

3D сканирующий конфокальный рамановский микроскоп  
Confotec® NR500

Копачевский В. Д., Григоренко А. М. , Кудряков А. В.,  
Гвоздев А. А., Бабин А. В., Шашков С. Н.

*SOL instruments Ltd., Минск, Беларусь*

## Содержание презентации

- Общая информация о компании SOL instruments
- Возможности рамановского конфокального микроскопа Confotec NR500
- Примеры рамановских измерений



SOL instruments Ltd. (SOLAR TII) основана в 1994 г.

**SOL instruments** – инновационная компания, основными видами деятельности которой являются разработка, производство и продажа наукоемкого оборудования.

Компания активно развивает бизнес в трех ключевых сегментах:

- Аналитика
- Спектроскопия
- Лазеры

Продукция в настоящее время экспортируется в более чем 30 стран мира.

## Группа разработчиков

- Исследование
- Разработка:
  - оптических компонентов
  - механических прецизионных узлов
  - электронных схем и компонентов
  - программного обеспечения

## Оборудование

- Механическое производство
- Производство электроники
- Производство оптических компонентов (вакуумное напыление)
- Отдел сборки и юстировки

Первая сканирующая рамановская конфокальная система от SOL instruments разработана в 1998 г.



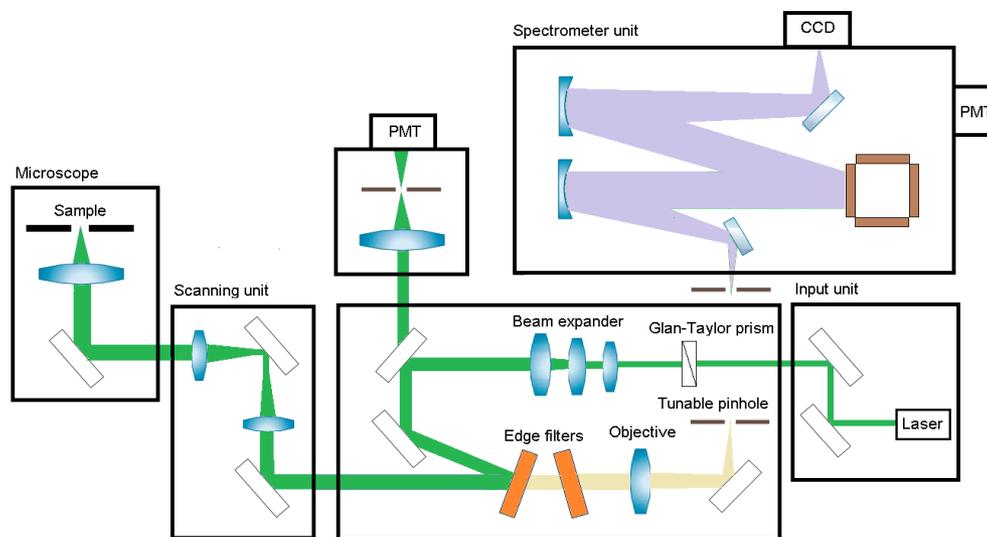
3D рамановский конфокальный микроскоп  
Confotec® NR500 (система с инвертированным микроскопом)



3D рамановский конфокальный микроскоп  
Confotec® NR500 (система с прямым микроскопом)



## Оптико-механический модуль системы Confotec® NR500



Возможность установки 5 лазеров

Детекторы



InGaAs Camera

VIS CCD

PMT

# Confotec family



Confotec® MR150



Confotec® MR350



Confotec® MR520

Confotec® NR500



Confotec® CARS





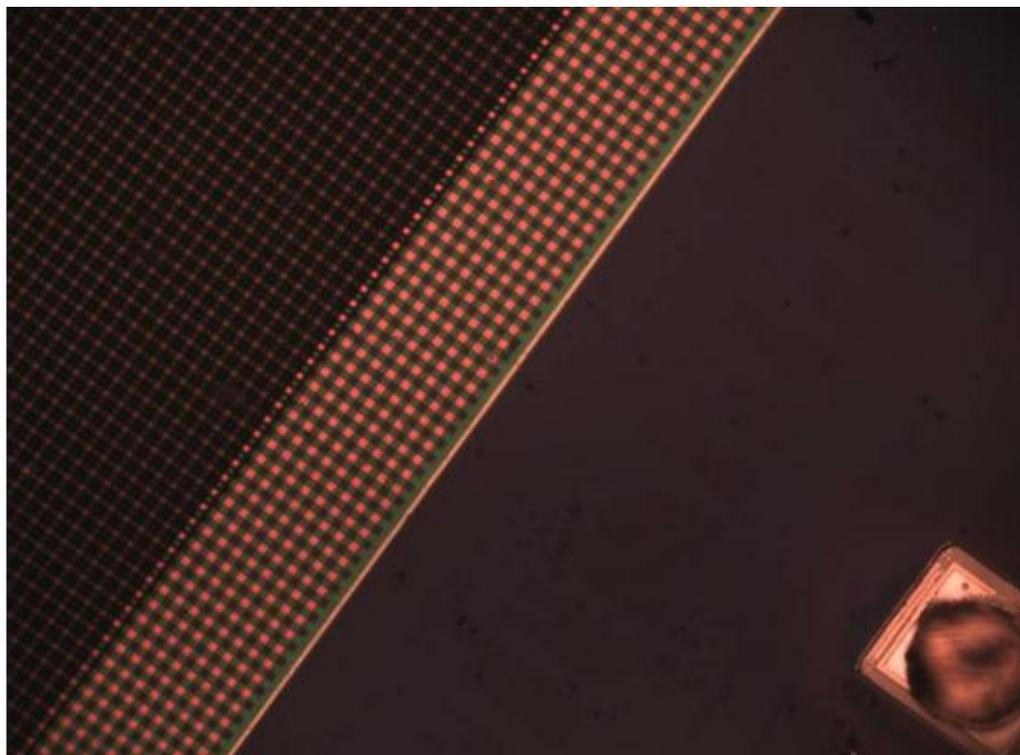


## RAMAN SPECTROSCOPY LABORATORY

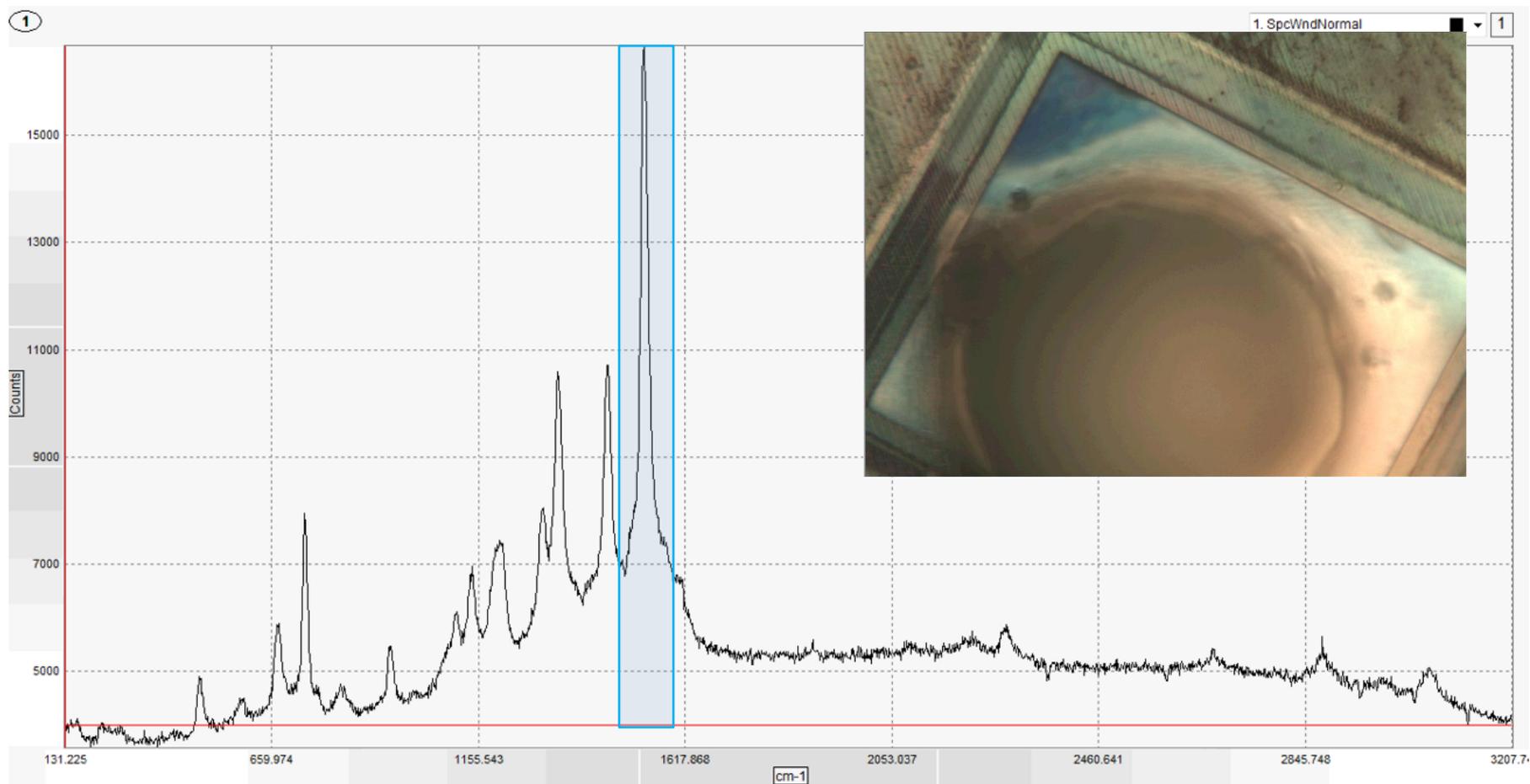
## Ключевые особенности

- Полная автоматизация
- Автоматизированное переключение лазеров (до 5 лазеров)
- Возможность картирования с высокой скоростью (1000x1000 пикселей за 3 сек)
- 2D/3D конфокальные измерения
- Возможность работы в низкочастотной области спектра
- Высокое пространственное разрешение (в плоскости: <200 нм; аксиальное: < 500 нм)
- Высокое спектральное разрешение (до 0.006 нм, 0.25  $\text{cm}^{-1}$ )
- Широкий спектральный диапазон

Сенсор цветной камеры  
(оптическое изображение (20х объектив))

