

PARÁMETROS DE UN MICROSCOPIO RAMAN CONFOCAL PARA LA DETERMINACIÓN DE VOLUMEN RAMAN CONFOCAL

Froylán Martínez-Suárez¹, Francisco Rodríguez-Melgarejo², Sergio Jimenez Sandoval²
Centro Nacional de Metrología¹, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional – Unidad Querétaro²
km 4.5 carretera a Los Cués, El Marqués¹, Libramiento Norponiente No. 2000, Real de Juriquilla²
Tel. (442) 2119900, frmartin@cenam.mx

Resumen: En este trabajo se presenta el proceso de selección de los parámetros de un espectrómetro Raman confocal para determinar el volumen Raman confocal con una muestra de esferas de poliestireno de 500 nm de diámetro nominal, empleando como referencias silicio, azufre y esferas de poliestireno con diámetro nominal de 900 nm.

1. INTRODUCCIÓN

La técnica de espectrometría Raman ha ganado relevancia en los años recientes debido a las diversas aplicaciones en las que se puede implementar sin la necesidad de realizar una preparación exhaustiva de la muestra y el menor tiempo para el análisis, desde la caracterización de muestras biológicas hasta los materiales tecnológicos a base de carbono. Adicionalmente la aparición de equipos de costos más bajos, con mucha mayor movilidad aunque con menos exactitudes y capacidades, ha propiciado la extensión de la técnica a muy diversas aplicaciones. Se conoce que la determinación del volumen confocal presenta dificultades por la exactitud en el posicionamiento y resolución sobre el eje z. Este trabajo presenta una selección de los parámetros de operación de un microscopio Raman confocal como parte de un proyecto internacional de comparación de volumen Raman confocal encaminado a la determinación de concentración de nano-objetos mediante esta técnica de forma rápida, en sitio y de bajo costo. Se describen detalles del experimento por nuestra parte, cuyos resultados serán procesados aplicando el algoritmo de cálculo del volumen Raman confocal por parte del coordinador del proyecto. Este proyecto se enmarca en la iniciativa internacional para promover el uso de la espectrometría Raman en ámbitos industriales y de evaluación de la conformidad para las nanotecnologías [1].

2. DETALLES EXPERIMENTALES

Los materiales empleados fueron silicio, azufre (99.995 %, ProChen Inc) y el SRM 1690 (esferas de poliestireno de valor certificado (895 ± 8) nm de diámetro). El cuadro de silicio (3 cm x 3 cm x 0.5 mm) se midió sin ninguna preparación. Una pequeña cantidad de azufre se molió en el mortero durante 5 minutos, con el fin de obtener partículas

de (1-2) μm . Una gota de las esferas de poliestireno se agregó a 25 mL de agua desionizada, posteriormente esta disolución se dispersó en un disruptor ultrasónico durante 10 minutos, para finalmente depositar una gota de dicha disolución sobre un portaobjetos, dejándola secar por 24 h. El espectrómetro Raman confocal utilizado para el estudio fue el LabRam HR Evolution marca Horiba, que cuenta con un microscopio marca Olympus y una platina Marzhauser Wetzlar MM33 con control en los ejes x-y-z. Las condiciones de medición utilizadas fueron objetivo x100vis (NA 0.9), láser de 633 nm, 3 s de tiempo de adquisición, 2 repeticiones, "hole" de 100. Considerando el protocolo recomendado, la secuencia de medición para llevar a cabo la optimización para la adquisición de los mapas 2D y 3D fue la siguiente: 1) Verificación de la escala de corrimiento Raman utilizando la muestra de silicio. 2) Selección del sistema *láser-objetivo-rejilla-“hole”* con la muestra de azufre a 100x. 3) Optimización de la imagen con esferas de poliestireno de 900 nm a 100xvis. 4) Medición de la muestra bajo estudio consistente de esferas de 500 nm de diámetro nominal, depositadas en cubreobjetos de vidrio.

3. RESULTADOS

La Figura 1 muestra el espectro característico para la muestra de silicio. De acuerdo a la especificación del instrumento, el valor debe estar entre (520.7 ± 1) cm^{-1} . La Figura 2 presenta el mapa 2D para la muestra de azufre. En la parte superior de la figura, se presentan los espectros obtenidos de forma acumulativa (izquierda) y de cada punto en el que se posiciona el cursor en la imagen (derecha). Mientras que en la parte inferior se pueden ver las imágenes generadas con la información colectada por el espectrómetro Raman (izquierda) y la generada ópticamente (derecha). El objeto visualizado, semiesférico, es de $3.3 \mu\text{m} \times 1.7 \mu\text{m}$. El

mapa generado con la señal Raman muestra un objeto de $3.4 \mu\text{m} \times 1.9 \mu\text{m}$. El mapa 3D para la muestra de esferas de poliestireno de 900 nm se visualiza en la Figura 3. Con el fin de generar el mapa 3D para esta muestra, se seleccionó la señal a $(1002 \pm 2) \text{ cm}^{-1}$. El tamaño de la partícula de poliestireno reconstruido con la señal Raman fue de $(911 \pm 160) \text{ nm}$. En la Figura 4 se puede visualizar el mapa 3D de la muestra de esferas de 500 nm de diámetro.

