

Microscopía Raman confocal

Aspectos prácticos

Dr. Mariano Romero
Física – DETEMA,
Facultad de Química,
Universidad de la República.

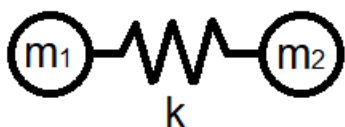


UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

Generalidades

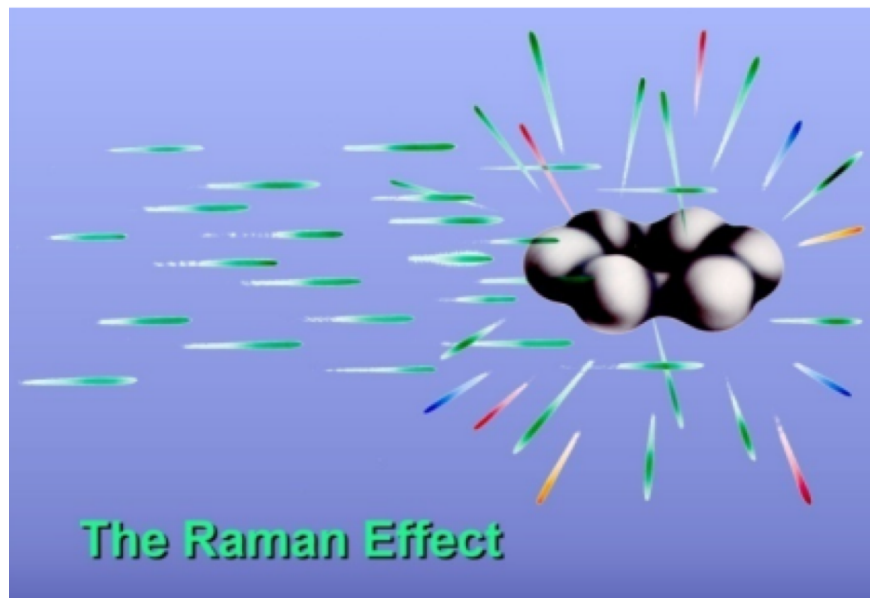
Generalidades

Modos vibracionales



$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

$$\text{con } \mu = \frac{1}{m_1} + \frac{1}{m_2}$$



Absorption frequency increases with increasing bond order (and bond strength)

Bond	Frequency (cm ⁻¹)	Bond	Frequency	Bond	Frequency
C-C	< 900	C-O	970 - 1250	C-N	1250-1020
C=C	1680 - 1620	C=O	1630-1780	C=N	1690-1640
C≡C	2260 - 2100	C≡O	2100	C≡N	2260-2220

Generalidades

Regla de selección

Luz incidente monocromática (ν_0)

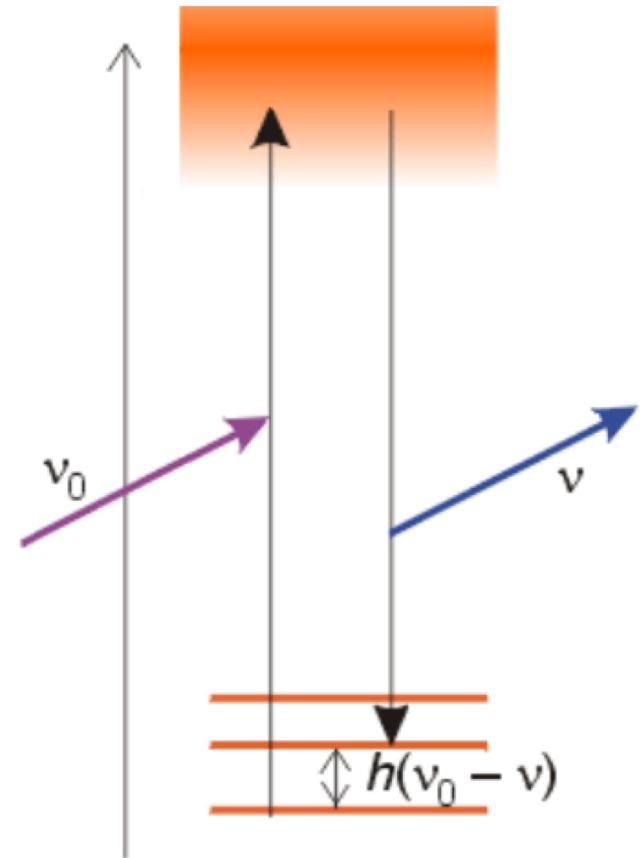
Luz dispersada inelásticamente (ν)

$\Delta\nu = \nu_0 - \nu$ (Raman shift / cm^{-1})

Polarizabilidad (α_{ij})

$$\alpha_{ij} = \alpha_{ij}|_0 + \left(\frac{\delta\alpha_{ij}}{\delta Q_k} \right) \bigg|_0 Q_k^0 \cos(\omega_k t + \delta_k)$$

$$\left(\frac{\delta\alpha_{ij}}{\delta Q_k} \right) \bigg|_0 \neq 0$$

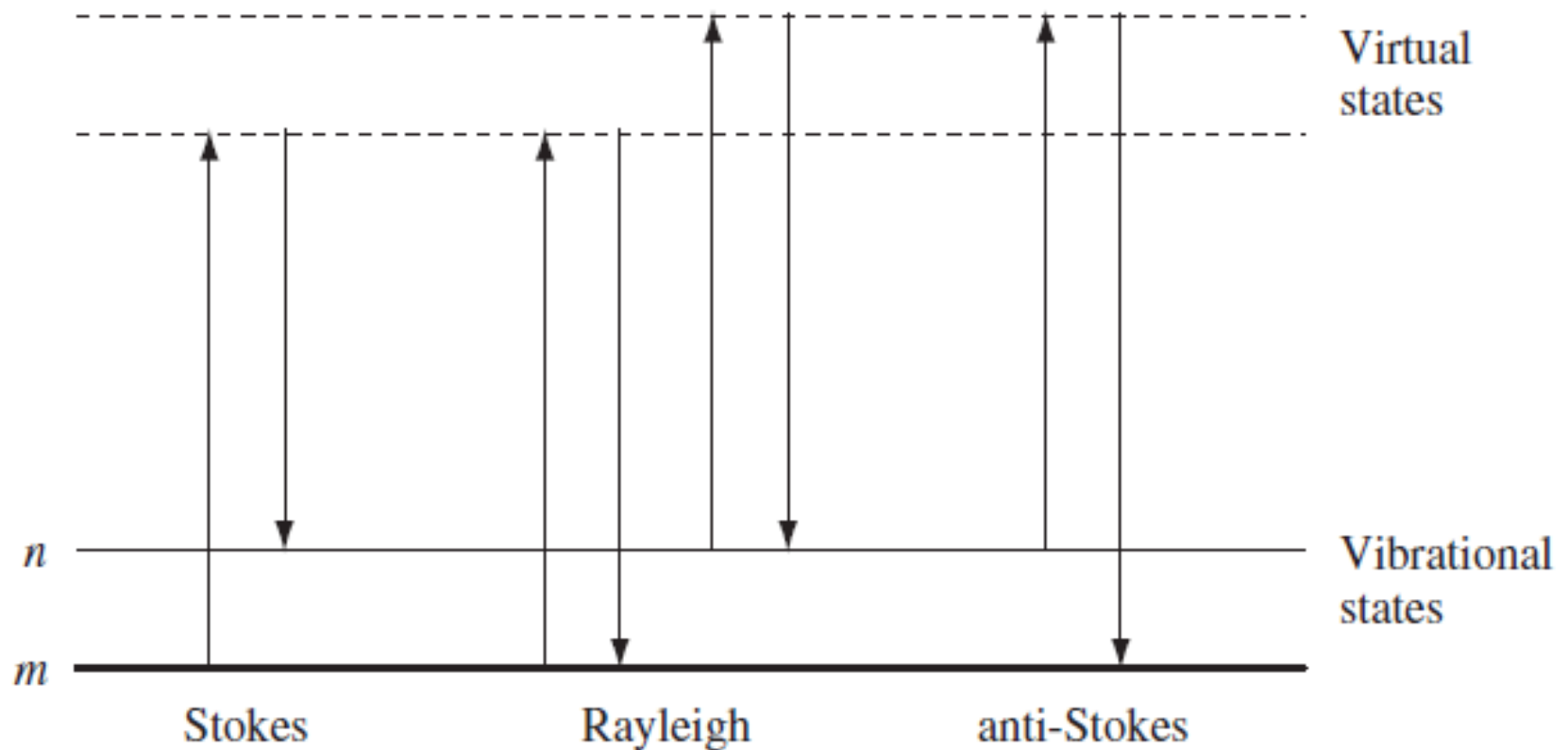


Generalidades

Regla de selección

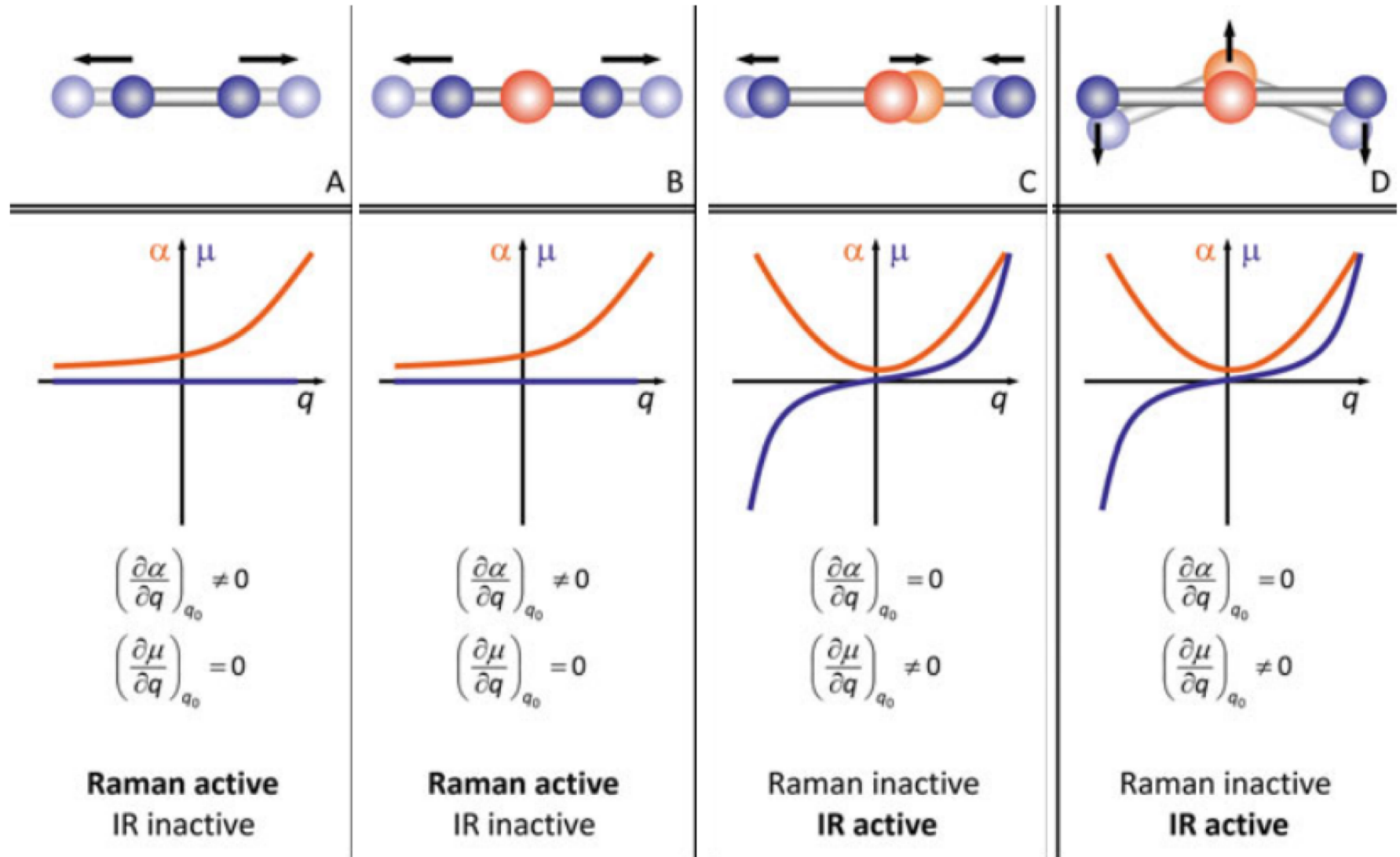
Dispersión Raman Stokes ($\Delta\nu > 0$)

Dispersión Raman anti-Stokes ($\Delta\nu < 0$)