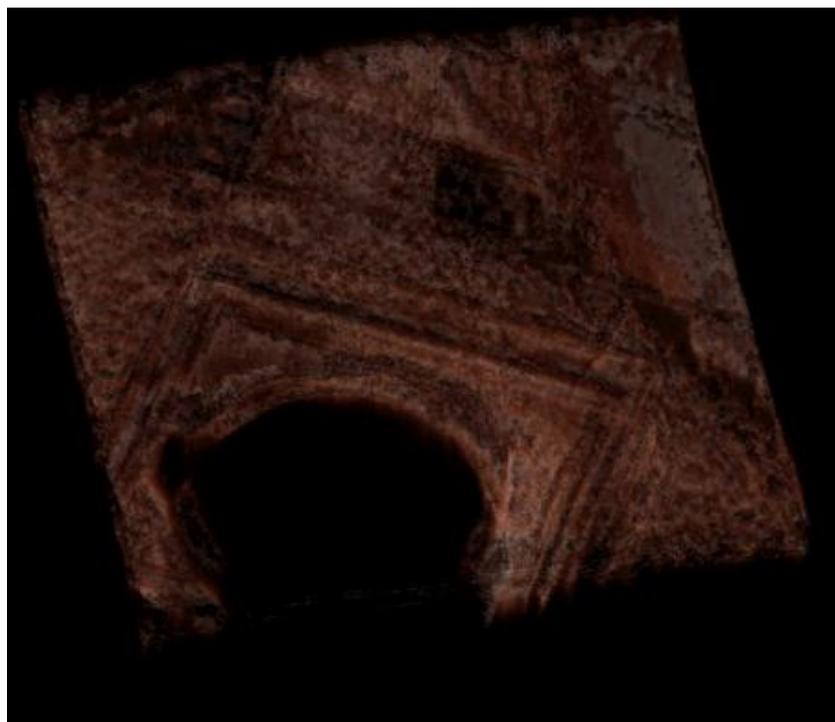


## Спектр комбинационного рассеяния

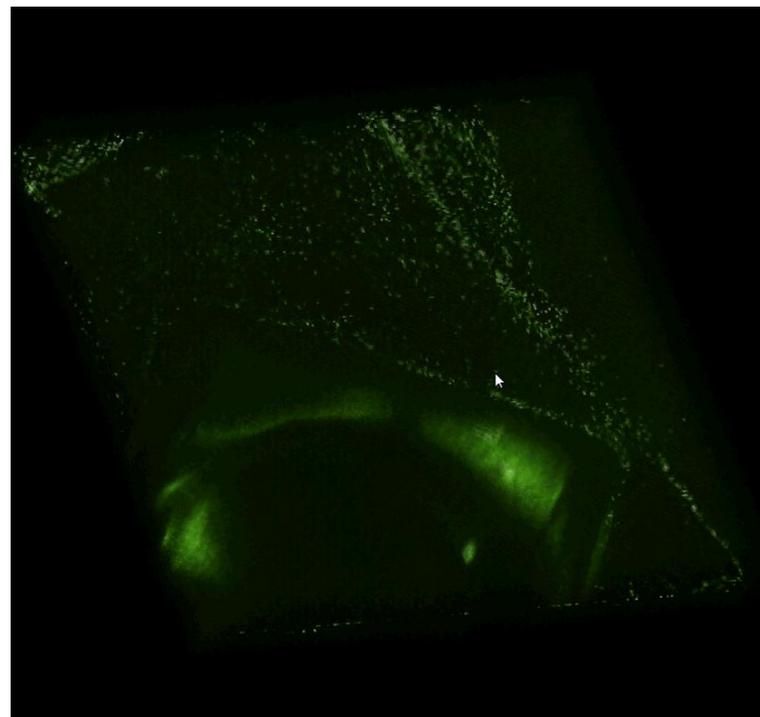


## Высокоскоростное 3D картирование с Confotec

Rayleigh



Raman



## Анализ минералов



Область сканирования: 43x43 мкм  
Шаг сканирования: 172 нм  
Время регистрации: 3 сек

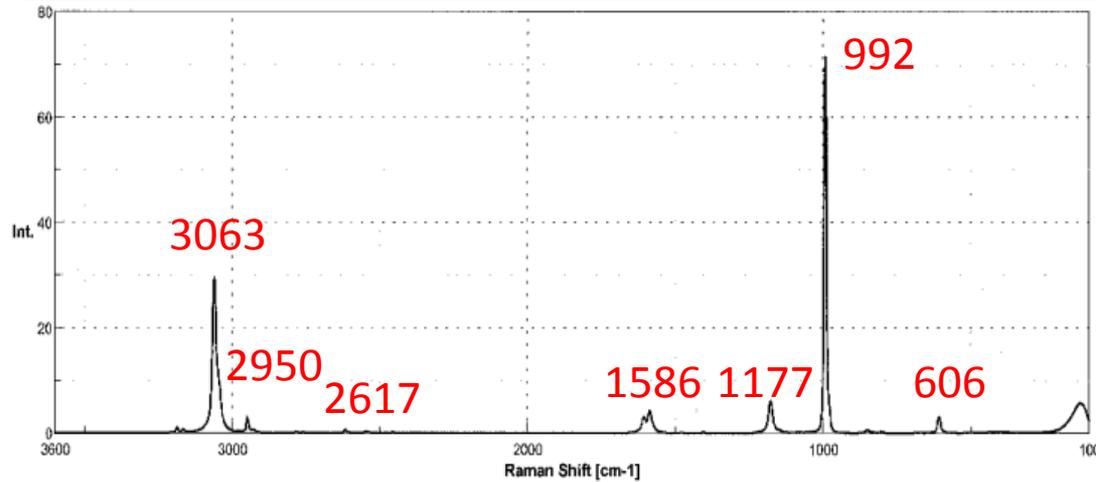
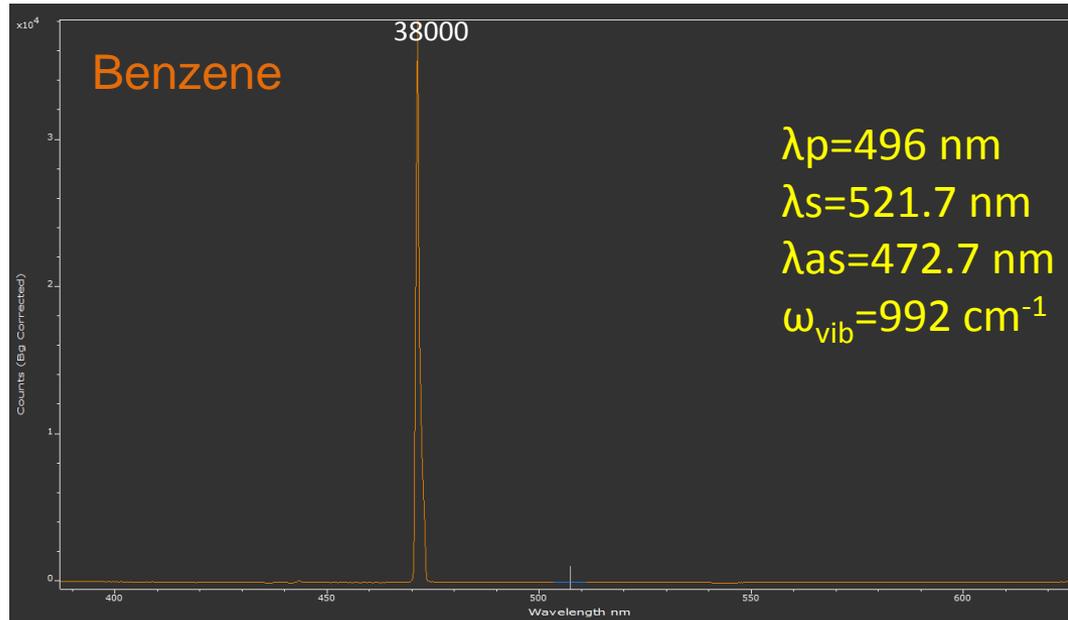
Confotec® CARS система

Forward CARS (F-CARS)

Epi CARS (E-CARS)



## CARS в сравнении со спонтанным КР



## Why is the CARS technique attractive?

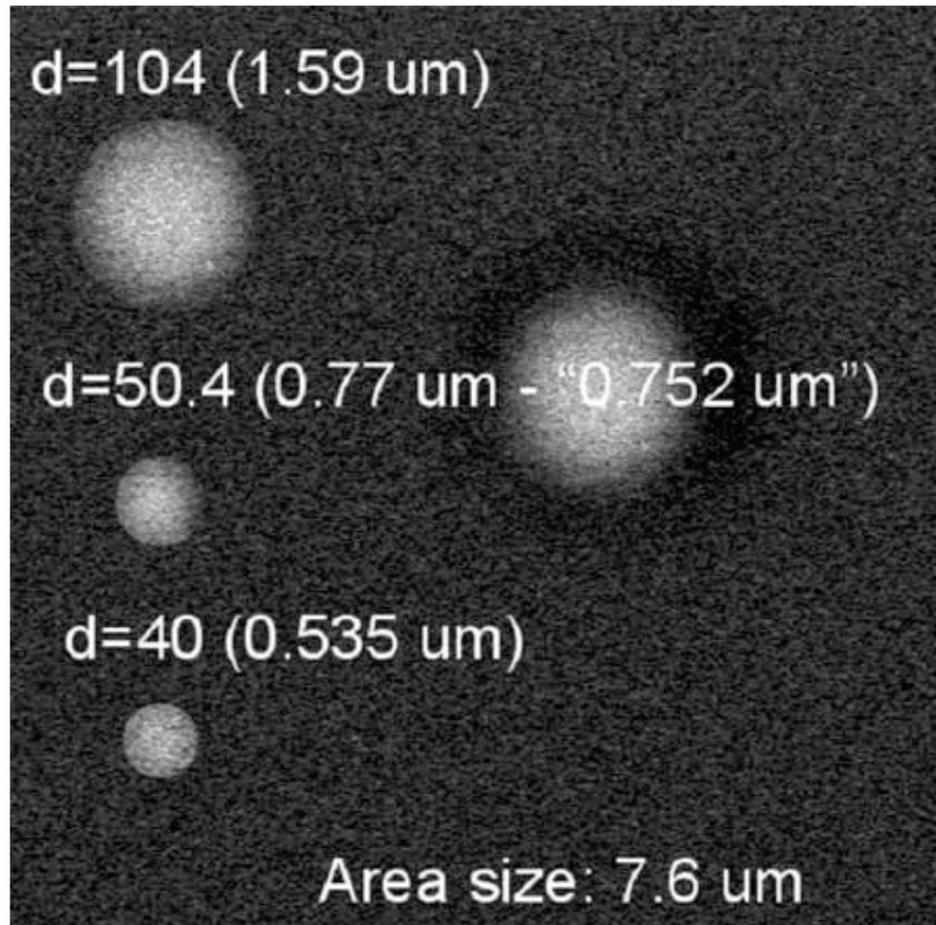
### **Main advantages:**

- More stronger signals than spontaneous Raman
- CARS signal is a lower wavelength. Fluorescence is minimal
- Fast imaging, real time analysis
- Higher spatial resolution (CARS signal is acquired only in a focus where excitation intensity is the highest)
- Spectral resolution of CARS signal is defined only by the width of pumping lasers lines, what simplifies spectral measurements (detection of CARS signals can be performed without any spectral instrument)
- CARS signal is proportional to the squared molecule concentration. It allows using CARS for quantitative measurements of chemical substance concentration
- Minimally invasive (nondestructive) method for biological samples

