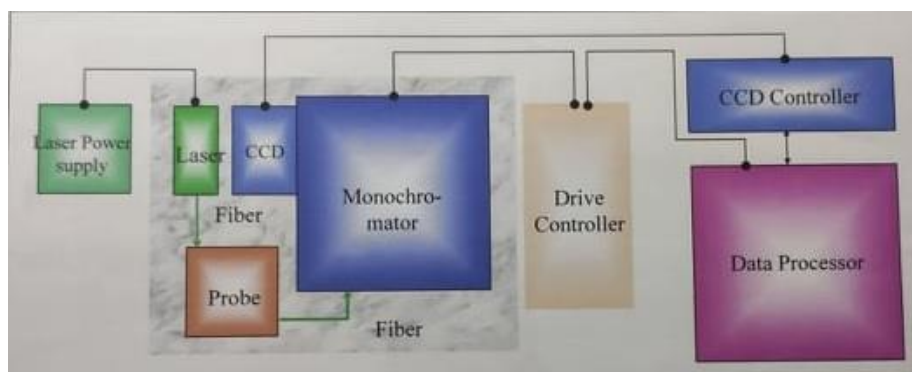


Figura 2.2 – Esquematização do processo de aquisição de espectros Raman (Adaptado de [16])

Neste esquema é demonstrado de uma forma mais detalhada o percurso da luz desde o laser até ao processamento dos dados obtidos por parte do software utilizado. Tal como exemplificado na secção 1.6.1 a luz proveniente do laser entra na sonda onde encontra um primeiro filtro (os filtros serão discutidos na secção 2.2.2), passa banda, chegando depois à amostra. Depois da amostra ser irradiada e de se dar a difusão, esta luz reentra na sonda e é redirecionada para outro filtro. Este filtro é passa alto e tal como o primeiro vai ser discutido mais aprofundadamente na secção 2.2.2.

Ao passar pelo último filtro o feixe de luz entra novamente numa fibra ótica que o encaminha até a um adaptador constituído por duas lentes, de modo a alinhar e otimizar o feixe antes deste entrar no monocromador. Este feixe é difratado nos vários comprimentos de onda de uma banda de comprimentos previamente seleccionadas.

Posto isto, a intensidade de luz de cada comprimento de onda é detetada por um *array* linear de fotodíodos, PDA's (não com CCD's (*Charge.Coupled Device*) como esta no esquema). Estas intensidades são depois enviadas para o software de aquisição.

## 2.2 – Componentes

Depois de realçar a forma como é feita a aquisição dos dados podemos passar à descrição mais detalhada de cada um dos componentes utilizados

### 2.2.1 – LASER

Em geral, os lasers emitem luz coerente, proveniente de transições estimuladas e seleccionadas e ampliadas na cavidade ótica. Contudo, além desta radiação, é também possível que haja transmissão de luz não coerente, proveniente de transições espontâneas. De modo a que só incida na amostra luz monocromática coerente, é necessário usar um filtro de interferência passa banda. Esse filtro é colocado imediatamente depois da luz do laser entrar na sonda que leva a luz à amostra a ser

estudada. Na secção 2.2.2 mencionamos que o filtro de entrada é usado para minimizar ao máximo este efeito.

O LASER utilizado nesta tese foi o laser DPGL-2100 da II-VI Suwtech. Este laser é de estado sólido e emite luz com um comprimento de onda de  $532 \pm 1 \text{ nm}$ . Opera a uma temperatura que varia entre os  $0^\circ$  e os  $40^\circ \text{ C}$ , com uma tensão de trabalho de  $2,2 \pm 0,3\text{V}$  e uma potencia de saída que varia entre os  $90 \text{ mW}$  e os  $110 \text{ mW}$ . [17]

Na figura 2.3 podemos ver o Laser referido.



Figura 2.3 – Imagem do Laser obtida no laboratório

## 2.2.2 – Sonda

A ligação entre o laser e a sonda é feita por uma fibra ótica de modo que a transmissão da luz laser seja feita nas melhores condições possíveis. Para tal e como podemos ver na figura 2.3 usamos uma fibra ótica com um acoplador próprio. Seguindo o esquema da secção 2.1.2, depois do Laser temos a sonda. A sonda é constituída por vários componentes como podemos verificar na figura 2.4.

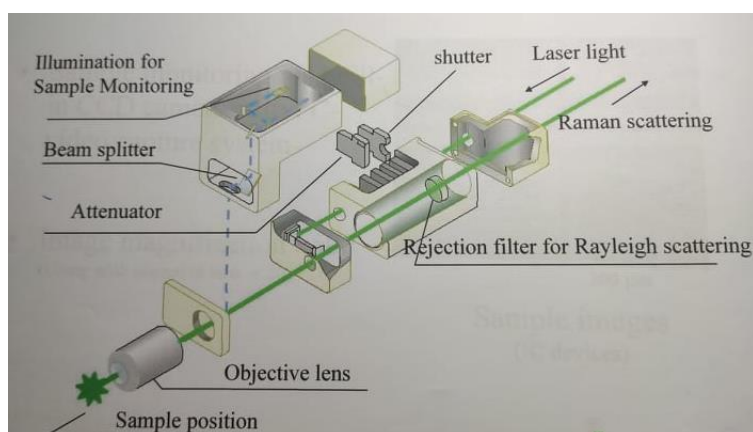


Figura 2.4 – Esquema típico da sonda (Adaptado de [16])

Se seguirmos a trajetória da luz o primeiro componente que tem interesse mencionar é o filtro de interferência, passa banda, que tem como função principal a rejeição, ou minimização, da entrada de qualquer comprimento de onda sem ser o que vem do Laser, com a devida gama de aceitação. Como foi mencionado na secção 2.2.1 existe também o fenómeno da radiação de plasma que se não for devidamente filtrado pode introduzir erros na aquisição de dados, comprometendo assim a fiabilidade do mesmo.

O filtro de interferência é de extrema importância para que consigamos a otimização do feixe de luz laser tentando fazer com que a luz laser que incide na amostra seja o mais monocromática possível. Ao usarmos este componente estamos a salvaguardar ao máximo que apenas a luz laser irradia a amostra. Poderíamos usar um monocromador acoplado à entrada da sonda de modo a que usando a rede de difração pudéssemos chegar ao mesmo resultado. Esta solução é mais dispendiosa e de mais difícil implementação do que usar filtros.

Na figura 2.5 temos o gráfico de transmissão disponibilizado pela marca IRIDIAN para este filtro de interferência.

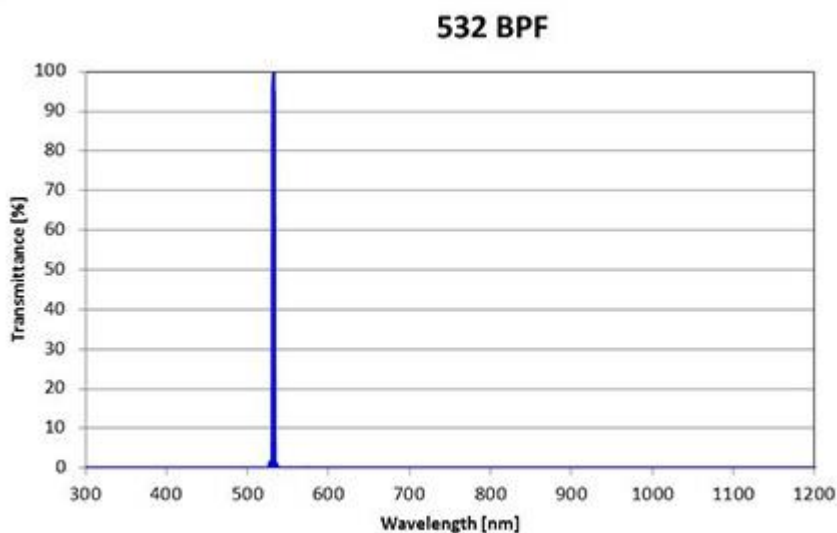


Figura 2.5 – Gráfico de transmissão do filtro de interferência para o laser verde (Adaptado de [18])

Fica um pouco difícil ver a gama de transmissão com este gráfico, mas a marca não disponibiliza os valores. Seria interessante saber quais seriam para fazermos uma sobreposição como o gráfico do filtro de transmissão para podermos ver se existe alguma sobreposição dos dois e qual seria a taxa de transmissão nessa sobreposição. Será feito esse estudo para os filtros do laser vermelho na secção 4.3.2.

O próximo componente de relevância é a câmara acoplada à sonda. Esta está ligada a um LCD de modo a que seja possível a otimização da focagem do laser em relação à amostra. Para que haja essa focagem é feita uma iluminação da amostra por uma luz branca de modo a sinalizar e focar a zona da amostra que pretendemos irradiar com a luz laser. Como estamos a trabalhar com dimensões microscópicas é necessária esta ampliação no LCD para que possamos aprimorar o processo.

Após este processo irradiamos a amostra com a luz laser e dá-se o fenómeno Raman que é novamente capturado pela sonda. A luz emitida pela amostra é redirecionada por um trajeto diferente da luz de entrada através da utilização de espelhos refletores. Neste novo trajeto irá encontrar o último componente significativo de mencionar da sonda, um filtro *edge* ou passa alto. Este filtro tem como função a minimização, ou preferencialmente a remoção, do efeito da difusão de Rayleigh. Assim como mencionamos para o filtro de entrada também neste caso poderíamos usar um monocromador para o mesmo fim. Na figura 2.6 temos o gráfico de transmissão do filtro *edge* da Semrock e na figura 2.7 temos a sua ampliação para que possamos ver que o *step* tem uma inclinação.

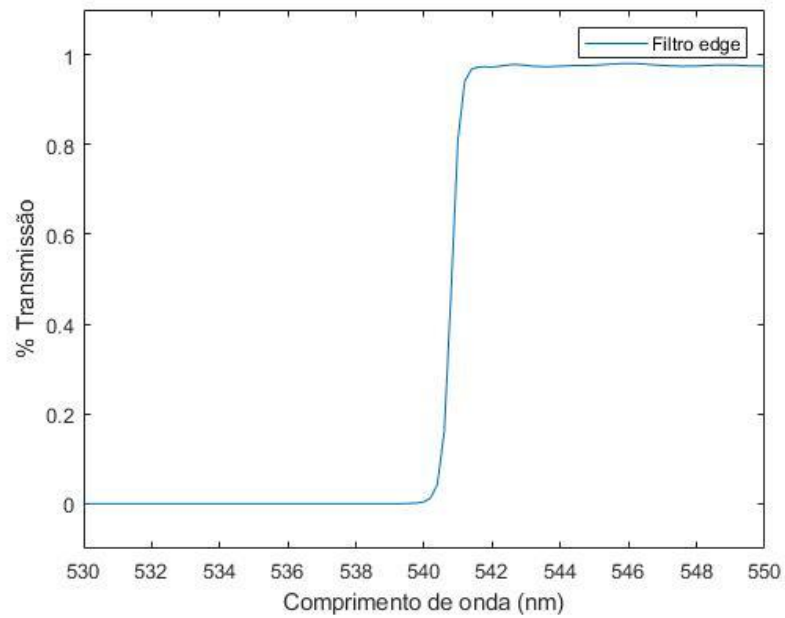


Figura 2.6 – Gráfico de transmissão do filtro edge para o laser verde (Adaptado de [19])

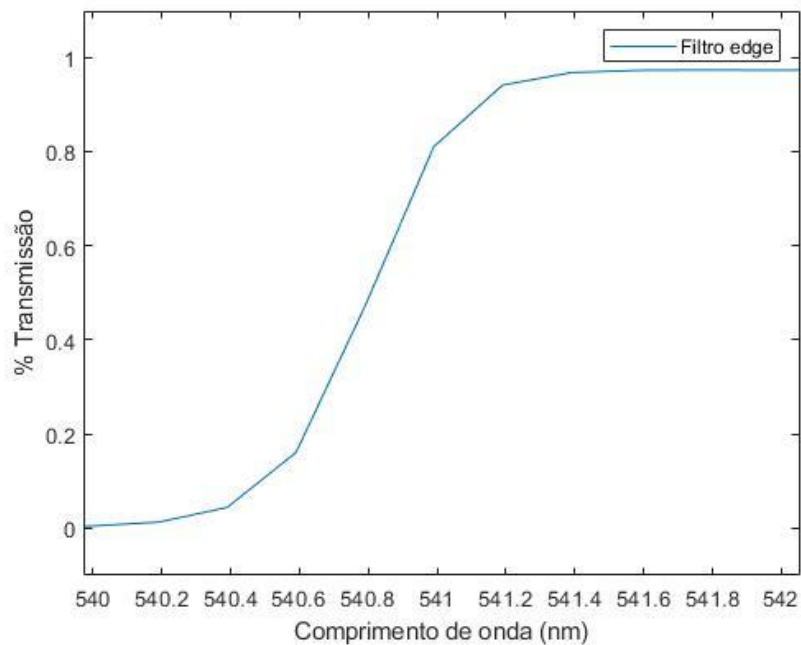


Figura 2.7 – Gráfico de transmissão do filtro *edge* para o laser verde ampliado (Adaptado de [19])



Na figura 2.8 podemos ver a sonda colocada no suporte de bancada de modo a poder analisar amostras.

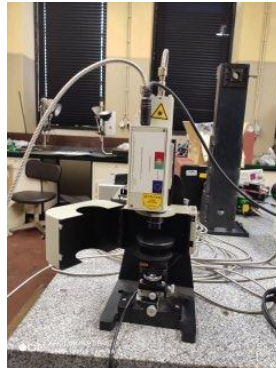


Figura 2.8 – Montagem da sonda no suporte de bancada

### 2.2.3 – Adaptador de alinhamento e de otimização

Este adaptador é utilizado para que possamos ter a maior quantidade de luz possível, proveniente da saída da fibra ótica, à chegada da entrada do monocromador. Para que tal aconteça temos de ter as lentes dispostas no adaptador da maneira que vemos na figura 2.9, de modo a otimizar e maximizar a entrada da luz no monocromador.

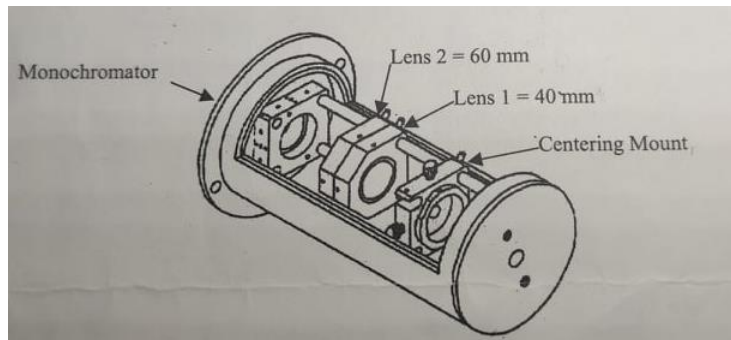


Figura 2.9 – Esquema do adaptador utilizado

Na figura 2.10 vemos a configuração que as lentes têm de ter para que seja atingido o efeito pretendido

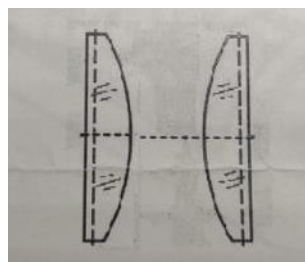


Figura 2.10 – Configuração das lentes

A luz à saída da fibra ótica diverge e por isso esta configuração de duas lentes é necessária para que a luz convirja para a fenda de entrada do monocromador. A primeira lente serve para tornar o feixe divergente incidente num feixe de raios paralelos.



A segunda lente serve para fazer com que estes feixes converjam para a entrada do monocromador como pretendido.

Na figura 2.11 temos o adaptador já acoplado ao monocromador no laboratório.

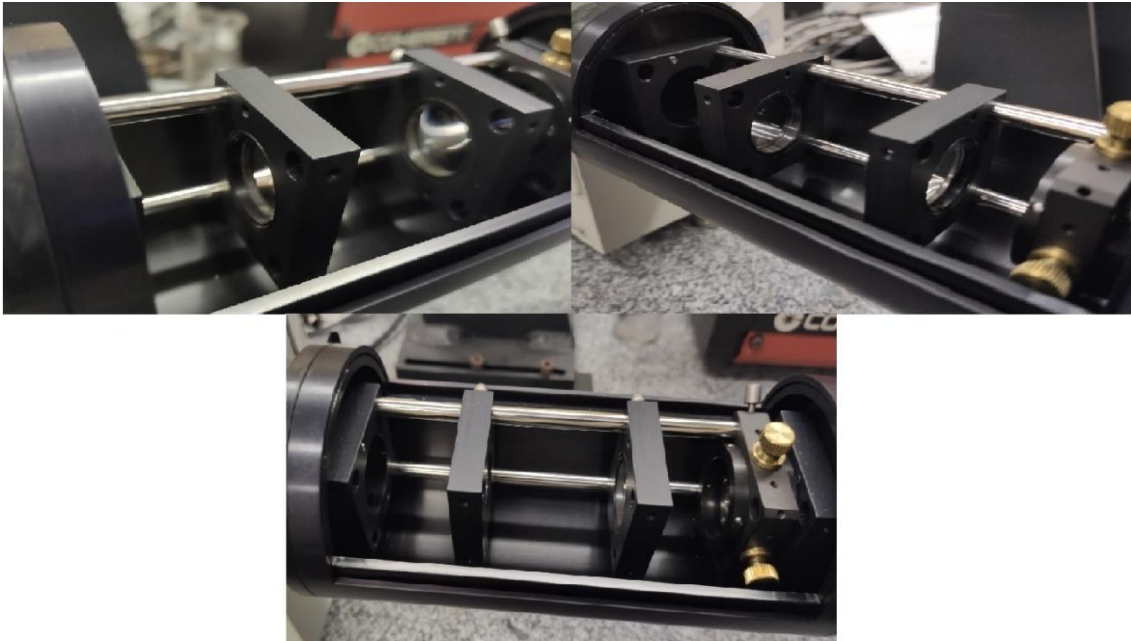


Figura 2.11 – Imagem obtida do adaptador no laboratório

#### 2.2.4 – Monocromador

Um monocromador é um dispositivo ótico constituído por um conjunto de espelhos e uma rede de difração de modo a separar a luz na gama de comprimentos de onda pretendidas.

Na figura 2.12 podemos ver uma esquematização típica de um monocromador.

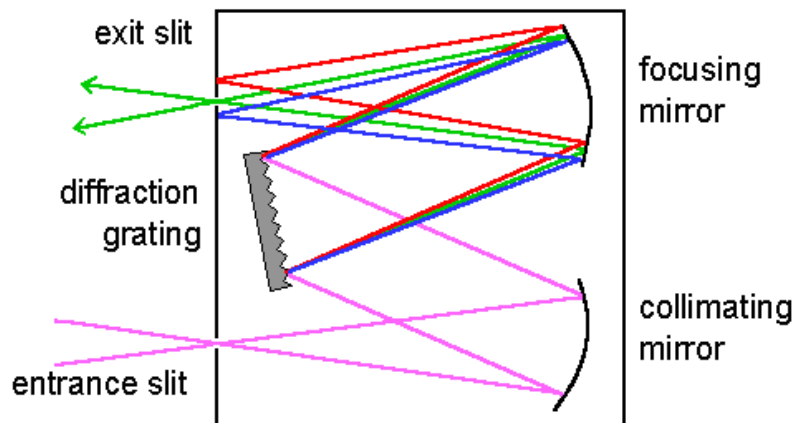


Figura 2.12 – Esquematização típica de um monocromador e difração sofrida pela luz (Adaptado de [20])

Como podemos ver pela figura a luz ao entrar no monocromador reflete num espelho colimador. Este tem como função refletir o feixe incidente sem divergências, ou seja, os raios emergentes do colimador são paralelos entre si e como tal maximizamos a quantidade de luz que chega à rede de difração.

Como já foi mencionado a rede de difração é configurada para decompor a luz, refletida no espelho colimador, numa gama de comprimentos de onda que nos indica que tipo de substâncias possam estar presentes na amostra.

Depois de decomposição da luz na gama de comprimentos de onda pretendidos, o feixe de luz encontra outro espelho. Este tem com finalidade a reflexão e convergência dos raios luminosos difratados pela rede, de modo a que estes cheguem focados à saída do monocromador. [20]

O monocromador usado nesta tese é um MicroHR da Horiba Jobin Yvon. Este monocromador tem um componente extra relativamente ao esquema apresentado na figura 2.12.

Na figura 2.13 podemos ver esse componente bem como a configuração do monocromador mencionado.

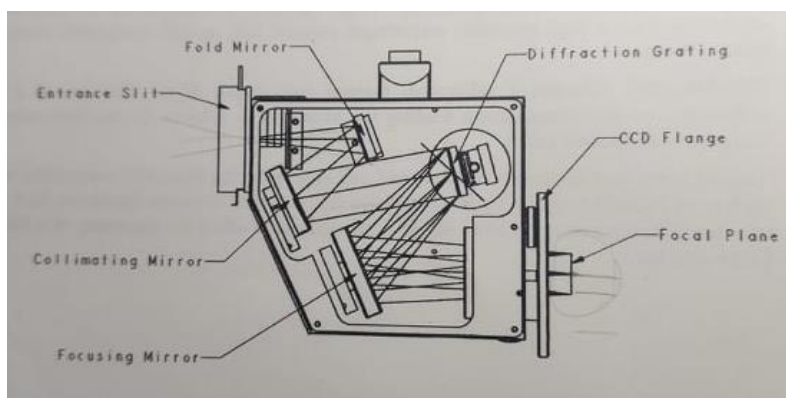


Figura 2.13 – Monocromador MicroHR (Adaptado de [21])

Podemos ver que há a adição de mais um componente ótico, ou seja, um *fold mirror*, que tem como função aumentar o caminho ótico de modo a haver uma melhor linearização do feixe de luz. Isto traz uma melhor performance ao monocromador a nível da resolução.

