



Time-resolved Raman spectroscopy (TRRS) 時間分辨拉曼光譜儀

使用 inVia™ 共聚焦拉曼顯微鏡檢測樣本螢光

時間分辨拉曼光譜 (TRRS) 是一種尖端技術，可有效克服螢光發射帶來的干擾問題。螢光發射的強度可能比拉曼散射光強幾個數量級。TRRS 利用拉曼散射更快的相互作用時間，將拉曼訊號與螢光背景區分開來。這項創新技術使您能夠從強螢光樣品中測量高品質的拉曼光譜。

時間分辨拉曼散射 (TRRS) 技術利用脈衝雷射和超快偵測器將拉曼散射光與螢光分離。您可以利用該技術分析傳統拉曼系統無法測量的樣品。本文檔介紹了我們使用 inVia 顯微鏡進行 TRRS 的創新方法，並列舉了一些您現有拉曼系統無法測量的極其複雜的樣品。

TRRS的工作原理是什麼？

- TRRS 採用脈衝雷射和同步偵測器。每次雷射脈衝後，偵測器都會記錄光子到達偵測器所需的時間。
- 透過引入色散元件（例如光柵），我們可以測量不同能量（或波數）的光子到達偵測器所需的時間。
- 經過多次雷射脈衝後，會產生到達時間與波數的直方圖。此直方圖包含與拉曼散射和螢光相關的光子。
- 拉曼散射是一個快速過程，通常發生在每次雷射脈衝後的皮秒級。
- 螢光則是受樣品電子結構影響的吸收和發射過程，因此比拉曼散射慢。螢光發射通常發生在每次雷射脈衝後的奈秒級到毫秒級。
- 了解這些時間尺度使 Renishaw 能夠開發一種專有的演算法方法，輕鬆地從直方圖中提取拉曼數據。