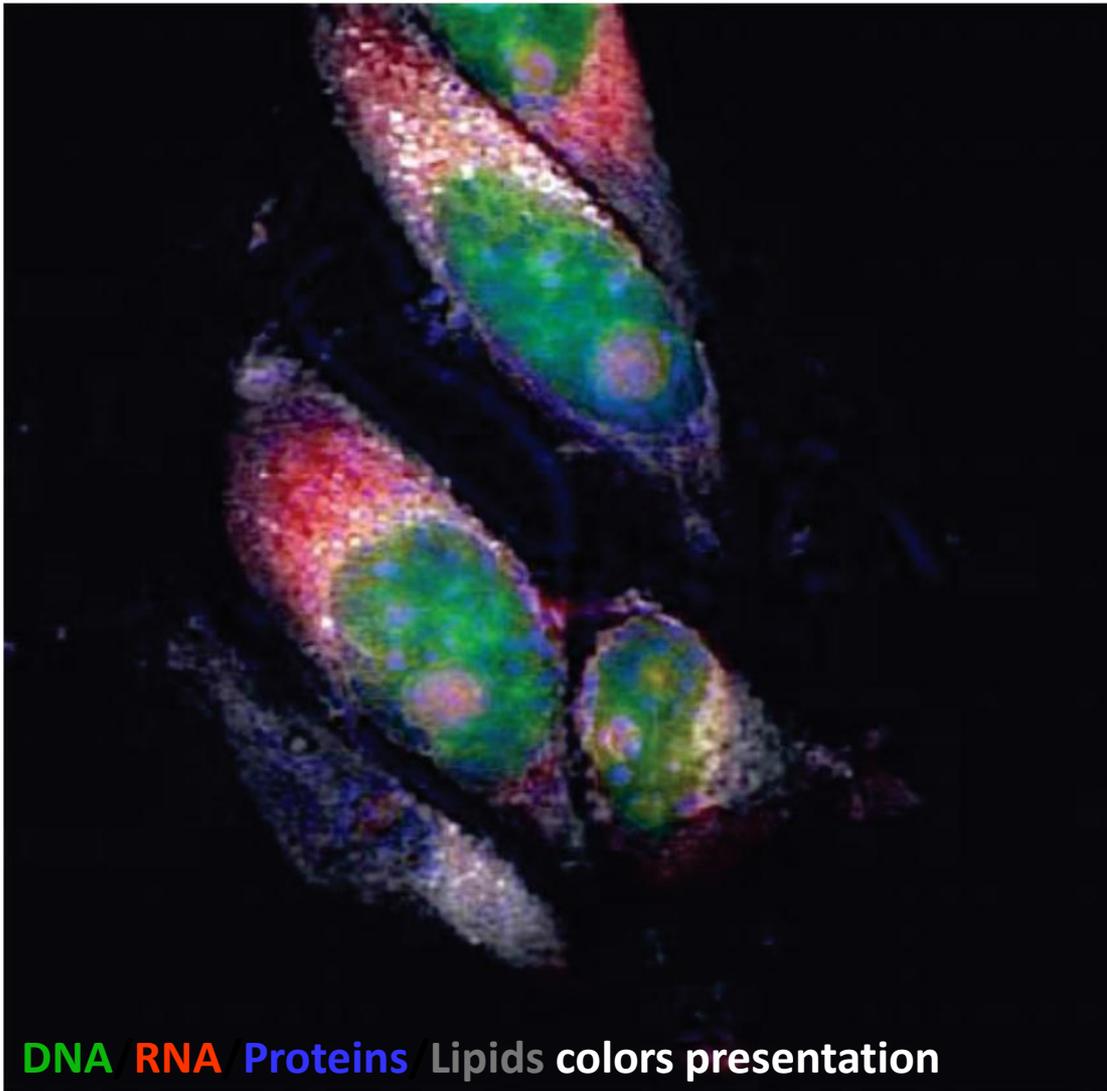
### **Drawback:**

- Nonresonant background; can be minimized by the polarization sensitive detection

F-CARS image ( $3045\text{ cm}^{-1}$ ) of different Polysterene beads



## CARS/TPEF imaging of cancer HeLa cells



Proteins and lipids were observed in the CARS mode at their characteristic vibrations of  $2930\text{ cm}^{-1}$  and  $2840\text{ cm}^{-1}$ , respectively.

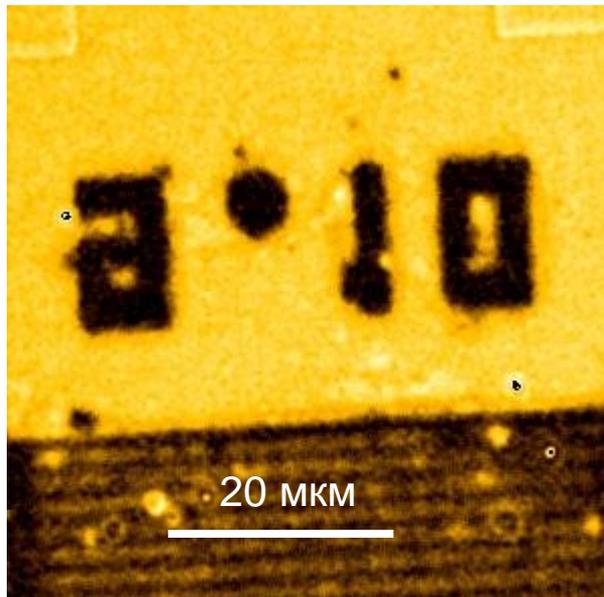
Nucleic acids, stained by acridine orange, were acquired in the red (Ribonucleic acid, RNA) and green (DNA) fluorescence channels in TPEF mode.

A.Kachynski, A. Kuzmin, and P. N.Prasad,  
The State University of New York  
At Buffalo

Анализ Si структур.

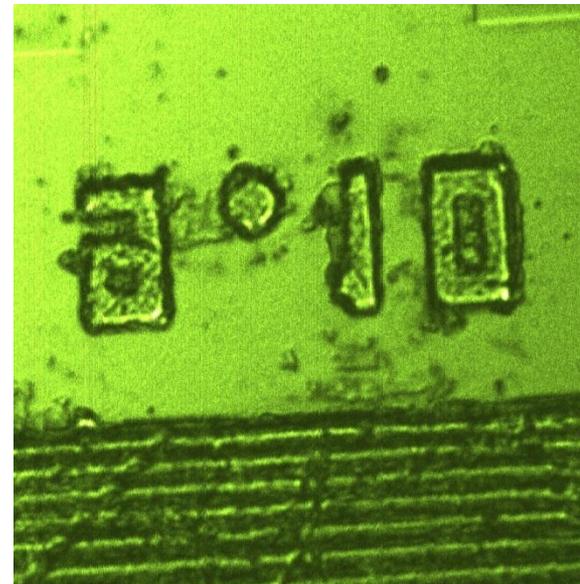
Скоростное картирование с использованием EM-CCD ANDOR DU970

Рамановское изображение



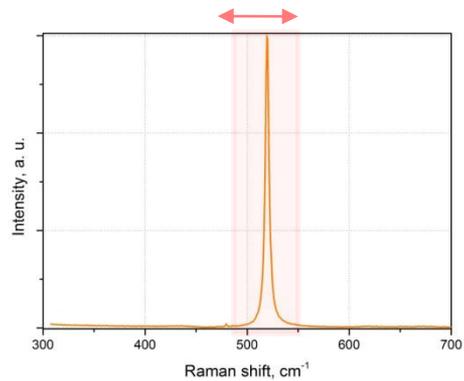
300x300 точек, 3 мсек/точка

Рэлеевское изображение



1000x1000 точек, 400 мсек/точка

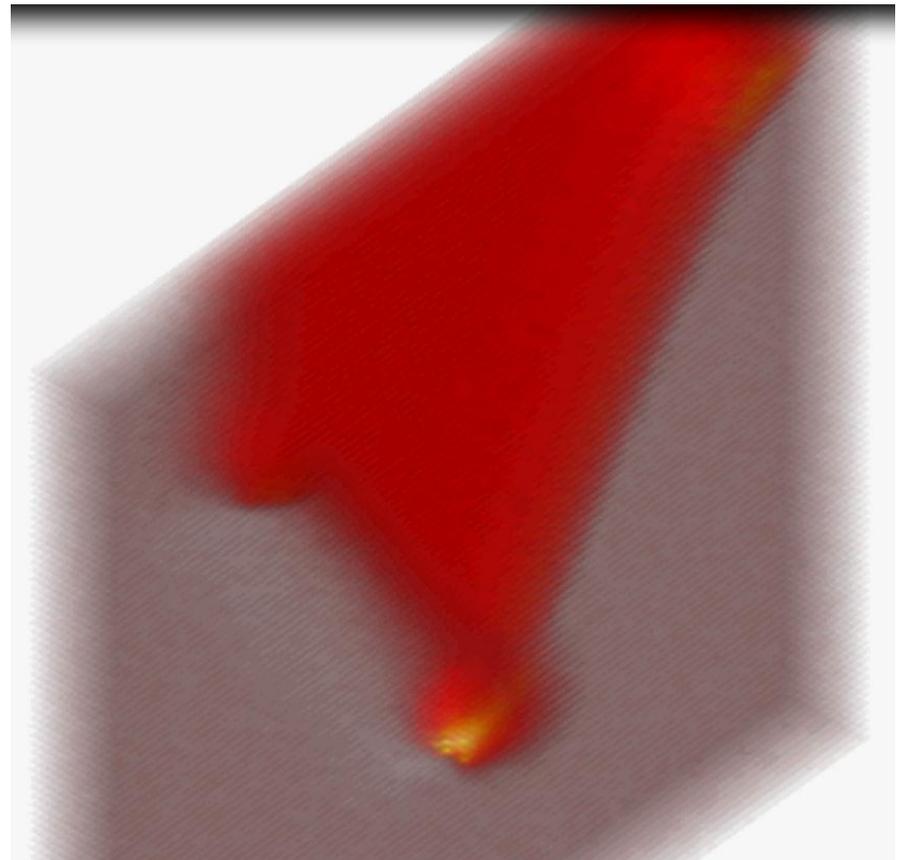
## Визуализация напряжений в кремниевом кантилере