Na figura 4.14 temos a imagem do monocromador montado no laboratório.



Figura 2.14 – Monocromador MicroHR montado no laboratório

### 2.2.5 – Photodiode Array (PDA)

Um fotodíodo é um dispositivo semicondutor que transforma um sinal luminoso numa corrente elétrica. Esta corrente elétrica é gerada quando se dá a absorção de fótons.

Ao colocarmos uma série destes dispositivos numa placa de circuito impresso obtemos um *array* de fotodíodos, PDAs. Estes PDAs são colocados no plano da imagem do espectrómetro de modo a que este detete uma gama de comprimentos e onda de forma simultânea. [23]

O princípio de funcionamento de um PDA é o mesmo do de um detetor fotovoltaico. Na figura 2.15 podemos ver esquematicamente o que ocorre quando a luz incide num PDA.

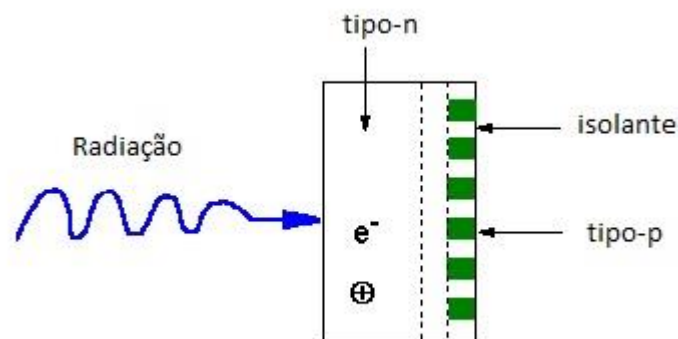


Figura 2.15 – esquematização do funcionamento de um PDA (Adaptado de [22])

Como está descrito na figura, quando há uma incidência de radiação luminosa no PDA dá-se a criação de pares eletrão-lacuna e os eletrões criados tendem a migrar para a junção P-I-N mais próxima. Este tipo de dispositivo tem um tempo de integração fixo, que findo faz com que seja lida a carga acumulada em cada elemento, *pixel*. Esta leitura é feita de maneira sequencial de modo a gerar uma resposta do detetor em função da

posição do *pixel* ao longo do *array*. Os PDAs estão disponíveis em 512, 1024 e 2048 *pixels*, com dimensões típicas de  $25\ \mu\text{m} \times 1 - 2\ \text{mm}$ .

Nesta tese é utilizado um Sygnature-PDA da Horiba Jobin Yvon com 1024 *pixels*, com dimensões de  $25 \times 500\ \mu\text{m}$  e com uma gama espectral de funcionamento entre o  $200\ \text{nm}$  e os  $1100\ \text{nm}$ . Este PDA tem uma fotossensibilidade máxima de  $0.24\ \text{A/W}$  por volta dos  $600\ \text{nm}$  de comprimento de onda [23]. Na figura 2.16 podemos ver o detetor usado.



Figura 2.16 – PDA Sygnature da Horibe Jobin Yvon

Este dispositivo podia ser substituído por um CCD, ou por um Fotomultiplicador, fazendo com que a deteção fosse mais sensível, mas pela diferença de preço e pelas adaptações que teriam de ser feitas tanto no monocromador como na aquisição dos dados, não é rentável nem necessário.

### **2.2.6 – Resolução do espectrómetro**

Como sabemos, nenhum espectrómetro tem uma resolução que possamos dizer perfeita, ou seja, no espectro obtemos uma linha com largura finita a simbolizar um pico. Na figura 2.17 a) podemos ver o perfil de um pico de largura finita e em b) um perfil de um pico real obtido com um espectrómetro. Este último, o perfil obtido com qualquer espectrómetro, demonstra uma linha de resolução instrumental.

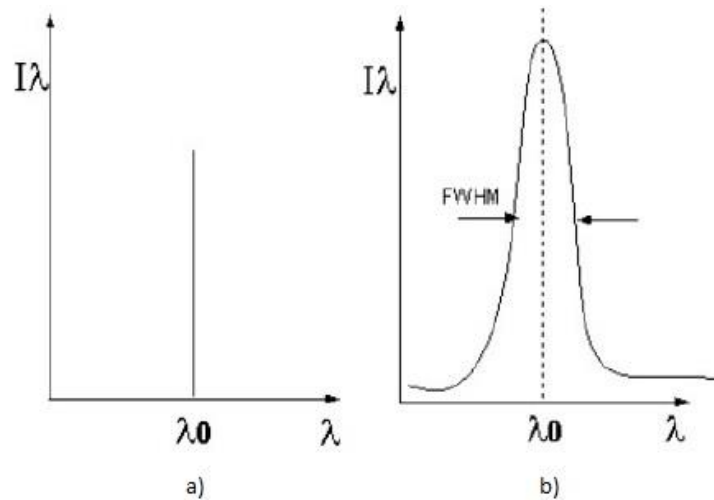


Figura 2.17 – a) pico de largura natural de uma luz monocromática. b) espectro obtido por um espectrómetro real de uma luz monocromática. (Adaptado de [24])

A equação 2.1 é usada para o cálculo da banda de passagem, sendo esta a largura a meia altura (FWHM) da figura 2.19b), num sistema com uma fonte de luz monocromática e com um espectro de alta resolução.

$$BP = Disp \times W_{exap} \quad (2.1)$$

Onde  $Disp$  é a dispersão espectral do espectrómetro num determinado comprimento de onda e  $W_{exap}$  é a largura da abertura de saída. Este seria o cálculo numa situação ideal, mas falando numa situação real temos de utilizar a equação 2.2.

$$BP_{total} = \sqrt{BP_{nat}^2 + BP_{slit}^2 + BP_{res}^2} \quad (2.2)$$

Onde  $BP_{nat}$  é a largura de banda espectral natural da fonte de luz usada,  $BP_{slit}$  é o valor obtido usando a equação 2.2 e  $BP_{res}$  é o limite de resolução do espectrómetro usado.

A banda de passagem e a resolução indicam a capacidade que um espectrómetro tem de distinguir dois picos adjacentes num espectro. A resolução é menor banda de passagem possível, sendo esta atingida quando a FWHM é alcançada.

Para o espectrómetro utilizado nesta tese temos uma dispersão espectral de 5.25 nm/mm nos 400 nm e uma resolução de 0,3 nm [24]

## Secção 3 - Software

### 3.1 – Descrição

Com o PDA utilizado é disponibilizado um *software* básico, *Lyneair™ Basic Data Acquisition Package*, de modo a que os dados adquiridos sejam processados.

Para que o *software* satisfaça o que necessitamos terá de ser calibrado de modo a que haja uma amostragem gráfica de intensidade luminosa em função do comprimento de onda. A calibração de base do *software* é para uma amostragem gráfica de intensidade luminosa em função dos *pixels*.

A forma como esta calibração é feita será discutida na secção 4, desta tese, uma vez que para a mudança de laser, que foi efetuada, foi necessária uma nova calibração, adequada ao novo comprimento de onda.

Com a calibração feita para o laser de  $532\text{ nm}$  é necessário ainda inserir mais informação com o intuito de obtermos o que desejamos. Essa informação consiste no tempo de integração desejado e o número de aquisições a serem feitas. Quanto ao tempo de integração tem de se ter em conta que o efeito Raman tem uma baixa probabilidade de ser detetado quando comparado com a difusão de Rayleigh. Posto isto, para certas substâncias é necessário maior tempo de exposição à luz laser e consequentemente necessitamos de um maior tempo de integração para ser detetado com valores apreciáveis. Quanto ao número de aquisições tem como finalidade a realização de uma média de valores de modo a minimizar artefactos que possam ocorrer bem como a diminuição do efeito do ruído, quer eletrónico quer do ruído de fundo.

Tendo em conta o que foi mencionado e após a obtenção dos gráficos desejados, estando estes conforme o pretendido, verificamos que estes estão centrados no valor que foi pré-definido na rede de difração do monocromador. Os gráficos são posteriormente gravados em formato *Excel* com o intuito de serem analisados e manipulados.

O facto de o *software* de aquisição ser limitado foi uma das razões para a necessidade de desenvolver um programa de análise simples e *open source*. Deste modo quem necessite de analisar este tipo de dados pode recorrer a este programa sem carência de grandes conhecimentos adicionais. Este programa será escrutinado em detalhe na secção 4 uma vez que foi desenvolvido de raiz na plataforma *Matlab*, sendo que esta disponibiliza a possibilidade de desenvolver aplicações *open source* para que possam ser usadas sem a necessidade de ter o *Matlab* instalado.

## **Secção 4 – Resultados**

Nesta secção serão mostrados os resultados obtidos com o trabalho desenvolvido nesta tese de mestrado.

### **4.1 – Base de dados de substâncias puras, Laser verde (532 nm)**

Tendo em conta que a principal utilização deste equipamento é dedicada ao estudo de objetos com valor patrimonial (como por exemplo, obras de arte), em particular na identificação dos materiais usados nesses objetos, impõe-se a necessidade de obter espectros de referência dos materiais mais comuns.

A primeira necessidade com que nos deparámos neste trabalho foi a falta de uma base de dados de substâncias puras. Utilizando o Laser verde ( $532\text{ nm}$ ) para a elaboração de uma base de dados, para posterior utilização na comparação dos espectros, foram usados pigmentos de substâncias puras que se encontravam no laboratório. O processo de aquisição dos dados já foi mencionado na secção 2. As substâncias utilizadas estão listadas na tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Lista de substâncias puras analisadas e registradas para a base de dados, bem como a sua composição química.

Substância	Sigla	Composição Química
Amarelo		
Cádmio	Am-Cd	$CdS$
Cobalto	Am-Co	$K_3[Co(NO_2)_6] \cdot 3H_2O$
Crômio	Am-Cr	$PbCrO_4$
Chumbo e estanho	Am-Ity	$Pb_2SnO_4$
Óxido de chumbo	Am-M	$PbO$
Ouropigmento	Am-O	$As_2S_3$
Branco		
Calcite	Br-Ch	$CaCO_3$
Gesso	Br-Gy	$CaSO_4 \cdot 2H_2O$
Sulfato de chumbo	Br-LS	$PbSO_4$
Titânio	Br-Tw	$TiO_2$
Zinco	Br-Zn	$ZnO$
Azul		
Ultramarino		$Na_8[Al_6Si_6O_{24}]Sn$
Verde		
Malaquite	Vd-M	$CuCO_3 \cdot Cu(OH)_2$
Acetato de cobre (verdigris)	Vd-V	$Cu(CH_3COO)_2$
Vermelho		
Hematite	Vm-H	$Fe_2O_3$
Vermelhão	Vm-V	$HgS$

Foi criada uma base de dados em Excel com os valores em bruto, ou seja, com os valores assim como foram retirados do programa de aquisição. Estes ainda estão em valores de intensidade luminosa em função do comprimento de onda. Com a utilização do programa desenvolvido foi criada posteriormente uma base com os valores de comprimento de onda convertidos em número de onda, bem como a remoção da linha de base.

O número de onda não é mais do que o inverso do comprimento de onda como podemos ver pela equação 4.1.

$$v = \frac{1}{\lambda} \quad (4.1)$$

Mas os valores em número de onda para os quais temos de converter a escala são a diferença entre o valor, em número de onda, da luz do Laser e da luz difundida. A equação 4.2 descreve esse processo.

$$\Delta v = \frac{1}{\lambda_{Laser} \times 10^{-7}} - \frac{1}{\lambda_{experimental} \times 10^{-7}} \text{ cm}^{-1} \quad (4.2)$$

O valor de  $10^{-7}$  é só uma correção de escala de modo a que os valores obtidos estejam nos mesmo valores que os da literatura.



Nas próximas figuras iremos fazer uma comparação entre os gráficos obtidos experimentalmente com os valores da literatura. Iremos fazer um pequeno varrimento na zona do visível, desde a gama do azul até ao vermelho.

Na figura 4.1 começamos por mostrar os resultados para o pigmento Ultramarino, que é o pigmento sintético da Lazurite.

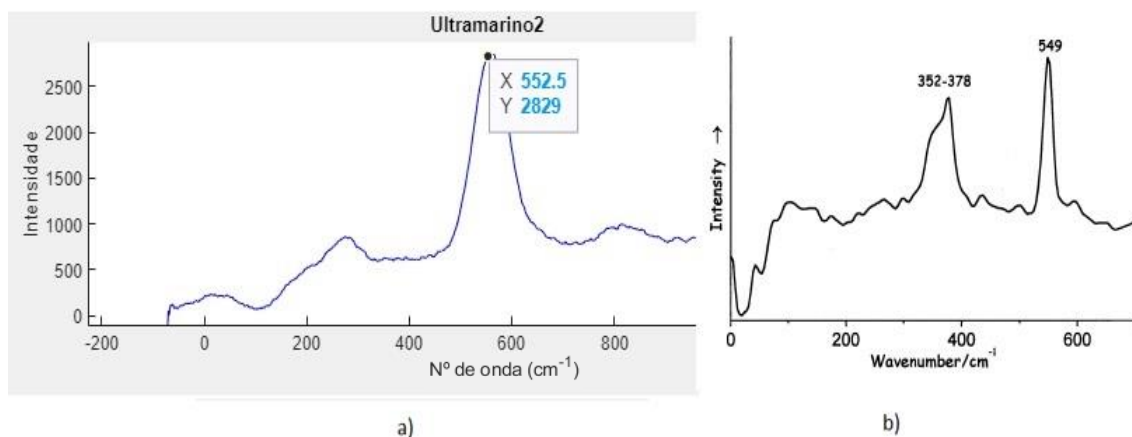


Figura 4.1 – a) Espectro do pigmento Ultramarino experimental. b) Espectro da literatura do pigmento Lazurite. (Adaptado de [25])

Desta figura podemos verificar que os picos mais proeminentes da Lazurite estão visíveis no espectro obtido no laboratório. Tanto o pico mais intenso aos  $550 \text{ cm}^{-1}$  como o segundo mais intenso aos  $1100 \text{ cm}^{-1}$  coincidem com o que era espectável.

Passando agora para a gama do amarelo, obtivemos o espectro da figura 4.2 que representa o espectro típico do pigmento amarelo de cobalto e o respetivo espectro teórico.

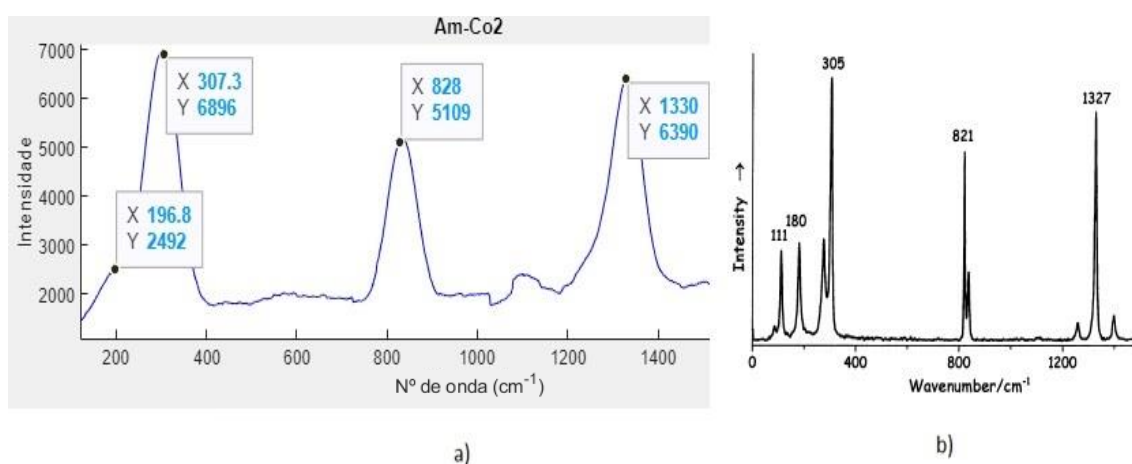


Figura 4.2 – a) Espectro do pigmento Amarelo de Cobalto experimental. b) Espectro da literatura do pigmento Amarelo de Cobalto. (Adaptado de [25])

Assim como ocorreu com o Ultramarino também com o Amarelo de Cobalto se obteve um espectro com os picos bem definidos. Esses picos são os seguintes,  $295 \text{ cm}^{-1}$ ,  $820 \text{ cm}^{-1}$  e  $1325 \text{ cm}^{-1}$ . Os desvios que possam existir podem surgir do facto



de os nossos resultados terem sido obtidos com um laser verde enquanto que os que apresentamos aqui da literatura são obtidos a partir de um laser com comprimento de onda de 632.8 nm.

Na região dos vermelhos apresentamos, na figura 4.3, o espectro obtido através do pigmento vermelhão e na figura 4.4 o espectro do pigmento Hematite. Este apresenta um pico muito próximo daquele que aparece na literatura. Tal como foi mencionado no caso do Cobalto esse desvio pode ser devido ao laser usado.

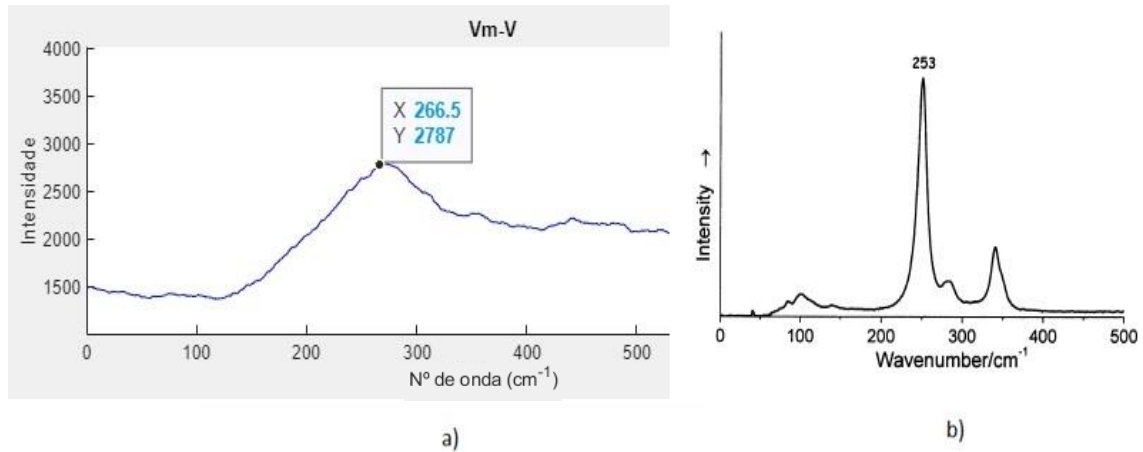


Figura 4.3 – a) Espectro do pigmento Vermelhão experimental. b) Espectro da literatura do pigmento Vermelhão. (Adaptado de [25])

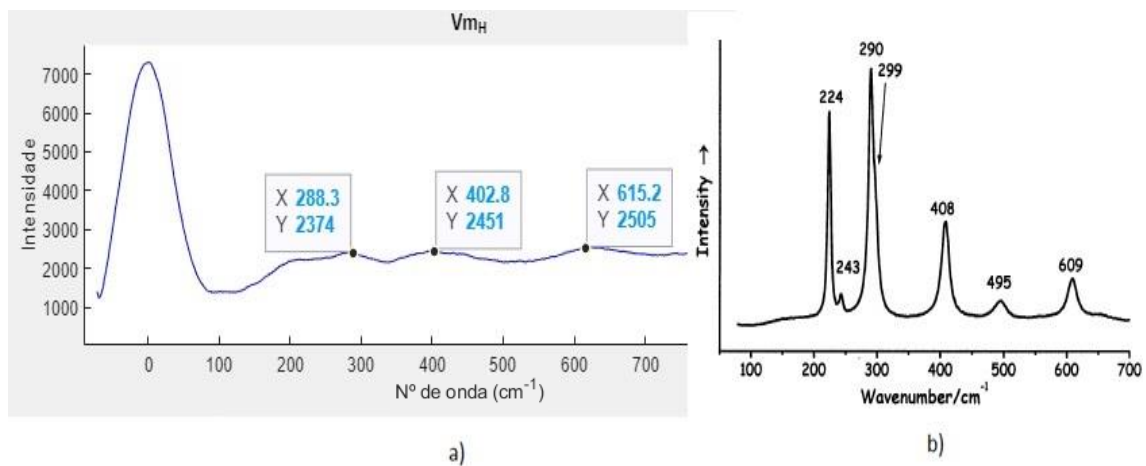


Figura 4.4 – a) Espectro do pigmento Hematite experimental. b) Espectro da literatura do pigmento Hematite. (Adaptado de [25])

Neste espectro vemos que em comparação ao do espectro do Cobalto e do Ultramarino o número de contagens é menor. Tal pode acontecer devido às condições do laser não serem as melhores ou mesmo haver necessidade de aumentar o tempo de aquisição do software. No caso de o laser não estar otimizado pode dever-se a este não ter intensidade suficiente para que se deem um número significativo de difusões de Stokes para que sejam detetados os picos. Iremos ver mais à frente nesta secção que as alterações nos espectros ocorrem não só pela diferença no comprimento de onda usado no laser, mas a focagem do laser também influencia a sua eficiência. Quanto ao tempo

Nº de onda (cm⁻¹)

de aquisição temos sempre de ter em consideração que quanto mais tempo expomos a amostra mais riscos corremos de a danificar.

Nas figuras 4.5 e 4.6 apresentamos dois espectros na gama do branco, o primeiro será o branco de Zinco e o segundo o branco de Cálcio.

