

# НОВЫЙ МЕТОД ФОРМИРОВАНИЯ ТОПОГРАФИЧЕСКИХ РАМАНОВСКИХ ИЗОБРАЖЕНИЙ

Х.Фишер  
harald.fisher@witec.de

Новая комбинация системы конфокального рамановского отображения и оптического профилометра дает возможность получать конфокальные изображения распределения химических веществ по поверхности больших образцов. Дополнение давно известной комбинации рамановской и атомной силовой микроскопии новым методом обеспечивает значительные преимущества перед аналогами.

Конфокальная рамановская микроскопия – мощный инструмент получения трехмерных химических изображений. Преимущество метода заключается, прежде всего, в возможности достижения высокого пространственного разрешения распределения веществ в образце (латеральное – до 200 нм, по глубине – до 500 нм), а также изучения кристалличности или механических напряжений в нем.

Метод позволяет качественно исследовать достаточно крупные образцы размером в несколько сантиметров, которые при измерении с глубинным разрешением меньше 1 мкм вследствие больших размеров обычно выглядят перекошенными или шероховатыми. При их исследовании многие участки не попадают в фокус конфокального микроскопа, однако использование конфокально-хроматических датчиков поверхностного профилометра в сочетании с конфокальным рамановским микроскопом позволяет изучать такие образцы. Наряду с

исследованием топографии метод обеспечивает проведение дополнительной визуализации химических свойств на поверхности образца (топографическое рамановское отображение).

## Конфокальное рамановское отображение

Эффектом Рамана называют неупругое взаимодействие электромагнитного излучения с веществом. Падающий фотон изменяет колебательное состояние молекулы вещества и происходит испускание фотона со смещенной энергией. Сдвиг энергии между падающим и рассеянным фотонами характерен для вида и типа взаимодействия молекул, так что каждая молекула оставляет характерный след. Следовательно, рамановская спектроскопия – неразрушающий и неинвазивный метод, позволяющий получить детальную химическую информацию об образце без его серьезной подготовки или использования техники окрашивания. Для получения изображения используется

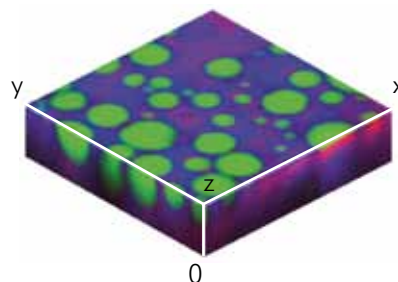


Рис.1. Рамановское 3D-изображение (реконструкция) распределения воды, масла и алкана в эмульсии

конфокальный микроскоп в сочетании с высокочувствительной системой рамановской спектроскопии. Конфокальная микроскопия позволяет получить информацию только с фокальной плоскости, поскольку рассеянный свет из областей, находящихся вне этой плоскости, отфильтровывается апертурой. Получение изображения осуществляется растриванием образца или лазерным возбуждением точка за точкой и строка за строкой. Преимущество