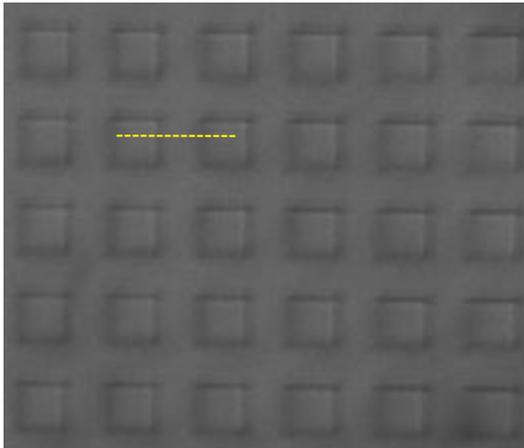
Величина напряжения

$$\sigma(\text{MPa}) = -435 \cdot (\omega - \omega_0) (\text{cm}^{-1}),$$

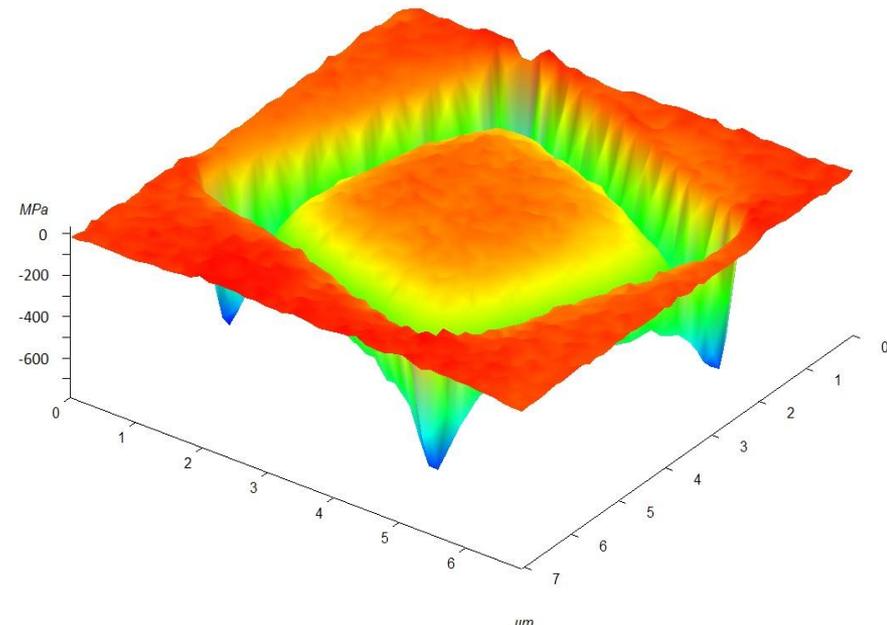
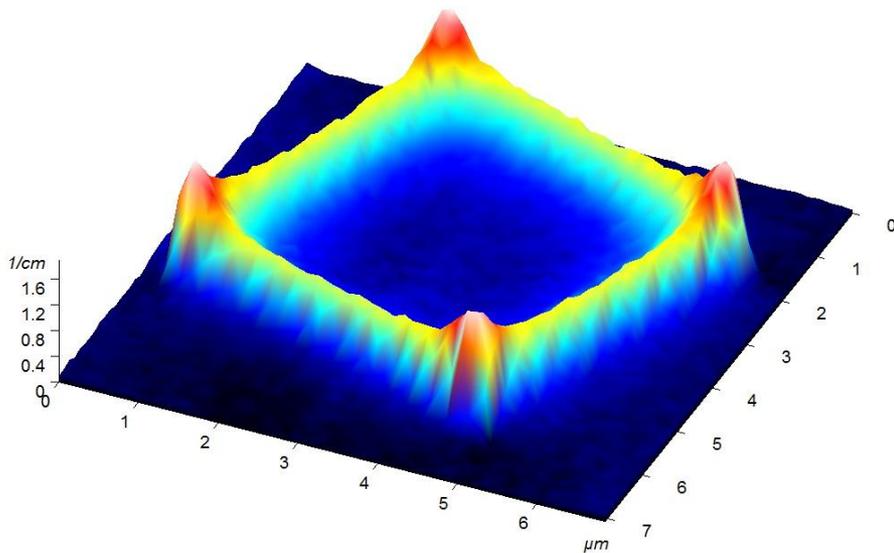
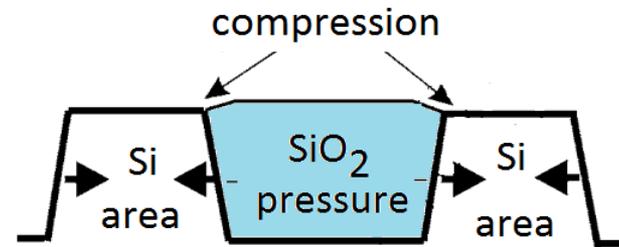
где  $\omega_0 = 520.5 \text{ cm}^{-1}$  - позиция пика кремния без механических напряжений



# Исследование напряжений в кремниевой структуре

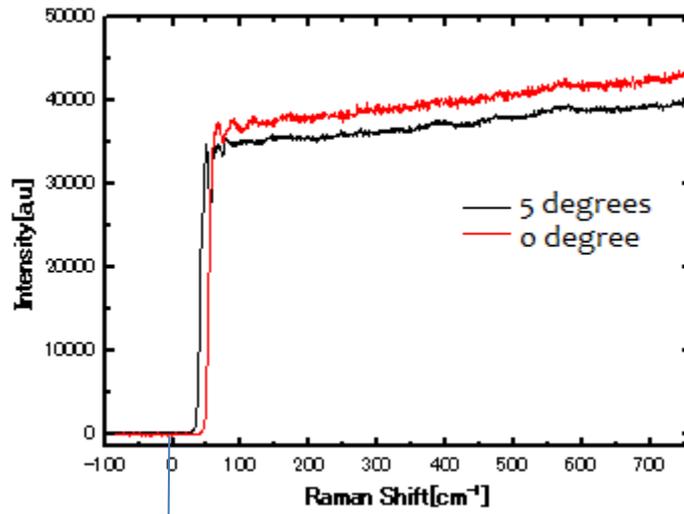


Периодическая STI (shallow trench isolation) структура

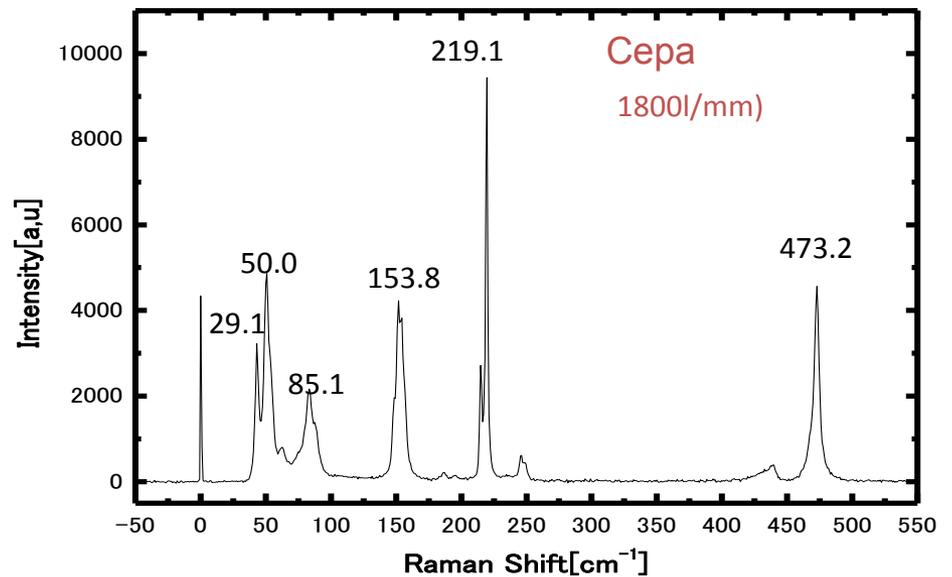


## Низкочастотная КР спектроскопия. Отрезающие фильтры с резкой границей

532 нм длинноволновый пропускающий фильтр



~30 cm<sup>-1</sup> (OD5 для р-поляризации лазера и наклоне фильтра на 5 градусов)



## Низкочастотная КР спектроскопия. Объемные брэгговские фильтры

Объемные брэгговские решетки - прозрачные пластинки с периодической модуляцией показателя преломления (толщина: 1-10 мм; модуляция: 5000 - 10000 плоскостей/мм).

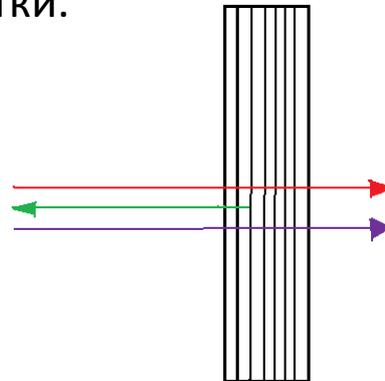
Высокая отражательная способность брэгговских решеток достигается в узком диапазоне длин волн, определяемом условием Брэгга :  $\Lambda = \lambda / (2n)$ ,

где  $\Lambda$  – период решетки,  $\lambda$  – длина волны,  $n$  - показатель преломления.

Селективность по длине волны  $\Delta\lambda$  приблизительно оценивается как

$\Delta\lambda / \lambda \simeq \Lambda / L$ , где  $L$  – толщина решетки.

