

TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN TP HCM  
KHOA VẬT LÝ  
Bộ Môn Vật Lý Nguyên Tử

[www.mientayvn.com](http://www.mientayvn.com)

BÀI BÁO CÁO

# FT-RAMAN VÀ MICRO RAMAN

HVTH: Lê Thị Lệ

Tp.HCM  
Tháng 3/2010

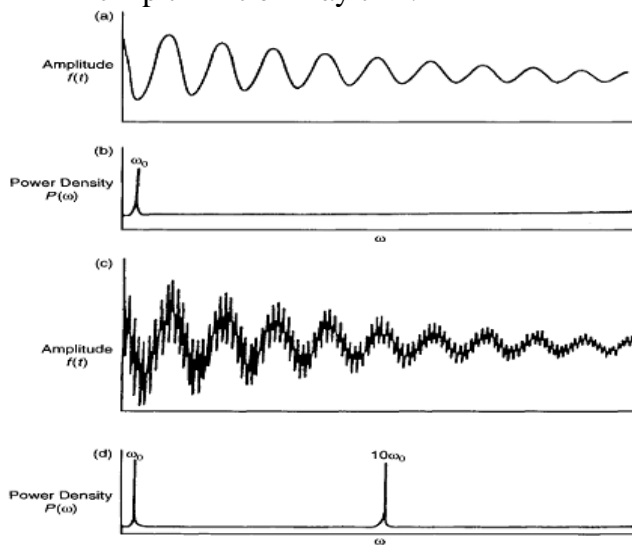
### 3.7. Quang phổ FT-Raman (Fourier Transform)

#### Lý do ra đời kỹ thuật FT-Raman:

- Tránh hiện tượng nhiễu quang và suy giảm phổ mặt do sự kích thích trong vùng cận hồng ngoại.
- Độ chính xác tần số tốt ( $\Rightarrow$  độ phân giải).
- Độ phân giải tốt hơn (do có giao thoa kế Michelson, laser Nd:YAG với bandwidth cực nhỏ  $< 1\text{cm}^{-1}$ ).
- Laser cận IR (Nd:YAG,  $\lambda = 1064\text{nm}$ ) cực làm lạnh bằng không khí, bền.
- Bộ lọc Rayleigh hiệu quả, detector nhạy.

#### 3.7.1. Nguyên tắc

- Trong phổ quang phổ Raman truyền thống, cường độ cực yếu theo tần số hay bước sóng. Trong quang phổ FT-Raman cường độ ngược lại thì ngược lại.
- Quang phổ FT-Raman có thể xem như là quang phổ theo thời gian.
- Phép này sau đó chuyển đổi thành phổ truyền thống nhờ phép biến đổi Fourier đã thực hiện trên máy tính.



Hình 1: a) Dạng sóng nhiễu loạn bằng kỹ thuật FT-Raman

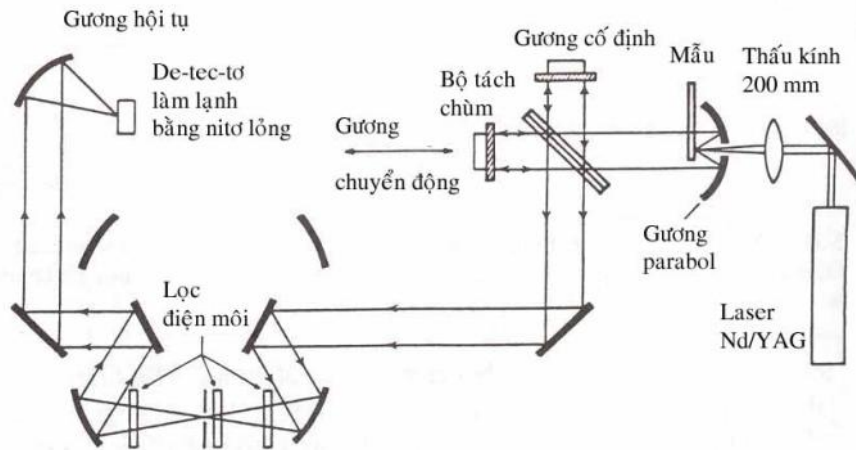
b) Phổ biến đổi biến đổi Fourier

c) Tổng của hai dạng sóng của hai tần số khác nhau bằng RT-Raman

d) Phổ biến đổi biến đổi Fourier

#### 3.7.2. Thông số

- Laser liên tục Nd:YAG : bước sóng 1064nm, công suất lên 1-5 W.
- Hệ thống giao thoa kế Michelson : thay cho lăng kính, cách tối ưu.
- Detector (Detector) : DTGS (Deuterated Triglycine Sulfate), MCT (Mercury Cadmium Telluride), PdS, Ge, InGaAs,... (tốt nhất là làm lạnh)
- Bộ phận lọc quang học : nhiệm vụ trước tiên của nó là lọc các ánh sáng nhiễu trong ánh sáng laser kích thích vì ánh sáng nhiễu này có thể làm bão hòa detector và các bộ phận tiếp theo. nhiệm vụ thứ hai là làm giảm nhiễu Rayleigh, vì cường độ của nó gần 3 mnh h n  $10^6$  lần cường độ chuyển Stokes trong phổ Raman.



Hình 2: Sơ đồ quang học của thí nghiệm Raman in hình

Bức xạ laser kích thích tập trung vào mẫu vào thấu kính. Ánh sáng tán xạ thu nhận bằng gương parabol và sau đó đi vào bộ phân giao thoa kiểu Michelson. Kế đó, ánh sáng này sẽ đi qua một chuỗi bộ lọc môi trường (lọc vạch Rayleigh) và chiếu vào detector (loại Ge) được làm lạnh bằng nitơ lỏng.