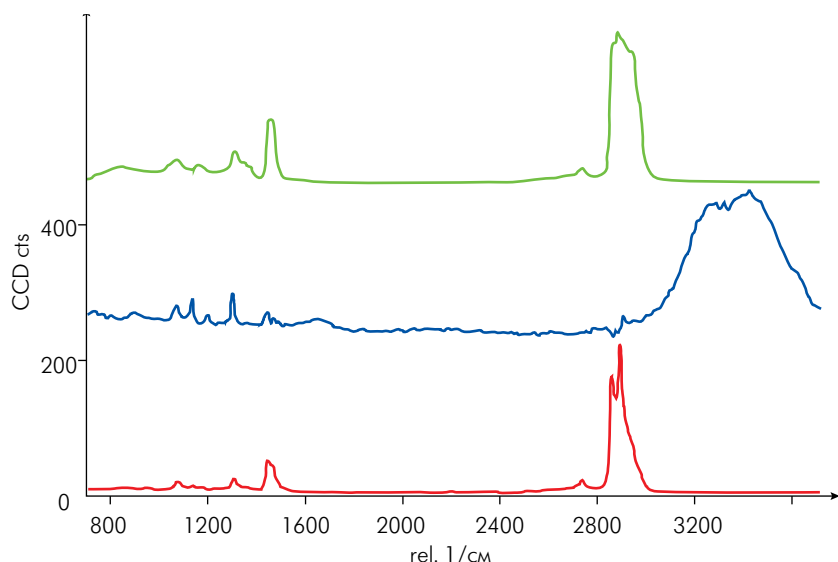


Рис.2. Соответствующие спектры: зеленый – масло; красный – алкан; синий – вода

метода – высочайшая контрастность изображения и очень хорошее соотношение "сигнал-шум". Кроме того, удается получить глубинные профили и даже трехмерные изображения.

При использовании конфокального микроскопа в каждой точке изображения регистрируется полный рамановский спектр. В случае стандартного изображения в 256 строк по 256 пикселей формируется 65536 спектров. Из мульти-спектрального файла с помощью специального программного обеспечения, например, интеграцией по определенным областям в спектре, можно также получить изображение распределения в образце химических веществ. На рис.1 показано конфокальное рамановское 3D-изображение эмульсии воды, масла и алкана, полученное с помощью микроскопа alpha300R. (Объем образца 30x30x11,5 мкм; 23 отдельных рамановских изображения, 150x150 пикселей, 22500 спектров на одно изображение; время съемки: одна минута на изображение, 23 мин на весь объем; цвета: зеленый – масло; красный – алкан; синий – вода.) На рис.2 показаны соответствующие спектры с цветовой кодировкой.

### Конфокальный хроматический датчик для профилометрии

Конфокальный хроматический датчик позволяет определять

бесконтактным способом топографию поверхности относительно больших образцов в нанометровой области.

На образце фокусируется луч из точечного источника белого света при помощи специальной линзы, которая в отличие от обычных оптических линз имеет максимально большую хроматическую погрешность. Это означает, что ее фокусное расстояние различно для каждого цвета: точка фокуса синего цвета находится гораздо ближе к линзе, чем для зеленого или красного.

Отраженный от образца свет улавливает маленькая диафрагма, после чего с помощью спектрометра выявляется его спектральный максимум. Таким

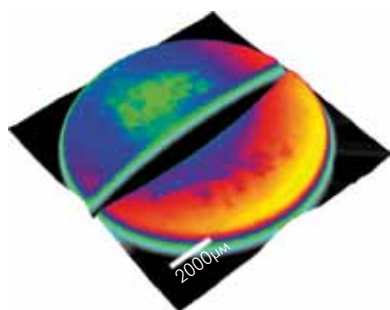


Рис.3. Топография фармацевтической таблетки при измерении профилометром. Область сканирования: 12x12 мм

образом, толщина образца определяется только при помощи отраженного света. Благодаря диафрагме в спектрометр попадает только свет, который находится в фокусе на поверхности образца. В результате посредством выявленного спектра точно определяется его высота. Сканирование образца позволяет определить топографию любого его участка, причем пока она находится в пределах хроматической погрешности линзы, необходимость наводить фокус повторно отсутствует. На рис.3 представлено топографическое измерение для фармацевтической таблетки.

### Достоверное рамановское отображение поверхности

При профилометрическом измерении топографические координаты уже имеются, поэтому на следующем этапе могут быть получены рамановские спектры от поверхности таблетки. Итог обработки полученных результатов – распределение химических веществ по поверхности образца (рис.4).

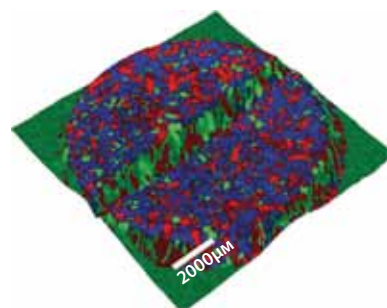


Рис.4. Конфокальное рамановское изображение поверхности таблетки (синий + красный – действующее вещество; зеленый – вспомогательные вещества)

Описанный выше новый метод True Surface Microscopy может применяться не только в фармацевтических исследованиях, но и в научно-исследовательских работах в области медицинской техники, наук о Земле, микроэлектроники, фотовольтаики, функциональных покрытий. ■