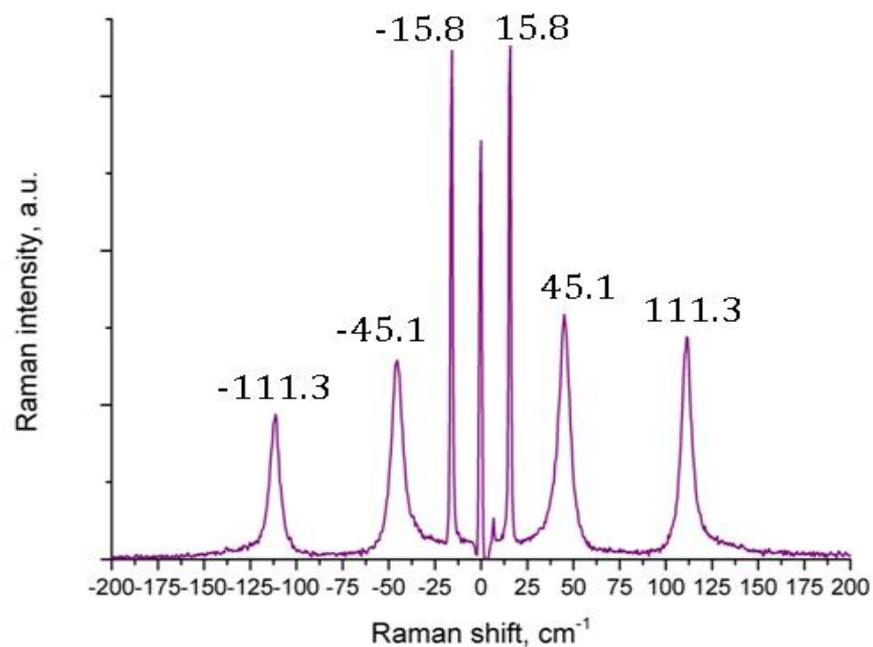
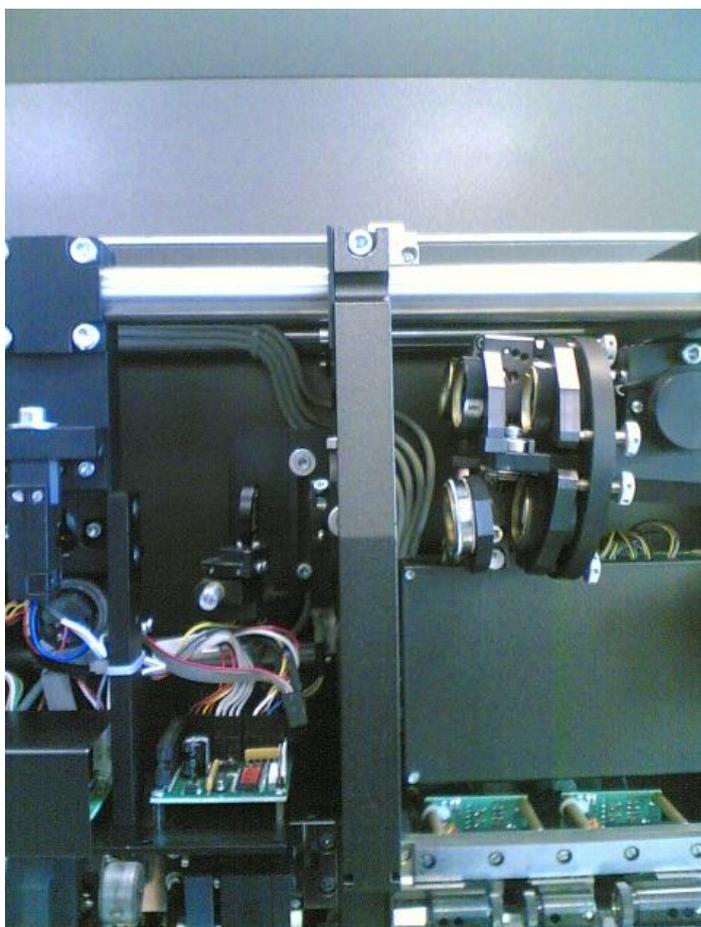
$$\Delta\lambda / \lambda \simeq 10^{-5}$$



## Достоинства объемных брэгговских решеток (VBG)

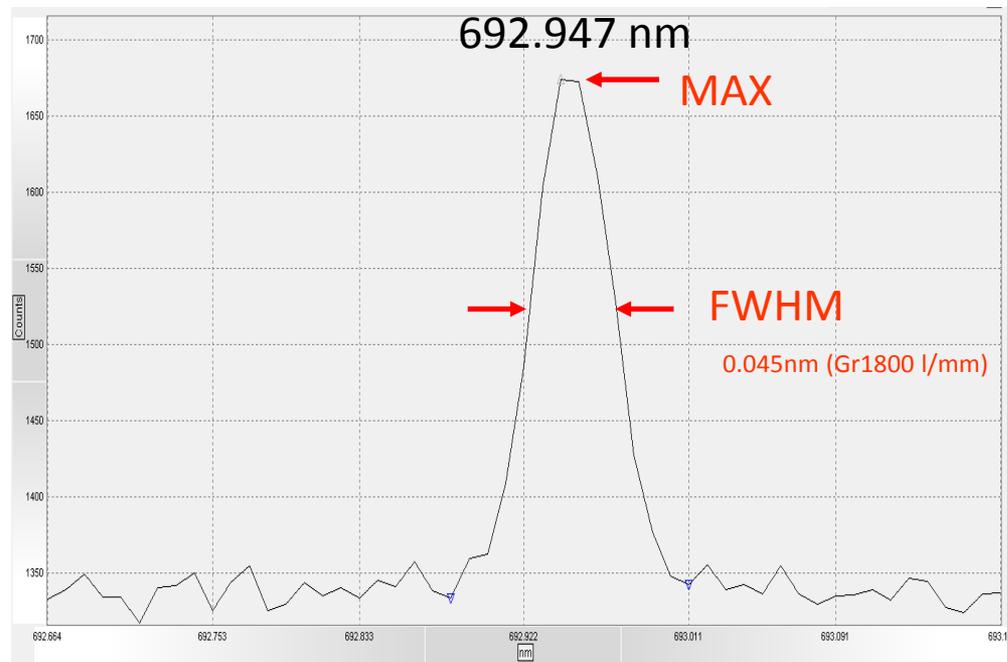
- позволяют проводить измерения вблизи лазерной линии ( $<10 \text{ cm}^{-1}$ )
- рабочий диапазон: 400 – 2500 нм
- позволяют одновременно исследовать стоксово и антистоксово рассеяние
- пропускание рамановского сигнала:  $<95\%$
- отсутствие поляризационной зависимости
- не деградируют под мощным лазерным излучением

## Низкочастотные спектры КР политипов CdI<sub>2</sub> (Cadmium Iodide)



## Спектральное разрешение

Спектральное разрешение спектрографа может определяться как минимально возможная ширина детектируемой одиночной спектральной линии на ее полувысоте (FWHM).



Две спектральные линии одинаковой интенсивности могут быть разрешены, если расстояние между ними больше ширины линий на полувысоте

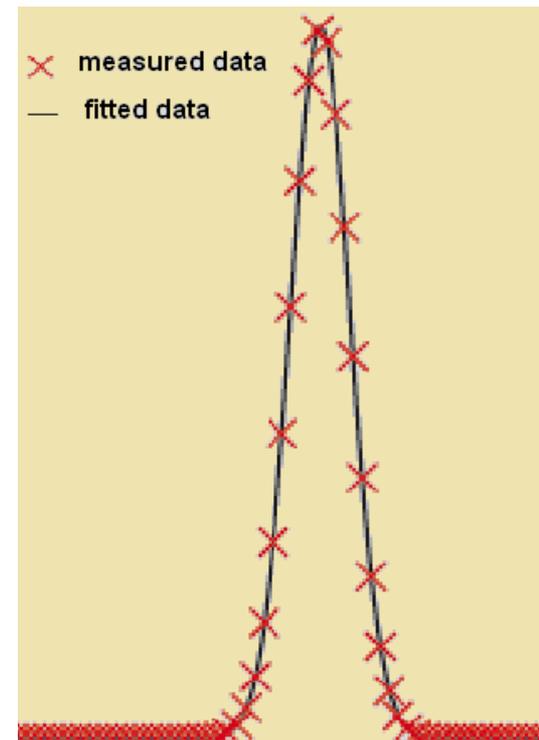
Некоторые производители рамановских систем для спектрального разрешения используют особые определения:

### Разрешение на пиксел (нм/пиксел)

Разрешение на пиксел определяет количество света, приходящееся на один пиксел спектральной CCD (нм на пиксел).

### Повторяемость по длинам волн (точность)

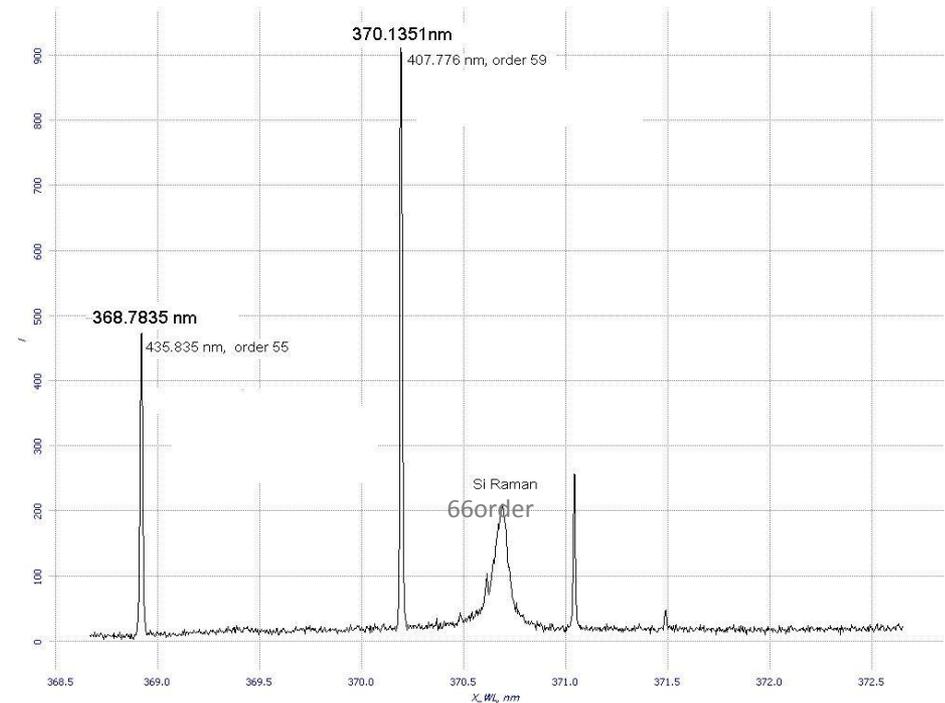
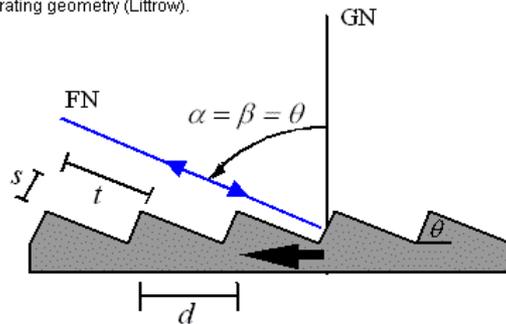
Точность определения позиции пика при его аппроксимации известными функциями ( $0.01 \text{ см}^{-1}$ )