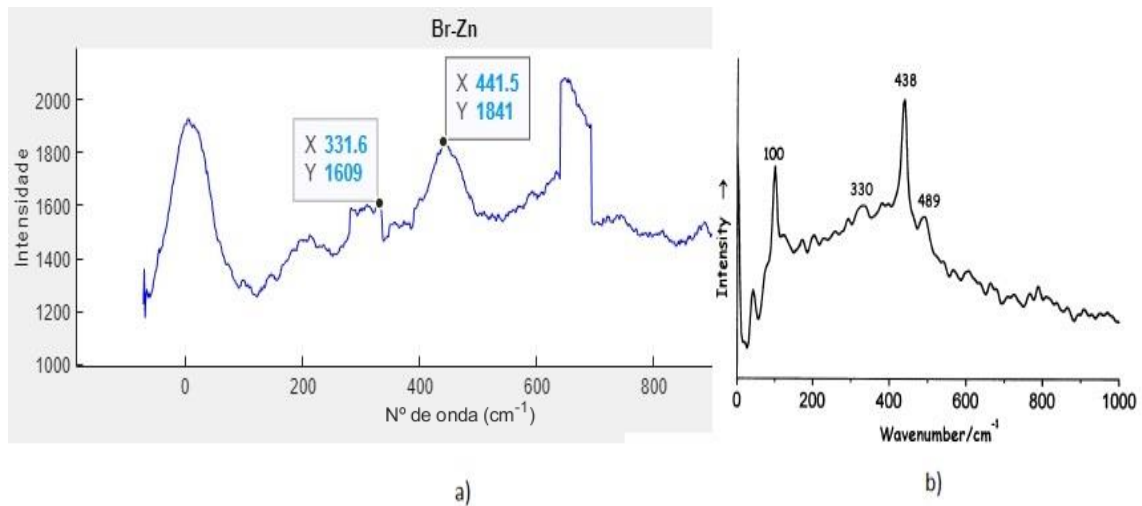


Figura 4.5 – a) Espectro do pigmento branco de Zinco experimental. b) Espectro da literatura do pigmento branco de Zinco (Adaptado de [25])

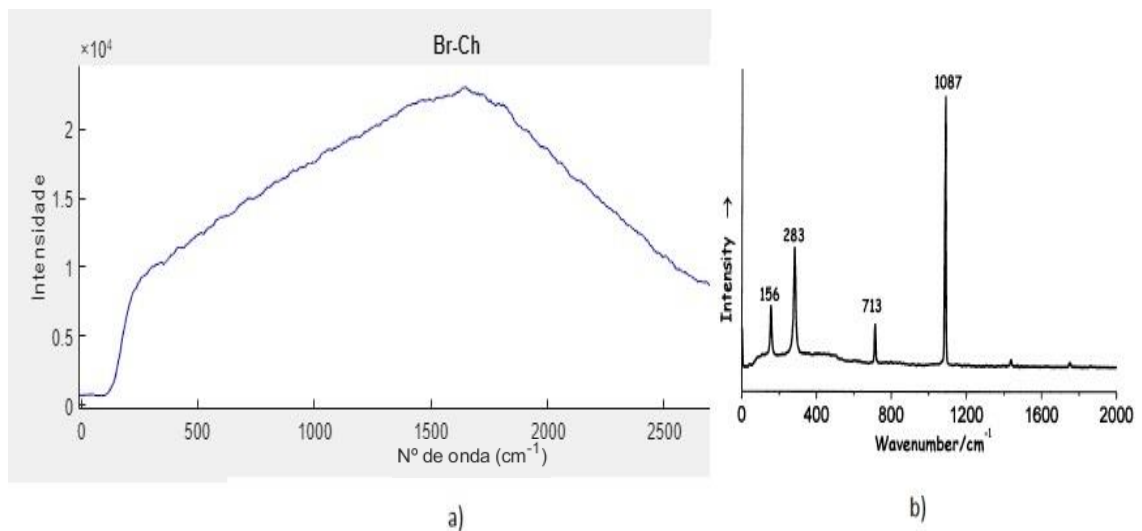


Figura 4.6 – a) Espectro do pigmento branco de Calcite experimental. b) Espectro da literatura do pigmento branco de Calcite (Adaptado de [25])

No caso do branco de Zinco podemos admitir que os picos de  $440\text{ cm}^{-1}$  e  $330\text{ cm}^{-1}$  podem ser os mesmos que observamos na literatura, mas com o número de contagens que obtivemos não podemos dizer que não se trata apenas de ruído eletrónico ou outro tipo de interferência. Se aumentar o tempo de aquisição haverá hipóteses de algumas melhorias no número de contagens, mas não significa que possamos obter o pico desejado.

Quanto ao branco de Calcite podemos ver que obtivemos um bom número de contagens, mas que não conseguimos obter nenhum pico, mas sim uma bossa que pode ser indicativo de fluorescência o que faz com que seja impossível a obtenção dos picos pretendidos.

A gama dos brancos foi a que obtivemos piores resultados usando o laser verde. Poderemos apontar para que seja necessária uma recalibração do sistema, especificamente na rede de difração do monocromador ou a utilização de outros filtros, de modo a que sejam obtidos melhores espectros ou simplesmente a mudança de laser para um comprimento de onda próximo, mas diferente.

Esta base de dados deverá de ser alargada e atualizada. Sempre que se proporcionar uma mudança significativa no sistema deve ser considerada uma nova aquisição de espectros com o intuito de otimizar a base de dados.

A base de dados servirá para fazer uma comparação com os espectros de obras recolhidas. O intuito será podermos saber que tipo de pigmentos foram usados na obra e podermos fazer uma datação relativa das cores e dos pigmentos usados na altura, bem como o que era usado por um determinado autor.

## **4.2 – Portabilidade**

### **4.2.1 – LCD**

Um dos pontos base para a realização desta tese é o melhoramento da portabilidade de todo o método de aquisição de espectros. Com esse intuito começamos por perceber como isso seria possível. Verificamos que o LCD usado para fazer a ligação à sonda de modo a podermos fazer a focagem do feixe de luz na amostra era uma das causas para a menor portabilidade dos equipamentos. Na figura 4.6 podemos ver que para além de ser um equipamento desatualizado também tem proporções exageradas para a sua função. Além disso, não permite registar as imagens.

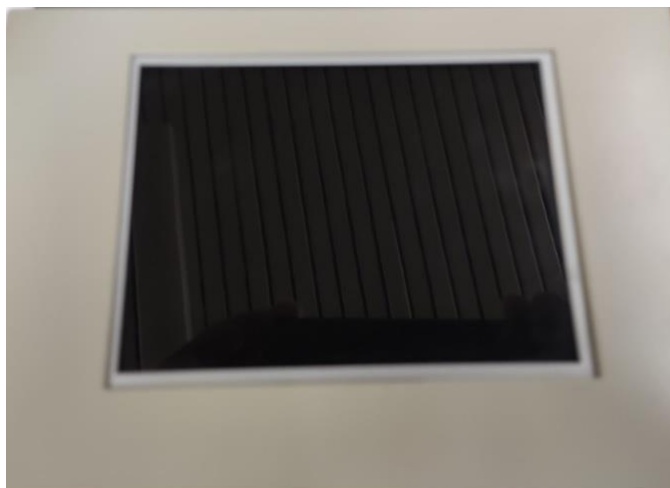


Figura 4.6 – LCD disponível para a focagem

Para que conseguíssemos melhorar este aspeto da aquisição pensámos em fazer uma ligação direta da câmara para o computador portátil. Para tal arranjou-se um adaptador para o cabo Din de 8 pinos que está na figura 4.7 e que fazia a ligação entre a sonda e o LCD.



Figura 4.7 – Cabo Din 8 pinos

Estes cabos eram muito utilizados para os teclados e ratos. Ao deixarem de ser tão utilizados para o efeito fez com que fosse difícil encontrar adaptadores USB de modo a pudermos ligar ao computador.

Verificando isto foi necessário arranjar outra solução para o nosso problema. O primeiro passo foi desmontar o LCD para saber, em primeiro lugar, o quão complexo seria reproduzir o circuito utilizado e se seria possível reutilizar certas partes de modo a facilitar-nos o trabalho.

Na figura 4.8 podemos observar o circuito utilizado pelo LCD.



Figura 4.8 – Circuito integrante do LCD

Ao abrirmos a caixa do LCD verificámos que poderíamos reutilizar o circuito usado por este. O que teríamos de fazer seria arranjar uma caixa de menores dimensões de modo a proteger o circuito e com uma saída para o cabo que posteriormente ligaria ao adaptador para a conversão. A conversão necessária foi a de RCA para USB. Na figura

4.9 podemos verificar o adaptador utilizado para que pudéssemos obter imagem da câmara no computador.



Figura 4.9 – Adaptador RCA para USB

O adaptador escolhido foi um Medis. Tivemos ainda a necessidade de fazer uma instalação do *software* no computador para que houvesse compatibilidade no uso do adaptador. Para obtermos a imagem proveniente da câmara da sonda bastou-nos usar um programa de aquisição de imagem. Um exemplo destes *softwares* é o OBS (*software* muito usado por que faz transmissão de imagem ao vivo pela *internet*) outro exemplo é um *software* utilizado por um microscópio ótico que adquirimos (pensando na possibilidade de adaptarmos a câmara, algo que não aconteceu). Este último será o utilizado uma vez que é de mais fácil utilização.

Outra necessidade que tínhamos de fazer a adaptação da ligação da câmara ao computador deve-se à necessidade que temos em gravar imagens das amostras que estão a ser irradiadas de modo a que possamos também analisar o que estamos a irradiar. Como estamos a trabalhar com dimensões pequenas temos de ter em atenção que se não estamos a irradiar a área certa podemos estar a obter espectros sem utilidade prática.

Na figura 4.10 é apresentada uma imagem do laser a irradiar uma amostra.



Figura 4.10 – Feixe de luz laser a irradiar a mostra para posterior focagem



Esta focagem que tem vindo a ser referida é feita através do suporte da câmara, na bancada, e pelo tripé, para quando é portátil a sonda. Na figura 4.11 podemos como é efetuada a focagem do feixe laser.

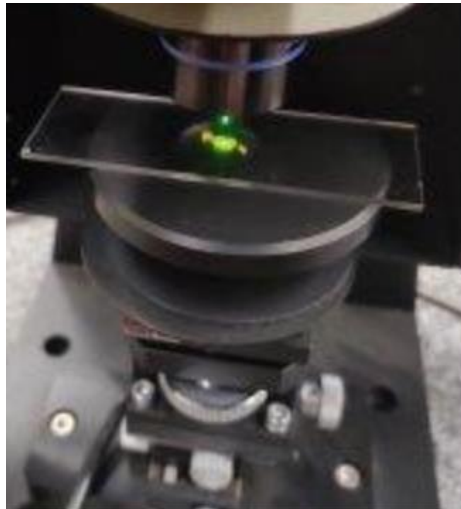


Figura 4.11 – Esquema para que seja possível a focagem da luz laser na amostra

Podemos ver pela figura que o suporte de bancada possui um sistema que permite a focagem da amostra nos 3 eixos.

#### 4.2.2 – Portabilidade da Sonda

Para que seja possível focarmos o feixe laser na amostra, ao retirarmos a sonda do suporte de bancada, para chegar a objetos dos quais não podemos extrair amostras, necessitamos de utilizar um tripé. Na figura 4.12 podemos ver a adaptação que fizemos para que usando o tripé pudéssemos ter a possibilidade de fazer uma focagem.



Figura 4.12 – adaptação para tripé

O sistema que tentamos utilizar seria o mesmo que o do suporte de bancada e para tal tivemos de fazer algumas alterações estruturais no tripé e em material adicional de modo a combinar com a sonda.

Na figura 4.13 podemos ver como fica a sonda montada no tripé de modo a que seja possível a focagem quando fazemos a aquisição dos dados.



Figura 4.13 – Sonda acoplada no tripé

Pela figura podemos verificar o que foi mencionado anteriormente. Tal como no suporte de bancada, possuímos agora um sistema que nos permite controlar de certa forma os três eixos de modo que possamos ter uma melhor focagem.

### 4.3 – Adaptação do laser vermelho ao equipamento

#### 4.3.1 – Necessidade e características do Laser vermelho

Após as alterações na portabilidade focamo-nos no segundo tópico desta tese, a a possibilidade de usar um laser vermelho e a sua adaptação ao sistema. Esta alteração tem com finalidade a de percebermos que com um laser menos energético, ou seja, com um maior comprimento de onda, podemos conseguir visualizar picos dos pigmentos que seriam impossíveis com o laser verde.

O laser vermelho é um *OXXIUS* de  $642 \pm 6 \text{ nm}$  de comprimento de onda. Este laser vem integrado com uma *laserbox* com o intuito de estabilizar e otimizar a forma do laser e a sua transmissão, respetivamente. A este sistema a companhia chama de *PLUG and PLAY*. Acoplado ao laser vem um dissipador de calor de modo a operar dentro de uma gama de temperaturas controlada. Outro componente integrante deste laser é uma fonte de alimentação.

Na figura 4.14 podemos ver o laser bem como a *laserbox* acoplada e na figura 4.15 a fonte de alimentação.



Figura 4.14 – Laser OXXIUS e dissipador de calor



Figura 4.15 – Fonte de alimentação para o laser

Podemos verificar que a fonte de alimentação dá a possibilidade ao utilizador de controlar a intensidade da luz laser. Como segurança adicional incorpora um sistema de *On/Off* com necessidade de uma chave. Esta fonte tem uma tensão de entrada de 115/230 *VAC* e uma corrente de  $< 0.6 A$ . Quanto à tensão de saída é de 6 *VDC* e corrente de 3 *A*. A potência do feixe de luz é de 130 *mW*.

#### 4.3.2 – Filtros

Para que obtivéssemos espectros possíveis de analisar tivemos de alterar os filtros que estávamos a usar na sonda para que fossem eficazes quando fossemos usar o laser vermelho. Para que tal acontecesse, primeiro precisamos de fazer uma pesquisa sobre que tipos de filtros existem no mercado e quais seriam os mais indicados para podermos utilizar o laser vermelho. Interessava-nos que os filtros de interferência (passa banda) fosse o mais estreito possível para que a luz laser que fosse irradiar a amostra fosse o mais monocromática possível. Mencionámos esta importância na escolha do filtro quando falámos do laser verde, mas esse filtro já vinha otimizado para ser usado para aquele comprimento de onda. Como todos os filtros de interferência que analisámos tinham uma largura considerável, e que iria interferir com o filtro *edge* (passa alto), tivemos de fazer outra abordagem ao problema. Essa abordagem passou pela escolha de um filtro de interferência centrada num comprimento de onda inferior ao do laser. Na figura 4.16 fica ilustrado qual é o corte da luz do laser.



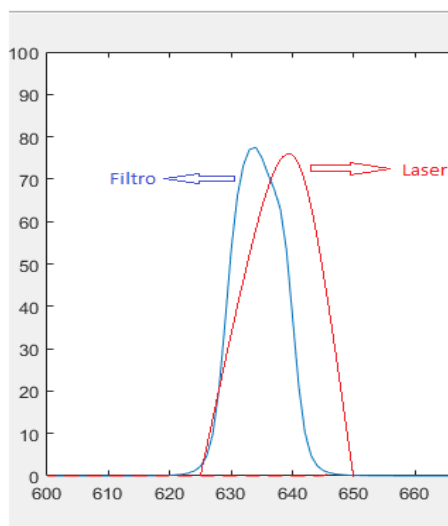


Figura 4.16 – Influência do filtro no laser

Como podemos ver pela figura, o filtro limita-se a cortar parte do sinal do laser, deixando com que o comprimento de onda máximo do laser seja praticamente transmitido por completo. Com esta solução o filtro *edge*, para a saída da sonda, pode não ter o corte tão pronunciado o que nos abriu uma maior gama de escolhas.

O filtro *edge* é de extrema importância visto que é este que vai minimizar, ou no caso ideal eliminar, o sinal da difusão de Rayleigh. A equação 4.2 retrata como é calculado o número de onda presente nos espectros e interessa-nos que o filtro *edge* corte os valores o mais perto possível dos valores da difusão de Rayleigh. Isto tem de acontecer, mas temos de ter em atenção para que este filtro não deixe passar na mesma zona de aceitação do filtro de interferência. Se isso acontecer podemos estar a comprometer os resultados obtidos. Na figura 4.17 podemos ver a esquematização gráfica para que pudéssemos averiguar se os filtros poderiam ser utilizados com bons resultados a nível espectral.

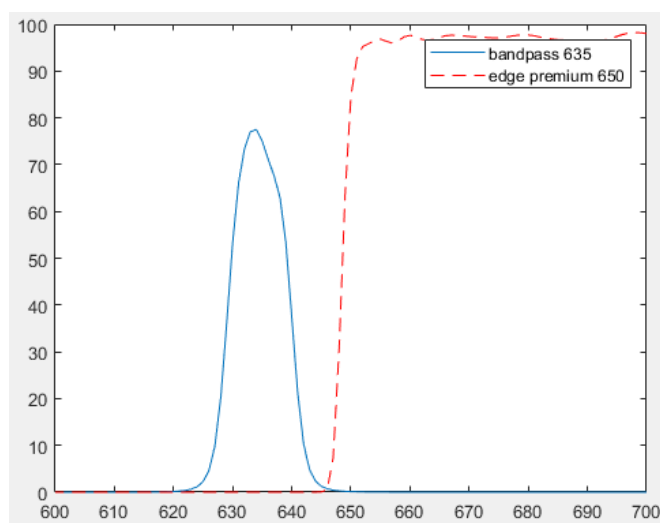


Figura 4.17 – Esquematização da sobreposição das gamas de aceitação dos filtros de interferência e de *edge* (Adaptado de [26])

Pela imagem podemos ver que pode existir uma pequena sobreposição das gamas de aceitação, mas que esse valor é muito baixo para que possa causar resultados desajustados. Esta amostragem gráfica foi possível utilizando um programa desenvolvido em *Matlab* e na figura 4.18 está demonstrado um fluxograma ilustrativo do que esse programa faz.

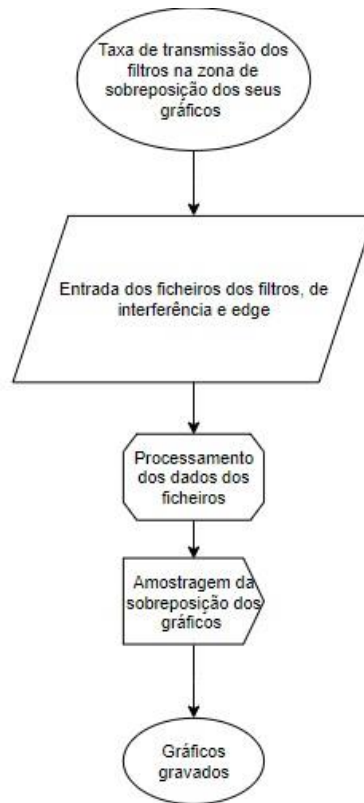


Figura 4.18 – fluxograma ilustrativo do programa desenvolvido para sobreposição dos filtros

Na figura 4.19 foi ampliada essa sobreposição de modo a percebermos que quando começa a gama de aceitação do filtro *edge*, nos  $645\text{ nm}$ , o filtro de interferência deixa passar uma percentagem de luz perto do 1%.

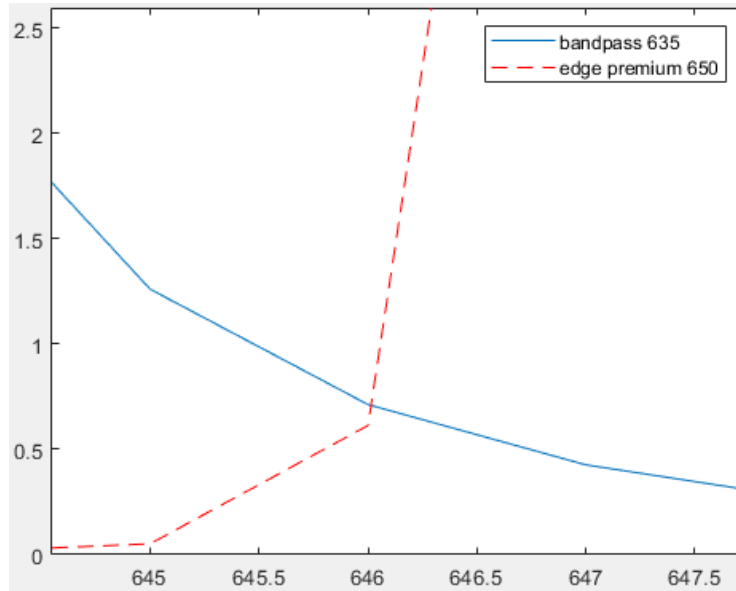


Figura 4.19 – Ampliação da sobreposição das gamas de aceitação dos filtros de interferência e de *edge* (Adaptado de [26])

Visto que a sobreposição permite a utilização dos dois filtros pudemos assim seleccionar os filtros pretendidos. Como iremos ver na secção 4.3.3, podemos utilizar estes dois filtros, mas estes não serão tão eficientes no corte da difusão de Rayleigh como os filtros para o laser verde. O filtro de interferência FL05635-10 da Thorlabs, com um pico de transmissão no  $635 \pm 2 \text{ nm}$  e FWHM (largura a meia altura) de  $10 \pm 2 \text{ nm}$ . O filtro *edge* FELH0650 da Thorlabs, com pico de transferência nos  $650 \text{ nm}$ . Pelas dimensões do filtro foi preciso fazer uns ajustes no suporte do filtro *edge* da sonda de modo a que este ficasse estabilizado na posição correta dentro da sonda.

### 4.3.2 – Calibração

A calibração do monocromador é feita com o uso de uma lâmpada de Mercúrio e fazendo um varrimento na rede de difração do monocromador de modo a vermos os picos da lâmpada. Na figura 4.20 está um espectro de uma lâmpada calibrada de Mercúrio.

