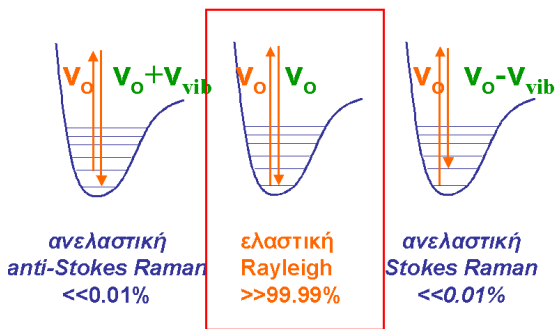




Τεχνική Αναφορά ΤΔ006.01
Συνεστιακή (confocal) μικροσκοπία Raman
Βασικές αρχές και εφαρμογές

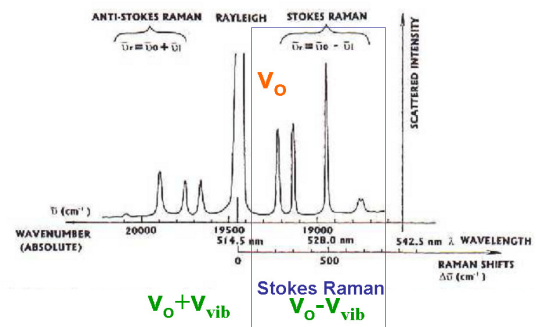
Η φασματοσκοπία Raman στηρίζεται στις αρχές της ανελαστικής σκέδασης φωτονίων, σε αντίθεση με την φασματοσκοπία υπερύθρου, που βασίζεται στο φαινόμενο του συντονισμού. Το δείγμα ακτινοβολείται και διεγείρεται με μονοχρωματική ακτινοβολία (laser) συχνότητας ν_0 . Αποδιεγειρόμενο, σκεδάζει κυρίως ελαστικά, δηλ. στην ίδια συχνότητα ν_0 . Ένα μικρό ποσοστό της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας που τυπικά δεν ξεπερνά το 0.01% εμφανίζει ανελαστική σκέδαση και παρατηρείται σε μικρότερες ($\nu_0 - \nu_{\text{VIB}}$), ή μεγαλύτερες συχνότητες ($\nu_0 + \nu_{\text{VIB}}$), όπου ν_{VIB} οι συχνότητες των δονητικών μεταπτώσεων του υλικού (Σχ. 1). Τα φάσματα των ανελαστικά σκεδαζόμενων φωτονίων ονομάζονται Stokes και anti-Stokes, αντίστοιχα και μαζί αποτελούν το φάσμα Raman. Η συνήθης απεικόνιση των φασμάτων γίνεται όχι ως προς τις απόλυτες συχνότητες ($\nu_0 - \nu_{\text{VIB}}$), αλλά ως προς την μετατόπιση ν_{VIB} από την διεγείρουσα ν_0 (Σχ. 2).



Σχήμα 1. Αρχή της φασματοσκοπίας Raman. Ελαστική και ανελαστική σκέδαση φωτονίων.

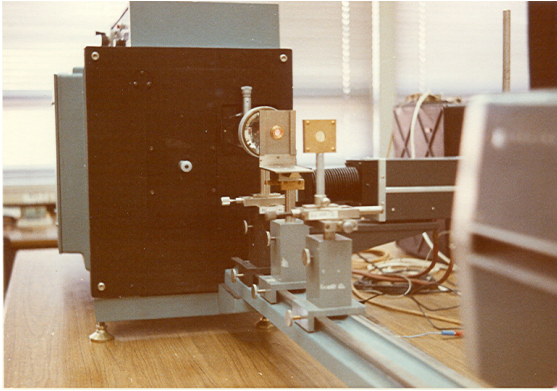
Η φασματοσκοπία Raman είναι συμπληρωματική των τεχνικών υπεύθρου διότι διέπεται από διαφορετικούς κανόνες επιλογής. Μία δόνηση παρουσιάζει ενεργότητα στο φάσμα Raman όταν συνεπάγεται αλλαγή της πολωσιμότητας (δηλ. της πυκνότητας του ηλεκτρονιακού νέφους) του ταλαντωτή. Για παράδειγμα, η έκταση του διπλού δεσμού C=C η οποία δεν είναι ορατή στο υπέρυθρο διότι δεν συνεπάγεται μεταβολή της διπολικής ροπής του ταλαντωτή, αντιστοιχεί σε έντονες