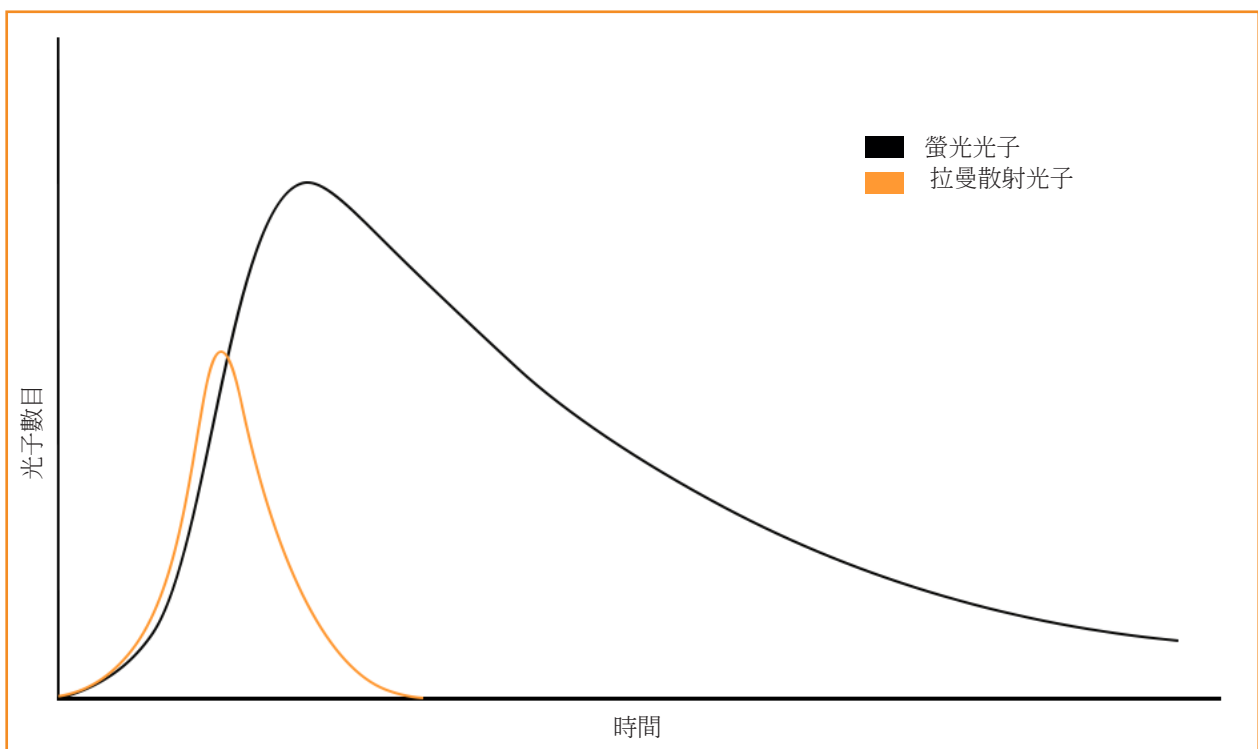


圖 1. 假設螢光樣品在時間 = 0 時暴露於雷射光源下的光子到達時間。拉曼光子幾乎立即到達，而螢光光子到達較晚，並且分散在較長的時間段內。

Renishaw的創新TRRS集成

Renishaw 公司十年來致力於TRRS系統的研發。且已申請多項專利，旨在提高通量、防止光譜偽影並提取TRRS數據。Renishaw 先進的儀器和軟體確保TRRS資料的一致性和可靠性，同時簡化光譜資料的擷取。且提供的TRRS解決方案能夠滿足您的真正需求：從螢光樣品中獲得清晰的拉曼光譜。

inVia™共聚焦拉曼顯微鏡的TRRS系統結合了高重複頻率的皮秒脈衝532 nm雷射和最新發布的單光子雪崩二極體（SPAD）陣列偵測器。SPAD陣列可以偵測單一光子並記錄其相對於雷射脈衝的到達時間。在inVia光譜儀中，光柵將光沿著SPAD陣列的軸線分散，因此可以觀察到不同波數的光子時序。

資料收集和分析完全由WiRE™軟體套件管理，可實現快速且方便的資料收集。時間相關單光子計數 (TCSPC) 用於建立樣品的完整發射光譜圖，並採用專有方法將拉曼散射與螢光發射分離。

SPAD 陣列仍是一項新興技術，像素間響應可能存在差異，導致不必要的譜線偽影。為了解決這個問題，Renishaw 的工程師們開發了一種基於專利 SynchroScan™ 擴展掃描技術的新型測量方法。此技術將光譜儀光柵的旋轉與偵測器上的光譜資料擷取同步。這項技術可防止單一壞像素影響整個波數區域並產生偽影數據，從而確保您對 TRRS 數據充滿信心。



高螢光樣本的分析

在這裡，我們將討論我們如何使用 TRRS 研究包括化學品、聚合物、顏料、食品 and 材料在內的樣品。

範例 1：Kapton® 柔性印刷電路板 (PCB)

Kapton 廣泛用於高溫黏合和柔性 PCB。拉曼光譜法是進行品質控制的理想選擇。然而，該聚合物的結構使其在寬光譜範圍內具有很強的螢光性，導致無法使用 532 nm 和 785 nm 激發光採集到有效的拉曼訊息，如圖 2(a) 和 2(b) 所示。另一方面，時間分辨拉曼光譜 (TRRS) 可以輕鬆地將拉曼資訊與樣品螢光分離，從而提供來自 Kapton 的全面拉曼數據，如圖 2(c) 所示。