### Ưu và khuyết điểm của hệ thống FT-Raman

#### Ưu điểm:

- Giảm hoặc loại bỏ nhiễu quang.
- Với kỹ thuật FT-Raman có thể quan sát được cùng một lúc toàn bộ phổ.
- Độ phân giải cao. Khả năng truyền thống. Thời gian lấy phổ, tỷ số S/N (Signal/Noise) cao.
- Khả năng đo nồng độ thấp.
- Khả năng linh hoạt trong thực nghiệm.
- Các vạch Stokes và anti-Stokes thu nhận được thì có thể xác định nhiệt độ.
- Sự đồng bộ IR và Raman trong cùng một thí nghiệm.

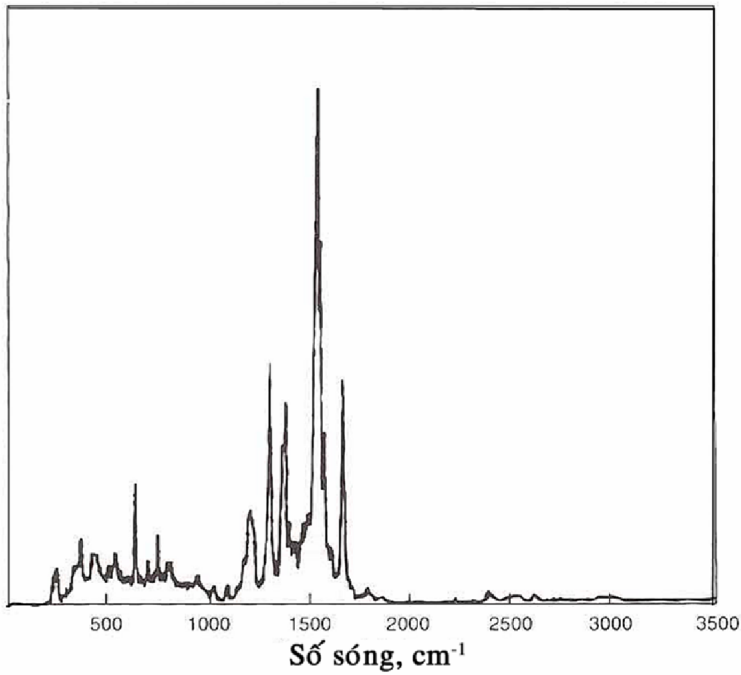
#### Hạn chế:

- Sản phẩm thu trong vùng NIR.
- Độ nhạy thấp. Không thể phát hiện được các tạp chất hàm lượng ppm bằng phép truyền phổ.
- Cường độ thu yếu vào v4 :  
 $I \sim v^4$  do đó  $I(514\text{nm})/I(1064\text{nm}) \sim 18$
- Rất khó đo môi trường lạnh hơn 1500C vì mẫu sẽ bị biến dạng do nhiệt.

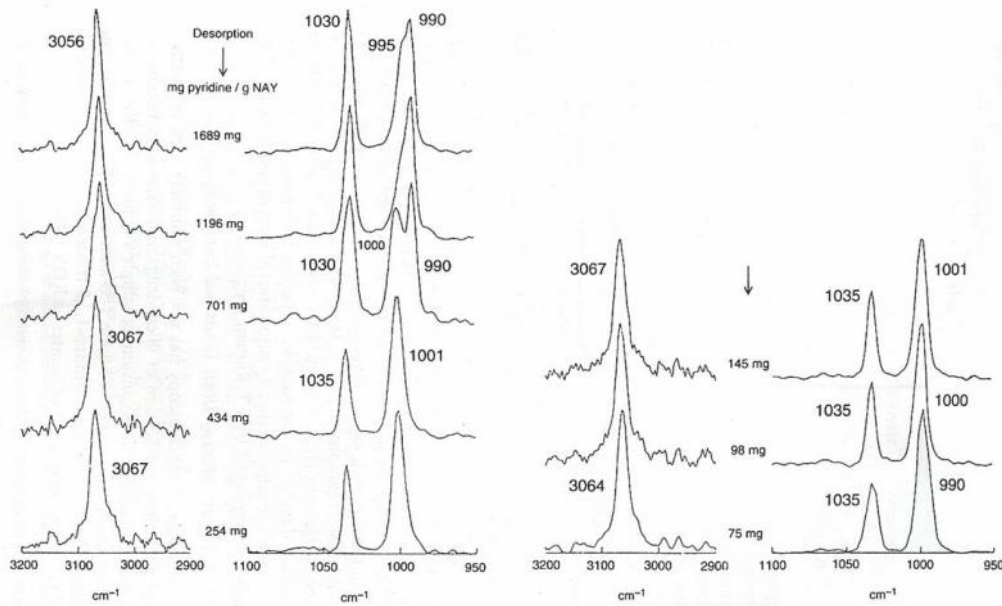
### 3.7.3. Ứng dụng

#### a) Phân tích rhodamine (thuốc nhuộm, phát huỳnh quang mạnh)

Sự phân li do nhiệt và huỳnh quang là vấn đề khó khăn nhất khi nghiên cứu các loại thuốc nhuộm bằng phép Raman loại bình thường. Phép FT-Raman không còn bị nhiễu của huỳnh quang.