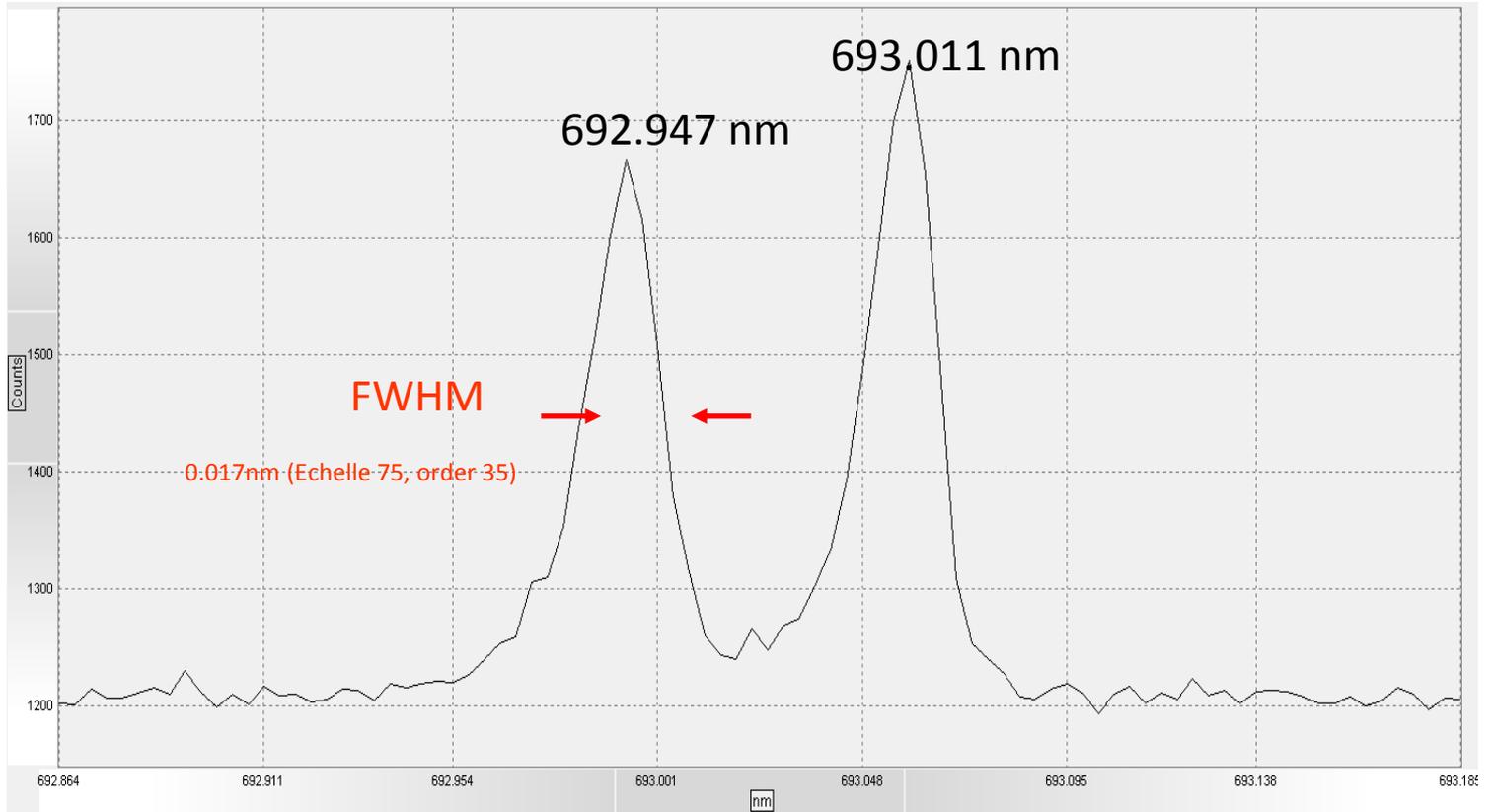


## Эшелле решетка

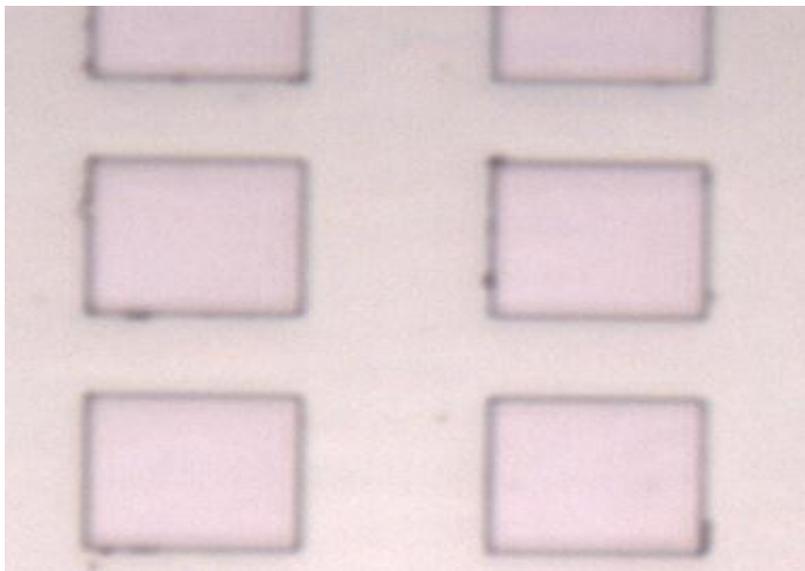
Эшелле решетка – специальная плоская отражательная дифракционная решетка с треугольным профилем штриха, используемая при больших углах дифракции и высоких порядках спектра. Имеет относительно небольшую плотность штрихов.

Echelle grating geometry (Littrow).