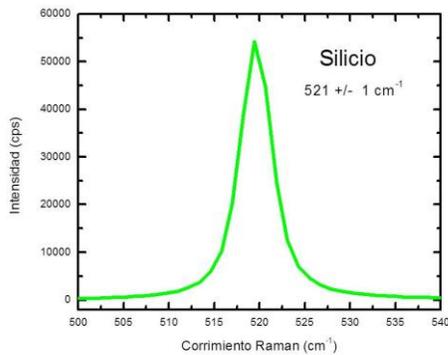


Fig. 1. Espectro característico del silicio en la región de corrimiento Raman de 500 a 540 cm^{-1} .

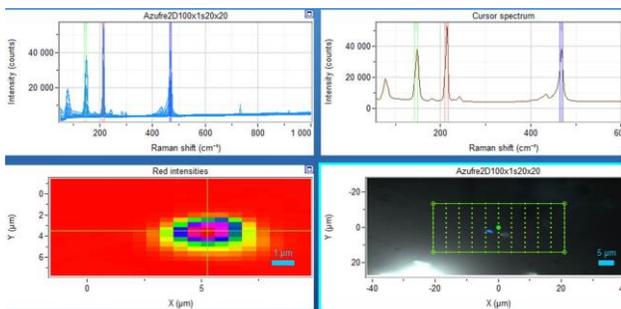


Fig. 2. Mapa 2D de la muestra de azufre (parte inferior izquierda) generada con la señal Raman.

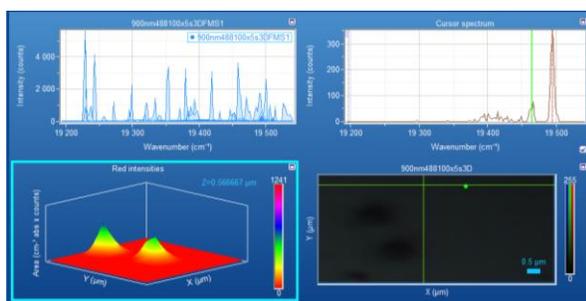


Fig. 3. Mapa 3D de la muestra de esferas de poliestireno de 900 nm . Se presenta la rebanada para la posición $z = 0.56 \mu\text{m}$.

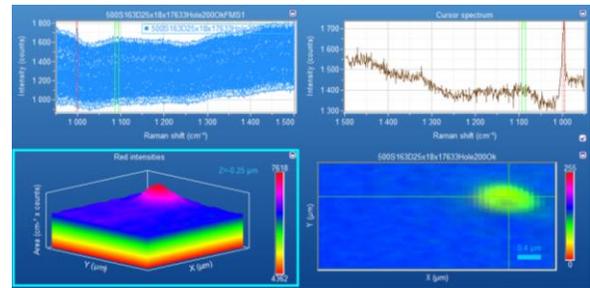


Fig. 4. Mapa 3D de la muestra de esferas de poliestireno de 500 nm . Se presenta la rebanada en la posición $z = 0.25 \mu\text{m}$.

4. DISCUSIÓN

El valor de la señal del silicio ha permitido verificar la escala de corrimiento Raman, ya que se encuentra dentro del intervalo especificado. El mapa 2D de la partícula de azufre permitió conocer las condiciones instrumentales para obtener un tamaño del objeto con dimensiones similares (911 ± 160) nm al del valor de referencia (897 ± 8) nm. Para la muestra de esferas de poliestireno con tamaño nominal de 500 nm , el tamaño estimado con la señal Raman es de $(508 \pm 154) \text{ nm}$. Como se puede observar en las imágenes reconstruidas con la señal Raman de cada muestra, la forma del objeto tiende a una elipse. Una característica importante para medir el objeto con la señal Raman es delimitar correctamente el borde del mismo y es un factor que requiere de mayor atención.

5. CONCLUSIONES

Con la metodología descrita se logró elegir parámetros de operación del microscopio Raman confocal para obtener información sobre las dimensiones de objetos en el eje z mediante el espectrómetro Raman, utilizando objetos del orden de los 500 nm , aunque mayores esfuerzos se deben realizar para reducir la dispersión de los valores.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a Norma González y a Ruben J. Lazos sus aportaciones y discusiones para lograr este trabajo.

REFERENCIAS

[1] JRP Summary Report for JRP NEW02 Raman Metrology for Raman Spectroscopy, November 2014.
 [2] Norma ASTM E1840-96(2014) Standard Guide for Raman Shift Standards for Spectrometer Calibration.