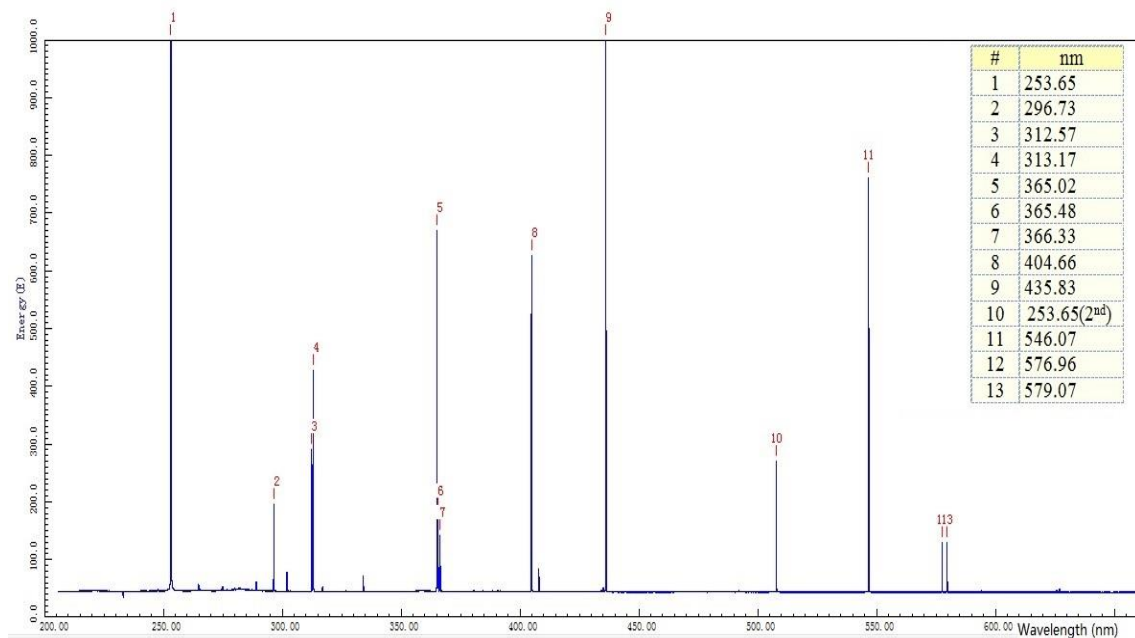


Figura 4.20 – Espectro de uma lâmpada calibrada de Mercúrio (Adaptado de [27])

Para que fosse feita a calibração foi usada uma lâmpada de Mercúrio. Começamos por fazer a recolha de vários espectros, alterando as posições da rede de difração do monocromador. A rede de difração foi centrada nove vezes e foram retirados sete espectros para calibrações nas posições 250, 300, 400, 450, 500, 550, 600, 650 e 700 nm.

Com estes espectros e com a análise do espectro padrão de uma lâmpada de Mercúrio calibrada pudemos elaborar uma tabela com os picos proeminentes que nos permitiriam calibrar o monocromador de modo a que em vez de *pixels* o programa nos mostrasse comprimentos de onda.

Esta calibração foi feita da seguinte forma: para todas as posições foram detetados os picos e comparados com os valores da literatura. No software relacionamos os pixels do ecrã dos picos detetados e os comprimentos de onda a que correspondiam no espectro mostrado na figura 4.19. Este relacionamento permite que mesmo que mudemos a rede de difração, para qualquer das posições assinaladas, o software reconhece a calibração de modo a fazer logo a relação entre os referidos *pixels* e os correspondentes comprimentos de onda. Na tabela 4.2 podemos ver todos os picos em número de *pixel* e o correspondente comprimento de onda.

Tabela 4.2 - Relação entre o número do pixel e o comprimento de onda, correspondentes aos picos de intensidade luminosa da lâmpada de Mercúrio calibrada

posição na rede	comprimento de onda, $\lambda$ (nm)	Nº de pixel ecrã	posição na rede	comprimento de onda, $\lambda$ (nm)	Nº de pixel ecrã
250	289,36	2847	550	246,1	1702
	313	3226		576,96	2504
				579,06	2557
300	289	1718	600	546,1	407
	313	2089		576,96	1199
	334,14	2608		579,06	1253
	365	3325		626	2499
400	365	981	650	593,5	304
	404,65	1916		604,3	592
	435,6	2671		626,35	1153
450	404,65	700	650	668,3	2309
	435,6	1450		690,75	2932
	507,2	2827		708,5	3432
500	435,6	228	700	668,3	930
	507,2	1594		690,75	1542
	546,1	2977		708,5	2033
				730,04	2670

Nas figuras 4.21, 4.22, 4.23, 4.24, 4.25 e 4.26 estão representados os espectros obtidos depois da calibração feita, para as posições de 250, 300, 400, 500, 600 e 700 nm da rede de difração. As posições referidas da rede de difração serão as posições centrais dos gráficos. Nos gráficos mostrados não estarão centradas pelo facto de ser mais simples a análise dos picos.

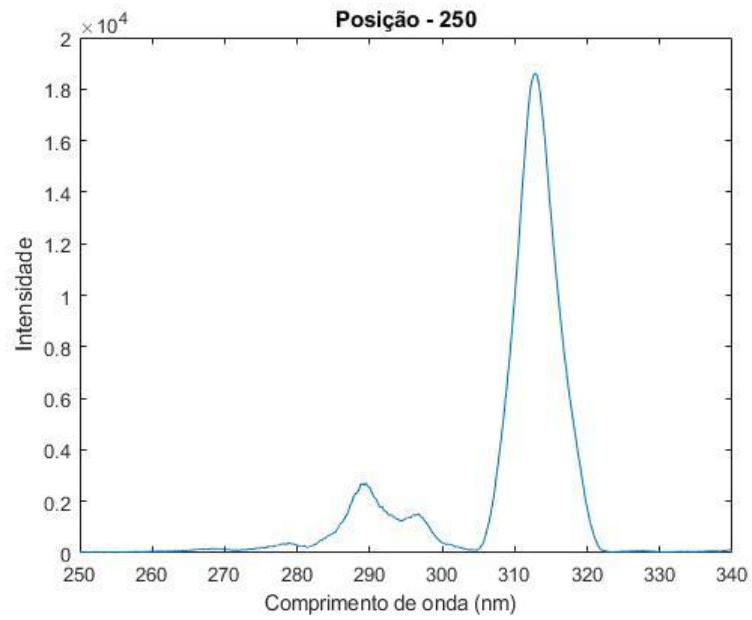


Figura 4.21 – Espectro de calibração com lâmpada de Mercúrio. Rede de difração na posição 250 nm

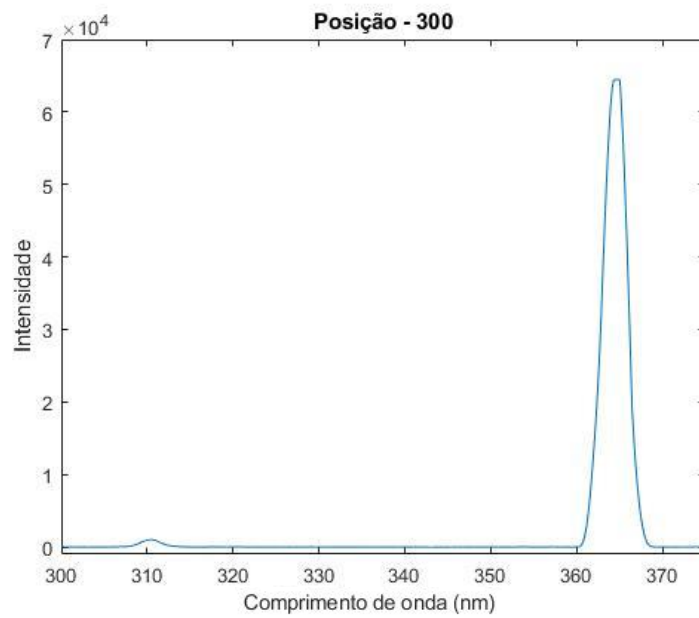


Figura 4.22 – Espectro de calibração com lâmpada de Mercúrio. Rede de difração na posição 300 nm

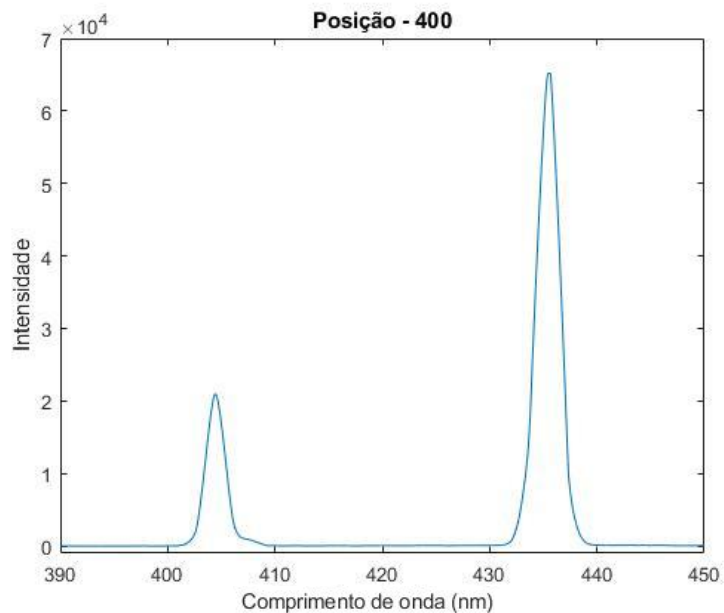


Figura 4.23 – Espectro de calibração com lâmpada de Mercúrio. Rede de difração na posição 400 nm

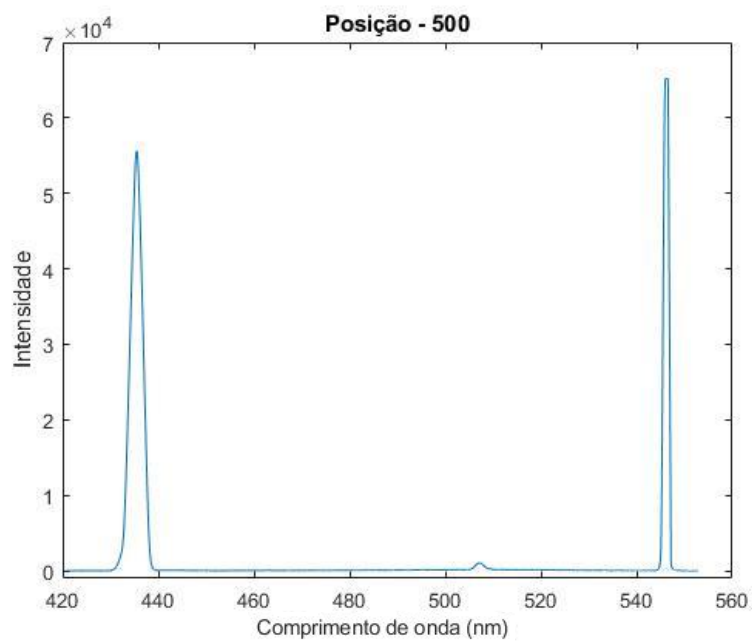


Figura 4.24 – Espectro de calibração com lâmpada de Mercúrio. Rede de difração na posição 500 nm

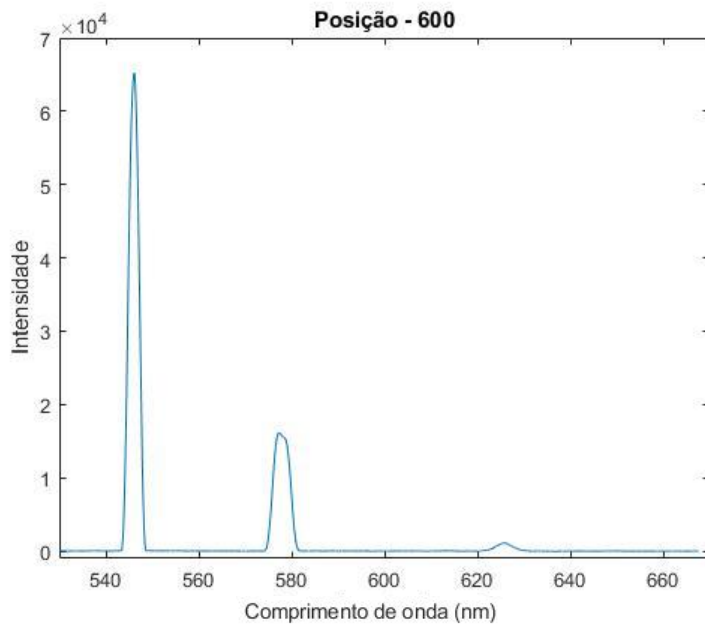


Figura 4.25 – Espectro de calibração com lâmpada de Mercúrio. Rede de difração na posição 600 nm

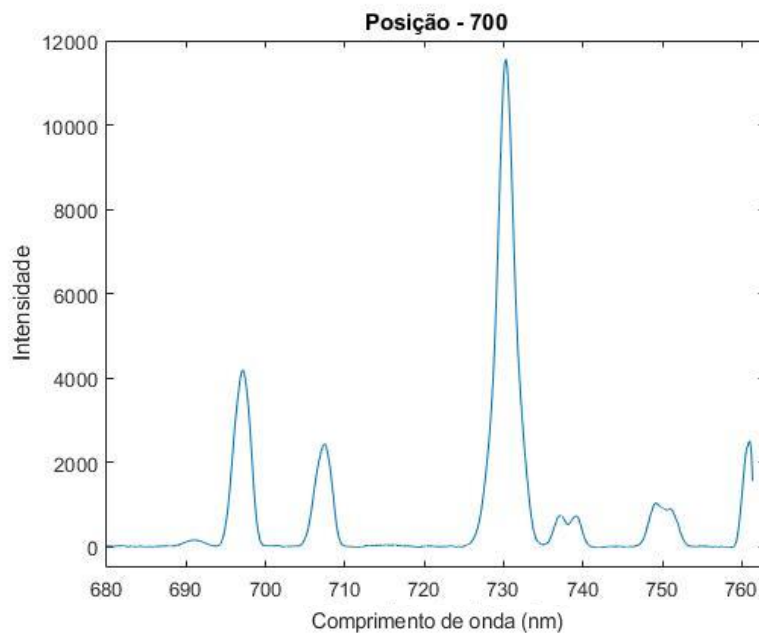


Figura 4.26 – Espectro de calibração com lâmpada de Mercúrio. Rede de difração na posição 700 nm

Ao fazermos a comparação dos picos dos espectros obtidos com os picos da figura 4.19 podemos verificar que todos os picos relevantes estão de acordo com o que era



esperado. Caso esta calibração não tivesse sido feita não seria possível visualizar os espectros obtidos com o laser vermelho. A rede de difração teve de sofrer uma alteração de modo a ser centrada numa outra posição para que se pudessem visualizar os picos desejados das substâncias.

#### 4.3.3 - Base de dados de substâncias puras, Laser vermelho (642 nm)

Com a mudança de laser houve a necessidade de obter novamente espectros de substâncias puras de modo a pudermos desenvolver uma base de dados agora usando o laser de 642 nm. Na Tabela 4.3, assim como foi feito para o laser verde, estão escritas as substâncias utilizadas para fazer a base de dados.

Tabela 4.3 - Lista de substâncias puras analisadas e registadas para a base de dados, bem como a sua composição química.

Substância	Sigla	Composição Química
<b>Amarelo</b>		
Cádmio	Am-Cd	$CdS$
Cobalto	Am-Co	$K_3[Co(NO_2)_6] \cdot 3H_2O$
Crómio	Am-Cr	$PbCrO_4$
Chumbo e estanho	Am-lty	$Pb_2SnO_4$
Óxido de chumbo	Am-M	$PbO$
<b>Azul</b>		
Azurite	Az-A	$2CuCO_3 \cdot Cu(OH)_2$
Cerúleo	Az-C	$CoO \cdot nSnO_2$
Lazurite	Az-L	$Na_8[Al_6Si_6O_{24}]Sn$
Ultramarino	Az-UI	$Na_8[Al_6Si_6O_{24}]Sn$
<b>Branco</b>		
Calcite	Br-Ch	$CaCO_3$
Gesso	Br-Gy	$CaSO_4 \cdot 2H_2O$
Branco de chumbo	Br-LW	$2PbCO_3 \cdot Pb(OH)_2$
Titânio	Br-Tw	$TiO_2$
Zinco	Br-Zn	$ZnO$
<b>Verde</b>		
Malaquite	Vd-M	$CuCO_3 \cdot Cu(OH)_2$
Acetato de cobre	Vd-V	$Cu(CH_3COO)_2$
<b>Vermelho</b>		
Hematite	Vm-H	$Fe_2O_3$
Vermelhão	Vm-V	$HgS$
Vermelho de chumbo	Vm-Lr	$Pb_3O_4$

Iremos mostrar espectros que obtivemos com bons resultados experimentais e alguns em que não se consegue perceber bem a existência dos picos citados na literatura. Essa incapacidade pode ser devida a impossibilidade de detetar esses picos com o laser usado ou então porque houve uma saturação devido à ocorrência do efeito de

fluorescência. O azul ultramarino foi uma das substâncias que obtivemos bons resultados com o laser verde. Na gama dos azuis este é o único pigmento no qual conseguimos um bom espectro. Na gama dos amarelos obtivemos bons espectros, mas temos de ter em atenção ao pico inicial de cada um dos gráficos porque não se trata de um pico dos pigmentos, mas alguma luz laser que terá sido detetada e como tal trata-se de um pico de difusão de Rayleigh. Do mesmo modo temos os espectros da gama dos vermelhos. Tanto o espectro obtido com o pigmento vermelhão, como com o vermelho de chumbo, obtivemos picos que não foram detetados com o laser verde. Houve ainda uma melhoria no número de contagens ao usarmos o laser vermelho.

Na figura 4.27 fizemos uma comparação dos espectros obtidos com os dois lasers para a substância ultramarino.

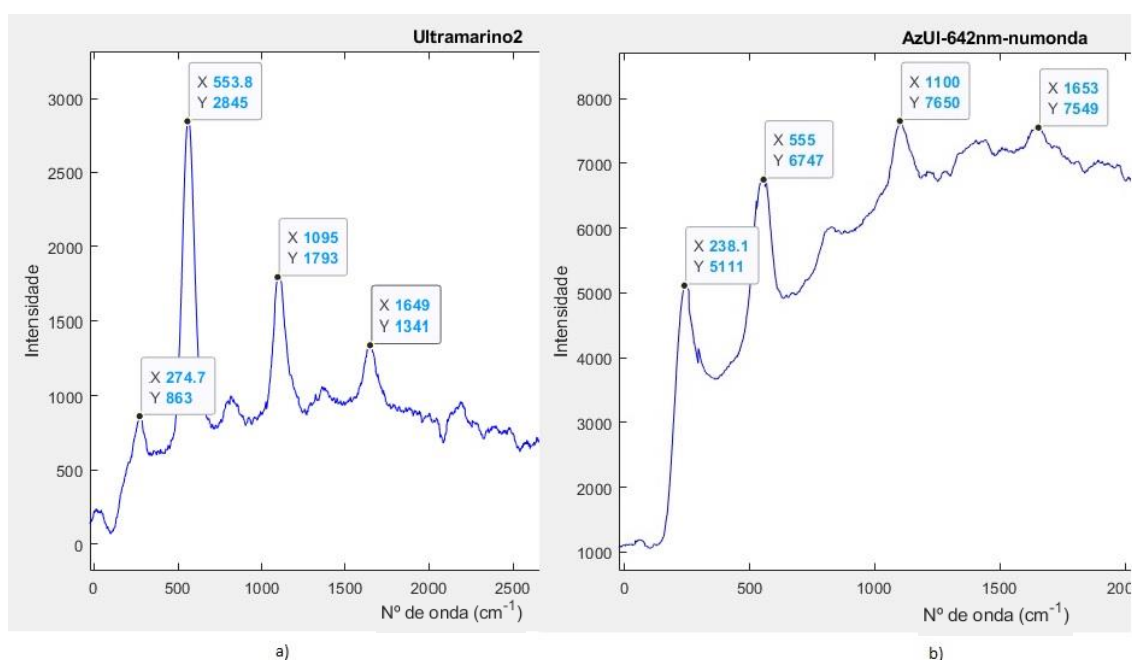


Figura 4.27 – Comparação dos espectros da substância ultramarino obtidos com o laser verde e laser vermelho.

Como podemos ver existe um ligeiro aumento da intensidade nos picos do espectro, espectável, nos 550 – 560  $cm^{-1}$  e no segundo pico nos 1100  $cm^{-1}$ . Existe a aparição de um pico nos 240  $cm^{-1}$  que como iremos ver na secção 4.4 corresponde ao pico da difusão de Rayleigh devida a alguma luz laser que possa ter sido detetada. Iremos ver que ao manipularmos os espectros os filtros para o laser vermelho não são os melhores, mas sim os possíveis.

Na figura 4.28 e 4.29 temos os espectros dos pigmentos azul cerúleo e lazurite, respetivamente.