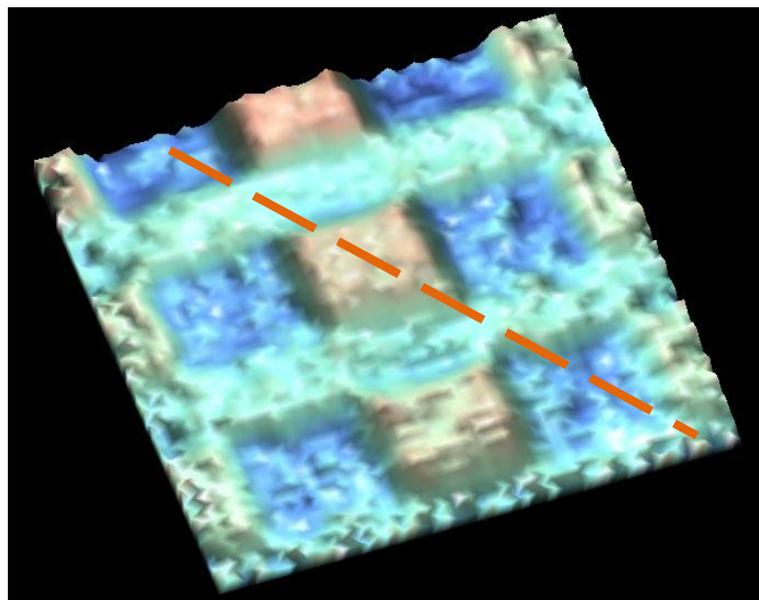


## Оптическое изображение образца

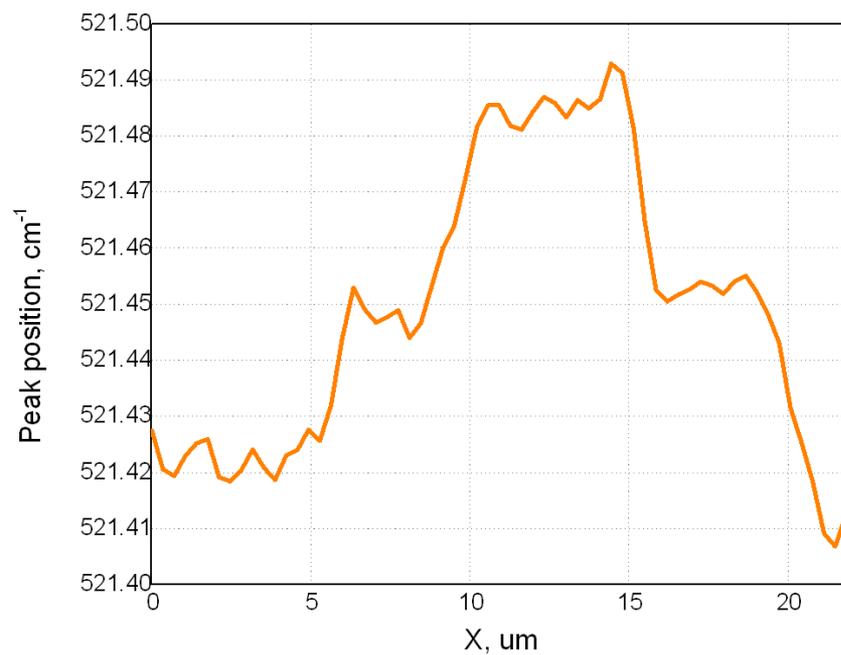


**SOL**  
instruments

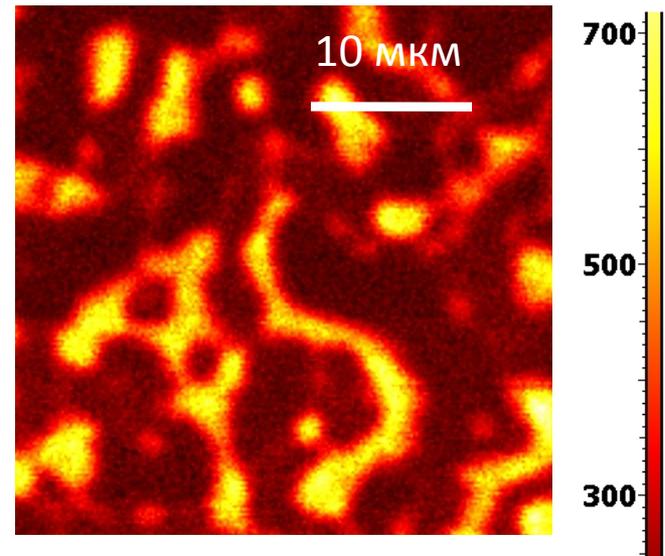
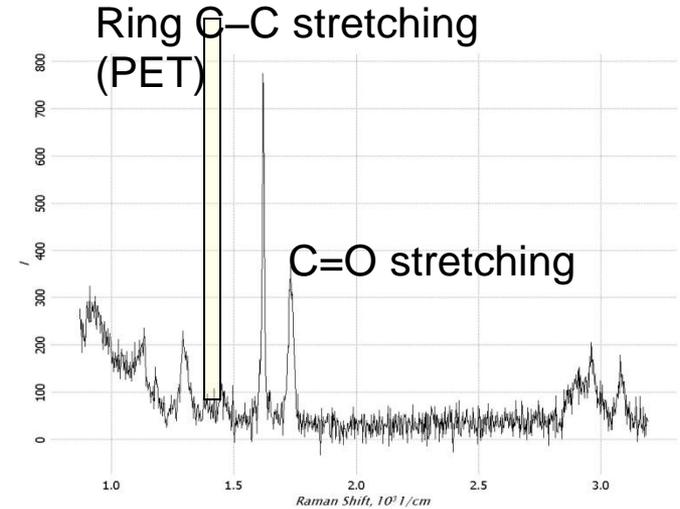
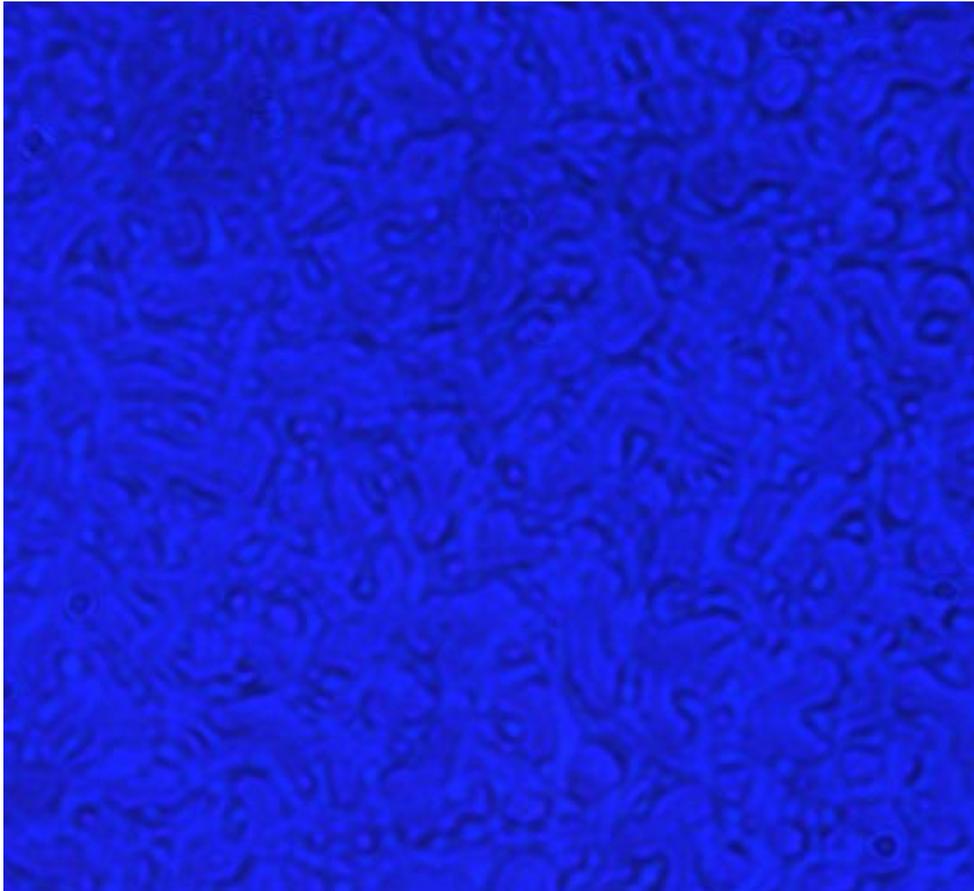
## Позиция пика Si



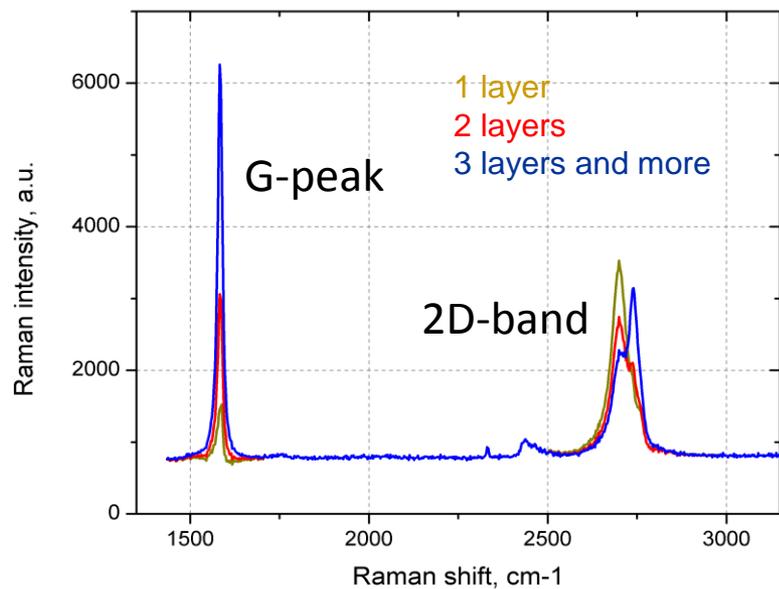
Позиция пика Si (сечение вдоль линии, указанной слева)



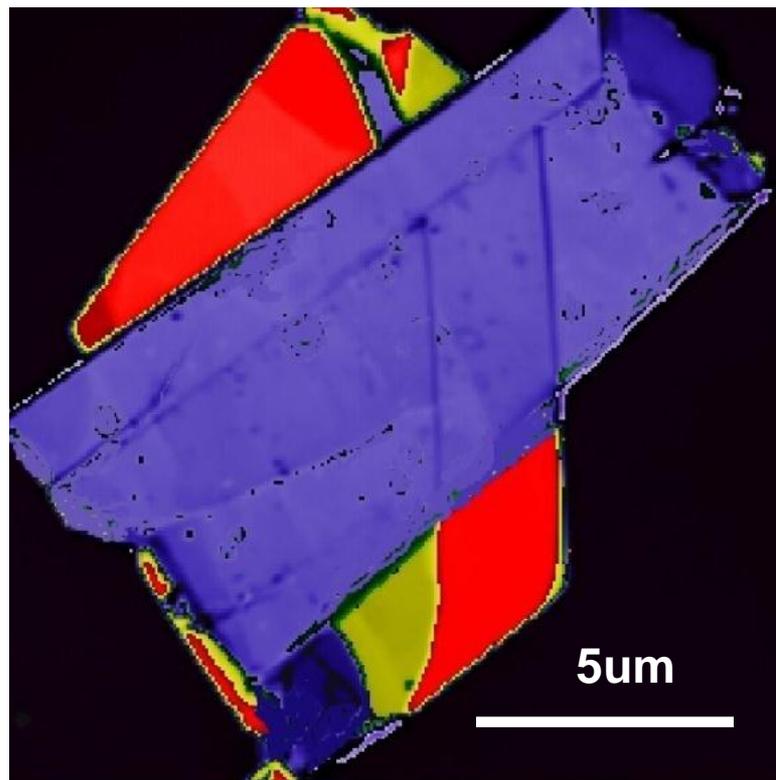
Полимерная пленка  
(полиэтилентерефталат - Polyalkylene Glycol)



## Спектроскопия КР графена

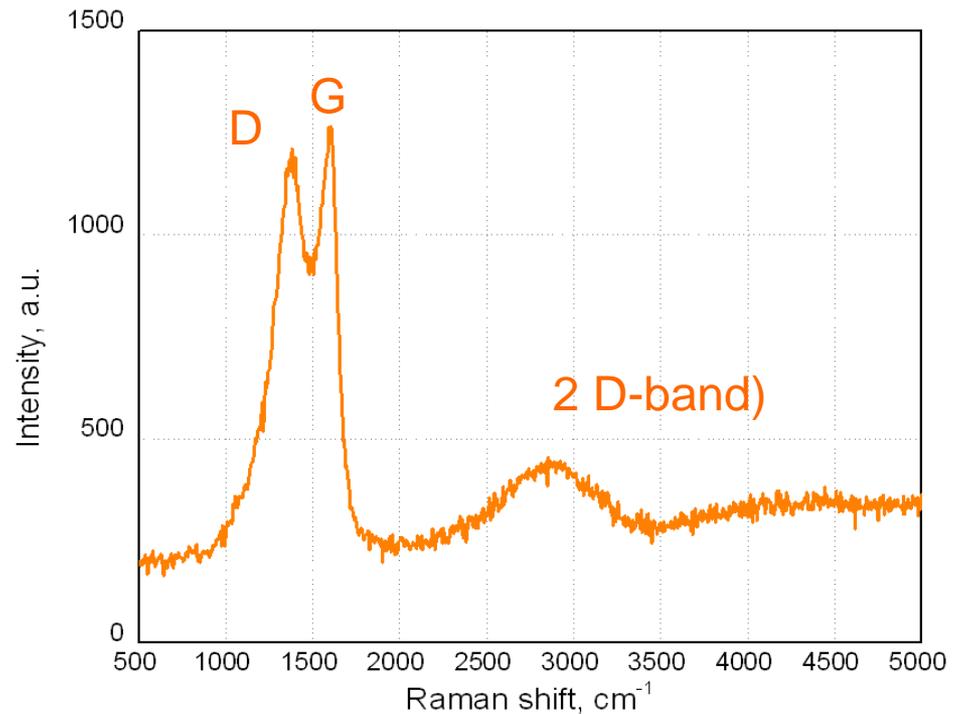
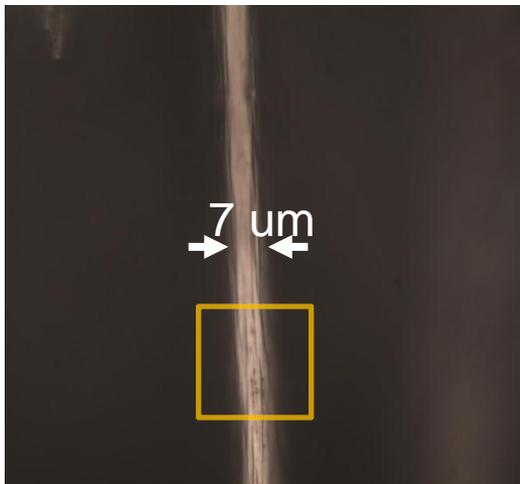