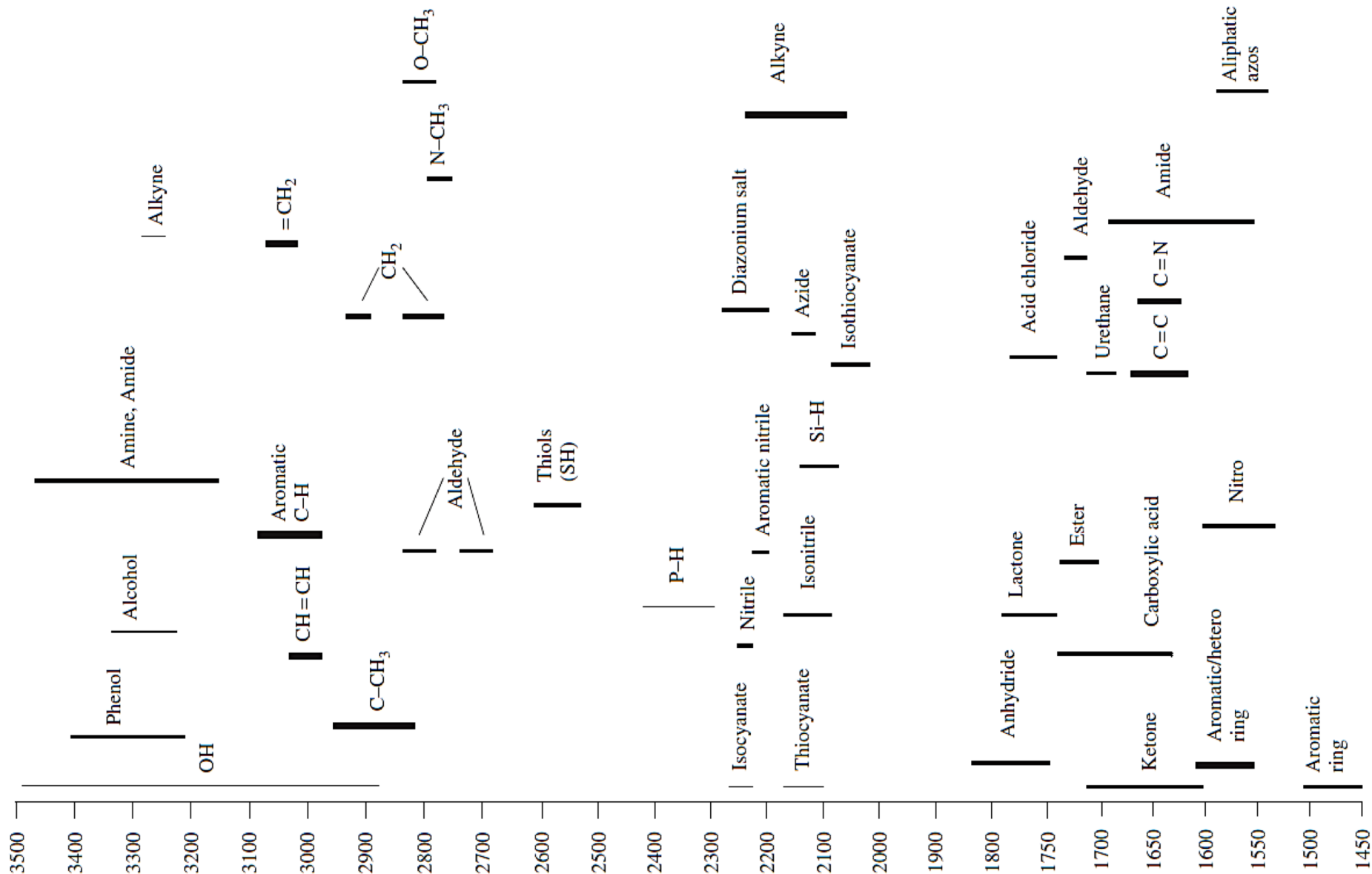


Generalidades

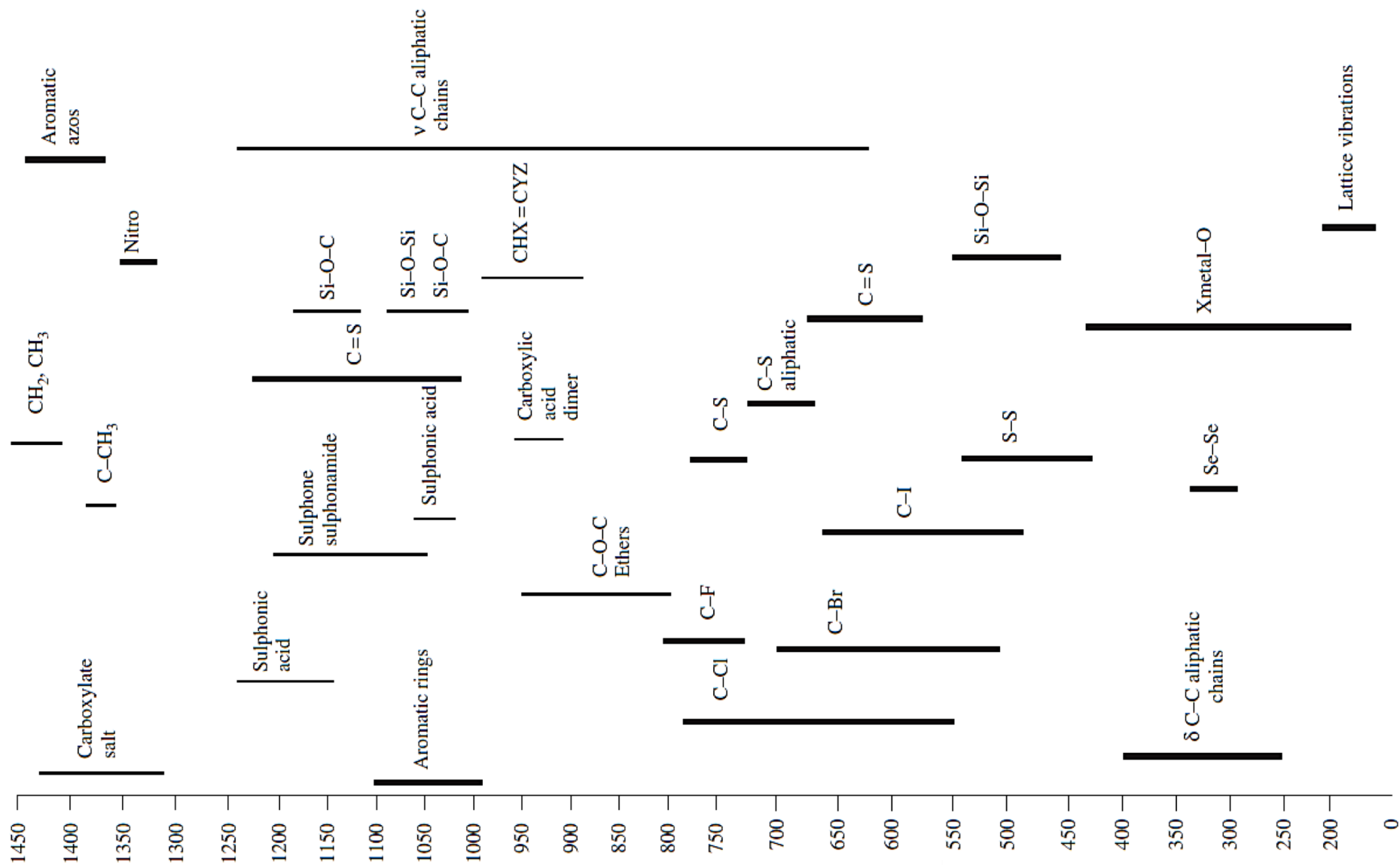
Regla de selección



Generalidades



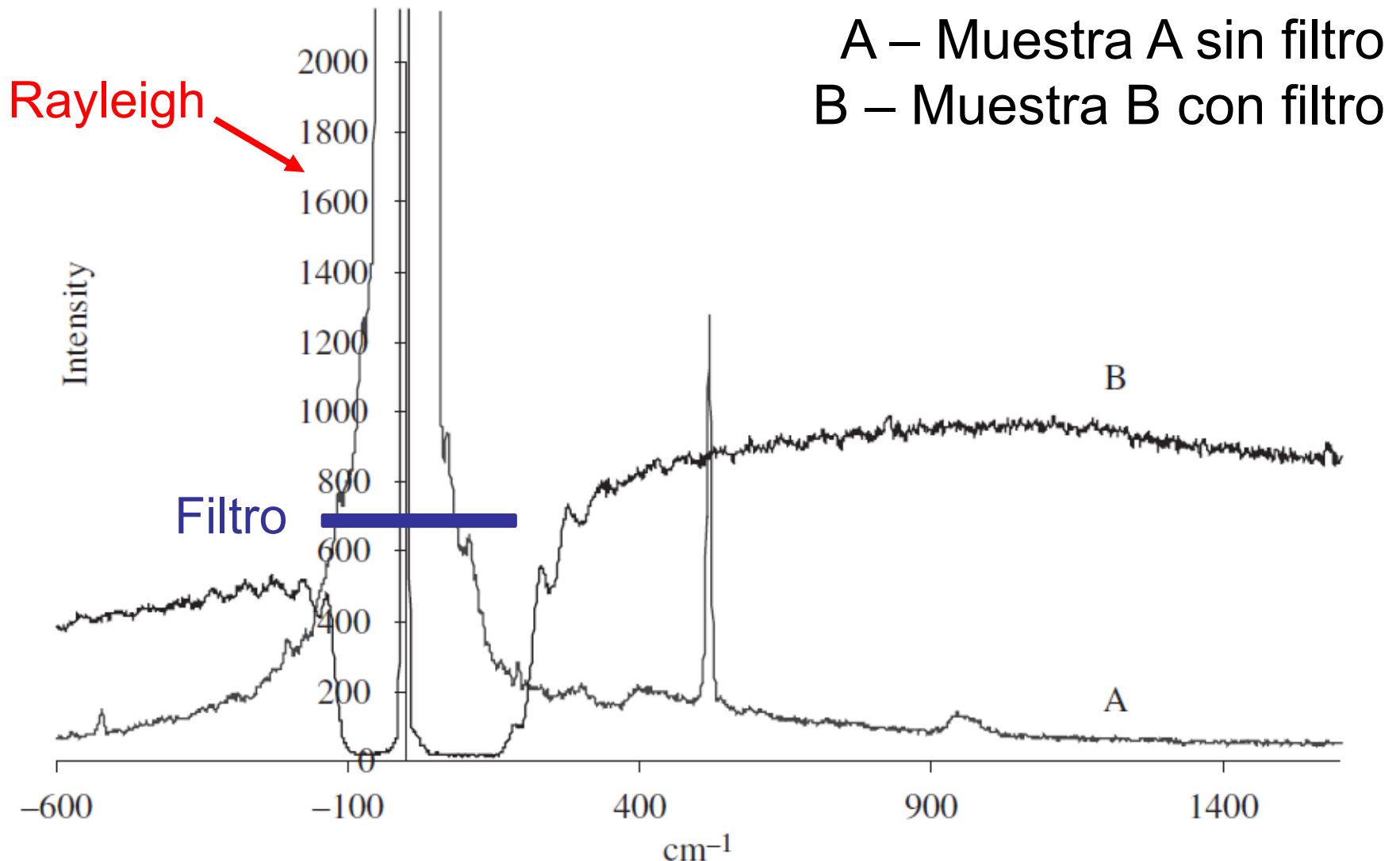
Generalidades



Instrumentación

Instrumentación

Filtros



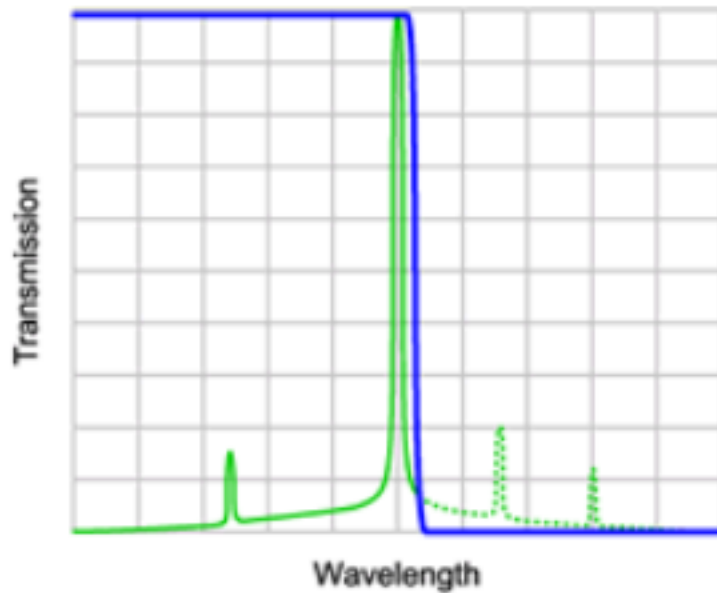
Instrumentación

Filtros

Tipos de filtro:

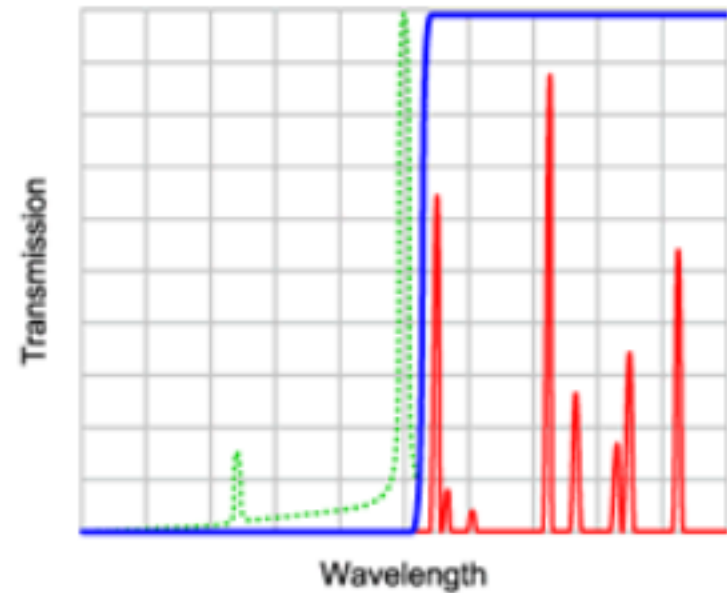
Laser Transmitting Filters

SWP Edge Filter



Laser Blocking Filters

LWP Edge Filter



Filtros para dispersión Stokes

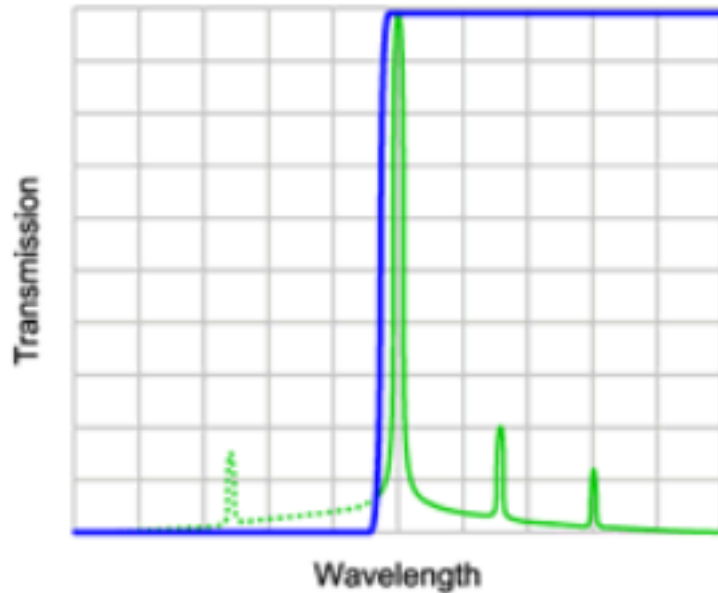
Instrumentación

Filtros

Tipos de filtro:

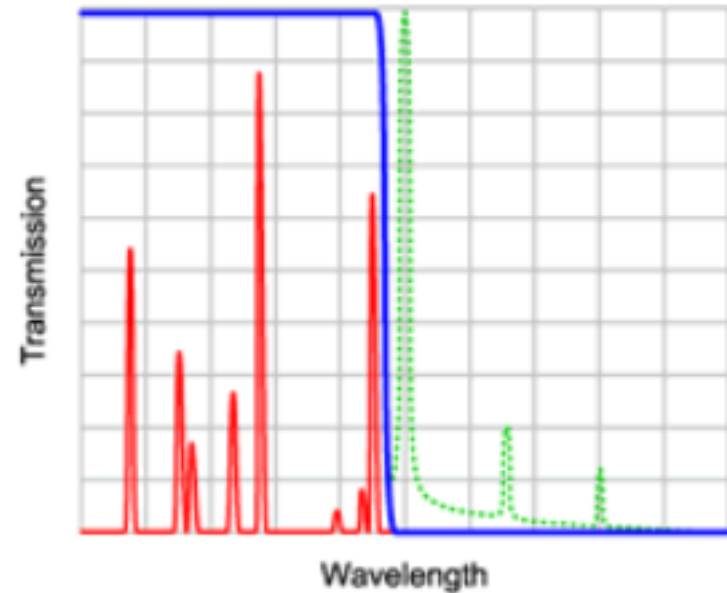
Laser Transmitting Filters

LWP Edge Filters



Laser Blocking Filters

SWP Edge Filter



Filtros para dispersión anti-Stokes

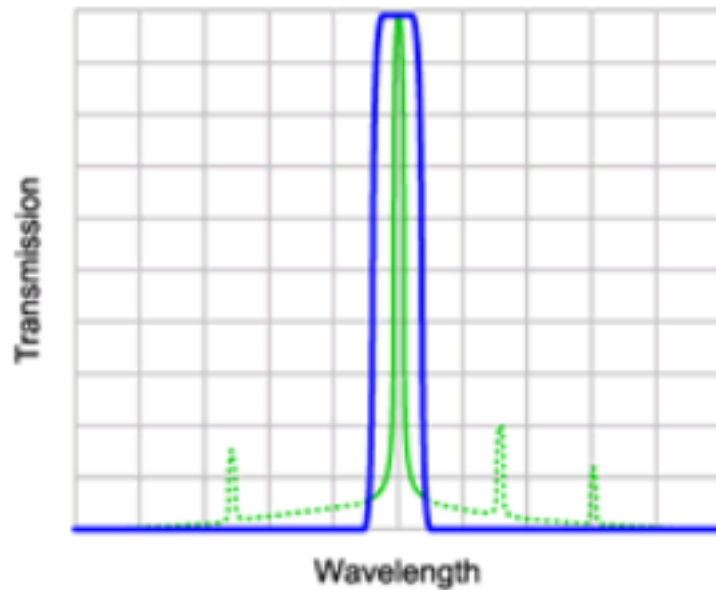
Instrumentación

Filtros

Tipos de filtro:

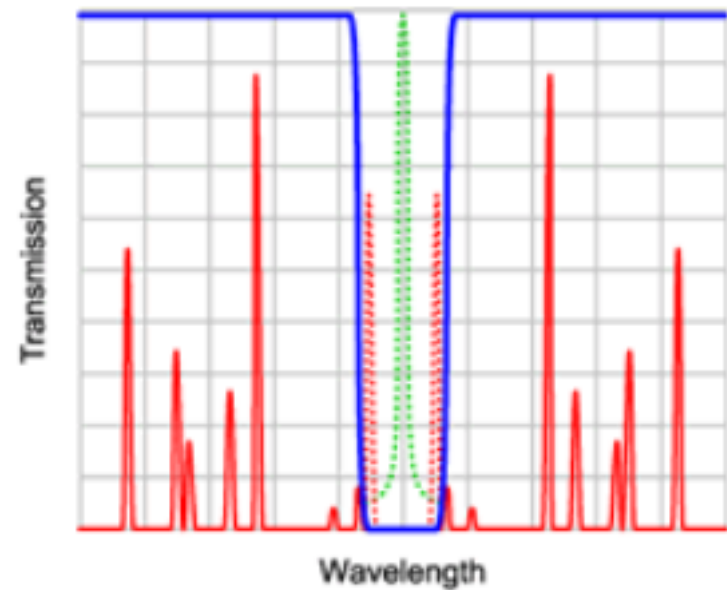
Laser Transmitting Filters

Laser-line Filter



Laser Blocking Filters

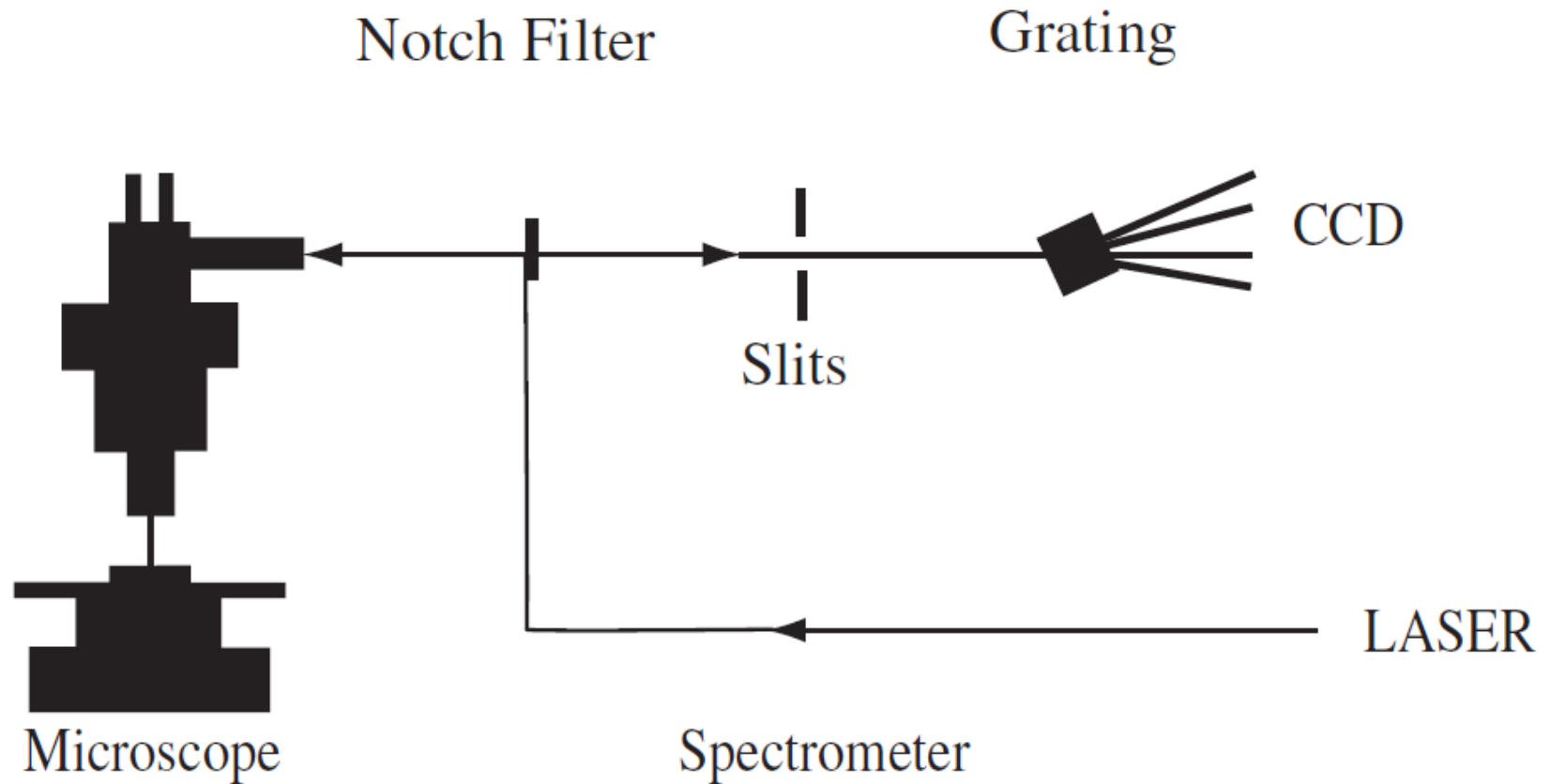
Notch Filters



Filtros para dispersión Stokes & anti-Stokes

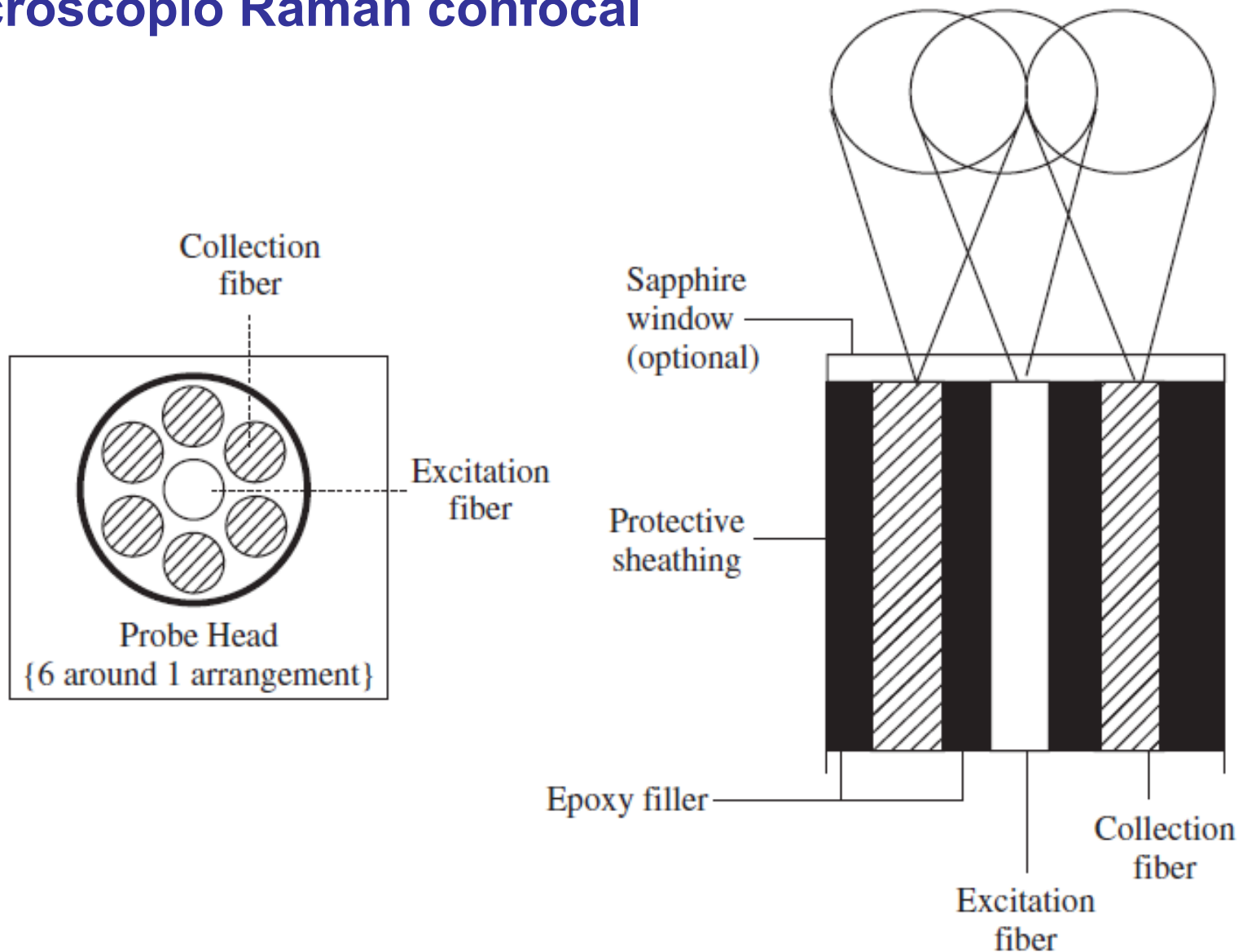
Instrumentación

Microscopio Raman confocal



Instrumentación

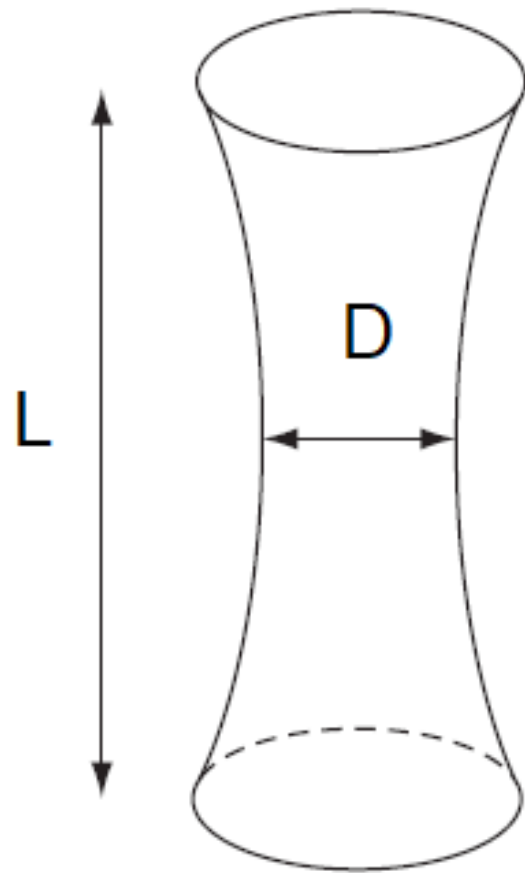
Microscopio Raman confocal



Instrumentación

Microscopio Raman confocal

Volumen de muestreo:



$$D = 4\lambda f / \pi d,$$

$$L = 16\lambda f^2 / \pi d^2,$$

D = diameter of cylinder,

L = length of cylinder,

λ = laser wavelength,

d = diameter of unfocussed laser beam,

f = focal length of focussing lens.

Instrumentación

Longitud de onda de luz incidente

UV

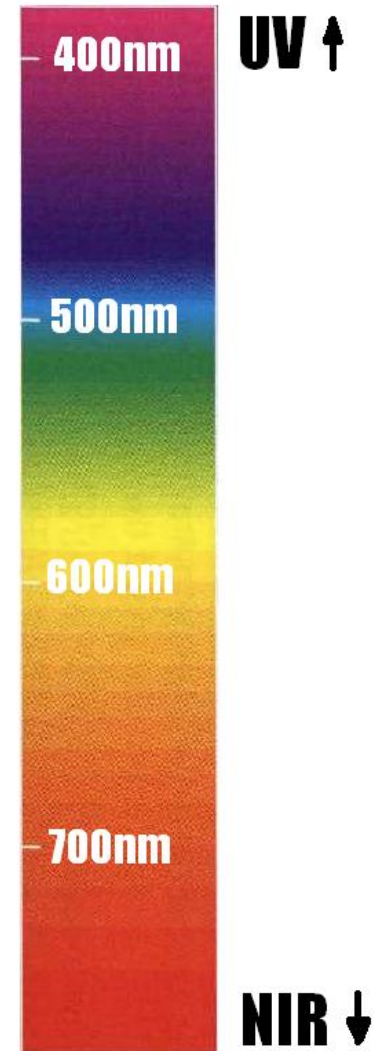
Alta relación Señal-Ruido, baja fluorescencia, absorción radiación (resonancia) y degradación de muestra.

Visible

Alta fluorescencia, poca degradación de muestra.

NIR

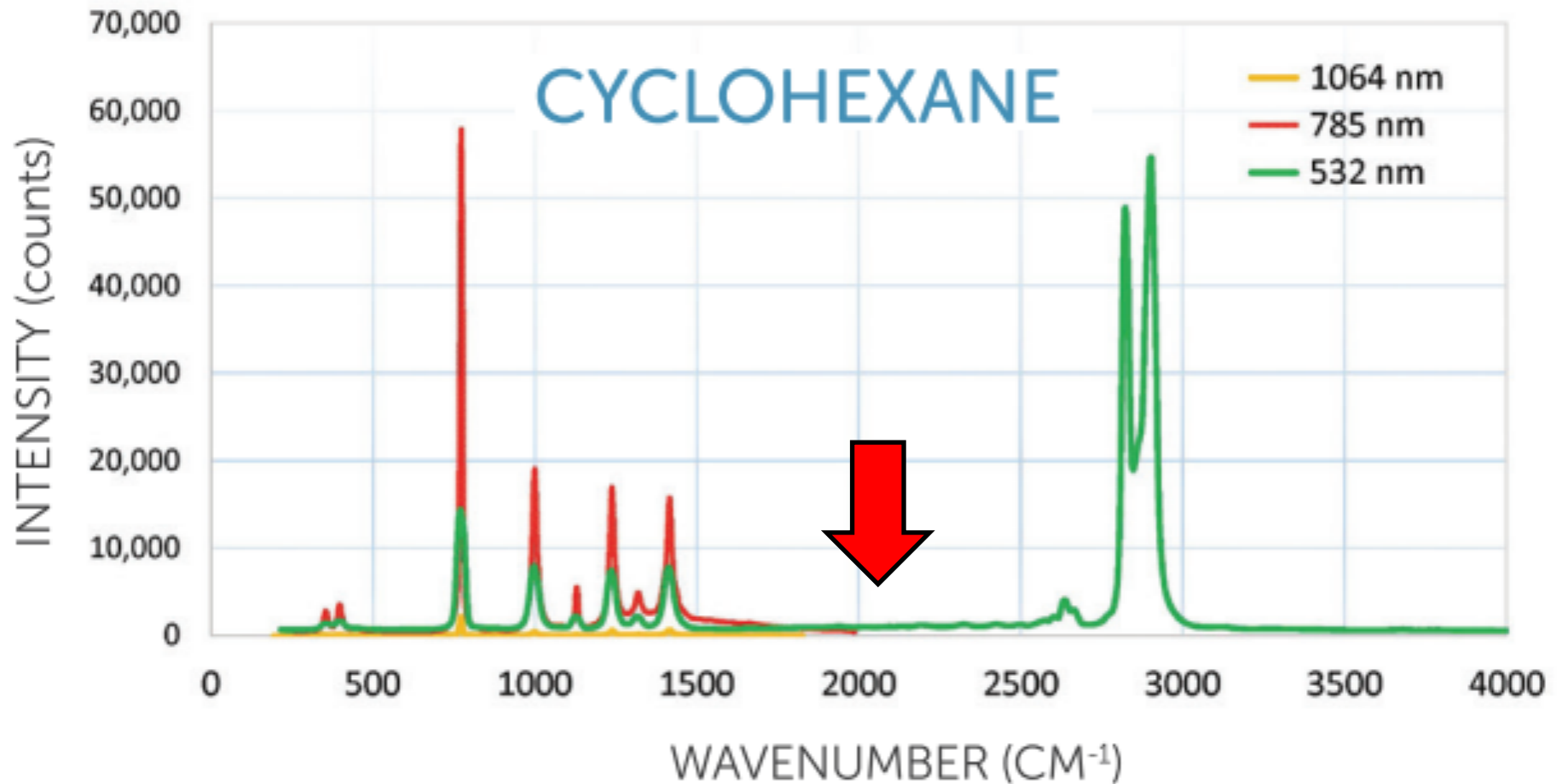
Baja relación Señal-Ruido, baja fluorescencia.