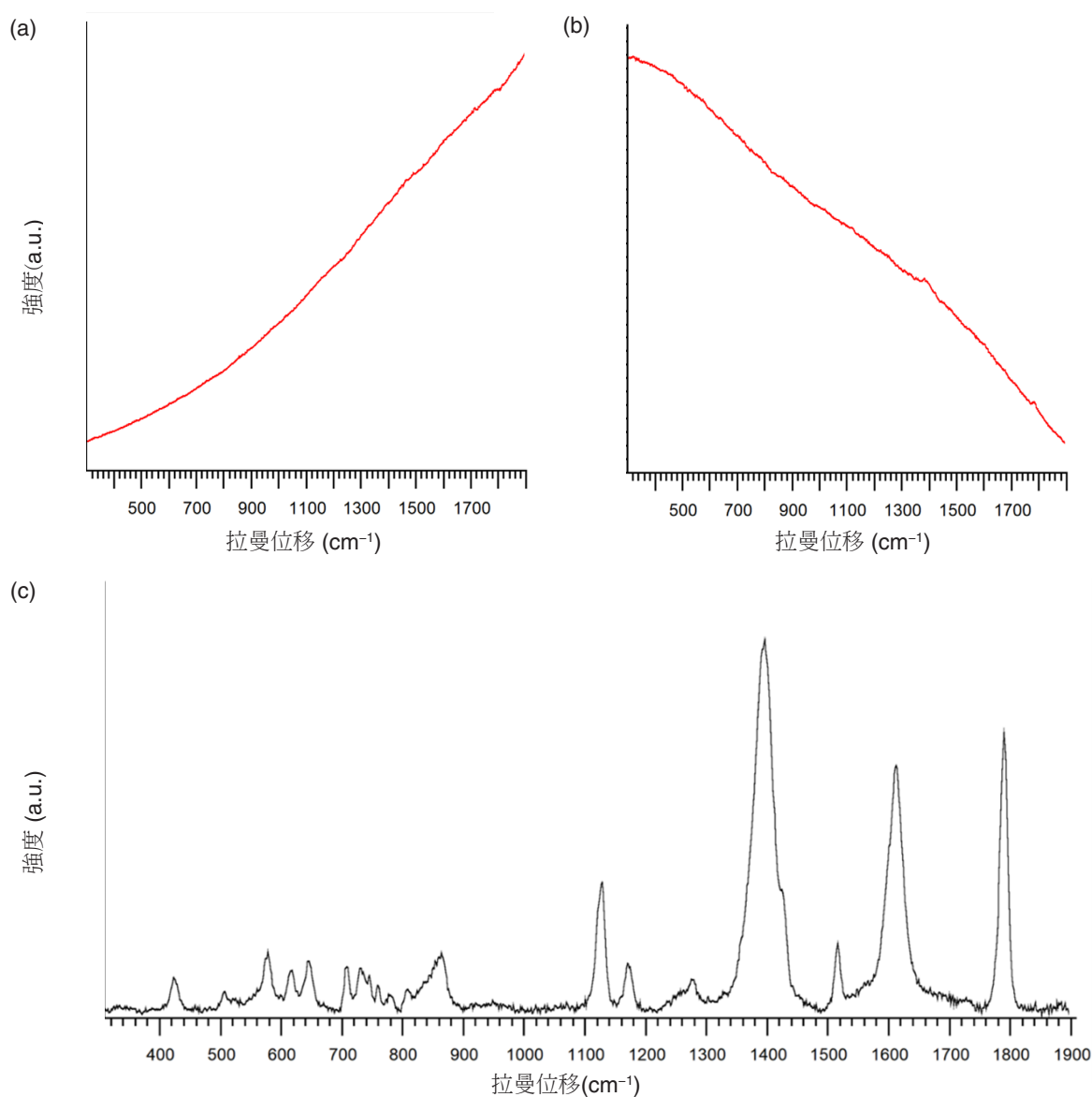
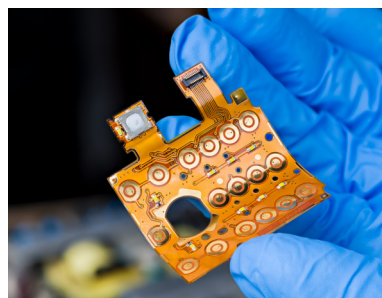


圖 2. 使用 (a) 532 nm 和 (b) 785 nm 激發光從 Kapton 柔性 PCB 擷取的常規拉曼光譜。兩種情況下，光譜中可擷取的拉曼資訊有限。(c) Kapton 的 TRRS 光譜，展示了全面的拉曼數據，包括 400 cm⁻¹ 至 900 cm⁻¹ 之間的一系列弱譜帶。

例2：芝麻油

拉曼光譜常用於分析油樣及其添加劑。對於潤滑油而言，它能提供添加劑濃度的關鍵訊息，這對於高性能潤滑油的品質控制至關重要。對於食用油，例如橄欖油或芝麻油，拉曼光譜可以檢測生產後的摻假情況，而由於成本不斷上漲，摻假問題日益突出。然而，油樣通常會呈現寬頻螢光，這與其常見的棕色至黑色顏色相符。因此，潤滑油和食用油通常難以用傳統的拉曼光譜法進行測量。

圖 3(a) 是使用時間分辨拉曼光譜法 (TRRS) 收集的芝麻油光子到達時間直方圖。圖中顯示，在 300 ps 以內的較短到達時間內，拉曼光子占主導地位，可以清楚地觀察到拉曼光譜。300 ps 後，螢光背景開始增強，最終超過拉曼訊號。到達時間超過 800 ps 時，完全沒有拉曼訊號，只有強烈的螢光背景。顯然，如果將整個時間段的數據進行累加，將很難從螢光背景中提取出拉曼訊號。因此，我們使用了一種專有演算法來提取拉曼數據。



圖 3(b) 顯示了芝麻油的拉曼光譜。我們採用同步掃描技術進行測量，並採集了 300 cm^{-1} 至 3100 cm^{-1} 範圍內的所有拉曼資訊。光譜中未出現偽影，並且能夠分辨出 500 cm^{-1} 至 1000 cm^{-1} 之間非常微弱的重疊譜帶。