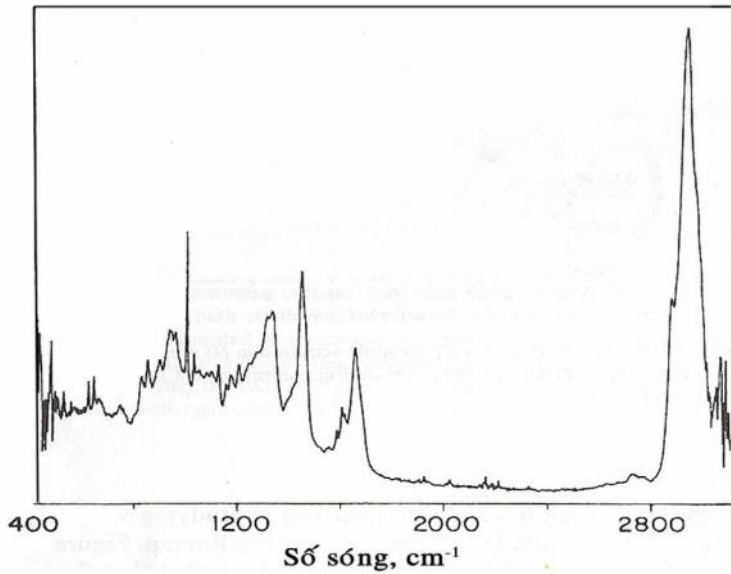


Hình 3: Ph FT-Raman của Rhomandine  
b) Các chế độ hấp thụ



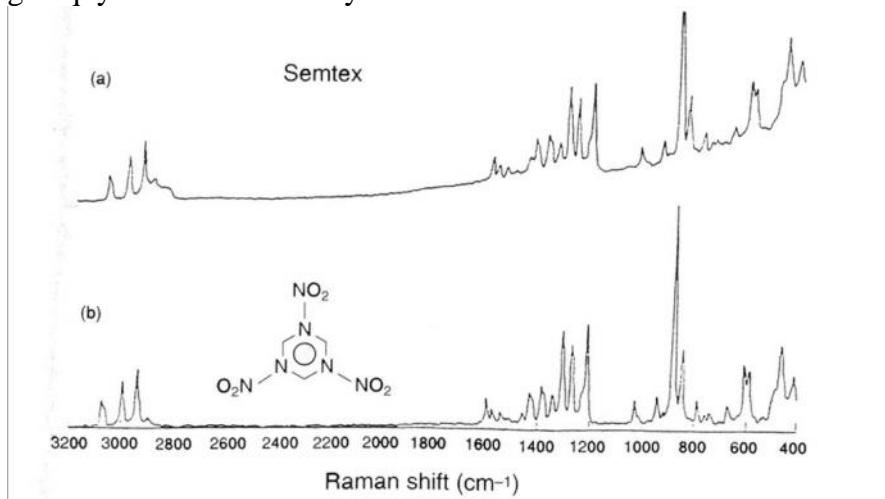
Hình 4: Ph FT-Raman của pyridine trong khoáng chế độ xúc tác zeolit sau khi hấp thụ  
lắng đọng, sau đó pyridine được tách ra dần  
c) Các phân tử sinh học

Không thể ghi phổ bằng phương pháp quang phổ Raman thông thường vì các mẫu vật sinh học, chủ yếu do các mẫu này phát huỳnh quang rất mạnh, cường độ nền phân mảnh và có phản xạ cao khi kích thích bằng bức xạ laser vùng khả kiến. Công suất laser cỡ vài 200mW tránh làm hỏng mẫu do nhiệt



Hình 5: Phổ FT-Raman (200mW, 500 scan) của Albumin huyết thanh bò đực  
 d) Phân tích phổ các thuốc nổ và chất nổ

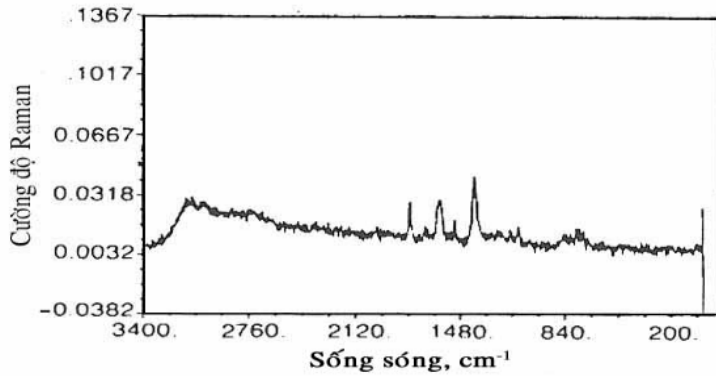
Quang phổ Raman tán xạ thông thường không có sẵn ngay trong các phòng thí nghiệm phân tích các thuốc nổ và chất nổ do công suất của chúng cao. Phổ quang phổ FT-Raman giải quyết được vấn đề này



Hình 6: Phổ FT-Raman của (a) Semtex; (b) 1,3,5-trinitro-1,3,5-triazene (RDX)

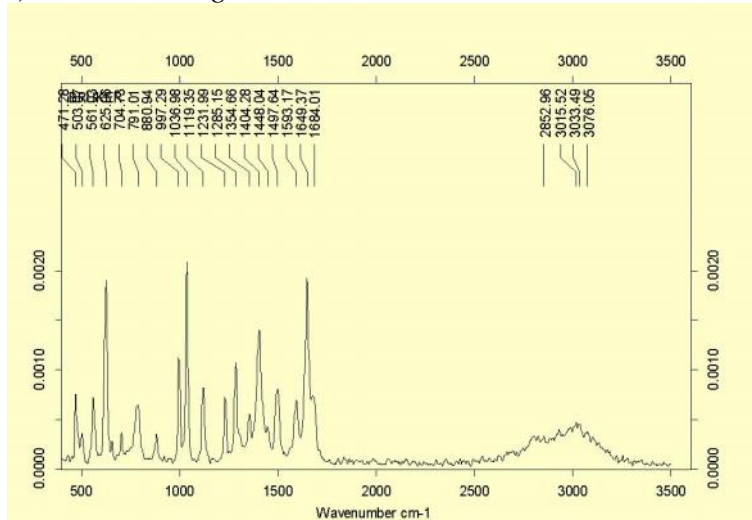
e) Các mẫu polymer

Huỳnh quang là một vấn đề nghiêm trọng vì các nghiên cứu các polymer. Phổ quang phổ FT-Raman sẽ khắc phục được tình trạng này



Hình 7: Ph FT-Raman của Polyimide (1', 1W, 100 scan)

f) Axit uric trong s i ni u



Hình 8: Ph FT-Raman của axit uric

### 3.8 Kỹ thuật quang phổ micro-Raman

Trong những năm gần đây, việc lắp đặt kính hiển vi quang học, detector CCD (charge-coupled device), buồng tiêu, hệ thống si quang học,... đã làm tăng đáng kể khả năng phân tích cấu trúc quang phổ Raman.