Condiciones de medida

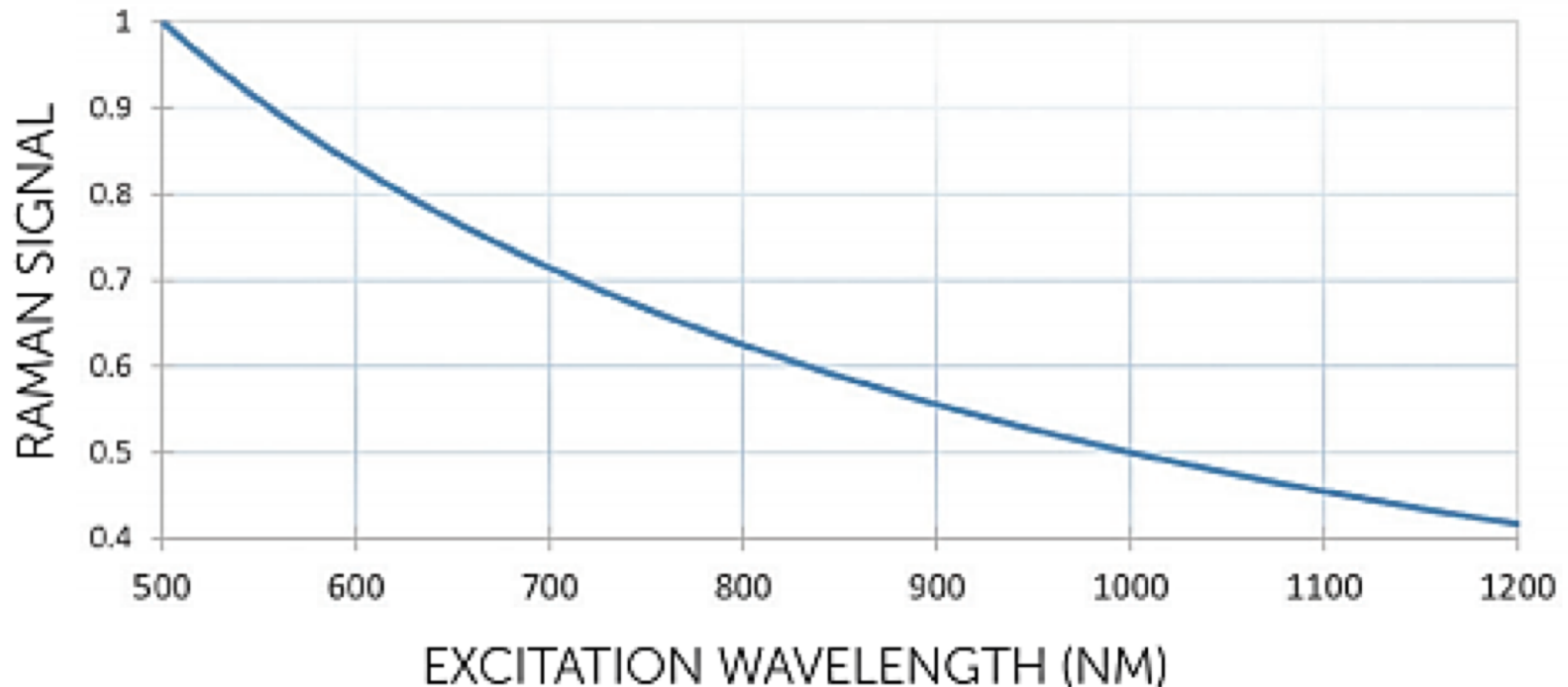
Condiciones de medida

Elección de longitud de onda



Condiciones de medida

Elección de longitud de onda

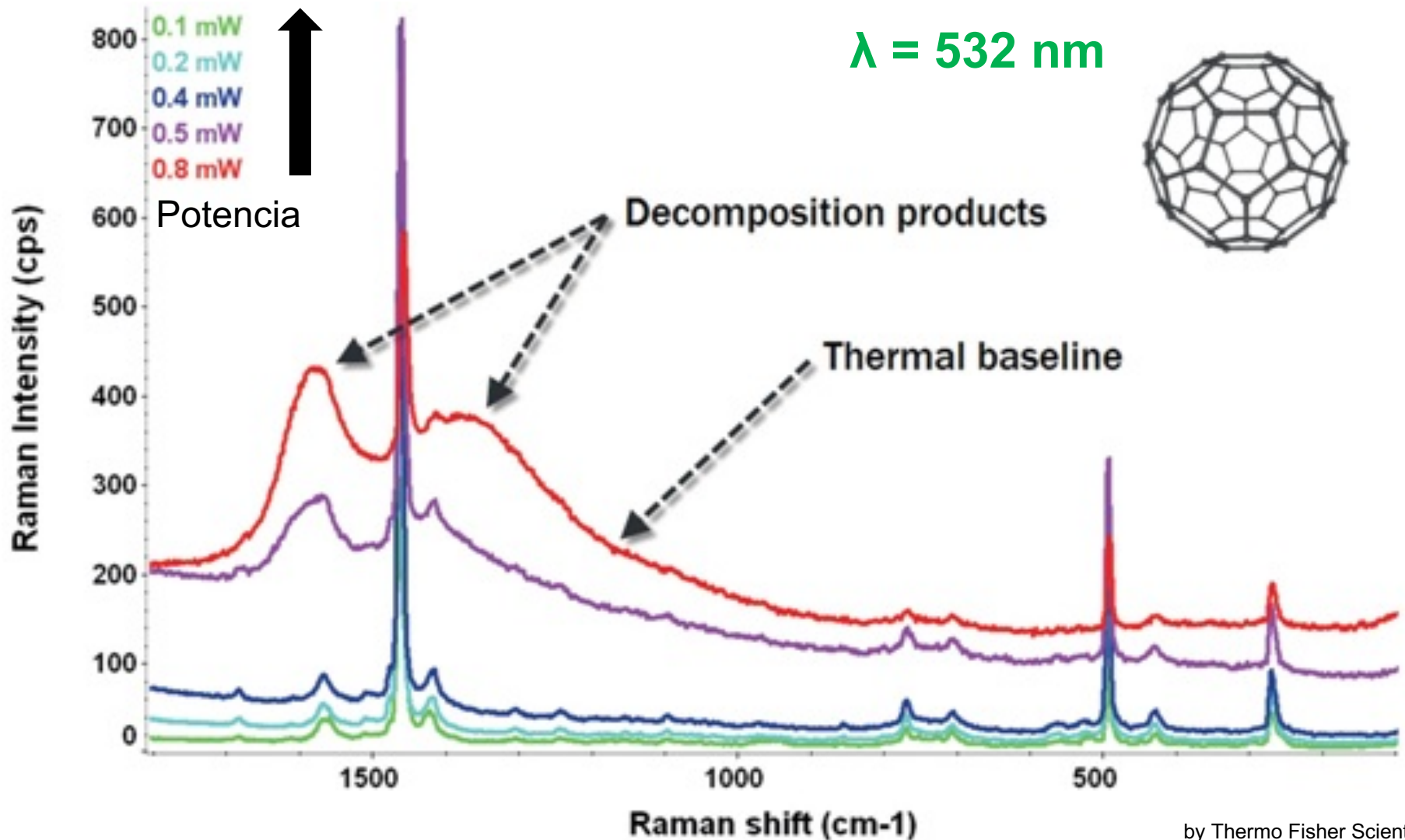


A tener en cuenta:

- Muestras que se descomponen con el láser
- Muestras que exhiben fluorescencia con el láser