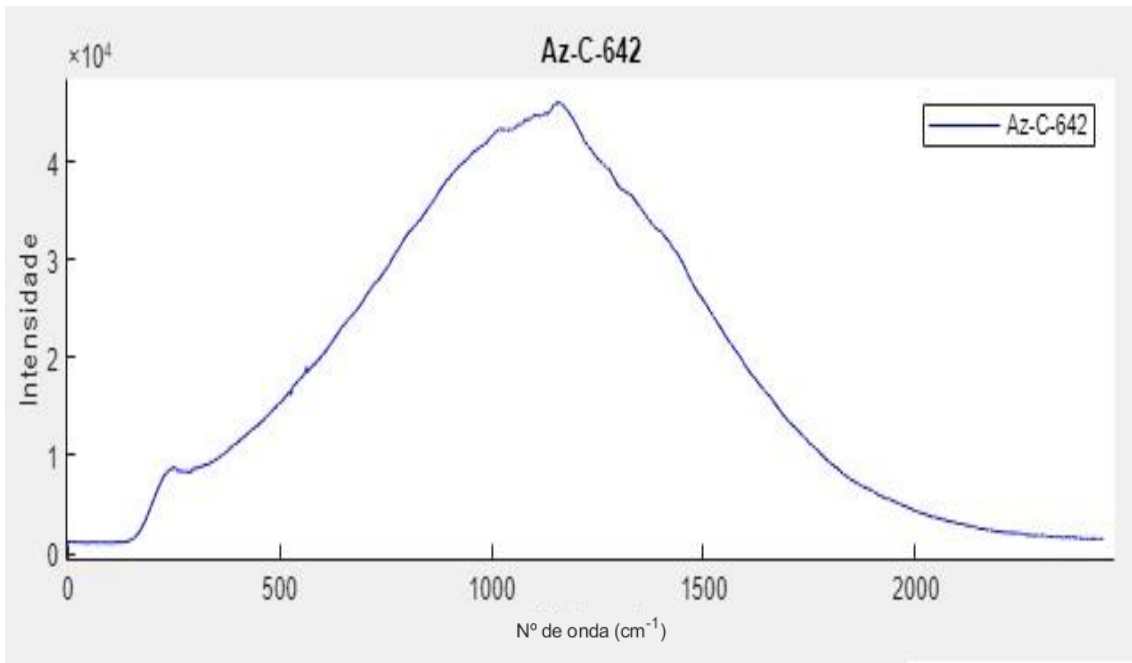


Figura 4.28 - Espectro do pigmento azul cerúleo

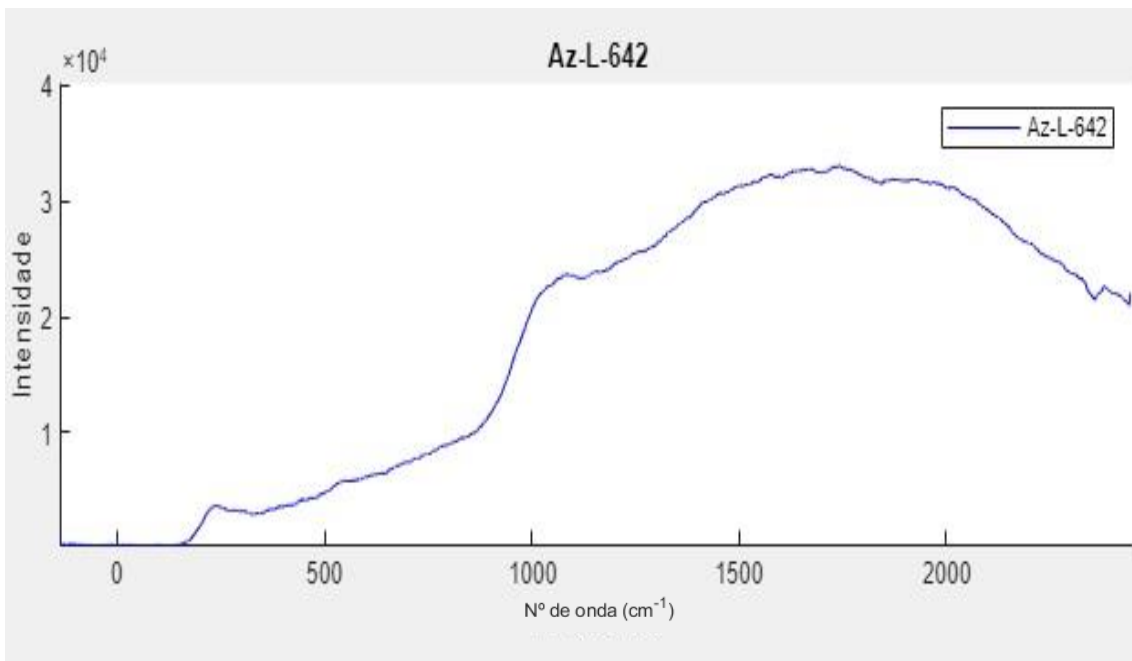


Figura 4.29 – Espectro do pigmento lazurite

Nestes dois gráficos podemos notar que houve uma saturação de dados, muito provavelmente devido algum efeito de fluorescência, ou como iremos ver na secção 4.4, contaminações das substâncias, que tornou impossível a deteção de picos reais nestes dois pigmentos. No caso da lazurite essa saturação fez com que os resultados obtidos fossem melhores recorrendo a sua versão sintética, ultramarino, do que ao utilizar a versão natural.

Como foi mencionado, nos espectros dos pigmentos amarelos obtivemos bons resultados, se tivermos em consideração o pico de difusão de Rayleigh. Nas figuras 4.30, 4.31, 4.32 e 4.33 estão representados graficamente os espectros dos amarelos de cobalto, crómio, chumbo e estanho e óxido de chumbo, respetivamente.

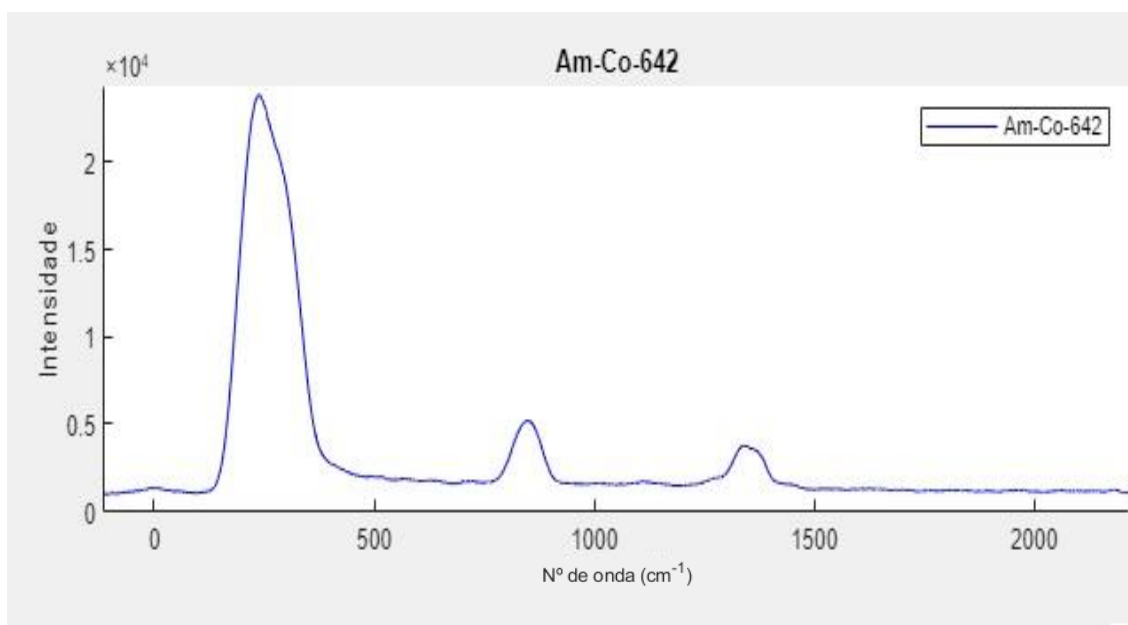


Figura 4.30 – Espectro do pigmento amarelo de cobalto

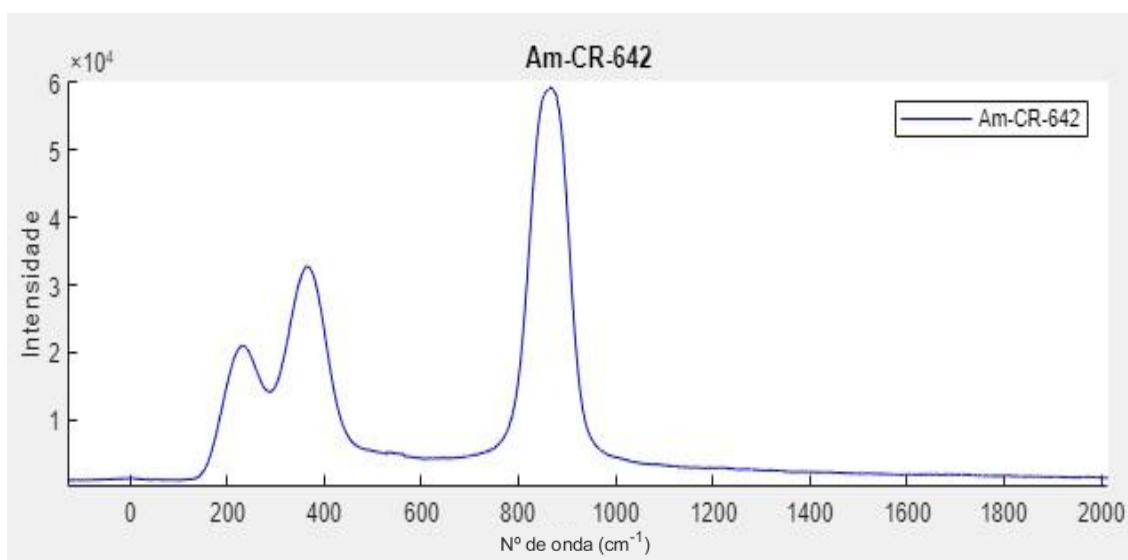


Figura 4.31 – Espectro do pigmento amarelo de crómio

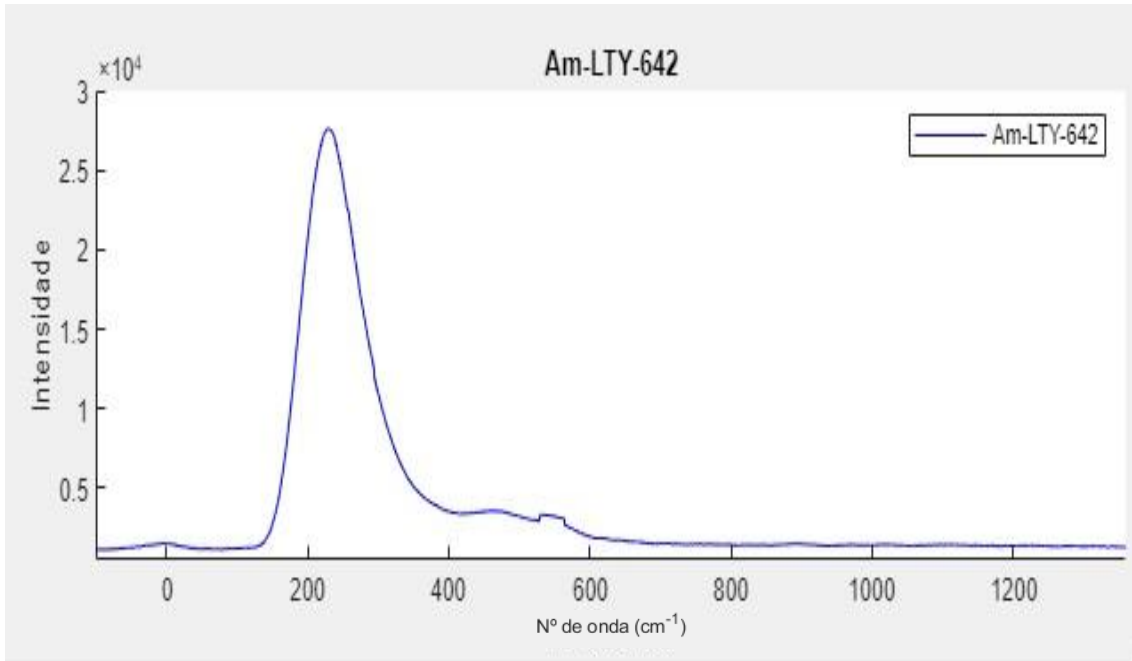


Figura 4.32 – Espectro do pigmento amarelo chumbo e estanho

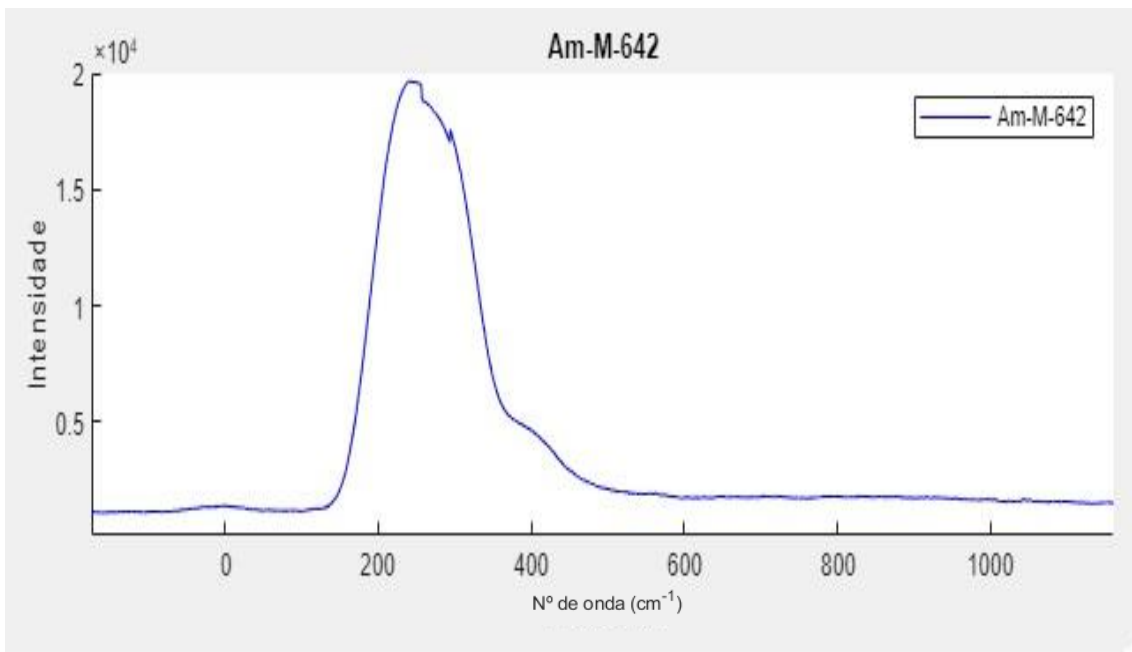


Figura 4.33 – Espectro do pigmento amarelo de óxido de chumbo

Ao analisarmos os gráficos notamos que em todos, excetuando o amarelo de crómio, o maior pico obtido é o da difusão de Rayleigh. Ao sabermos desse pico podemos focar-nos nos outros picos característicos dos pigmentos. No caso do amarelo de cobalto podemos verificar os picos fortes em  $820\text{ cm}^{-1}$  e em  $1330\text{ cm}^{-1}$ . No amarelo de crómio podemos verificar os picos proeminentes em  $360\text{ cm}^{-1}$  e em  $840\text{ cm}^{-1}$ . Para o amarelo de chumbo e estanho temos de ter mais atenção visto que o maior pico é sobreposto pela linha de Rayleigh, mas podemos admitir um pico menos saliente nos  $460\text{ cm}^{-1}$ . No caso do amarelo de óxido de chumbo podemos referir dois ombros no seguimento do linha de Rayleigh sem podemos afirmar com certeza de que estes correspondam a algum pico deste pigmento.

Quanto ao vermelhão e ao vermelho de chumbo acontece o mesmo que com os pigmentos amarelos quanto à linha de Rayleigh o que prejudica os espectros. É difícil fazer uma sobreposição de espectros. Isto deve-se ao facto de o espectro obtido usando o laser verde ter um número de contagens muito baixas em relação ao que obtivemos com o laser vermelho.

Na figura 4.34 podemos ver o espectro obtido da substância vermelhão recorrendo ao laser vermelho.

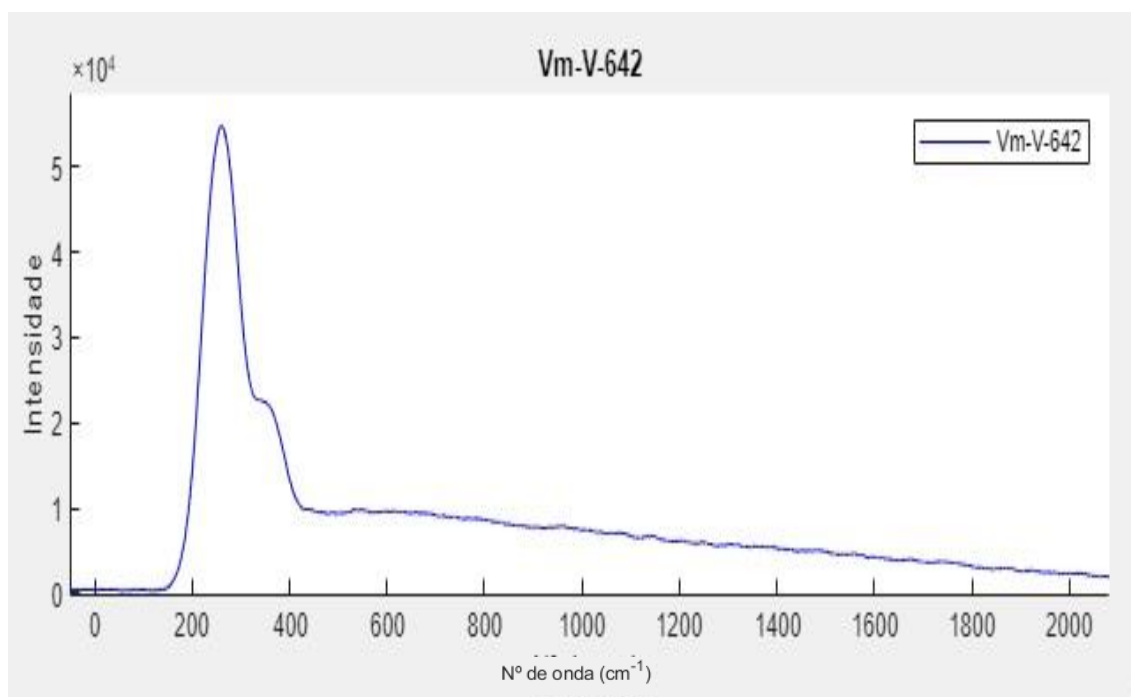


Figura 4.34 – Espectro de vermelhão obtido com o laser vermelho.

Da literatura sabemos que temos um pico muito intenso entre os  $240\text{ cm}^{-1}$  e os  $250\text{ cm}^{-1}$  mas não se conseguiria ver neste gráfico uma vez que a linha de Rayleigh não permite a sua visualização. Existe também um pico menos intenso perto dos  $340\text{ cm}^{-1}$ , este sim possível de ser visualizado.

Na figura 4.35 temos o espectro relativo ao vermelho de chumbo em que podemos ver bem um dos picos mais salientes, de acordo com a literatura.

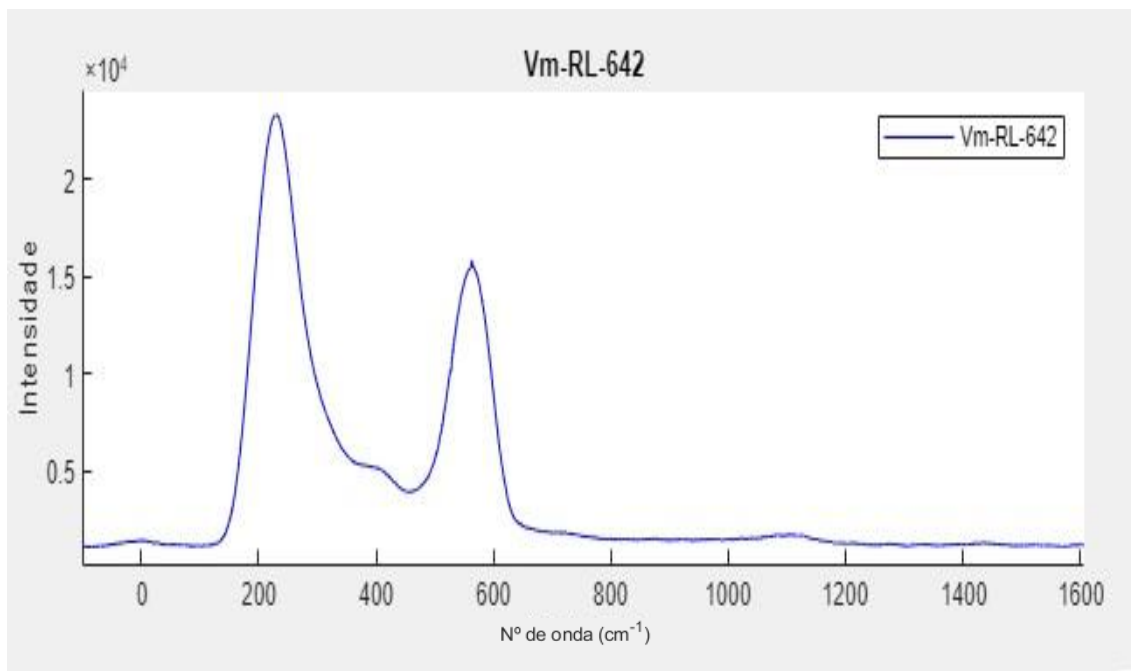


Figura 4.35 – Espectro do pigmento vermelho de chumbo

Na literatura está descrito um pico muito intenso na zona dos  $550 \text{ cm}^{-1}$  e ao analisarmos o gráfico está bem destacado nessa zona um pico de difusão.

Se fizermos a comparação entre a figura 4.34 e a figura 4.3 a) verificamos que, não só a intensidade é superior, mas também que já podemos destacar um pico dos que são mencionados na literatura.

Quanto à gama dos brancos obtivemos melhores resultados utilizando o laser vermelho, mas mesmo assim não podem ser considerados bons. Nas figuras 4.36, 4.37 e 4.38 estão representados os espectros dos pigmentos de calcite, gesso e branco de chumbo.