Kỹ thuật không phá hủy này có thể ứng dụng cho việc phân tích các mẫu vật có trạng thái nào: khí, lỏng, dung dịch, rắn.

Điển hình, micro-Raman và micro-IR có hai ưu điểm là quang phổ dao động, nhưng về mặt kỹ thuật, micro-Raman có một vài tính chất riêng, như sau:

- Có khả năng nghiên cứu vùng tần số thấp ( $< 400 \text{ cm}^{-1}$ ). Hầu hết các vật liệu rắn có tần số dao động cơ bản trong vùng này;

- Phân giải không gian giải phẫu của micro-Raman vào cỡ  $1 \mu\text{m} \times 1 \mu\text{m}$ , trong khi của micro-IR vào cỡ  $20 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$ .

- Kỹ thuật Raman dễ dàng sử dụng cho các dung dịch hoặc các môi trường sinh học, trong khi đó trong phổ hồng ngoại, việc sử dụng phụ thuộc nhiều và rõ ràng như phần trên.

- Các phép Raman nói chung hợp phần các phép thu IR và phổ Raman phân giải tốt hơn.

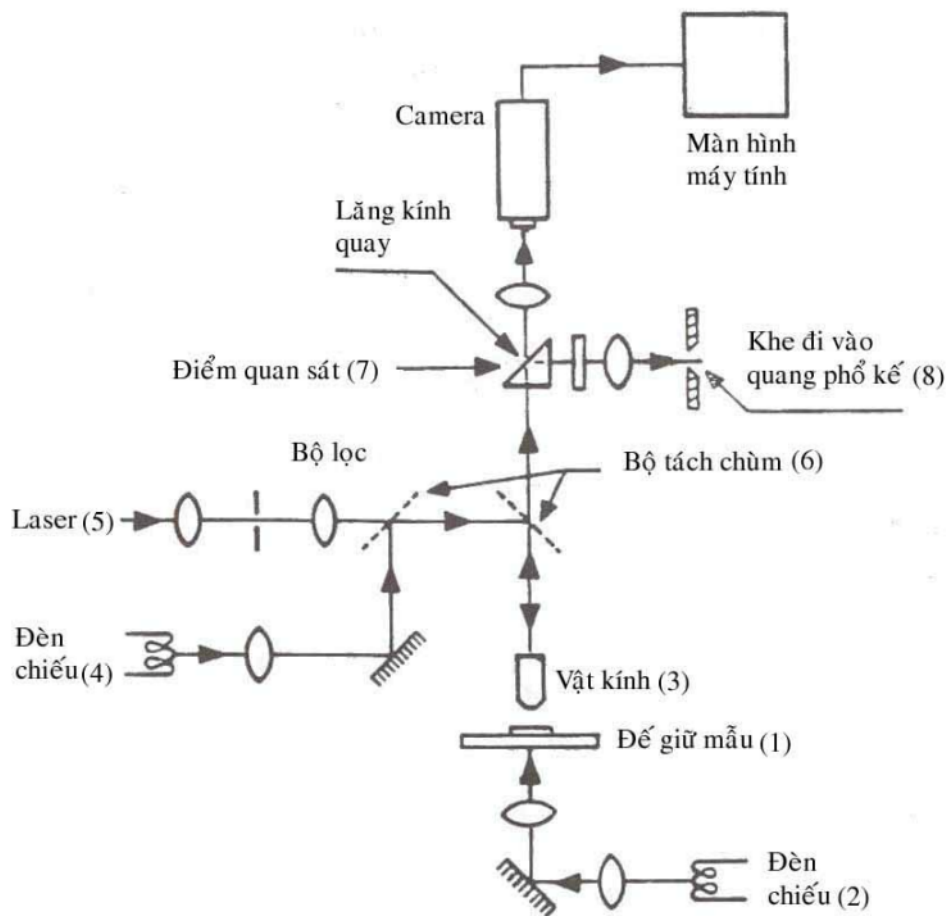
#### 3.8.1 Nguyên tắc của kỹ thuật quang phổ micro-Raman

Một quang phổ kế micro-Raman có thể thành công bằng cách lắp đặt kính hiển vi quang học với một quang phổ kế Raman. Khuếch đại ánh sáng không cần lớn hơn 100 lần khi phân giải cỡ  $1\mu\text{m}$ , và khi dùng ánh sáng laser kích thích nằm trong vùng  $0.3 - 0.7\mu\text{m}$  ( $300 - 700\text{nm}$ ).

Tuy nhiên, một số phần tử nào có kích thước cỡ  $1\mu\text{m}$  trong mẫu có thể kích thích bằng kính hiển vi quang học và do đó có thể ghi được phổ của nó mà không bị nhiễu bởi môi trường xung quanh và gây nhiễu phổ của mẫu thu nhận khi có kích thước lớn trong phổ Raman truyền thống.

Hình 20 minh họa quang học của thiết bị micro-Raman Spex Micramate.

Trong trường hợp này, người ta thường sử dụng detector là ống nhân quang học làm lạnh và hệ thống bơm-phốt-pho có công suất cao và tín hiệu thấp.