ταινίες Raman. Για τον ίδιο λόγο, οι ταλαντώσεις του H₂O είναι ασθενείς στο φάσμα Raman και η μελέτη υδατικών συστημάτων είναι σχετικά απλή. Η ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας Raman είναι ασθενής, γεγονός που την καθιστά μη καταστροφική τεχνική χαρακτηρισμού αφού δεν απαιτεί την αραιώσή του δείγματος. Παρά την σχετικά απαιτητική οργανολογία, η φασματοσκοπία Raman βρήκε την θέση της σε βιομηχανικές εφαρμογές πριν από την φασματοσκοπία υπέρυθρου.



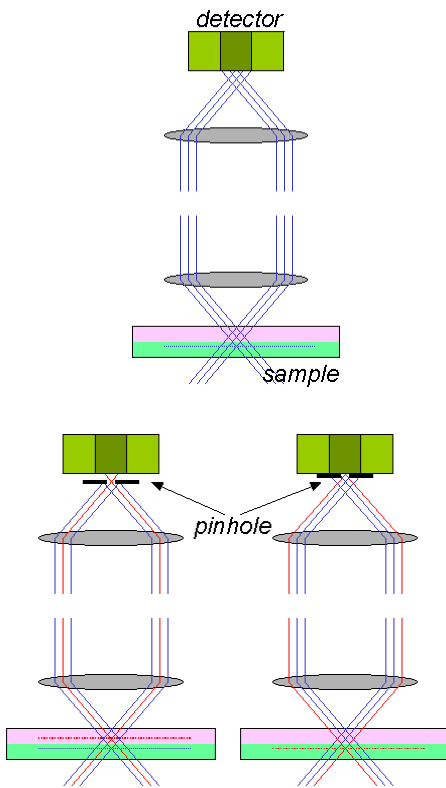
Σχήμα 2. Ελαστική σκέδαση Rayleigh στα 514.5 nm. Το φάσμα Raman και οι περιοχές Stokes και anti-Stokes.

Ένα τυπικό φωτόμετρο Raman (Σχ. 3) αποτελείται από ένα laser (πηγή διέγερσης), τον χώρο του δείγματος, τα οπτικά συλλογής της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας, έναν μονοχρωμάτορα για την διασπορά της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας και τον ανιχνευτή (φωτοπολλαπλασιαστή ή κάμερα CCD). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η σύζευξη του φωτομέτρου Raman με οπτικό μικροσκόπιο. Η εστίαση της διεγείρουσας ακτινοβολίας σε μικρή περιοχή του δείγματος καθώς και η αποτελεσματικότερη γωνία συλλογής της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας, ελαττώνουν δραστικά τον χρόνο συλλογής των φασμάτων, ενώ παρέχουν χωρική διακριτική ικανότητα που μπορεί να φτάσει τα 1-2 μm στο επίπεδο εστίασης, x-y. Ειδικές μικροοπές διαμέτρου 50-100 μm παρεμβάλλονται πριν τον ανιχνευτή, σε συζυγή θέση προς το επίπεδο εστίασης (conjugate to focal plane, Confocal) για να ορίσουν καλύτερα την χωρική διακριτική ικανότητα κατά βάθος, z. (Σχ. 4).