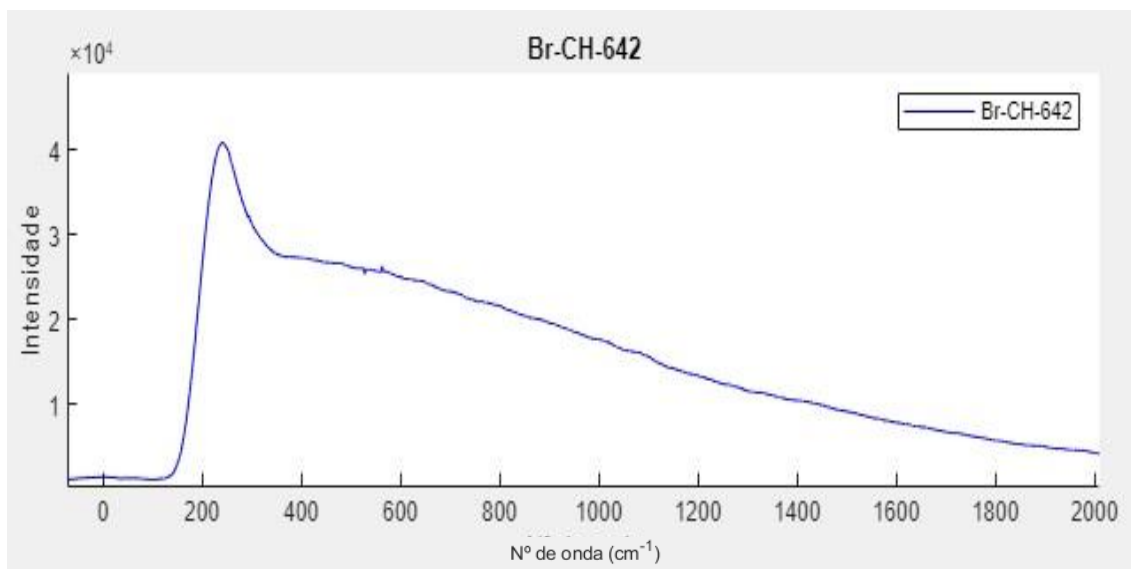


Figura 4.36 – Espectro de pigmento calcite

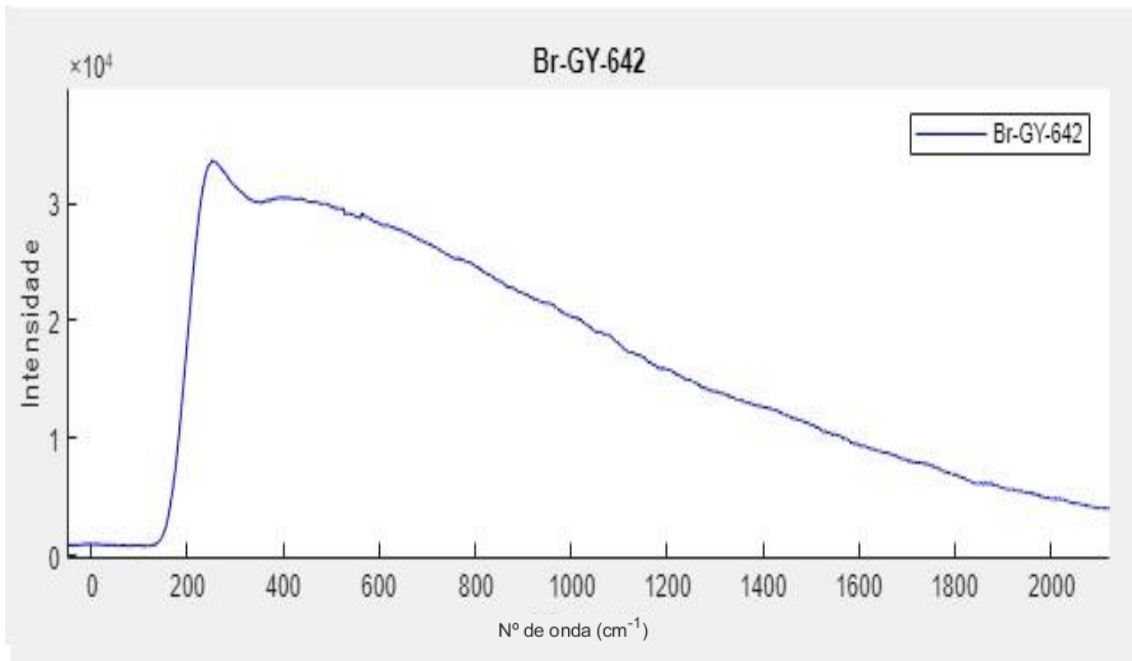


Figura 4.37 – Espectro de Branco de gesso

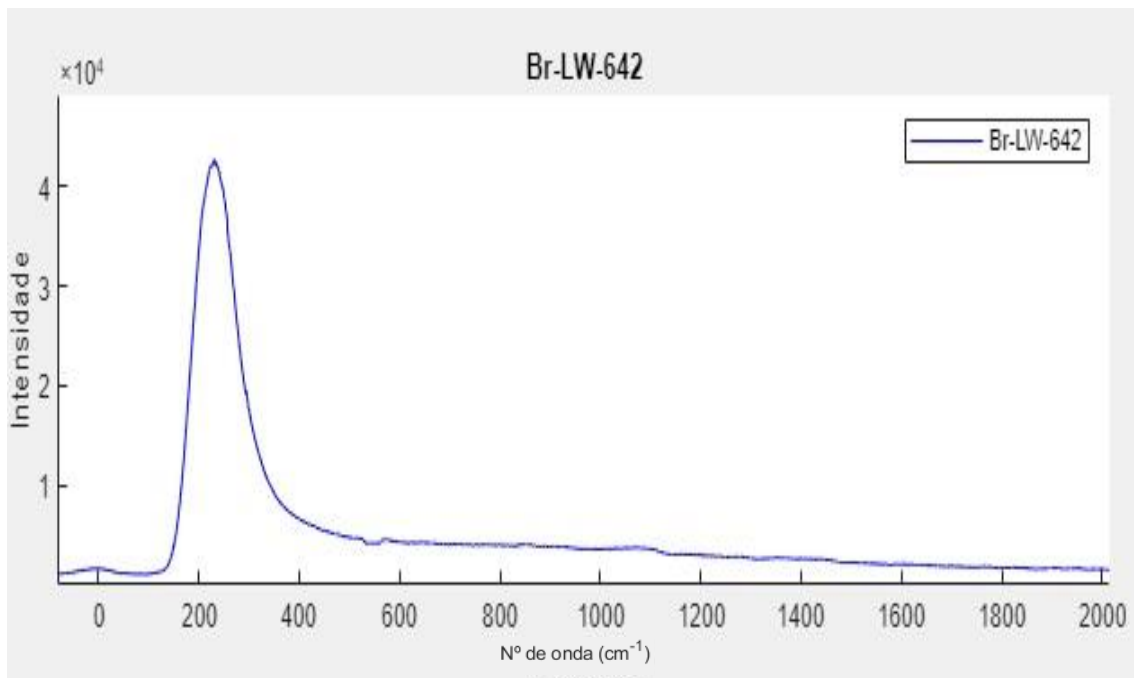


Figura 4.38 – Espectro de branco de chumbo

Nestes três espectros podemos mais uma vez verificar que a difusão de Rayleigh prejudica a análise do gráfico. Verificamos ainda que todos estes gráficos possuem ombros, o que pode ser indicativo de que os picos mais expressivos destas substâncias estão algures nesta zona.



Na figura 4.39 está representado o branco de zinco. Ao compararmos com o gráfico da figura 4.4 a) podemos ver que há um aumento nas contagens, mas nada mais se pode avaliar quanto aos picos desta substância.

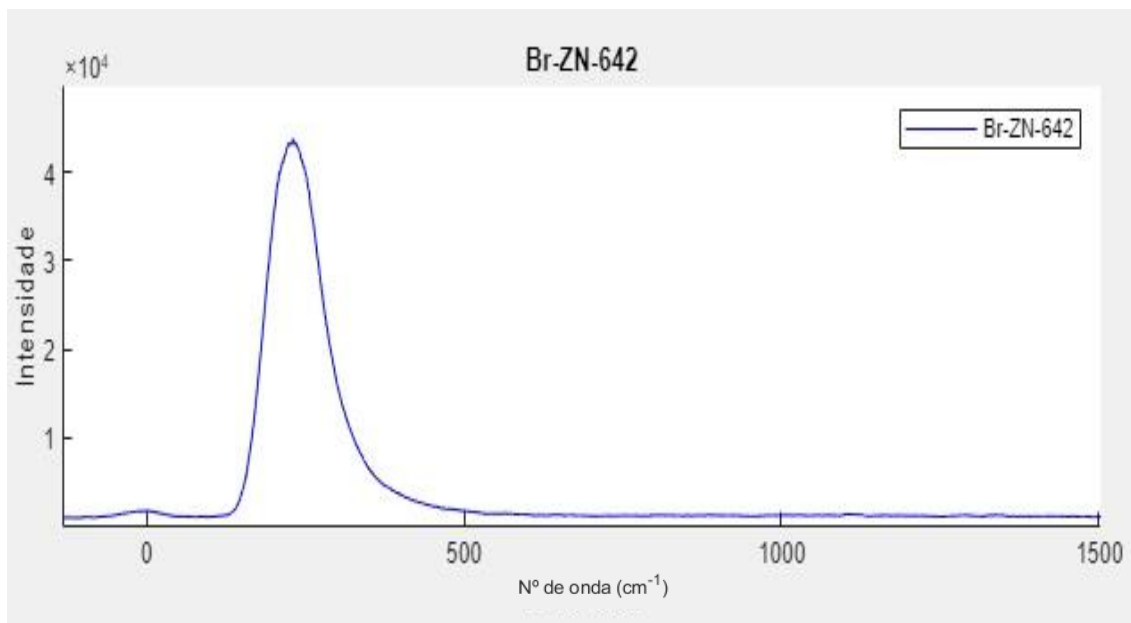


Figura 4.39 – Espectro do branco de zinco

Na figura 4.40 encontra-se o gráfico do pigmento branco de titânio. Da literatura podemos conferir que há dois picos salientes em  $432 \text{ cm}^{-1}$  e em  $601 \text{ cm}^{-1}$ .

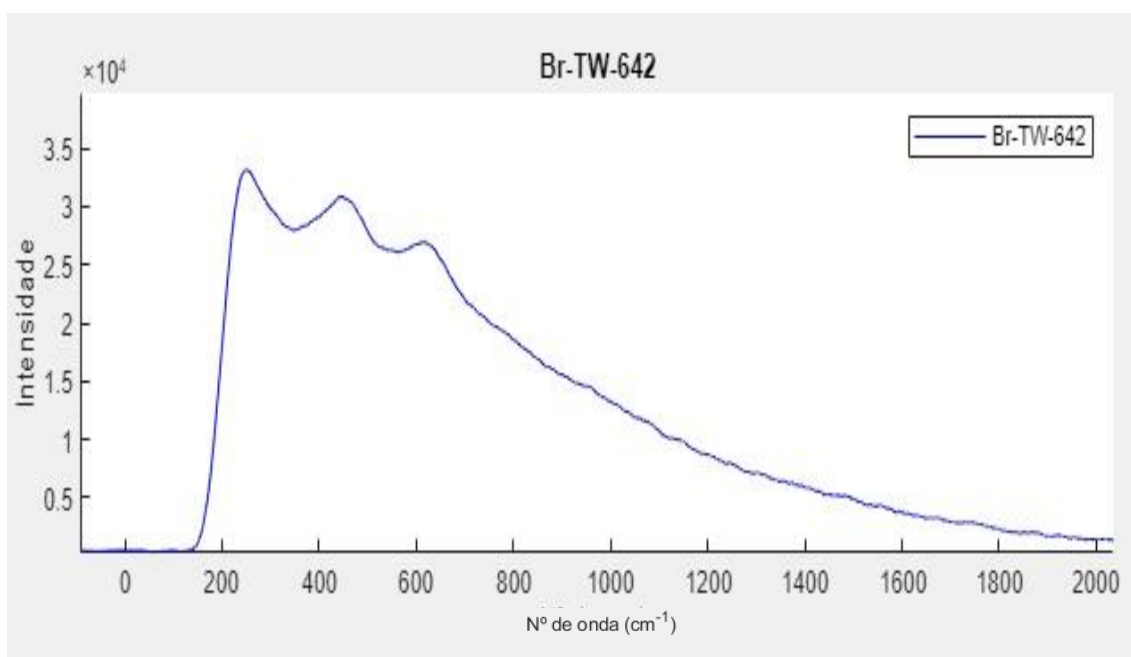


Figura 4.40 – Espectro de branco de titânio

Ao analisarmos o gráfico notamos três picos sendo que o primeiro é da difusão de Rayleigh podemos afirmar que os outros dois picos podem ser os que são descritos na literatura.

Nos espectros obtidos nesta secção não podemos afirmar que a condição do laser é o único fator a contribuir para que haja uma maior intensidade da aquisição ou uma melhor visualização dos espectros. Em certas substâncias podemos ter o sistema otimizado e mesmo assim ser-nos impossível visualizar os picos desejados/esperados pelo simples facto de não estarmos a utilizar o laser adequado.

Ao fazermos uma comparação entre o uso dos dois lasers podemos (talvez) verificar que para o caso de substâncias com tonalidades mais próximas dos comprimentos de onda do laser usado, obtemos melhores resultados.

Tal como foi mencionado para a base de dados criada para o laser verde, esta base de dados deve conter o máximo de espectros relativos a substâncias puras possível. Tanto esta como a base de dados do laser verde vão ser utilizadas nas comparações com espectros de amostras de modo a identificar quais as substâncias presentes.

## **4.4 – Software desenvolvido**

### **4.4.1 – Necessidade**

Com a apresentação do *software* na secção 3 pudemos verificar que existia a necessidade de adquirir ou desenvolver um programa que permitisse que houvesse uma manipulação dos dados obtidos.

Havia a necessidade de podermos fazer uma alteração imediata da escala que nos é amostrada, comprimento de onda, para uma outra mais adequada ao método Raman, número de onda. Teríamos também de ter em conta o laser utilizado, uma vez que a escala é influenciada pelo comprimento de onda do laser.

Outro requisito que seria necessário no *software* a desenvolver seria a capacidade de comparação de espectros. E por fim seria necessário a possibilidade de gravar todas as alterações feitas.

### **4.4.2 – Descrição do software**

De acordo com as necessidades encontradas, na elaboração desta tese, foi desenvolvido um programa, na plataforma Matlab, de modo a satisfazer os requisitos pedidos. Primeiramente o programa lê os ficheiros do *software* de aquisição de dados, que são guardados em ficheiros Excel. Posto isto o programa permite ler apenas os ficheiros, ou começar a manipulá-los. Permite fazer a alteração de comprimento de onda para número de onda, visto ser esta a unidade usada quando estamos a trabalhar com espectros desta natureza. Há a possibilidade de fazer comparação entre dois espectros, de modo a que seja possível ao utilizador pesquisar, através da base de dados, se uma determinada substância se encontra presente numa amostra. Para facilitar a análise e manipulação dos dados foram adicionadas duas opções. A primeira seria a possibilidade de o utilizador, ao fazer uma comparação entre dois espectros, ter a capacidade de fazer uma normalização, padrão ou personalizada, de modo a poder ter uma melhor visualização dos dois gráficos. A segunda opção foi a possibilidade de um utilizador, depois de comparar a amostra com uma substância pura da base de dados, ter a capacidade de apagar os valores, similares dessa substância, do espectro da amostra.

Com isto queremos dizer que ao termos uma amostra podemos comparar com uma substância pura da base de dados e caso consigamos perceber que essa substância está presente na amostra podemos removê-la para que não surjam confusões quando formos comparar com outra substância. O último requisito que o programa cumpre é que em todos os passos do processo de análise dos dados é dada a possibilidade ao utilizador que grave os dados, na diretoria que quiser e com o nome que quiser.

#### 4.4.3 –Utilização do software na manipulação dos dados

De modo a apresentarmos o software começamos por mostrar, na figura 4.41, o layout do programa desenvolvido.

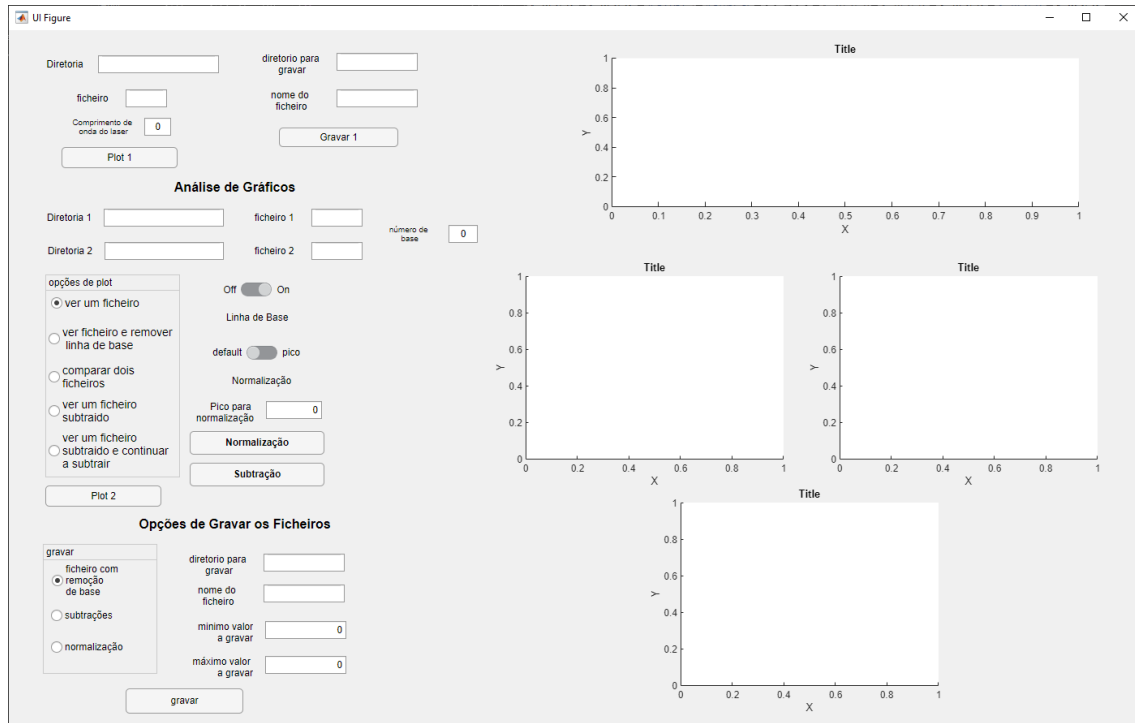


Figura 4.41 – Layout do programa desenvolvido

Observando o layout podemos dividi-lo em duas partes funcionais. A primeira parte, onde se encontra o maior gráfico, é onde o programa faz a primeira alteração aos valores obtidos pelo utilizador. Na figura 4.42 temos a zona referida ampliada de modo a que sejam perceptíveis os comandos apresentados.



Figura 4.42 – Conversão de comprimento de onda em o número de onda

Nesta parte do programa o utilizador insere a diretoria e o nome do ficheiro que quer utilizar e o programa faz a passagem de comprimento de onda para número de onda. Esta conversão é feita aplicando as equações 4.1 e 4.2. O comprimento de onda do laser mencionado está programado para ser o valor do laser verde, ou seja, 532 nm. Caso seja utilizado outro laser é necessário introduzir o seu comprimento de onda. Posto isto o utilizador pode gravar o gráfico obtido indicando a diretoria desejada e atribuindo um nome ao ficheiro.

Todos os gráficos utilizados até agora já são em unidades de número de onda de forma que podemos comparar com os valores da literatura de forma mais eficiente.

Na figura 4.43 temos um fluxograma ilustrativo do que esta parte do programa faz.

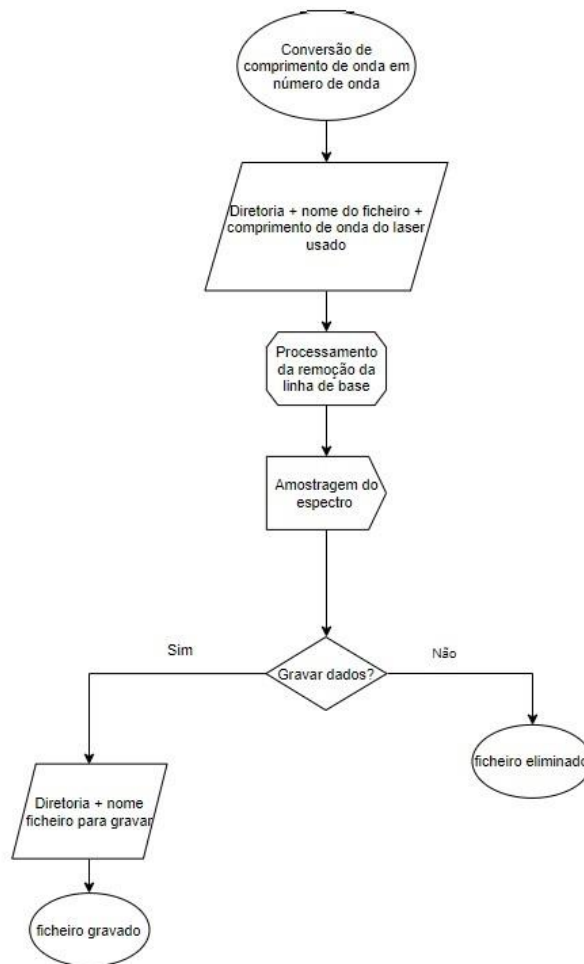


Figura 4.43 – Fluxograma ilustrativo do funcionamento da primeira parte do *software*

A segunda parte do programa é onde nos iremos focar mais nesta secção, dando não só a explicação de como esta funciona, mas também exemplos ilustrativos de modo a mostrarmos que é necessária esta manipulação dos dados para que possamos retirar conclusões dos resultados obtidos.