Hình 9 S quang học của quang phổ kế micro-Raman Spex Micramate

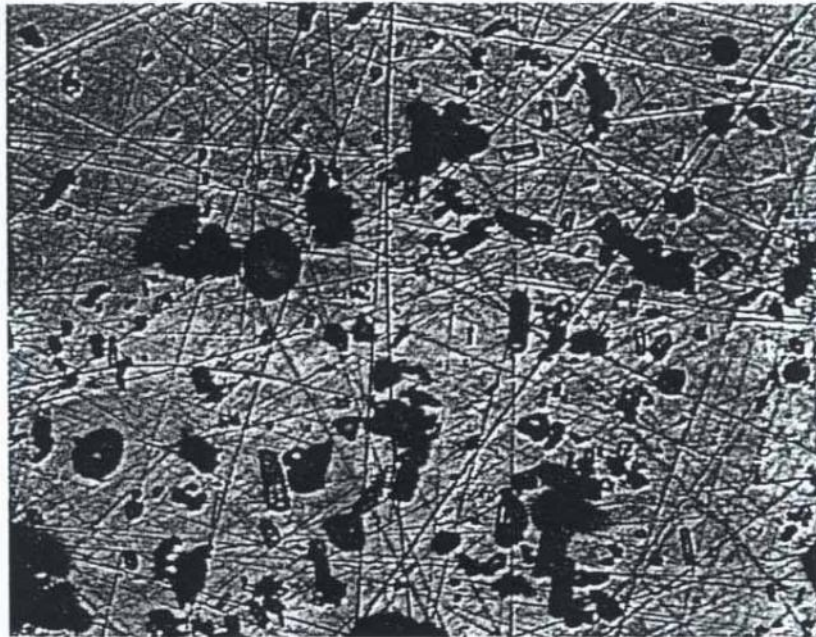
### 3.8.2 Kỹ thuật ghi

#### 3.8.2.1 Kỹ thuật đo

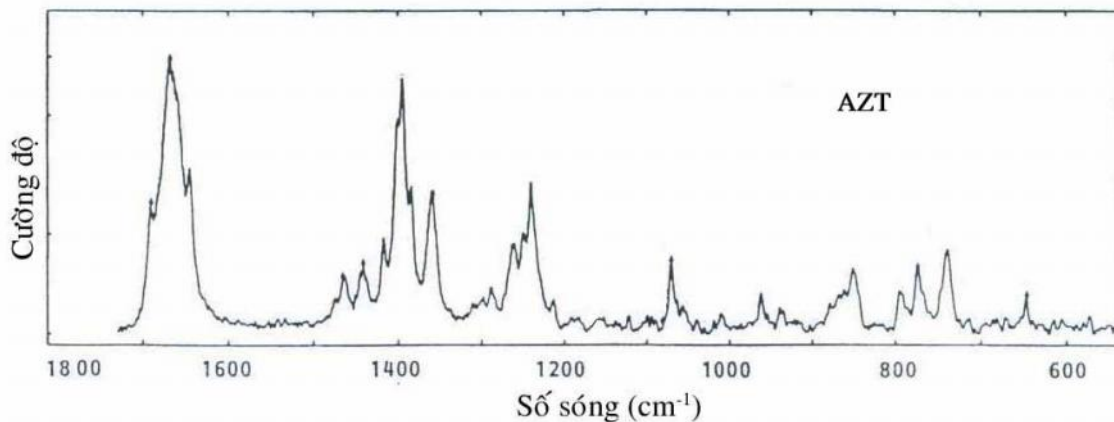
Các loại thu thập, ghi nhận các vật liệu không thu nhận được, là sự tồn tại của hạt nhỏ. Để kính hiển vi các thành phần của thu thập xuất hiện với những hình dạng khác nhau, rất khó phân biệt với nhau. Kỹ thuật micro-Raman có thể ghi các phổ dao động của mẫu và phân tích chúng, nhưng vì kích thước của hạt nhỏ là  $1\mu\text{m}$ . Hình 21 và hình 22 là ảnh quang học và phổ micro-Raman của mẫu AZT.

#### 3.8.2.2 Kỹ thuật sinh học

**T bào gan b viêm.** Có thể ứng dụng kỹ thuật micro-Raman để khảo sát các tế bào gan b viêm. Nói chung, các lát cắt sinh học có cấu trúc thì tế bào vi phạm không bị phát huỳnh quang vì laser kích thích. Vì các ghi phổ Raman của các vùng khác nhau trên lát cắt là khá đồng dạng, xác nhận sự thay đổi vị trí bào thể và cấu trúc tích tụ do sự quá tải u thu c (hình 23).



**Hình 10** Ảnh quang học của thu c AZT



**Hình 11** Phổ micro-Raman của thu c AZT

**Các tế bào ung thư.** Trong nghiên cứu này, người ta đã tìm thấy các hạt xanh dương (blue) trong khi u và các cơ quan, biểu hiện ung thư như phổi, bàng quang, buồng trứng. Phổ micro-Raman cũng ghi nhận các hạt xanh cũng giống nhau, có liên quan đến cấu trúc (hình 23). Một loạt các hạt khác có màu xanh lục (green) cũng đã tìm thấy. Phổ Raman của chúng khác với phổ Raman của các hạt xanh dương nói trên nhưng cũng giống nhau về vị trí các vạch phổ của các loại ung thư.

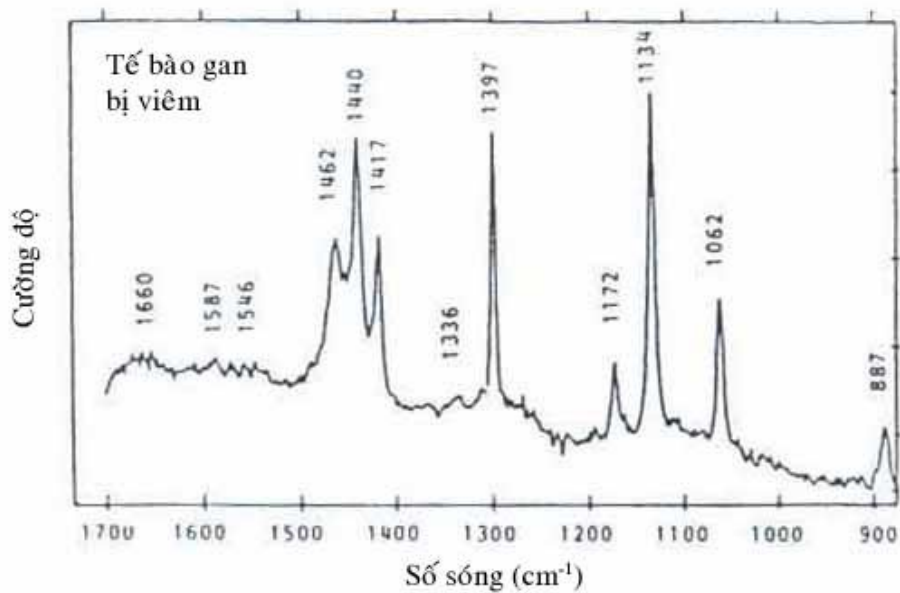
Bằng cách sử dụng phương pháp huỳnh quang tia X, có thể dễ dàng xác định nguyên kim loại trong các hạt xanh dương và hạt xanh lục là gì. Loại nguyên tố trong các hạt này là nhôm, mangan, lantan trong các mẫu bào thể. Xác định phân hủy của các hạt xanh người ta đã nghiên cứu các phương pháp sử dụng máy nhiễu xạ và các nucleotide, axit amin, phenolat, vv. Dù cho các