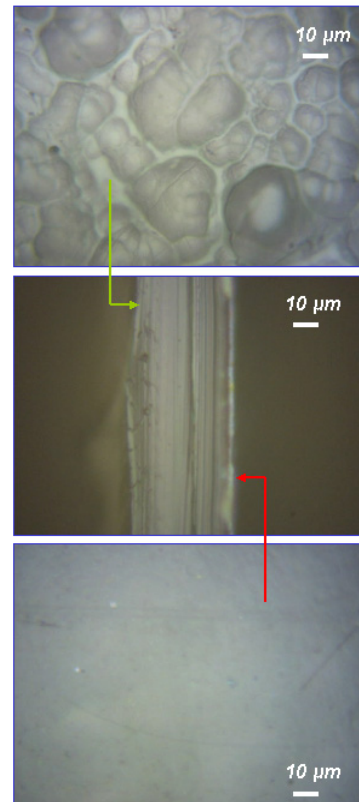
Σχήμα 3. Το πρώτο φωτόμετρο Raman στην Ελλάδα εγκαταστάθηκε στο Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών το 1972. Δεξιά, σε πρώτο πλάνο, διακρίνεται η κεφαλή του laser Ar+ της Spectra Physics, στο κέντρο ο διπλός μονοχρωμάτορας της Jarrell Ash, και πίσω δεξιά ο φωτοπολλαπλασιαστής RCA. Σήμερα στο Εργαστήριο Φασματοσκοπικών Εφαρμογών του ΙΘΦΧ/ΕΙΕ λειτουργούν δύο φωτόμετρα Raman (διασποράς και μετασχηματισμού Fourier) με laser διέγερσης στα 488, 514, 633, 785 και 1060 nm, καθώς και ποικιλία παρελκόμενων που συμπεριλαμβάνουν συνεσιακό μικροσκόπιο.

Λόγω των ειδικών της χαρακτηριστικών (χωρική, και χημική δομική διακριτική ικανότητα), η συνεσιακή μικροσκοπία Raman έχει ευρύ πεδίο εφαρμογών στον χαρακτηρισμό υλικών που παρουσιάζουν ετερογένεια σε κλίμακα μικρομέτρων (J. Raman Spectroscopy, 25, 3, 1994).



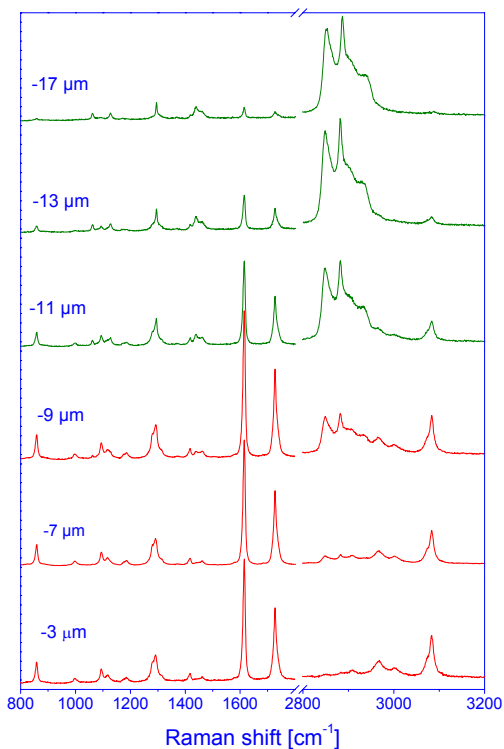
Σχήμα 4. Αρχή λειτουργίας συμβατικού (πάνω) και συνεσιακού (κάτω) οπτικού μικροσκοπίου. Στις πραγματικές διατάξεις η θέση της μικροσπής (pinhole) ως προς τον ανιχνευτή διατηρείται σταθερή, και η επιλογή του επιπέδου σκέδασης επιτυγχάνεται με μετατόπιση του δείγματος κατά τον κατακόρυφο άξονα.

Ως παράδειγμα εφαρμογής της συνεσιακής μικροσκοπίας Raman, περιγράφεται ο δομικός χαρακτηρισμός διστρωματικού πολυμερικού υμενίου (film) το οποίο χρησιμοποιείται για την συσκευασία φαρμακευτικών συσκευασιών, και συνεπώς διέπεται από ειδικές προδιαγραφές, όπως π.χ. την απουσία συγκολλητικής σπιβάδας μεταξύ των στρωμάτων. Η μορφολογία των επιφανειών και της τομής του υμενίου μπορεί να μελετηθεί με οπτικό μικροσκόπιο (Σχ. 5), αλλά ζητείται ο χημικός χαρακτηρισμός του δείγματος κατά βάθος, χωρίς την δημιουργία τομής.