## G-band Intensity Map

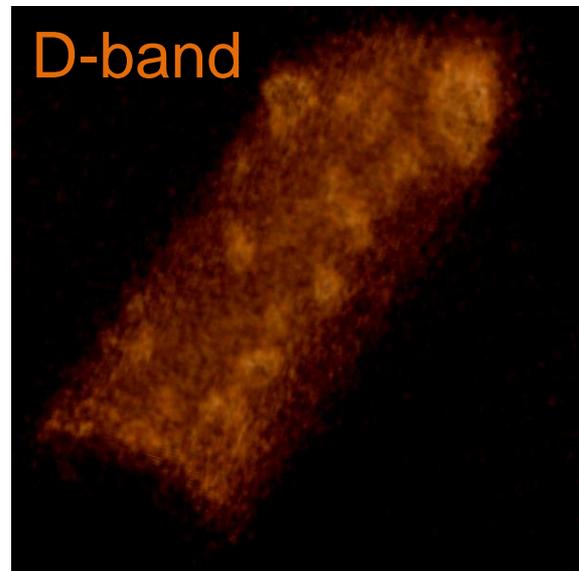
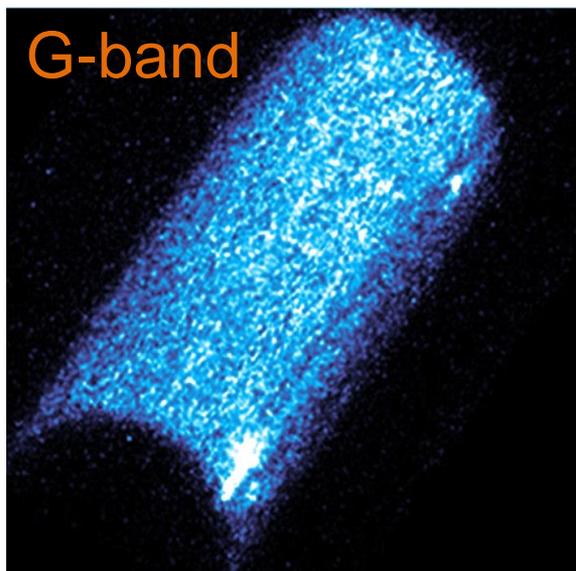


## Углеродные волокна

Углеродные волокна играют все возрастающую роль из-за большой прочности на растяжение, низкого удельного веса, низкого коэффициента растяжения и химической инертности.



# Углеродные волокна

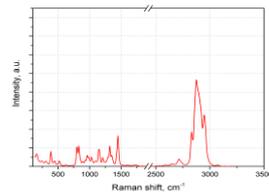


21 x 21 x 7 MKM

## Применение рамановской конфокальной микроскопии для анализа многослойных полимерных пленок

Пленки используются, например, для защиты пищевых продуктов, а также в качестве упаковочного или изоляционного материала.

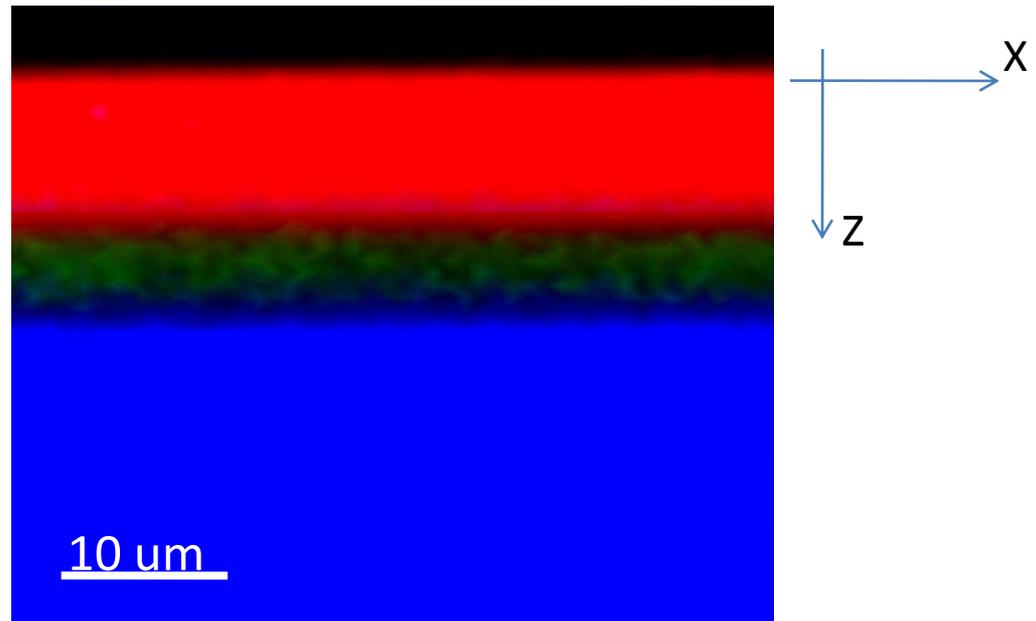
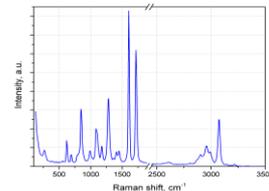
Polypropylene



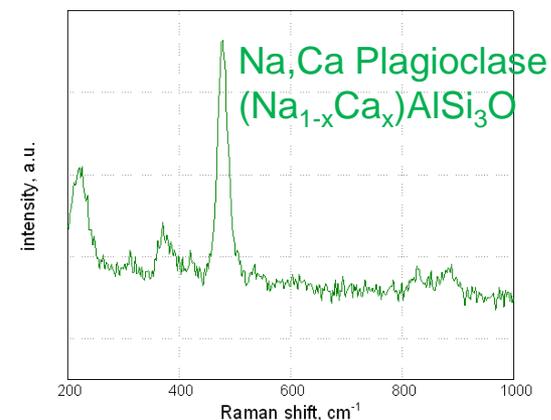
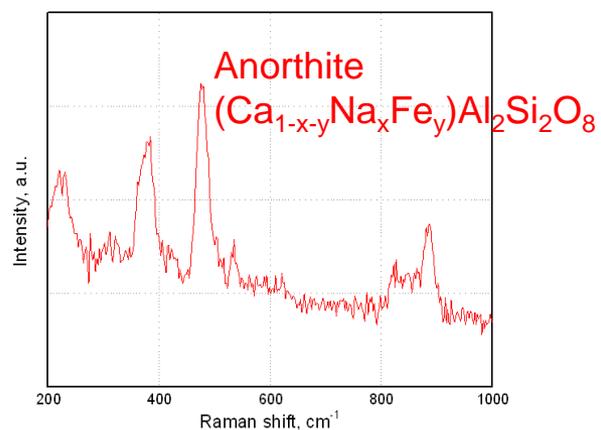
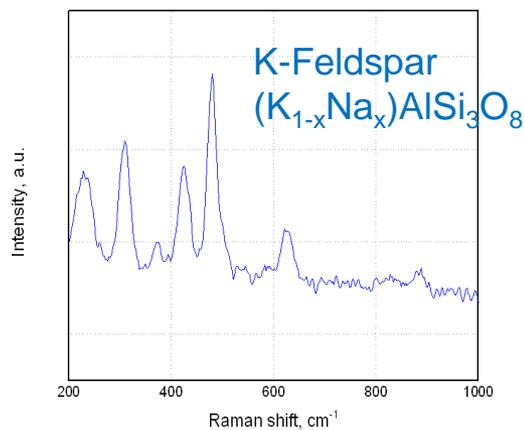
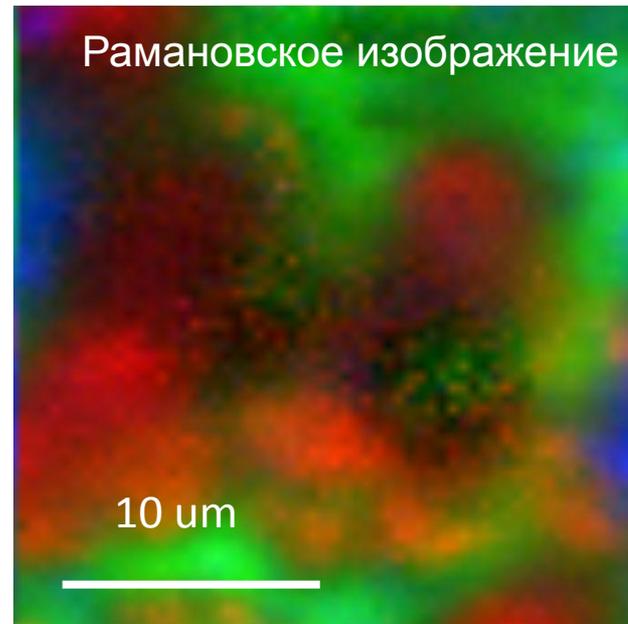
Acrylic layer



Polyethylene terephthalate



# Спектроскопия комбинационного рассеяния для идентификации минералов



## Реализуемые методы световой микроскопии на базе Confotec NR500

Модульный подход к дизайну позволяет реализовать в одном инструменте такие методы световой микроскопии как:

- Конфокальная **рамановская** и **флуоресцентная** сканирующая микроскопия
- Confocal Laser reflected (**Rayleigh**) imaging
- Coherent Anti Stokes Raman Microscopy (**CARS**)
- **Upconversion Luminescence**
- Two-Photon Excited Fluorescence (**TPFE**) Microscopy
- Second-harmonic Imaging (**SHG**) Microscopy
- Fluorescence Life Time Imaging (**FLIM**) Microscopy
- Stimulated Raman Scattering (**SRS**) Microscopy
- Tip Enhanced Raman Spectroscopy (комбинация **Raman & AFM**)
- Измерение спектров **бриллюэновского рассеяния** (85 pm centered at 532 nm, 1pm resolution, VIPA spectrometer)



Спасибо за внимание!