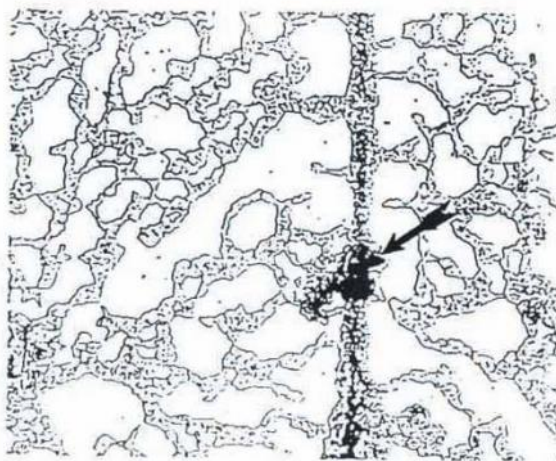
xác định thật rõ ràng, nhưng vì các phân tích phổ đã chỉ ra rằng trong phổ của xanh dứa có hiện diện của các nucleotide và axit amin chủ yếu là uracil. Từ đó, người ta có thể suy ra rằng các liên kết nucleotide có thể là thành phần cấu trúc của DNA và các amino acid cysteine ( $C_3H_7O_2NS$ ) trong các protein.

Trong thực tế các nucleotide liên kết với kim loại là do sự phá vỡ cấu trúc bình thường của cấu trúc xoắn. Người ta suy luận rằng một chất gây biến dạng như sau: khi hàm lượng kim loại cao trong vùng lân cận các nucleotide của các cấu trúc xoắn bình thường, thì các phổ của xanh dứa có khả năng hình thành bị sai lệch một vài nucleotide thành cấu trúc bình thường, dẫn đến sự mất mát, sai lệch các mã chứa thông tin và do đó dẫn đến sự phát triển rối loạn, không bình thường. Chất gây biến dạng này có thể giúp các nhà nghiên cứu tìm kiếm cách chữa trị cho loại thu hoạch "giảm" mà khi thu hoạch này vào nó có thể tách thành phần kim loại ra khỏi phổ của xanh dứa và phục hồi cấu trúc bình thường cho các tế bào.

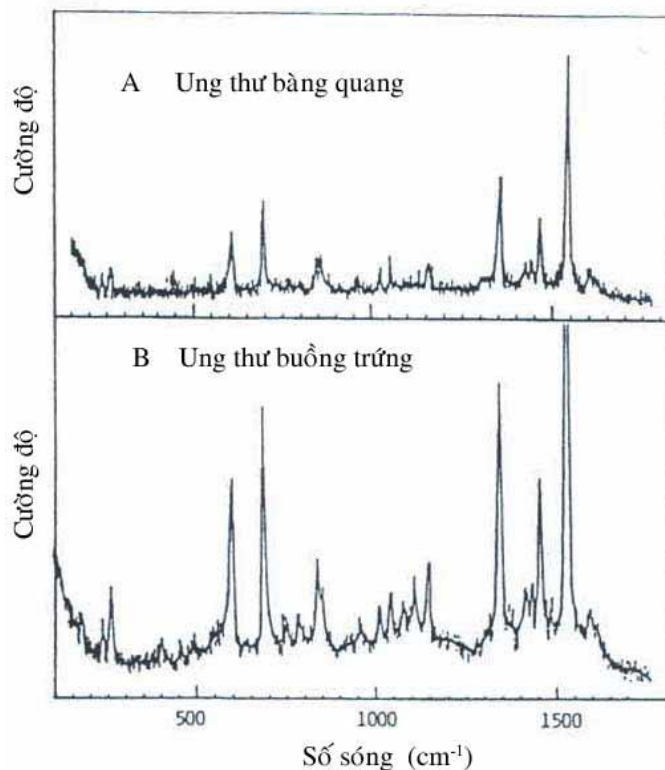
Chất này cũng có thể giúp ta giải thích sự phân bố tính chất của các amino acid thu hoạch như sau: thu hoạch phá hủy các phổ của xanh dứa trong tế bào ung thư nhưng không làm mất đi tính chất của tế bào khỏe, tức là các tế bào không chứa kim loại.



**Hình 12** Phổ micro-Raman của tế bào gan bị viêm



**Hình 13** Hết xanh trong dịch ung thư phổi

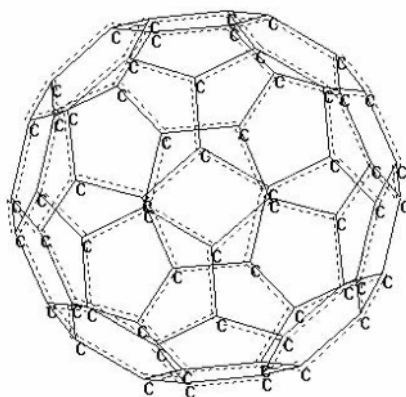


**Hình 14** Phổ micro-Raman của các hạt xanh trong các tế bào ung thư

### 3.8.2.3 Khảo sát vật liệu

Kỹ thuật micro-Raman có khả năng phân tích cấu trúc, xác định sự hình thành tính chất của các biomaterial và các lớp phủ; phát hiện sự sai hỏng, tính không đồng nhất, gradient của vật liệu khi; xác định tính chất, thành phần của các vật liệu,...Sau đây là một số ví dụ điển hình.