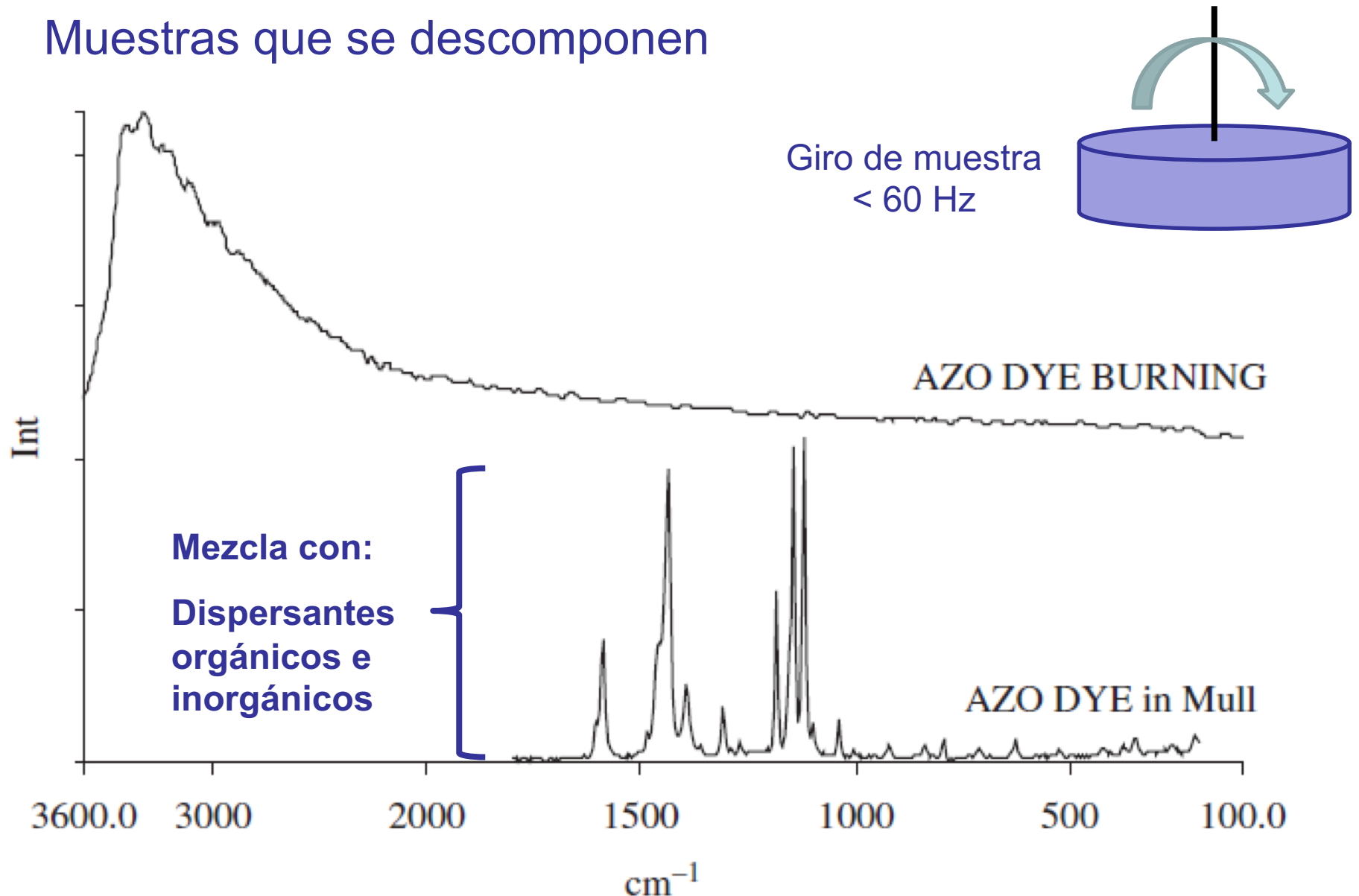
Condiciones de medida

Muestras que se descomponen



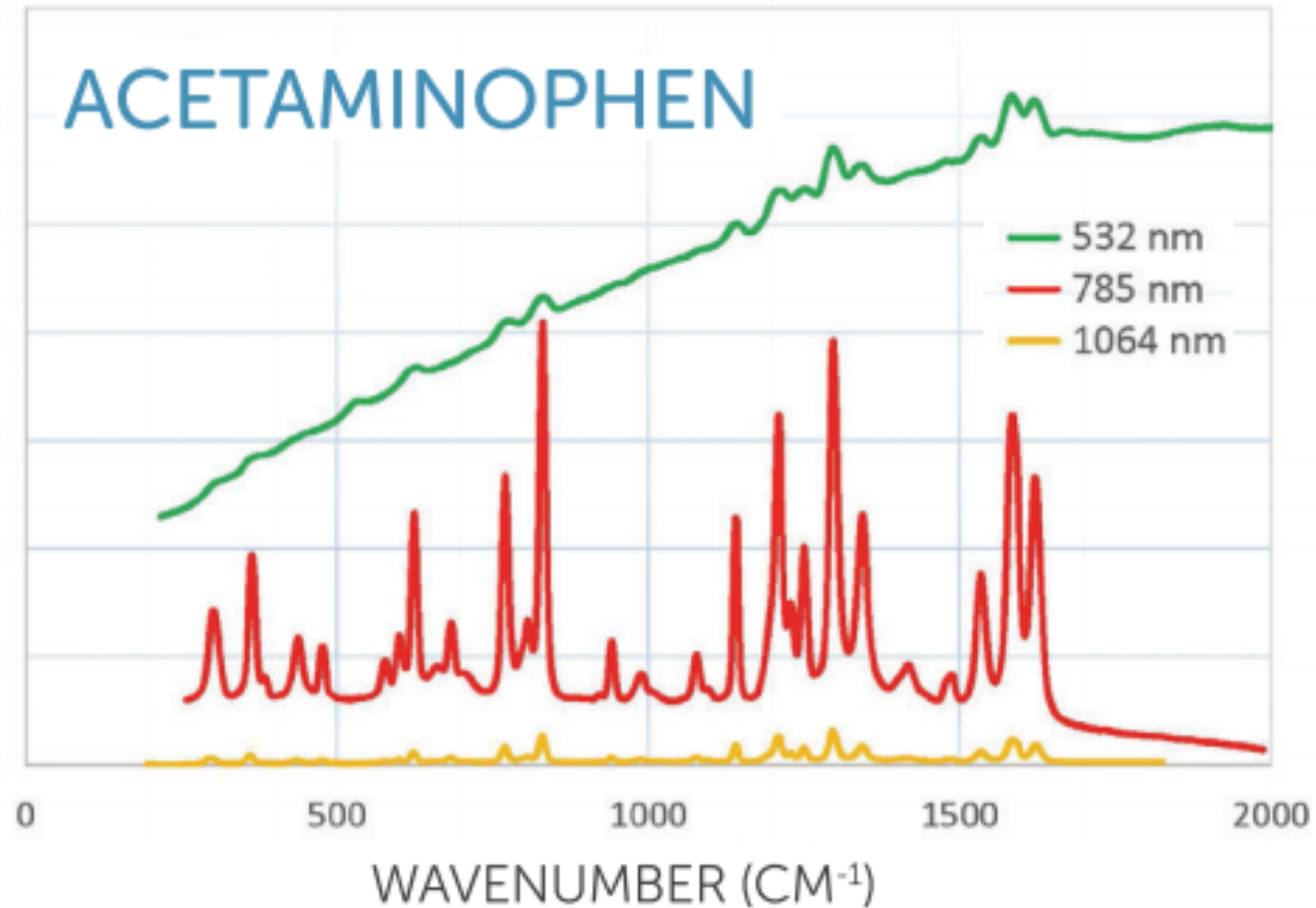
Condiciones de medida

Muestras que se descomponen



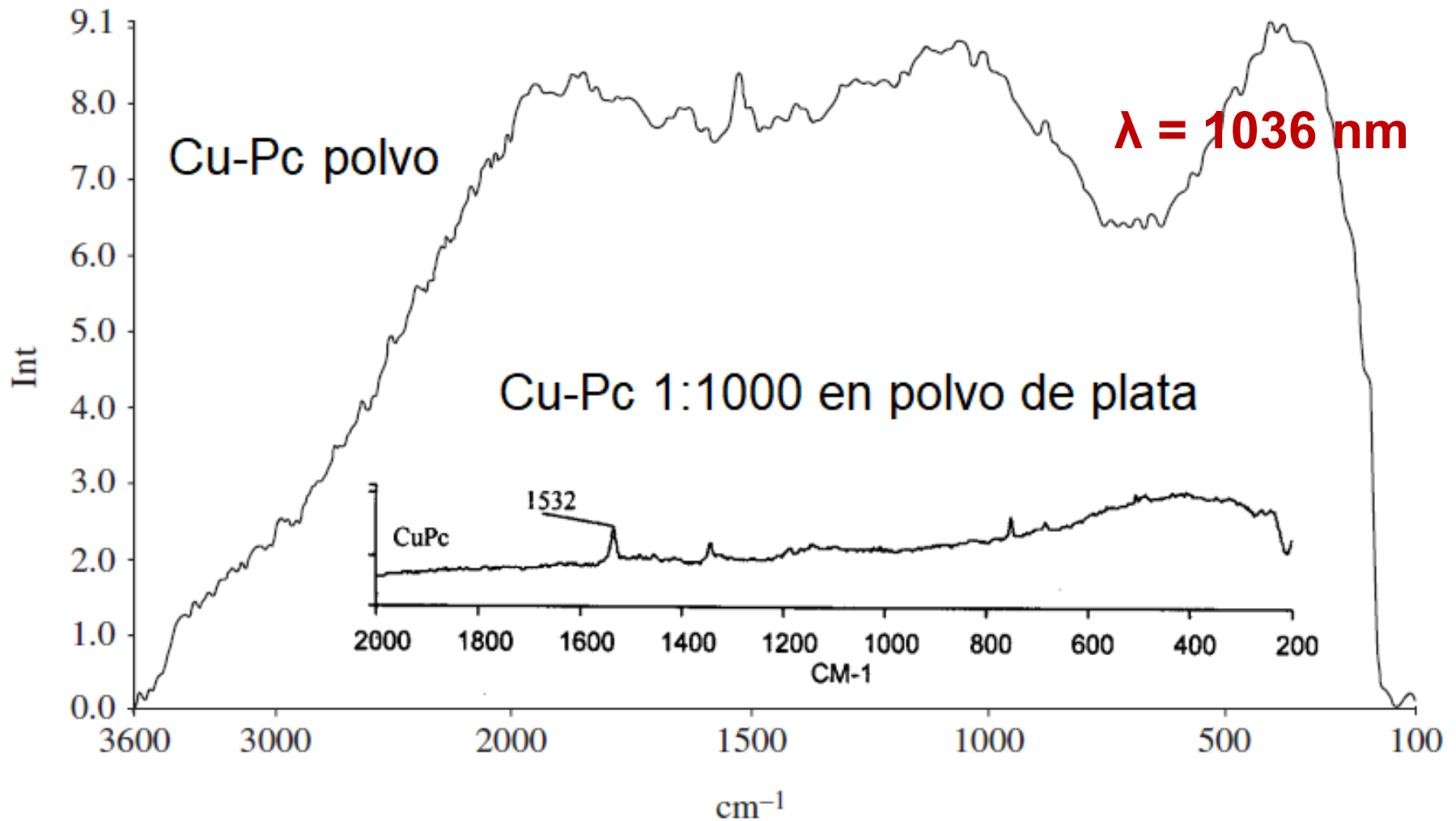
Condiciones de medida

Muestras que exhiben fluorescencia



Condiciones de medida

Muestras que exhiben fluorescencia

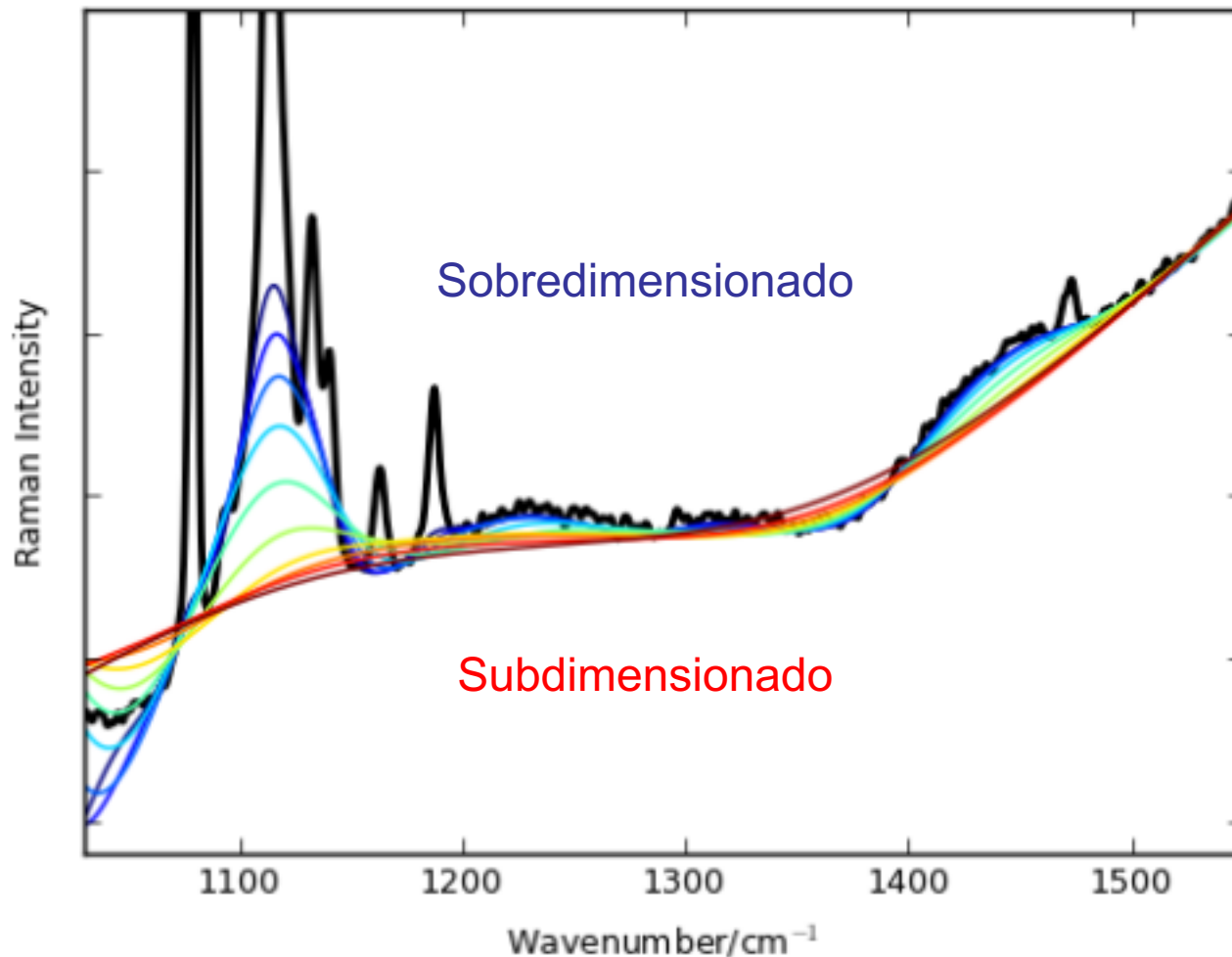


Procesamiento de datos

Procesamiento de datos

Corrección de línea de base:

Línea de base polinomial

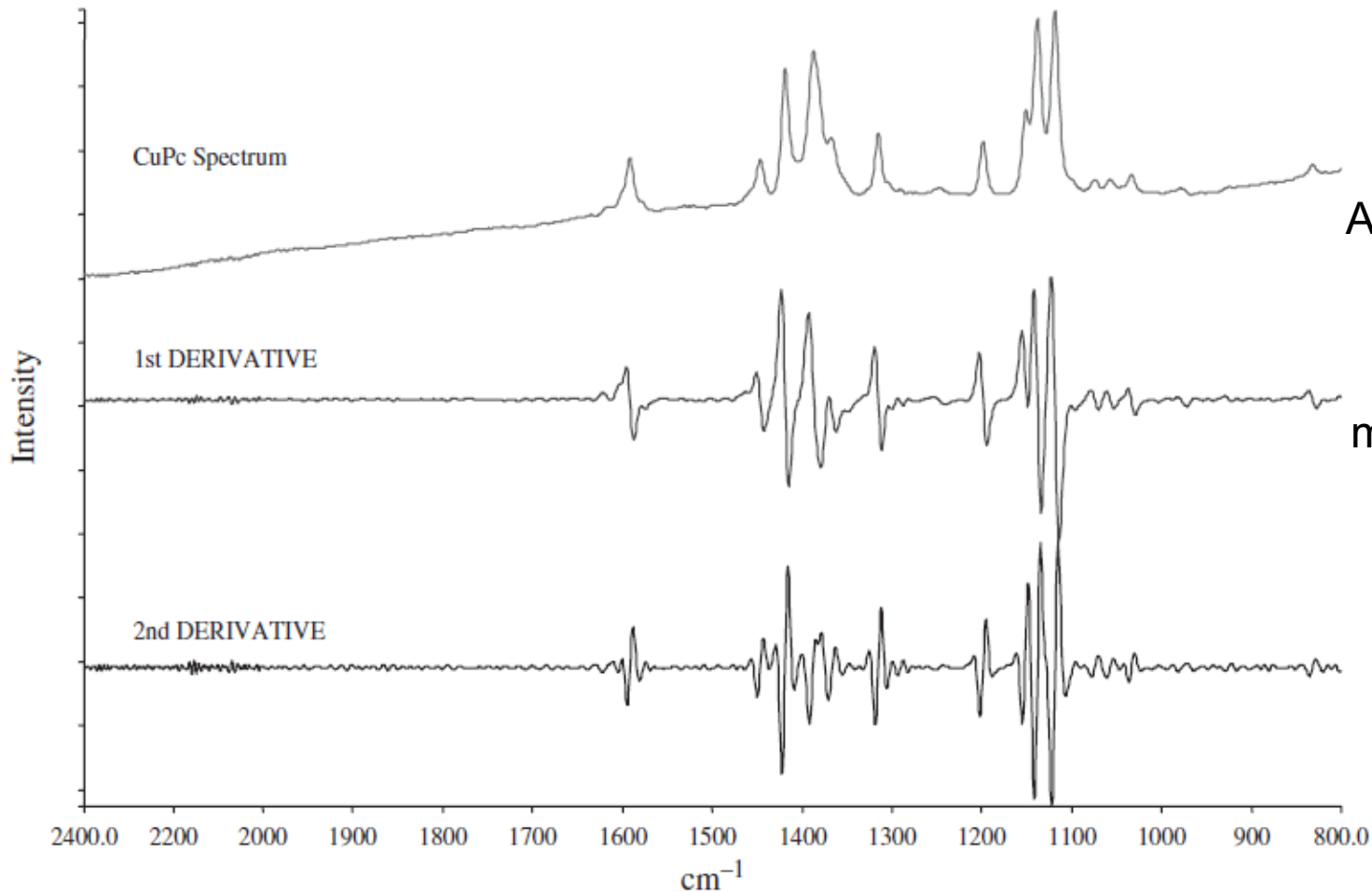


El método polinomial automático puede ser sustituido por elección manual de puntos de línea de base

Procesamiento de datos

Corrección de línea de base:

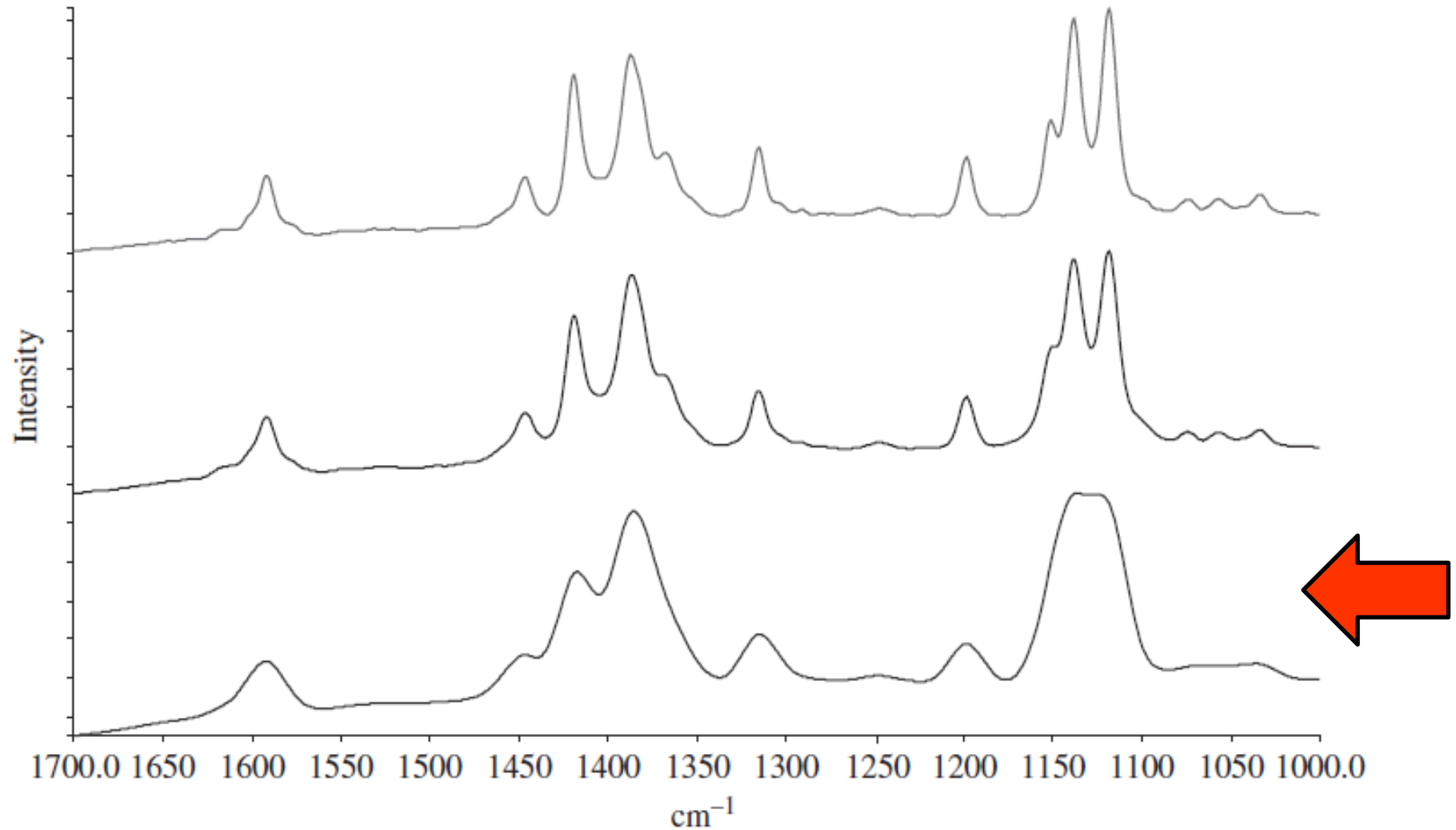
Línea de base lineal



A diferencia de un simple ajuste lineal de la línea de base, el método derivativo es útil para estudios cuantitativos