Σχήμα 5. Μεγέθυνση της μορφολογίας διστρωματικού υμενίου PEVA / PET. Στο κέντρο φαίνεται η διατομή του υμενίου και διακρίνονται οι δύο σπιβάδες PEVA (αριστερά) και PET (δεξιά). Διακρίνεται η λεπτή μεσεπιφάνεια των δύο πολυμερών. Πάνω και κάτω φαίνονται οι όψεις των δύο εξωτερικών επιφανειών.

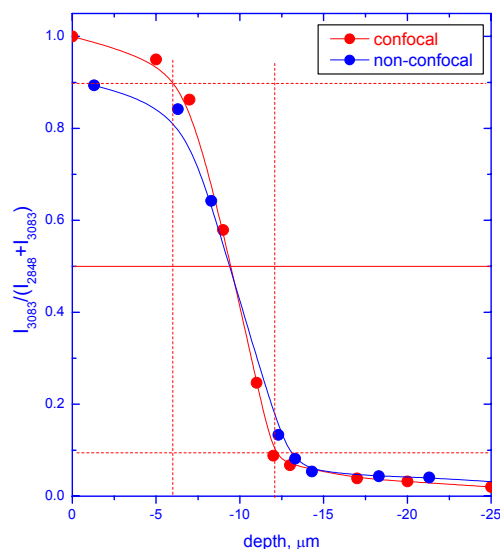
Τα συνεσιακά φάσματα Raman που ακολουθούν (Σχ. 6) έχουν συλλεγεί με φακό x100, laser διέγερσης 514.5 nm, και φράγμα διασποράς 2400 γραμμών/mm στο μικροσκόπιο Renishaw InVia Reflex του Εργαστηρίου. Κάθε φάσμα αντιστοιχεί σε χρόνο ολοκλήρωσης 1 min. Η αρχική εστίαση έγινε στην εξωτερική (λεία) επιφάνεια του υμενίου, και ακολούθησε η συλλογή φασματικών δεδομένων κατά το βάθος, πριν και μετά την μεσεπιφάνεια, με αυτοκινούμενη τράπεζα x-y-z και βήμα 2 μm κατά τον άξονα z.



Σχήμα 6. Φάσματα *confocal micro-Raman* του δοκιμίου του Σχ. 5. Όλα έχουν συλλεγεί από την εξωτερική επιφάνεια του υμενίου, με κατάλληλη επιλογή του επιπέδου σκέδασης. Η μεσεπιφάνεια βρίσκεται σε βάθος $-10 \pm 1 \mu\text{m}$. Με κόκκινο εικονίζονται τα φάσματα που έχουν συλλεγεί από την στιβάδα του PET, και με πράσινο αυτά που έχουν διεισδύσει στην στιβάδα PEVA

Με βάση τα ακραία φάσματα του Σχ. 6, η εξωτερική λεία στιβάδα ($-3 \mu\text{m}$ στο Σχ. 6) χαρακτηρίζεται από ισχυρές ταινίες στους 1625 cm^{-1} (C=C, aromatic), 1927 cm^{-1} (C=O, ester) και 3083 cm^{-1} (C-H aromatic) που ταυτοποιούν την παρουσία πολυ (αιθυλενο τερεφθαλικού εστέρα), PET. Σε βάθος $-17 \mu\text{m}$, το υλικό χαρακτηρίζεται κυρίως από τις ισχυρές εκτάσεις αλειφατικών δεσμών C-H στους 2848 και 2872 cm^{-1} που είναι τυπικές για πολυαιθυλένιο, ίσως συμπολυμερισμένο με μικρό ποσοστό οξεικού βινυλεστέρα, PEVA. Τα ενδιάμεσα φάσματα που έχουν συλλεγεί με συνεστιακή επιλογή του επιπέδου σκέδασης στην ζώνη 4 μm πάνω και κάτω από την