#### a) Khảo sát Fullerene C<sub>60</sub>



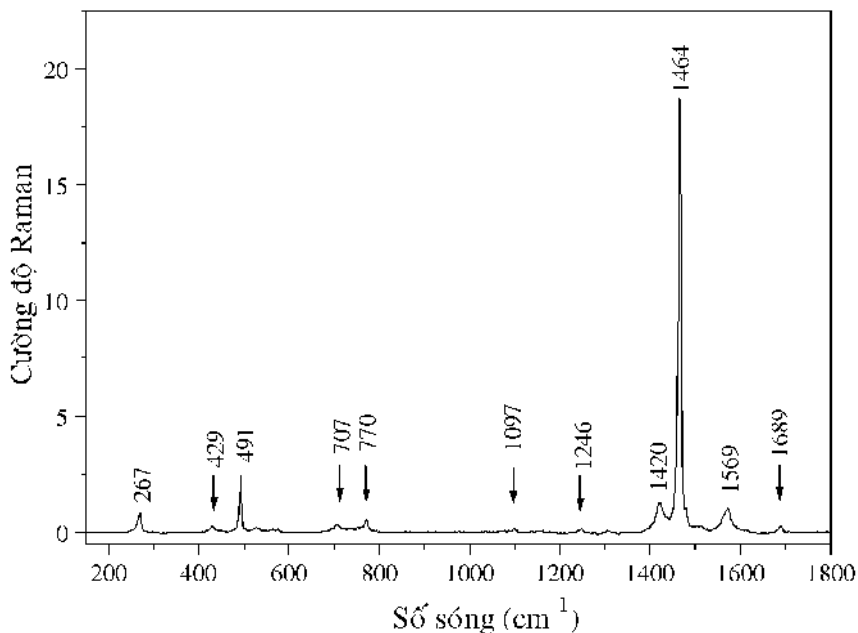
Hình 15 Fullerene C<sub>60</sub>

Phân tử fullerene C<sub>60</sub> (sau đây gọi tắt là C<sub>60</sub>) có tính đối xứng cao, thuộc nhóm đối xứng cubit I<sub>h</sub> (hình 26). Tính toán bằng lý thuyết nhóm đối xứng của C<sub>60</sub> cho kết quả là 174 mode dao động chu kỳ của nó như sau:

$$\Gamma_{\text{vib}}(I_h) = 2A_g + 3F_{1g} + 4F_{2g} + 6G_g + 8H_g + A_u + 4F_{1u} + 5F_{2u} + 6G_u + 7H_u.$$

Kết hợp biểu đồ trên với bảng kê của nhóm  $I_h$ , có thể thấy rằng chỉ có 42 mode là hoạt động Raman ( $2A_g, 8H_g$ ) và 12 mode là hoạt động IR ( $4F_{u1}$ ). Như vậy, có thể dự đoán trong phổ Raman của  $C_{60}$  phải xuất hiện 10 nhánh phổ bao gồm 2 nhánh không suy biến  $A_1$  và 8 nhánh suy biến bậc n m  $H_g$ .

Phổ Raman của Fullerene  $C_{60}$  (hình 27) được ghi bằng quang phổ kế micro-Raman Dilor LABRAM. Để tránh cho mẫu bị phá hủy, phổ Raman được ghi công suất laser rất thấp ( $9 \mu W$ ), thời gian đo vài phút (90 s), tích tụ 1 n (90 l n).

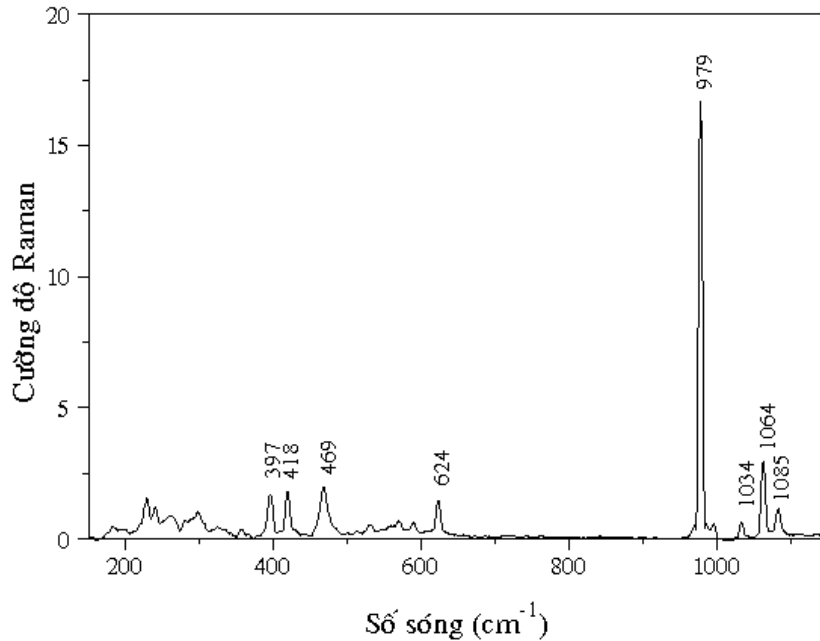


**Hình 16** Phổ micro-Raman của  $C_{60}$  trong vùng  $250-1600 \text{ cm}^{-1}$

b) Khảo sát hấp thụ phát quang Gadolinium Phosphate  $GdPO_4$

#### b.1 Ghi phổ micro-Raman

Các phổ micro-Raman được ghi trên DILOR LABRAM (Trung tâm Khoa học Vật lý, Hà Nội) với nguồn laser kích thích là He-Ne bước sóng 632,8 nm hoạt động 15 mW và detector CCD; và trên quang phổ kế micro-Raman OMARS 89 (thị trấn Bordeaux I, Pháp) với nguồn laser ion Argon Spectra-Physics 2061 bước sóng 514,5 nm và laser He-Ne bước sóng 632,8 nm hoạt động công suất 400 mW và detector CCD. Độ phân giải của hai máy là  $3 \text{ cm}^{-1}$ .