Tal como fizemos para a primeira parte mostramos na figura 4.44 a ampliação do *layout* de modo a que seja mais fácil a sua visualização, bem como a explicação seja mais simples.

### Análise de Gráficos

Diretoria 1       ficheiro 1

Diretoria 2       ficheiro 2

número de base

opções de plot

ver um ficheiro

ver ficheiro e remover linha de base

comparar dois ficheiros

ver um ficheiro subtraído

ver um ficheiro subtraído e continuar a subtrair

Off  On

Linha de Base

default  pico

Normalização

Pico para normalização

Figura 4.44 – Análise e visualização gráfica dos resultados obtidos

É pedido ao utilizador que introduza a diretoria ou diretorias dos ficheiros que pretende analisar e manipular, bem como os nomes dos ficheiros. O utilizador pode ver os gráficos que possui, fazer a remoção da linha de base, caso seja necessário, comparar e subtrair ou normalizar os ficheiros.

Para que seja mais simples a compreensão do que esta segunda parte do programa pode fazer é usado o fluxograma da figura 4.45.

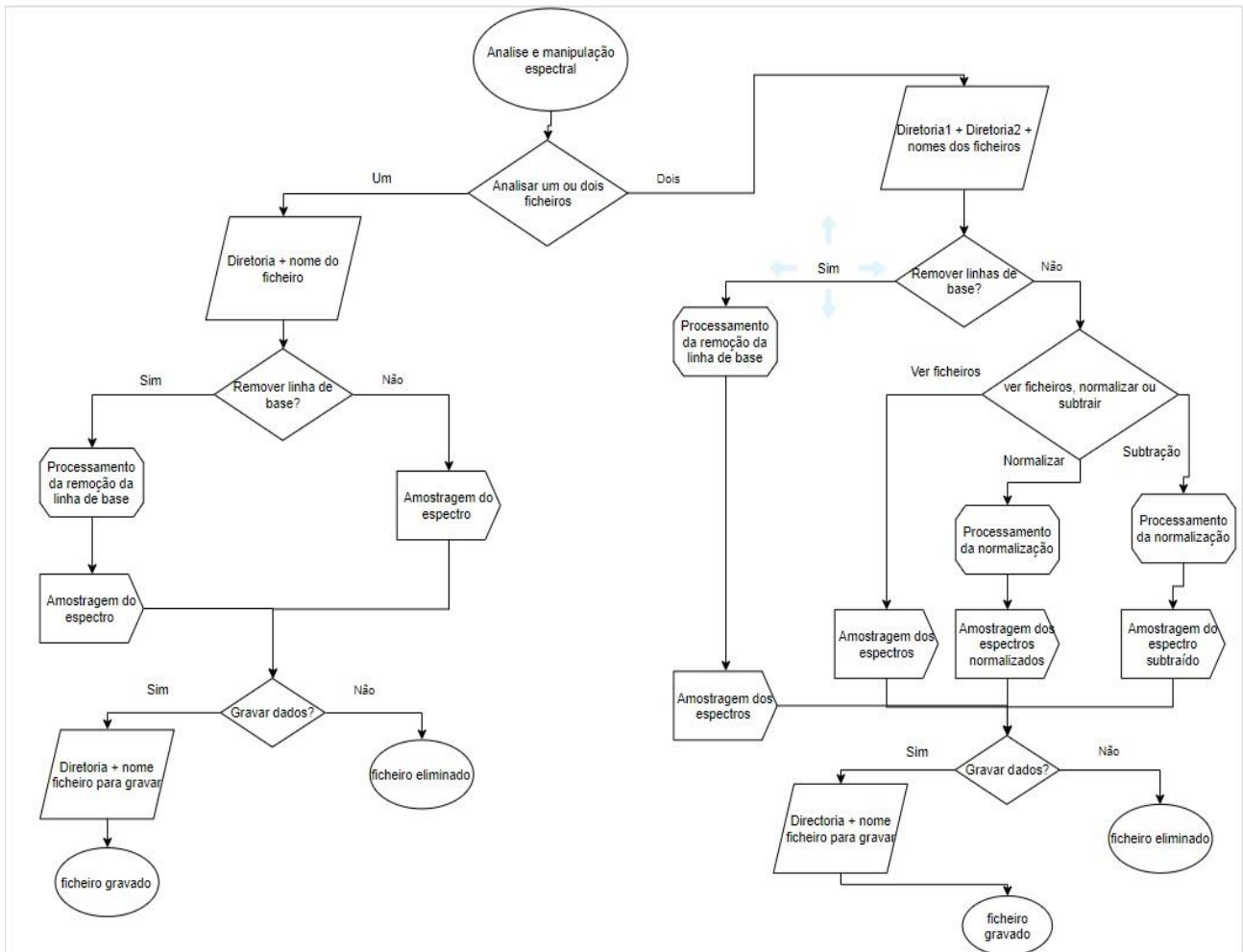


Figura 4.45 – Fluxograma ilustrativo da segunda parte do *software* desenvolvido

Começamos por exemplificar a remoção das linhas de base. Refazendo os gráficos dos pigmentos de ultramarino e de amarelo de cobalto, que obtivemos usando o laser verde, e fazendo a comparação com as figuras 4.1 e 4.2 para que possamos ver que usando o programa há uma melhoria na visualização dos picos mostramos nas figuras 4.46 e 4.47 os gráficos com a linha de base removida dos pigmentos ultramarino e amarelo de cobalto, respetivamente.

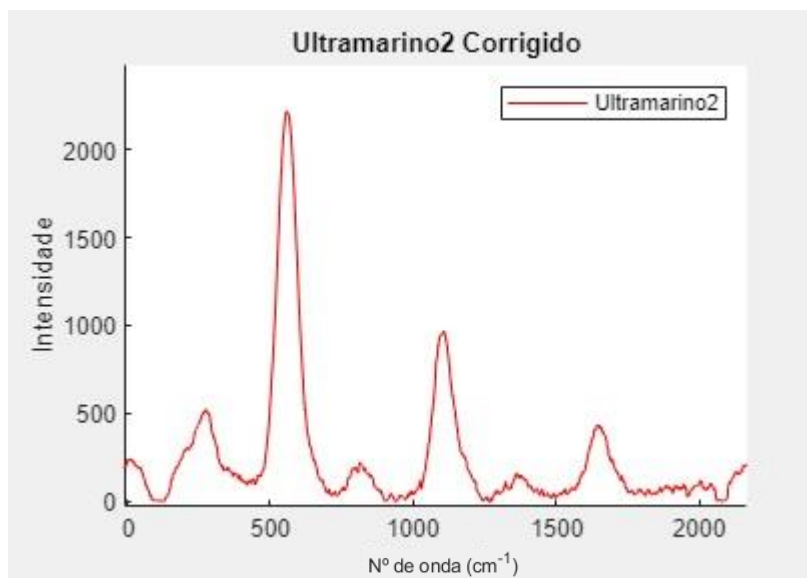


Figura 4.46 – Espectro do pigmento ultramarino com laser verde e remoção da linha de base

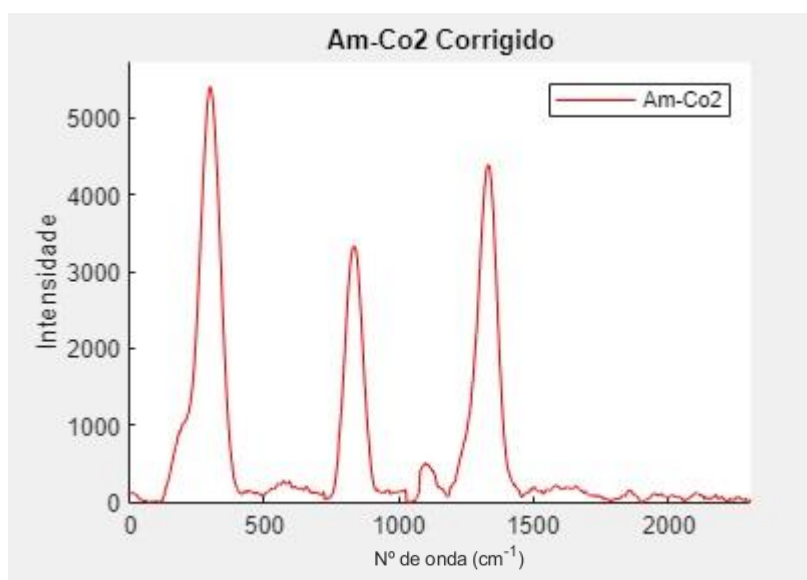


Figura 4.47 – Espectro do pigmento amarelo de cobalto com laser verde e remoção da linha de base

Ao fazermos a comparação com os gráficos das figuras 4.1 e 4.2 percebemos que houve uma melhoria de qualidade dos picos. Por exemplo do pigmento ultramarino notamos que o pico que selecionamos na figura 4.1 está mais estreito e com lados simétricos, algo que caracteriza os picos de difusão Raman. Ainda no mesmo gráfico podemos salientar que o pico anterior ao mencionado é o pico da difusão de Rayleigh e que o podemos identificar melhor usando a remoção da linha de base. Quanto ao amarelo de cobalto obtemos também uns picos mais estreitos.

Na figura 4.48 mostramos a remoção da linha de base do pigmento branco de zinco.

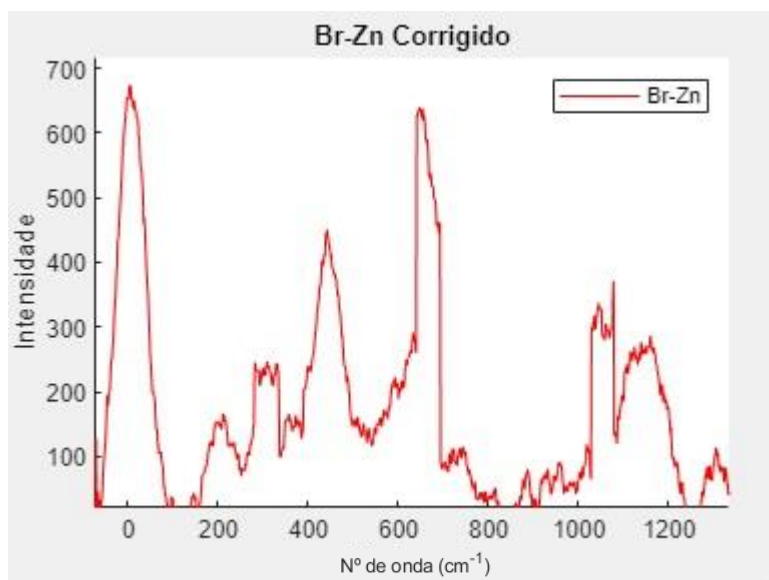


Figura 4.48 – Espectro do pigmento branco de zinco com laser verde e remoção da linha de base

No caso deste pigmento, depois da remoção da linha de base, é difícil de podermos concluir que os picos que marcamos na figura 4.5 são mesmo os picos referidos na literatura uma vez que o número de contagens é tão baixo que podemos interpretar como sendo ruído e não picos de difusão. O mesmo acontece para a hematite.

Passando agora para os espectros obtidos com o laser vermelho, iremos demonstrar algumas remoções de linha de base na zona do azul e do vermelho. Começando pelos azuis, na figura 4.49 temos o pigmento ultramarino.

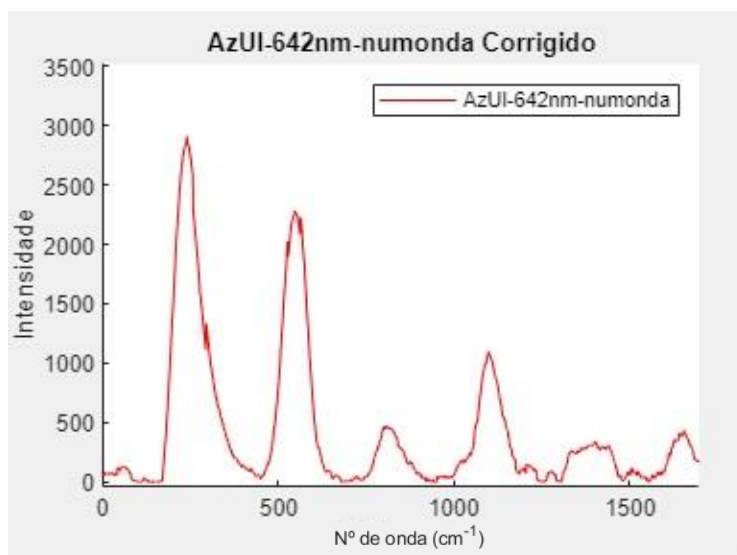


Figura 4.49 – Espectro do pigmento ultramarino com laser vermelho e remoção da linha de base

Neste espectro o que verificamos é que há um pico muito proeminente, que corresponde ao da difusão de Rayleigh. No entanto podemos verificar que os restantes picos são coerentes com o que esperávamos.



Na figura 4.50 mostramos o espectro do pigmento lazurite. O ultramarino é a versão sintética deste pigmento e como tal esperávamos ter um espectro similar ao da figura 4.46.

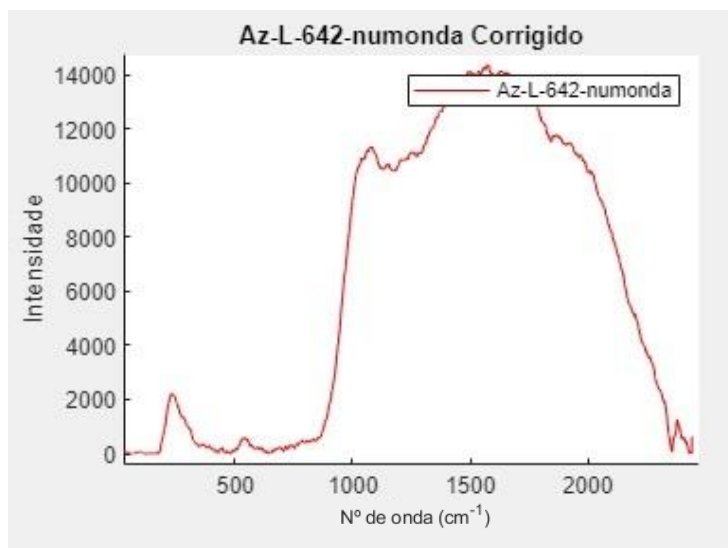


Figura 4.50 – Espectro do pigmento lazurite com laser vermelho e remoção da linha de base

Podemos ver que é bastante diferente do ultramarino e que até há uma saturação a partir dos  $1000\text{ cm}^{-1}$ . Ao fazermos a focagem verificamos que há uma contaminação, que suspeitamos ser de calcite, neste pigmento e como tal pode ter influenciado os resultados. Na figura 4.51 mostramos a imagem que obtivemos com a focagem no laboratório.



Figura 4.51 – Imagem de uma amostra de lazurite depois da focagem

Como podemos observar pela figura existem zonas que não são brancas e como tal depreendemos que haja uma contaminação desta substância. A saturação que observamos segue o perfil da que verificamos com o pigmento de calcite. No gráfico de calcite com o laser vermelho não é tão proeminente porque o pico da difusão de Rayleigh é muito intenso, mas ao observarmos a figura 4.6 verificamos esse comportamento.

Ao passarmos para os espectros na gama dos vermelhos obtemos alguns bons resultados se tivermos e conta que a difusão de Rayleigh tem o pico mais saliente. Nas

figuras 4.52 e 4.53 temos os pigmentos vermelhão e vermelho de chumbo, respetivamente.

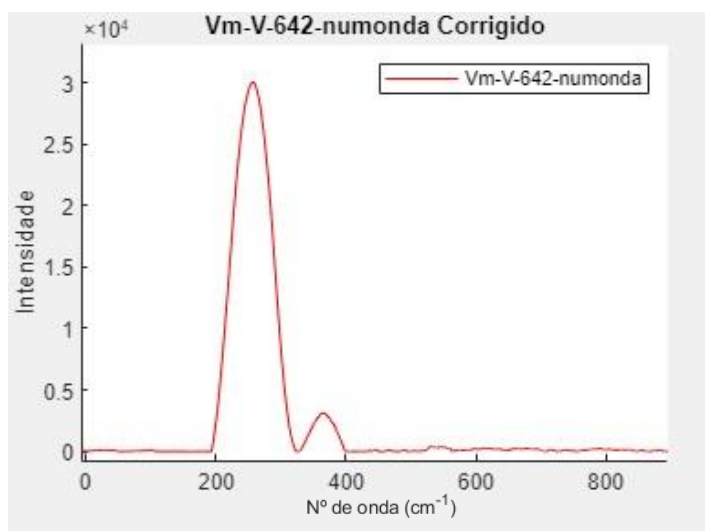


Figura 4.52 – Espectro do pigmento vermelhão com laser vermelho e remoção da linha de base

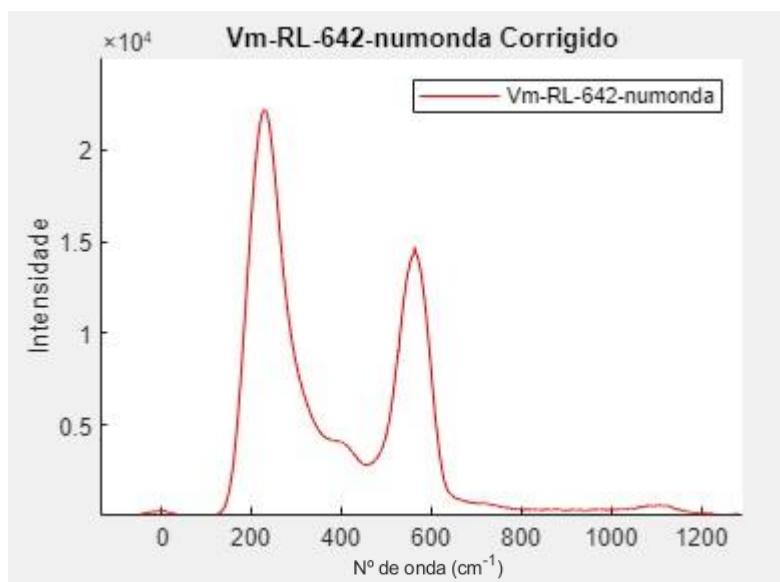


Figura 4.53 – Espectro do pigmento vermelho de chumbo com laser vermelho e remoção da linha de base

Ao fazermos a comparação com o vermelhão da figura 4.34, onde só conseguíamos ver um ombro no linha de Rayleigh, agora com a remoção da linha de base conseguimos verificar que é possível que seja um pico do pigmento. Quanto ao vermelho de chumbo verificamos que a remoção da linha de base teve pouca influência gráfica.

Com estes exemplos podemos ver como a remoção da linha de base facilita a avaliação dos espectros. Estes ficam com um *layout* mais “limpo” de modo a que a sua apresentação se aproxima do que nos é apresentado na literatura.

De seguida mostramos o aspeto mais relevante do programa, a possibilidade de comparar dois espectros. Esta opção dá possibilidade ao utilizador de comparar diretamente um espectro de uma amostra com a base de dados. Como isto o utilizador pode verificar se o pigmento da base de dados está presente na amostra. Na figura 4.54 temos uma comparação dos espectros de Ultramarino obtidos com os dois lasers.

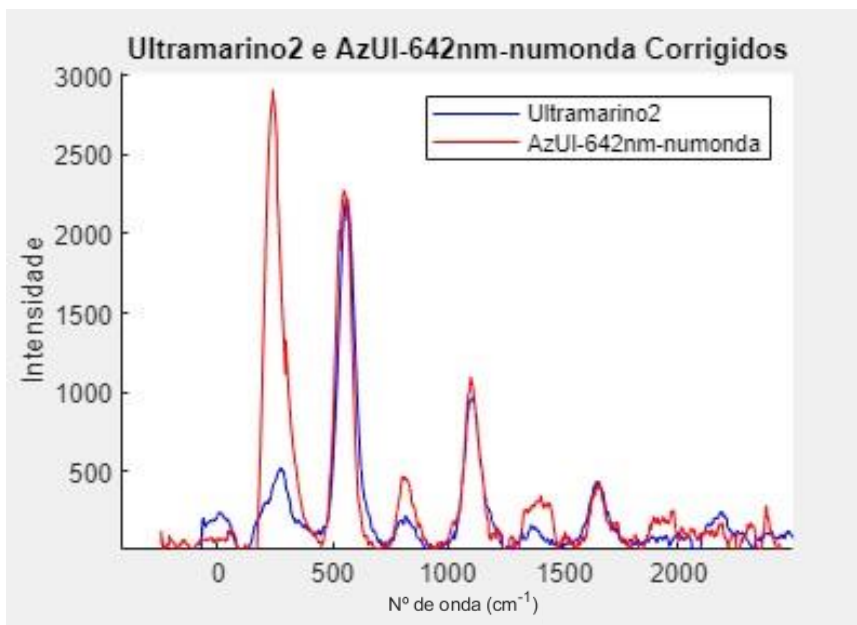


Figura 4.54 – Comparação dos espectros de ultramarino, linha azul corresponde ao laser verde e linha vermelha ao laser vermelho.

Neste gráfico podemos tirar duas conclusões, a primeira é que os picos relevantes coincidem nos dois espectros, a segunda é que os filtros escolhidos para o laser vermelho foram os possíveis e não os ideais. Esta última conclusão pode ser feita pelo pico da difusão de Rayleigh que observamos. Ao compararmos os dois picos vemos que o do laser vermelho é muito mais intenso do que o do laser verde. Se recuarmos a secção 4.3.2 onde vemos que as sobreposições, dos gráficos de transmissão dos filtros escolhidos para o laser vermelho, têm uma percentagem de transmissão de cerca de 0,5% que é o suficiente para que haja um pico tão intenso. Podemos então concluir que, para além de os filtros utilizados para o laser verde estarem otimizados para o comprimento de onda do laser, o comprimento de onda do laser vermelho não é o padrão para a gama do vermelho e como tal os filtros não estão otimizados.