μεσεπιφάνεια, είναι γραμμικοί συνδυασμοί των ακραίων φασμάτων PET και PEVA. Συνεπώς στην περιοχή της μεσεπιφάνειας δεν εντοπίζεται πρόσθετη φασματική υπογραφή που θα μπορούσε να υποδηλώνει την (ανεπιθύμητη) παρουσία συγκολλητικού. Στο Σχ. 7 συγκρίνεται η διάκριση των δύο πολυμερικών στιβάδων (εκφρασμένη ως ο λόγος της έντασης της ταινίας στους 3083 cm^{-1} προς το άθροισμα των εντάσεων στους 3083 cm^{-1} και στους 2872 cm^{-1}) με και χωρίς συνεστιακή ρύθμιση του επιπέδου σκέδασης.



Σχήμα 7. Ποσοστό PET στα φάσματα Raman όπως προσδιορίζεται συναρτήσει του βάθους εστίασης. Οι τιμές που απεικονίζονται με κόκκινο αντιστοιχούν σε συνεστιακή εστίαση και εκείνες με μπλέ σε μη συνεστιακή. Οι πρώτες αποδίδουν σαφέστερα την μεταβολή της σύστασης κατά την μεσεπιφάνεια.

Είναι φανερό ότι η παρεμβολή της συνεστιακής μικροοπής (pinhole) βελτιώνει την αντίθεση στις δύο πλευρές της μεσεπιφάνειας (σαφήνεια $\pm 3 \mu\text{m}$) και επιτρέπει την συλλογή φάσματος καθαρού PET από την επιφάνεια του υμενίου, χωρίς φασματική επιμόλυνση από την υποκείμενη στιβάδα PEVA.

Το Εργαστήριο Φασματοσκοπικών Εφαρμογών του ΙΘΦΧ/ΕΙΕ παρέχει ερευνητικές υπηρεσίες σε βιομηχανικούς φορείς που περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων: τον χαρακτηρισμό (ταυτοποίηση, conformity) πρώτων υλών, ενδιάμεσων και προϊόντων με γρήγορο και μη καταστρεπτικό τρόπο, ανά παρτίδα, ακόμα και ανά περιέκτη, την ανάπτυξη ειδικών μεθοδολογιών ποιοτικού & ποσοτικού ελέγχου που στηρίζονται σε φασματοσκοπικές τεχνικές (συνήθως φασματοσκοπία NIR) και χημειομετρία, καθώς και τον σχεδιασμό έμπειρων αυτοματοποιημένων συστημάτων για την on line παρακολούθηση της παραγωγής. Επίσης παρέχει συμβουλευτικές υπηρεσίες για την διείσδυση σε νέες αγορές μέσω της ανάπτυξης προϊόντων και διεργασιών υψηλής προστιθέμενης αξίας, συμμετέχει σε δράσεις τεχνομεταιίας, εκπαίδευσης και κατάρτισης προσωπικού, και αναλαμβάνει συμβουλευτικό ρόλο στην αξιολόγηση νέων τεχνολογιών ή αποτελεσμάτων τρίτων. Για τις υπηρεσίες αυτές το Εργαστήριο αναζητεί, και σε πολλές περιπτώσεις δημιουργεί, την ζήτηση της αγοράς μέσω των συστηματικών επαφών με στελέχη του βιομηχανικού R & D, της υλοποίησης διερευνητικών έργων, της ανάληψης έργων μεσοπρόθεσμης διάρκειας και, τέλος, της ανάληψης υπεργολαβιών μακροχρόνιας συνεργασίας.

Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τις βιομηχανικές εφαρμογές της δονητικής φασματοσκοπίας επισκεφθείτε την ιστοσελίδα <http://www.eie.gr/nhrf/institutes/tpci/researchteams/mspc/mspc-asl-gr.html> ή επικοινωνήστε με τους Β. Γκιώνη (210-7273820, vgionis@eie.gr), Γ. Χρυσικό (210-7273819, gdchryss@eie.gr), ή Δ. Παλλέ (210-7273837, dpalles@eie.gr)