Procesamiento de datos

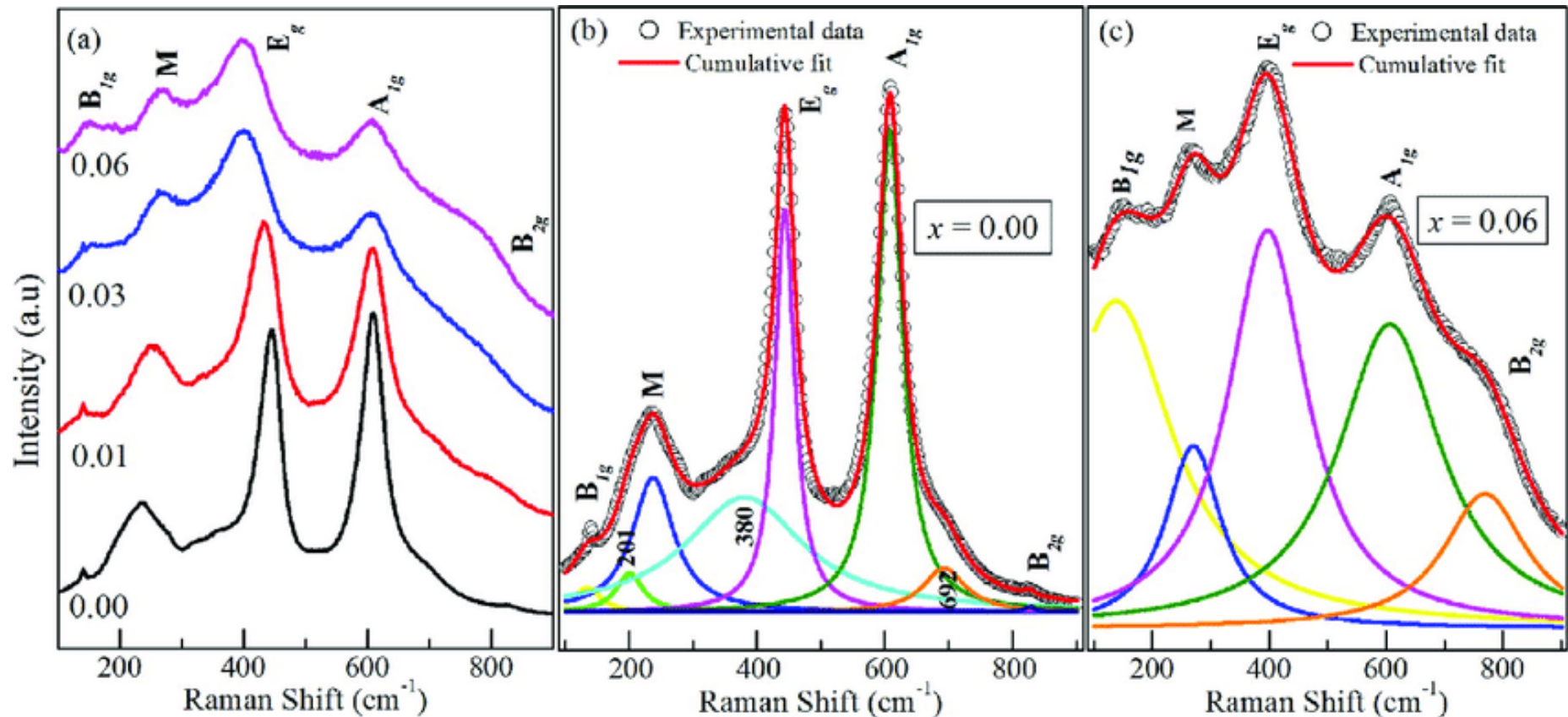
Suavizado de espectros:



Procesamiento de datos

Deconvolución de picos:

Los picos Raman se ajustan con picos de forma lorentziana



Procesamiento de datos

Aspectos cuantitativos:

Hardware

Estabilidad de láser y detector

Exactas condiciones de medida para calibración y medidas

Preferible en muestras gaseosas o soluciones líquidas

Software

Uso de correcta línea de base.

Evitar uso de funciones de suavizado.

Uso correcto de deconvolución de picos.

Uso de área debajo de pico o altura de pico.

Procesamiento de datos

Aspectos cualitativos:

Muestra

Es un sólido o una solución?

Como se preparó la muestra? Qué reactivos se usaron?

Qué posibles productos secundarios pueden estar presentes?

Qué solventes pueden haber remanentes?

Como es el espectro de absorción en el visible de la muestra?

Espectros

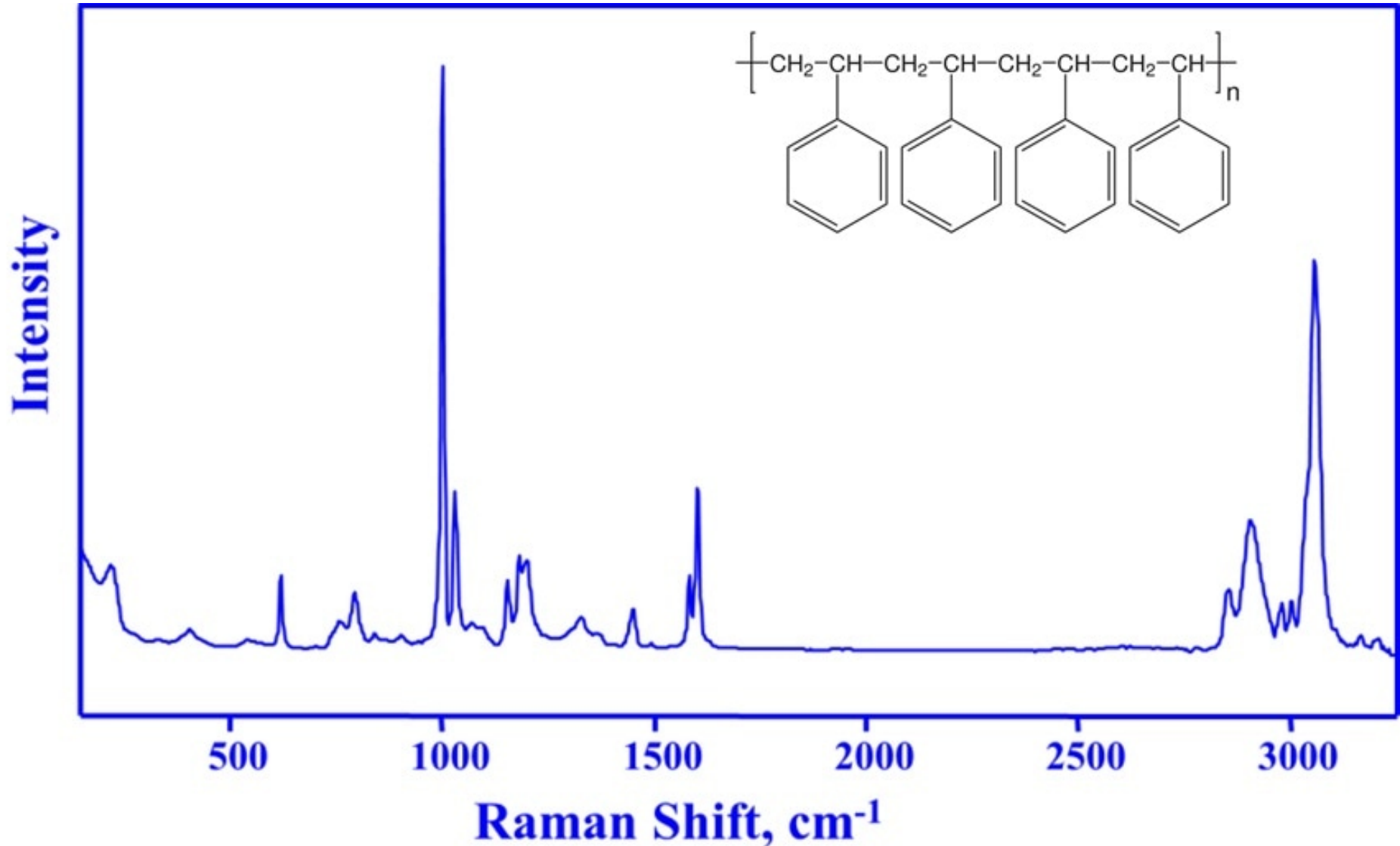
Los picos son anchos o finos?

El espectro tiene línea de base?

Ejemplos

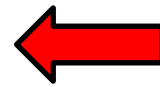
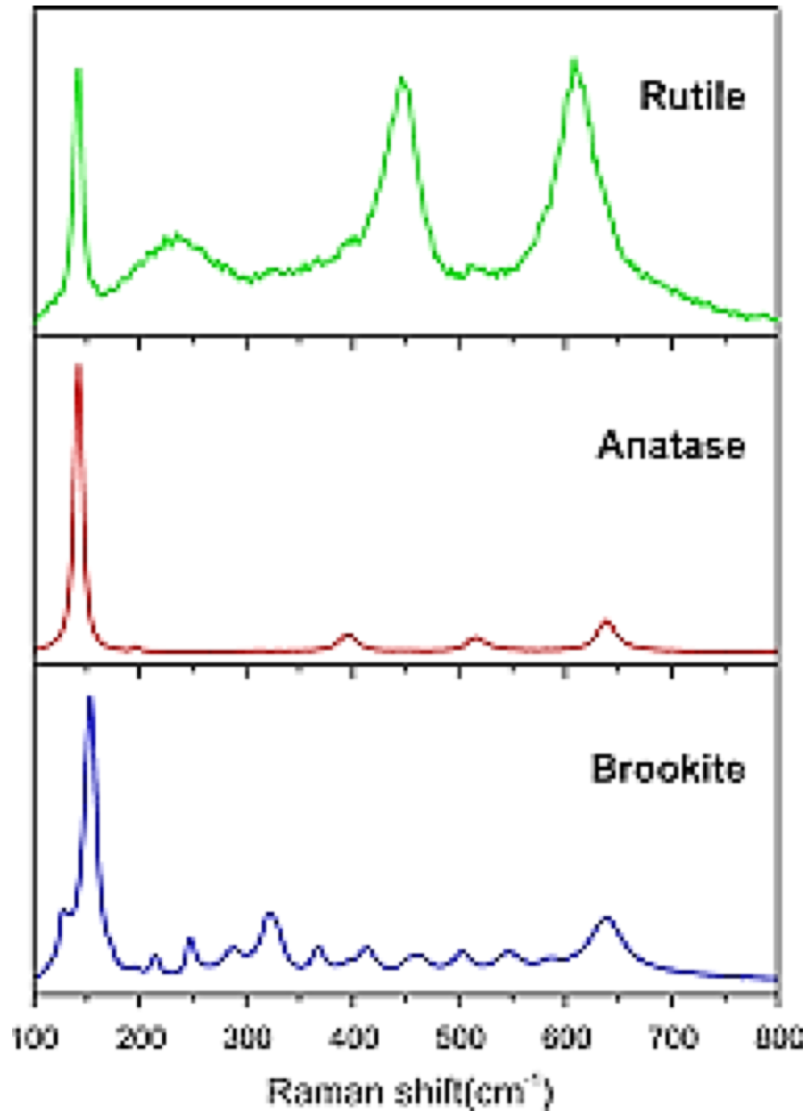
Ejemplos:

Ej: Poliestireno



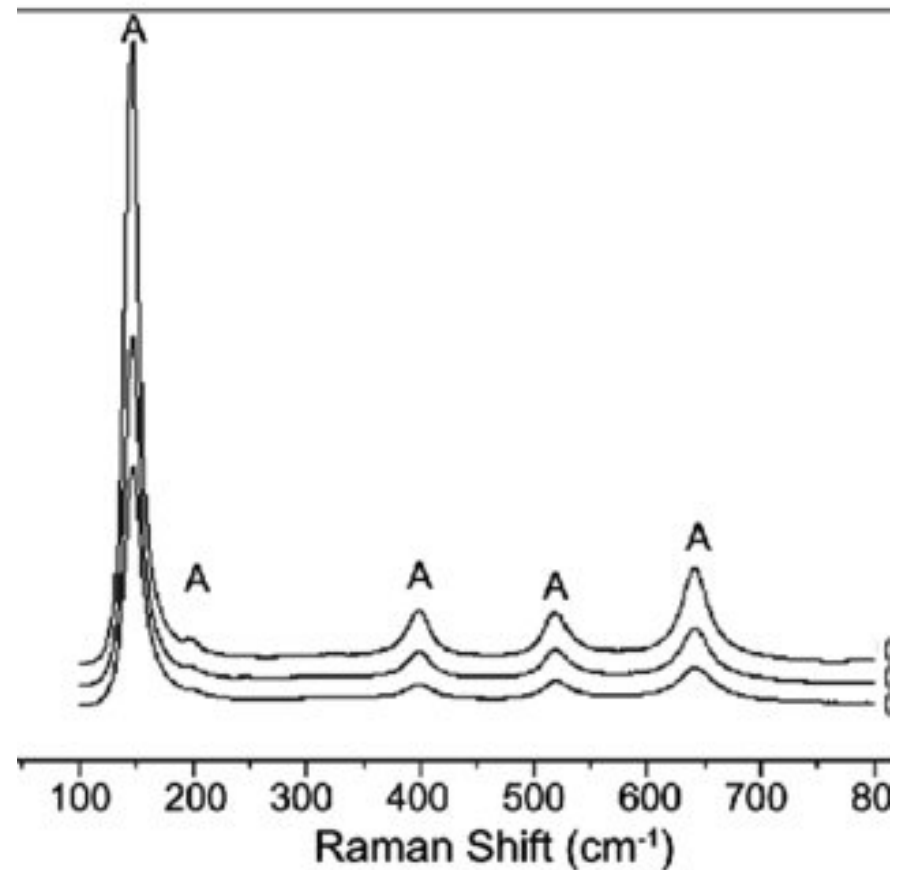
Ejemplos:

Ej: Óxido de titanio



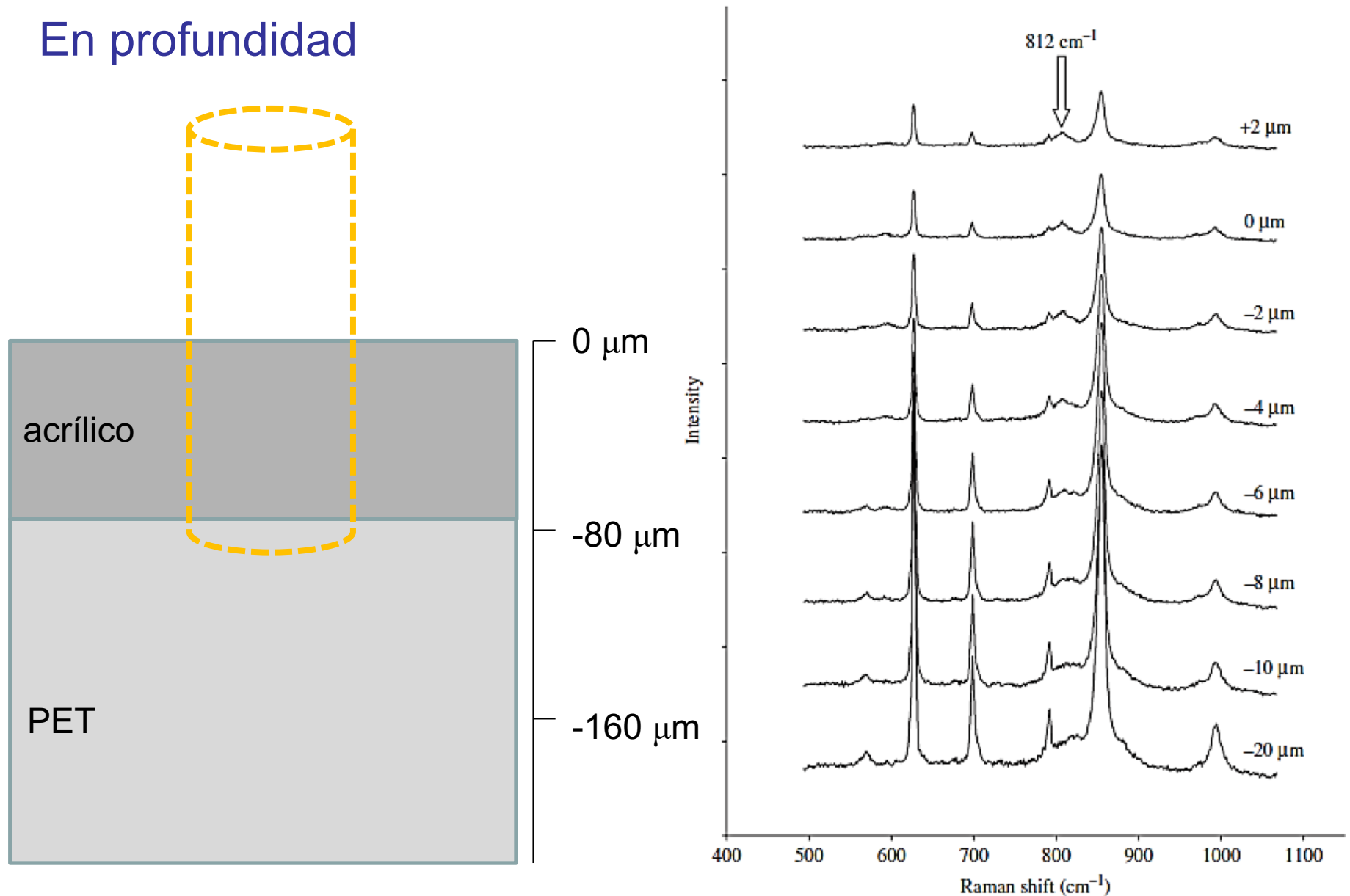
Polimorfismo

Efecto del tamaño de cristalita



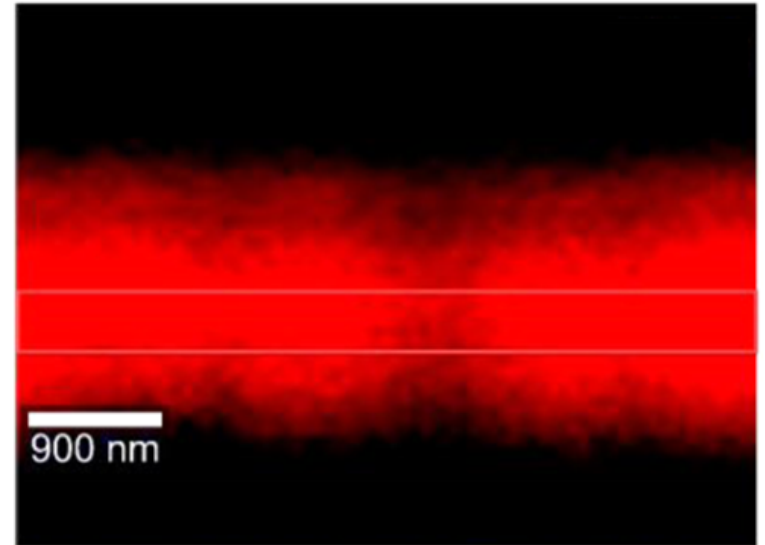
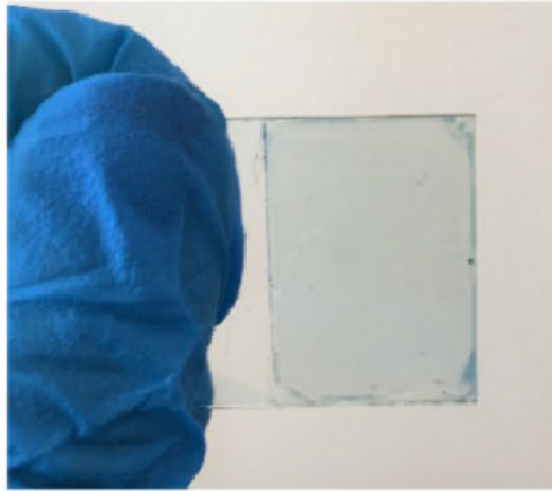
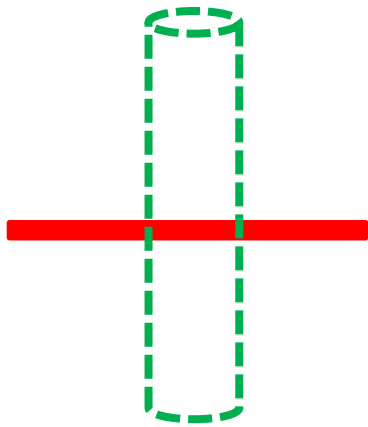
Ejemplos: Microscopía Raman confocal

En profundidad

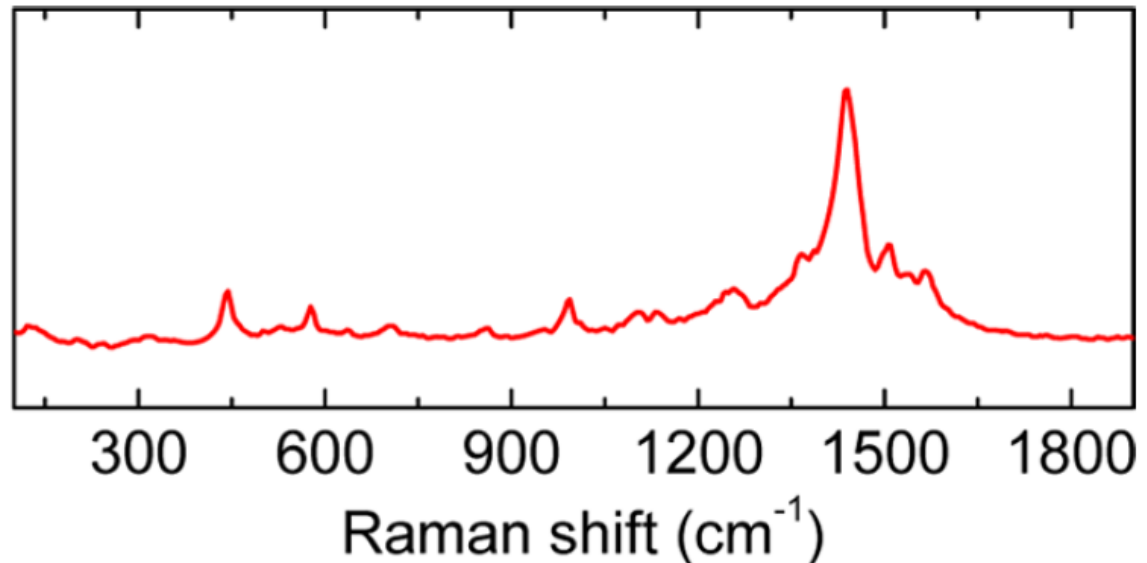


Ejemplos: Microscopía Raman confocal

En profundidad

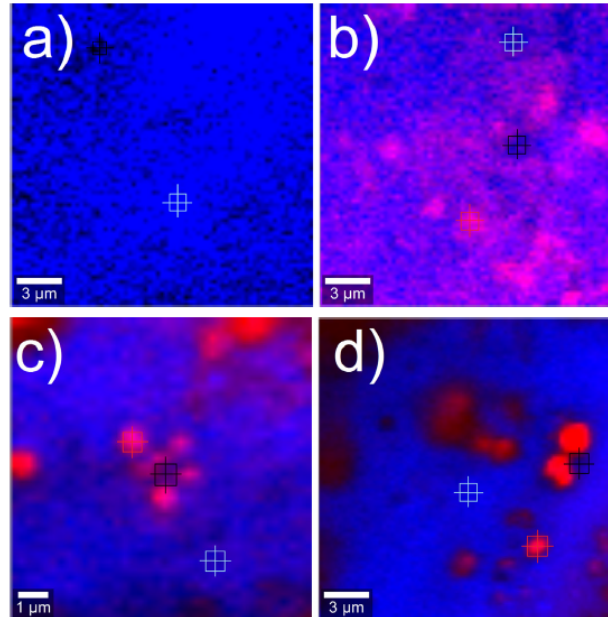
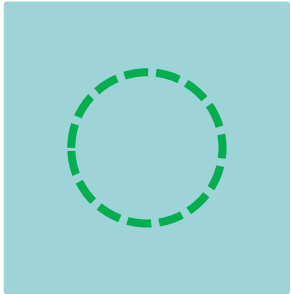


Ej:
Imagen Raman confocal
en profundidad (Z) de
film fino de polímero
PEDOT:PSS sobre
sustrato de vidrio



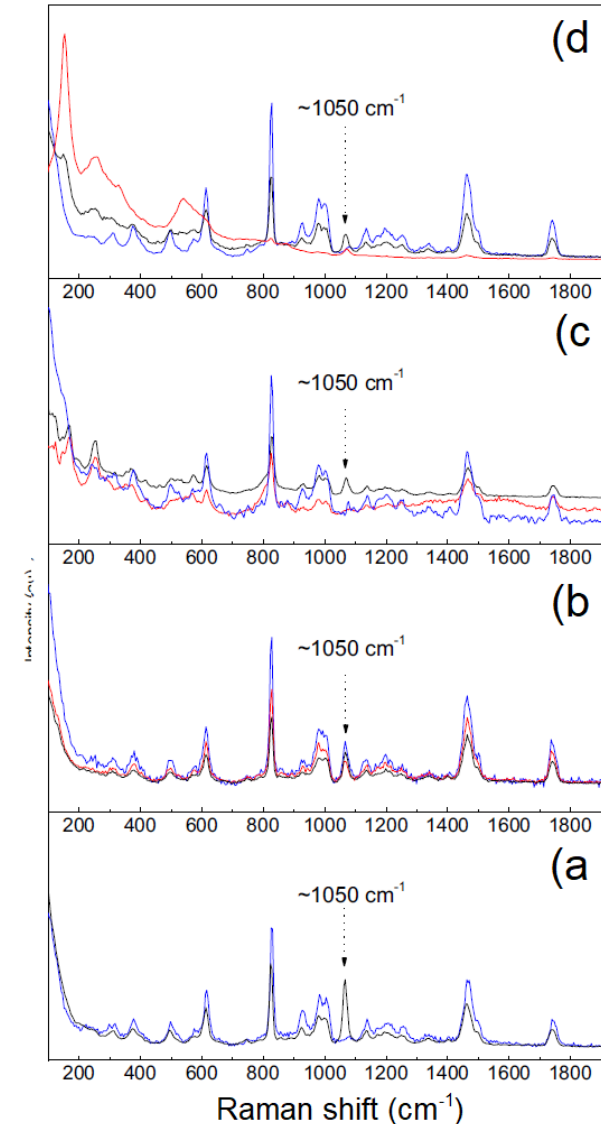
Ejemplos: Microscopía Raman confocal

En superficie



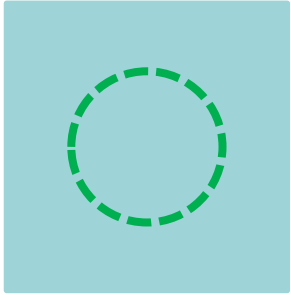
Ej:

Imagen Raman confocal
en superficie (X-Y) de polímero (PMMA) con
partículas de óxido inorgánico (LLTO) y
nitrato de litio (LiNO_3).



Ejemplos: Microscopía Raman confocal

En superficie



Ej:
Imagen Raman confocal
en superficie (X-Y) de
polímero (PANI) con
grafeno oxidado (GO).