**Hình 17** Ph micro-Raman của  $GdPO_4$

### b.2 Ph Raman của $GdPO_4$

Hình 28 là ph micro-Raman của  $GdPO_4$  trong vùng  $150 - 1200 \text{ cm}^{-1}$ . Trong vùng  $350 - 1200 \text{ cm}^{-1}$  hiện diện 8 nhánh phổ có cường độ trung bình nhỏ. Các nhánh này có nguồn gốc từ ion  $PO_4^{3-}$  (thực nhóm oxit trong  $T_d$ ). Vùng trên  $1200 \text{ cm}^{-1}$  hầu như không có nhánh nào. Trong hình 2-36, ngoài nhánh  $\nu_1$  có oxit  $A_1$  số sóng  $979 \text{ cm}^{-1}$ , còn có sáu nhánh  $g$  m 397, 418, 469, 624, 1034 và  $1064 \text{ cm}^{-1}$  mà chúng kết hợp thành các tách đôi của ba nhánh: một nhánh suy biến của hai  $E$  và hai nhánh suy biến của ba  $F_2$  do sự giảm oxit  $T_d$  xuống  $D_{2d}$ . Nhánh  $1085 \text{ cm}^{-1}$  có thể là do hạt nhân hay sự kết hợp của dao động của các liên kết. Có thể khẳng định  $\nu_2 = 418 \text{ cm}^{-1}$  thuộc oxit  $A_1$  và  $\nu_3 = 397 \text{ cm}^{-1}$  thuộc oxit  $B_1$ , bởi vì, khi so sánh ph Raman của  $GdPO_4$  và ph IR của tác giả Agrawal cho thấy hai nhánh này chỉ xuất hiện trong ph Raman nhưng không xuất hiện trong ph IR. Điều này phù hợp với kết quả tính toán lý thuyết nhóm ch  $A_1$  và  $B_1$  ở vị trí trong h ng ngo i. Các nhánh trong vùng ph t n s th p  $200 - 350 \text{ cm}^{-1}$  liên quan đến liên kết Gd-O.

### 3.8.3 Ghi nhận của ph pháp quang ph micro-Raman

Bên cạnh những ưu thế như đã nêu trên, kỹ thuật quang ph micro-Raman còn có một số ghi nhận như các nhược điểm sau đây:

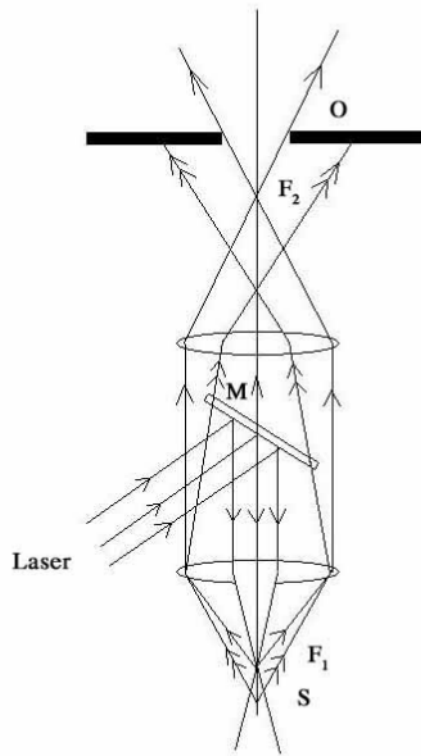
(1) Sự hiện diện của laser tia qua vật kính của kính hiển vi sẽ dẫn đến sự tập trung năng lượng laser trên một vùng rất nhỏ. Tránh sự phá hủy mẫu do cường độ nhiệt và hiện tượng quang hóa của phim đĩa quang laser có năng lượng thấp. Vì thế, cần phải tăng vị trí thu nhận tín hiệu và sự đặt vật kính có góc kh i r ng và kho ng làm vi c ng n.

(2) Khi chùm ánh sáng tới và ánh sáng tán xạ qua hệ quang học, các bức xạ đi qua vật kính của kính hiển vi, ph Raman hoặc ph hu nh quang cao v t li u ch t o v t kính s xu t hi n và ch ng ch p lên ph Raman của mẫu khảo sát, nhất là khi khảo sát các bề mặt có ph n x cao. Do nhiên, môi trường kính có ph Raman và ph hu nh quang riêng của nó.

### K thu t ng tiêu (confocal)

H th ng ng tiêu (confocal, hình 29) ch cho ph ch y u t i i m h i t , do ó có th lo i tr c ph c a v t kính hay c a nh ng b ph n khác. Ngo ài ra, c ng c n l u ý r ng k thu t ng tiêu c ng cho phép kh o sát ph Raman theo sâu. Trong ó O là c a tr p; F1, F2 là tiêu i m; M là g ng bán m ; S là m u.

Tóm l i, quang ph k micro-Raman v i phân gi i không gian c  $1\mu\text{m} \times 1\mu\text{m}$ , r t t i n l i cho vi c kh o sát nh ng m u v t không ng nh t hay nh ng m u v t có kích th c nh . Kh n ng phân tích c a nó r t r ng r ãi, có th ng d ng nhi u l nh v c. Nh ng thông tin thu c t phân t , th m chí đ i phân t s giúp suy ra c c ch ho t ng hay ph n ng c a m t s quá trình.



Hình 18. S nguyên t c m t h ng tiêu