Após a remoção de base é dada ao utilizador a possibilidade de fazer uma normalização quando compara os gráficos. Esta função permite uma melhoria adicional para que haja uma melhor visualização gráfica. A normalização tem como base a equação 4.1.

$$R = \frac{M}{n} \quad (4.1)$$

Onde  $M$  é a ordenada selecionada pelo utilizador e  $n$  é a ordenada do gráfico com que estamos a comparar correspondente a mesma abcissa. Depois de feita a razão entre estes dois valores, todos os valores do gráfico com que estamos a comparar são multiplicados por  $R$ . A normalização pode ser feita de duas maneiras. A primeira, e a que está configurada como *default* no programa, faz um varrimento do primeiro espectro introduzido pelo utilizador e encontra o maior pico sendo esse o ponto de referência para a normalização. A segunda é o utilizador introduzir o ponto para a normalização. Na imagem 4.55 podemos ver a comparação entre os espectros de amarelo de crómio.

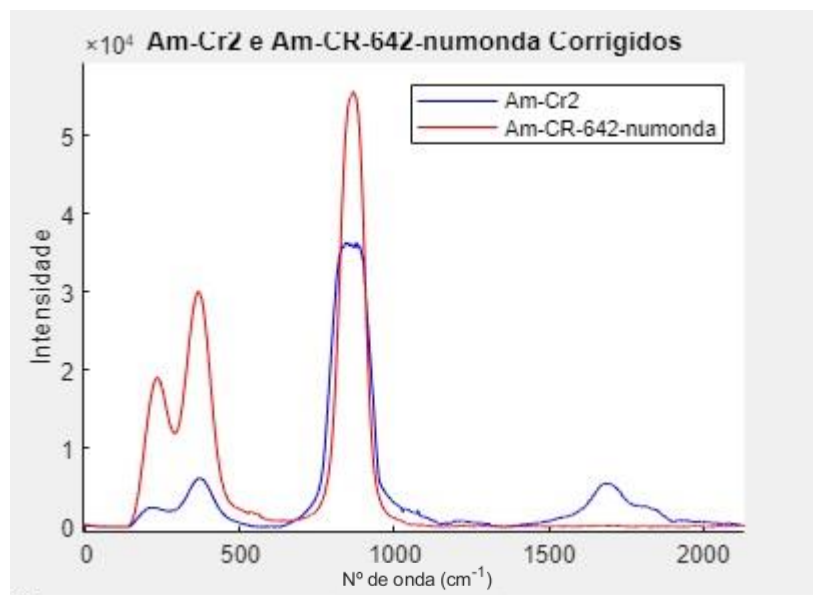


Figura 4.55 – Espectros de amarelo de crómio com o laser verde (linha azul) e com o laser vermelho (linha vermelha)

Podemos verificar se com qualquer um dos lasers os picos são detetados nos mesmo números de onda, mas com intensidades diferentes. Para uma melhor avaliação se os picos realmente coincidem é necessária uma normalização. Na figura 4.56 está demonstrada a normalização *default*.

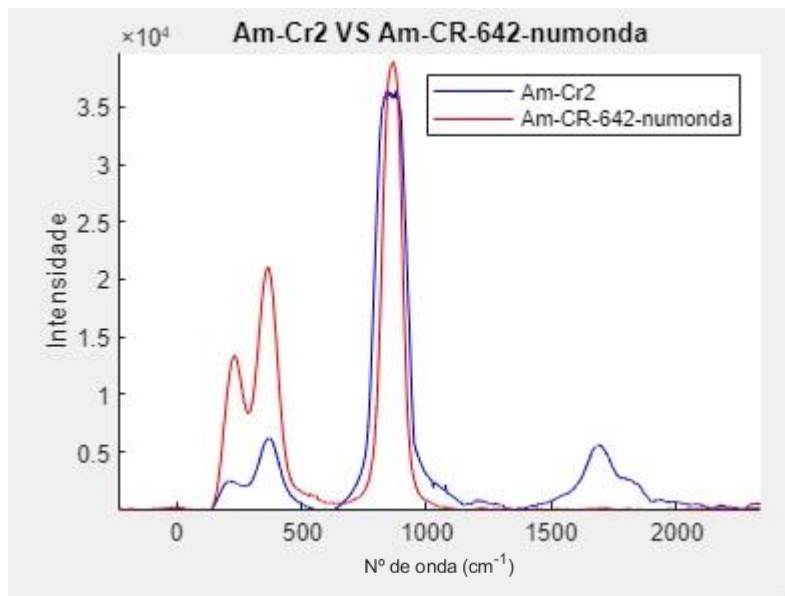


Figura 4.56 – Normalização dos espectros de amarelo de cromo

Como podemos ver o programa selecionou o pico maior do espectro do laser verde, linha a azul, e fez uma normalização em relação ao espectro obtido do laser vermelho. Podemos observar um aumento significativo dos picos em comparação ao visualizados na figura 4.52.

Na figura 4.57 está demonstrada a possibilidade oferecida ao utilizador de escolher o pico para a normalização.

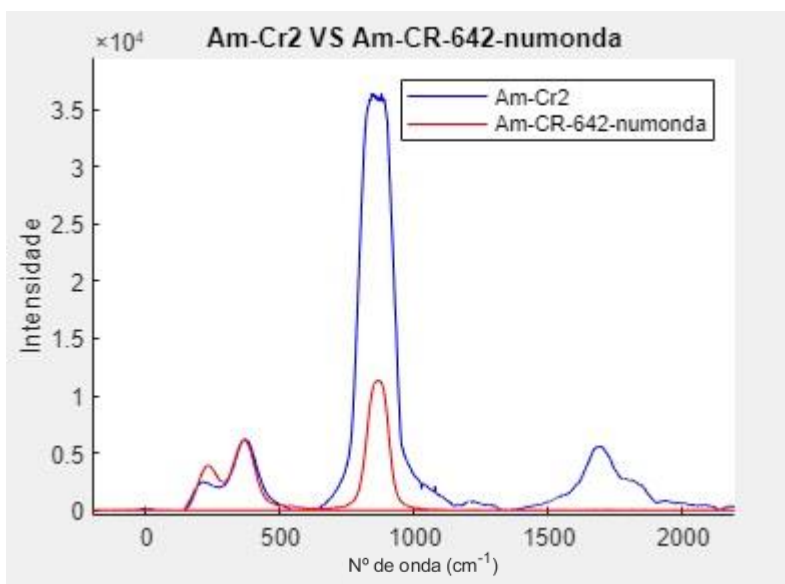


Figura 4.57 – Normalização, com escolha do pico, dos espectros de amarelo de cromo

Para esta normalização foi selecionado o pico nos  $364\text{ cm}^{-1}$ . Podemos ver que com esta normalização esse pico coincide com o pico do espectro obtido como laser vermelho. Em contrapartida o pico mais proeminente fica desproporcional.

Com a normalização feita e depois de ter verificado os picos de interesse é ainda fornecida, ao utilizador, a possibilidade de remover os dados comparados do espectro em estudo. Esta funcionalidade, mais uma vez, permite que haja uma melhor avaliação quando estamos a estudar a existência dos pigmentos numa determinada amostra. De modo a exemplificar o que foi dito sobre a subtração, temos na figura 4.58 uma comparação de espectros entre o branco de zinco e o vermelho de chumbo obtidos com o laser vermelho.

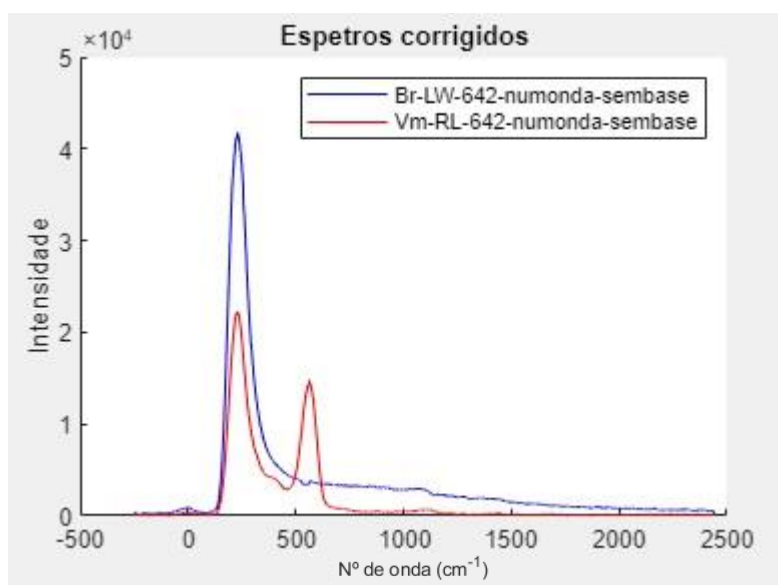


Figura 4.58 – Comparação de espectros de branco de zinco e de vermelho de chumbo

Esta comparação só tem como intuito ver como funciona a função de subtração do *software*. Na figura 4.59 temos então o resultado da subtração do pigmento vermelho de chumbo ao branco de zinco.

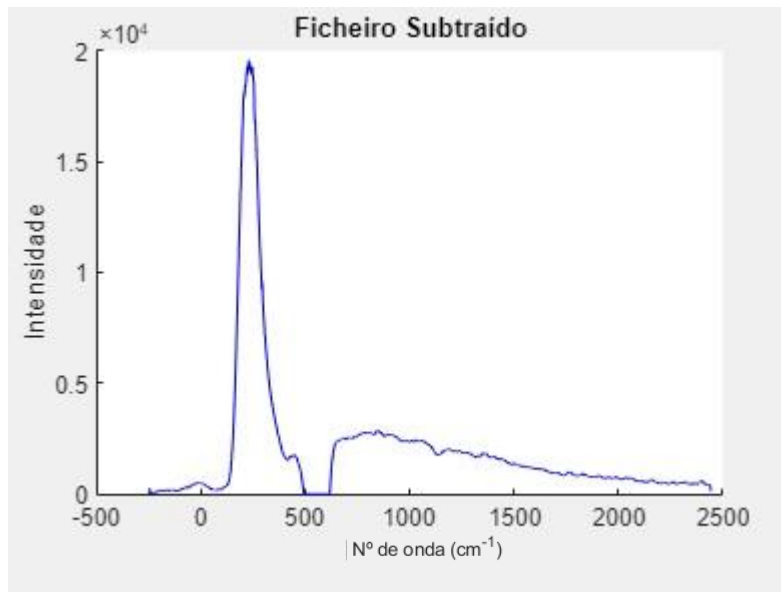


Figura 4.59 – Subtração do espectro de vermelho de chumbo ao de branco de zinco

Como podemos ver neste espectro, ao subtrairmos o espectro de vermelho de chumbo, não só o pico mais proeminente, neste caso corresponde a difusão de Rayleigh, mas também o ombro que o gráfico possuía diminuíram. O programa foi desenvolvido de forma a que quando é feita a subtração, e caso o valor seja inferior a 0, seja atribuído o valor 0 nesse ponto. De outro modo o gráfico poderia obter valores negativos e não seriam de interesse para a análise espectral.

Do *software* falta mencionar que em todos os passos do processo de análise é dada a possibilidade ao utilizador de gravar os seus ficheiros. Na figura 4.60 está a ampliação do *layout* onde são dadas essas funcionalidades ao utilizador.

### Opções de Gravar os Ficheiros

gravar

ficheiro com remoção de base

remoção de base

subtrações

normalização

diretorio para gravar

nome do ficheiro

minimo valor a gravar

máximo valor a gravar

Gravar

Figura 4.60 – Ampliação do *layout* de opções de gravação do *software*.

Como podemos ver existem três opções para a gravação dos espectros ilustrando que em qualquer altura da análise espectral o utilizador tem a possibilidade de gravar os dados manipulados para uma reavaliação futura. Este programa foi desenvolvido em *Matlab* e como tal permite ao utilizador funções como gravar os gráficos em imagens de modo a serem posteriormente utilizados. Este *software* foi transformado numa aplicação através do sistema *appdesigner*, também na plataforma *Matlab*. Esta capacidade de transformar uma interface gráfica numa aplicação permite que possamos disponibilizar a qualquer possível utilizador que necessite fazer uma manipulação de dados deste método de maneira simples e sem a necessidade de possuir a plataforma instalada.

## Conclusão e melhorias futuras

O intuito desta tese era tornar a técnica de Espetroscopia Micro-Raman, disponível no laboratório, mais portátil e solucionar as necessidades instrumentais que surgiram com o uso desta técnica. Essas necessidades eram a criação de bases de dados de substâncias puras, fazer a adaptação no sistema para usar o laser vermelho, uma adaptação para que fosse possível a ligação da câmara, incorporada na sonda, a um computador portátil, alterar a constituição de um tripé de modo a que pudéssemos acoplar a sonda e o desenvolvimento de um *software* que permitisse não só uma visualização gráfica mas também desse ao utilizador a possibilidade de manipular os dados obtidos.

A adaptação do sistema para que houvesse a ligação entre a sonda e um computador portátil foi alcançada e todas as imagens de focagens de amostras utilizadas foram adquiridas num computador. As alterações necessárias para o acoplamento da sonda ao tripé também foram conseguidas recorrendo a um adaptador. Quanto ao *software* de aquisição de espectros, foi feita uma tentativa de instalação num computador portátil, mas este não era compatível com a versão do sistema operativo e como tal não foi possível a sua utilização. Este contratempo pode ser ultrapassado se for usada uma consola virtual, instalada no computador portátil, de modo a poder ser utilizada a versão do sistema operativo desejada e necessária. Todas estas adaptações permitirão que o uso da técnica Espetroscopia Micro-Raman seja o mais portátil possível.

Quanto à alteração do sistema para a utilização do laser vermelho, foi conseguido, mas como o comprimento de onda do laser não é o *standard* para esta gama os filtros não estão otimizados e como tal os espectros obtidos foram apenas razoáveis. Com a obtenção de um laser *standard* teríamos uma melhoria significativa.

As bases de dados foram elaboradas, quer para o laser verde como para o laser vermelho, mas para um trabalho futuro seria interessante readquirir os espectros das substâncias usadas. Com um reajuste na calibração bem como na aquisição, poderia ser possível a obtenção de melhores espectros das substâncias que usamos, mas também sermos capazes de obter espectros de outras substâncias que, devido ao tempo disponível, não foram usadas nesta tese.

Por fim, o *software* desenvolvido cumpre com todos os requisitos para que foi feito, de forma razoável. Como trabalho futuro, tentar otimizar a capacidade que o programa tem de remoção de linhas de base e sinais de ruído bem como melhorar a interface gráfica para que esta seja mais simples e mais intuitiva para o utilizador.



## Bibliografia

- [1] "C.V. Raman and the Raman Effect," Jadavpur, Calcutta, 15 Dezembro 1998. [Online]. Available: <https://www.acs.org/content/acs/en/education/whatischemistry/landmarks/ramaneffect.html>. [Acedido em junho 2020].
- [2] "What is Raman Spectroscopy?," [Online]. Available: [https://www.horiba.com/en\\_en/raman-imaging-and-spectroscopy/](https://www.horiba.com/en_en/raman-imaging-and-spectroscopy/). [Acedido em junho 2020].
- [3] "Raman Scattering," University of Cambridge. [Online]. Available: [https://www.doitpoms.ac.uk/tlplib/raman/raman\\_scattering.php](https://www.doitpoms.ac.uk/tlplib/raman/raman_scattering.php). [Acedido em julho 2020].
- [4] Wenzel, P. T. e Dana, P. A., "Raman Spectroscopy/ Chemistry Libretexts," 09 Junho 2020. [Online]. Available: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical\\_Chemistry/Supplemental\\_Modules\\_\(Analytical\\_Chemistry\)/Analytical\\_Sciences\\_Digital\\_Library/Active\\_Learning/In\\_Class\\_Activities/Molecular\\_and\\_Atomic\\_Spectroscopy/03\\_Text%3A\\_Molecular\\_and\\_Atomic\\_Spectroscopy](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_(Analytical_Chemistry)/Analytical_Sciences_Digital_Library/Active_Learning/In_Class_Activities/Molecular_and_Atomic_Spectroscopy/03_Text%3A_Molecular_and_Atomic_Spectroscopy). [Acedido em junho 2020].
- [5] "Introduction to Raman Spectroscopy," [Online]. Available: <https://www.technospex.com/resources/introduction-to-raman-spectroscopy/>. [Acedido em junho 2020].
- [6] "Stokes and anti-Stokes scattering/ University of Cambridge," [Online]. Available: <https://www.doitpoms.ac.uk/tlplib/raman/stokes.php>. [Acedido em junho 2020].
- [7] "Number of Vibrational Modes in a Molecule," 15 Agosto 2020. [Online]. Available: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\\_Textbook\\_Maps/Supplemental\\_Modules\\_\(Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\)/Spectroscopy/Vibrational\\_Spectroscopy/Vibrational\\_Modes/Number\\_of\\_Vibrational\\_Modes\\_in\\_a\\_Molecule](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Spectroscopy/Vibrational_Spectroscopy/Vibrational_Modes/Number_of_Vibrational_Modes_in_a_Molecule). [Acedido em Agosto 2020].
- [8] Duarte, R., "Figura 49," 2013. [Online]. Available: [https://www.researchgate.net/figure/Figura-49-Modos-vibracionais-de-moleculas-diatomicas-e-triatomicas-Fonte-Sokolik\\_fig27\\_268149368](https://www.researchgate.net/figure/Figura-49-Modos-vibracionais-de-moleculas-diatomicas-e-triatomicas-Fonte-Sokolik_fig27_268149368). [Acedido em Agosto 2020].
- [9] Sarmiento, M., "Degradação de pigmentos com a temperatura estudada por XRF, XRDm SEM-EDS e Micro-Raman," Setembro, Coimbra, 2016. Tese de Mestrado em Engenharia Física
- [10] M. B. e. Santos, "Espectroscopia", Técnico de Lisboa, 2017. [Online]. Available: <http://web.ist.utl.pt/ist12219/ESP/Introducao%20a%20Espectroscopia.pdf>. [Acedido em Agosto 2020].
- [11] "Unit4 Polarizability/DukeOpen Chemistry," 16 Outubro 2011. [Online]. Available: [https://www.youtube.com/watch?v=WT20KfxkoS0&ab\\_channel=DukeOpenChemistry](https://www.youtube.com/watch?v=WT20KfxkoS0&ab_channel=DukeOpenChemistry). [Acedido em Agosto 2020].
- [12] "Polarizability/Chemistry Libretexts," 15 Agosto 2020. [Online]. Available: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\\_Textbook\\_Maps/Supplemental\\_Modules\\_\(Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\)/Physical\\_Properties\\_of\\_Matter/Atomic\\_and\\_Molecular\\_Properties/Intermolecular\\_Forces/Specific\\_Interactions/Po](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Physical_Properties_of_Matter/Atomic_and_Molecular_Properties/Intermolecular_Forces/Specific_Interactions/Po). [Acedido em Agosto 2020].

- [13] "Raman Scattering / University of Oxford," [Online]. Available: <http://mackenzie.chem.ox.ac.uk/teaching/Raman%20Scattering.pdf>. [Acedido em Agosto 2020].
- [14] Saul, M. Louise, "IR Versus Raman - The Advantages and Disadvantages / AZOOPTICS," 02 Fevereiro 2018. [Online]. Available: <https://www.azooptics.com/Article.aspx?ArticleID=1291>. [Acedido em Agosto 2020].
- [15] "MicroRaman Spectrometer Design / CRAIG," [Online]. Available: <http://www.microspectra.com/support/the-science/microraman-spectrometer-design>. [Acedido em Agosto 2020].
- [16] Jasco, "Portable Raman System: RMP - 210," p. 03.
- [17] "Go Photonics," [Online]. Available: <https://www.gophotonics.com/products/lasers/ii-vi-suwtech-inc/29-731-dppl-2100>. [Acedido em Agosto 2020].
- [18] "Iridian Spectral Technologies," [Online]. Available: <https://www.iridian.ca/product/532-bpf/>. [Acedido em Agosto 2020].
- [19] "SemRock," [Online]. Available: <https://www.semrock.com/filterdetails.aspx?id=lp03-532rs-25>. [Acedido em Agosto 2020].
- [20] "Definition of Monochromators / Chemicool Dictionary," [Online]. Available: <https://www.chemicool.com/definition/monochromators.html>. [Acedido em Agosto 2020].
- [21] H. J. YVON, "MicroHR Imaging Spectrometer, User Manual," 2006, p. 2.
- [22] "Definition of photodiode array (PDA) / Chemicool Dictionary," [Online]. Available: [https://www.chemicool.com/definition/photodiode\\_array\\_pda.html](https://www.chemicool.com/definition/photodiode_array_pda.html). [Acedido em Agosto 2020].
- [23] "NMOS linear image sensor, S3903-1024Q" [Online]. Available: <https://www.hamamatsu.com/eu/en/product/type/S3903-1024Q/index.html>. [Acedido em Setembro 2020].
- [24] Lerner, J. M., "Imaging Spectrometer Fundamentals for Researchers in the Biosciences - A Tutorial," 19 Dezembro 2005.
- [25] L. Burgio e R. J. Clark, *Spectrochimica Acta Part A* 57 (2001) 1491–1521, páginas 1504 até 1518, "Library of FT-Raman spectra of pigments, minerals, pigment media and varnishes, and supplement to existing library of Raman spectra of pigments with visible excitation," 14 Dezembro 2000.
- [26] "THORLABS," [Online]. Available: [https://www.thorlabs.com/newgrouppage9.cfm?objectgroup\\_id=1001](https://www.thorlabs.com/newgrouppage9.cfm?objectgroup_id=1001). [Acedido em Fevereiro 2020].
- [27] "Lambda Scientific," [Online]. Available: <https://lambdasys.com/products/detail/451>. [Acedido em Agosto 2020].