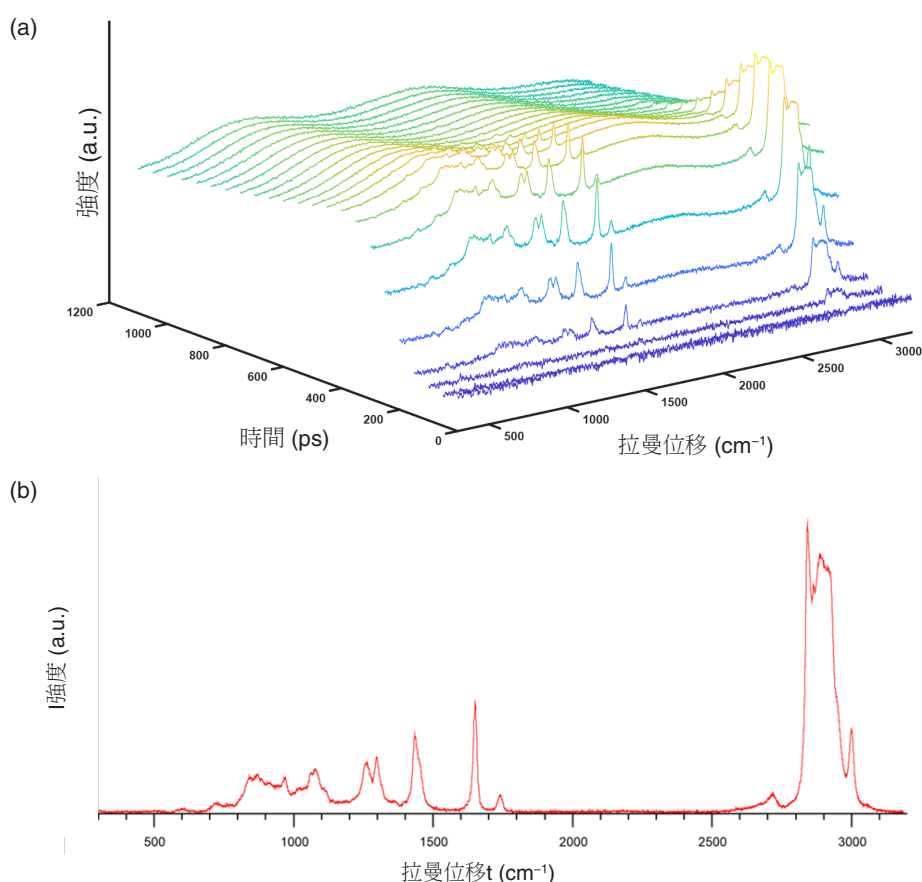


圖 3 (a) 芝麻油發射光譜的時間分佈直方圖。雷射脈衝發生在約 0 ps 時。圖中可見，初始拉曼散射的尖峰出現在約 300 ps 至約 800 ps 之間。螢光背景從 400 ps 開始出現，在約 600 ps 時達到最大強度，並持續到測量結束。傳統的拉曼光譜法對整個時間段內的資料進行累加，因此螢光貢獻會主導拉曼光譜資料。(b) 芝麻油的瞬態拉曼散射 (TRRS) 拉曼光譜。此光譜採用 Renishaw 的專有方法從直方圖中提取。此光譜包含全面的拉曼訊息，並揭示了 500 cm^{-1} 和 600 cm^{-1} 處接近噪音基底的弱譜帶。

範例3：彩色樂高®積木

樂高積木風靡全球，深受兒童和成人的喜愛，人們可以用它建造各種奇妙的建築。除透明積木外，所有樂高積木均由丙烯腈-丁二烯-苯乙烯共聚物（ABS）製成，並大量添加顏料以呈現各種顏色。這些顏料會吸收入射光，減少拉曼光譜的收集體積，並產生強烈的螢光，使拉曼測量變得複雜。雖然可以使用紫外線到近紅外線範圍內的不同激發波長，透過傳統的拉曼光譜法測量一些彩色樂高積木，但測量仍然十分困難且耗時。

我們使用時間分辨拉曼光譜（TRRS）技術，採集了多種不同顏色積木的拉曼光譜。圖4展示了六塊積木的拉曼光譜範例，其中黑色曲線為使用532 nm激發波長的傳統拉曼光譜法所採集的光譜，紅色曲線為使用TRRS技術採集的光譜。所有傳統的拉曼光譜測量都顯示出一定程度的螢光背景，這使得獲得高品質的拉曼數據變得困難甚至不可能。然而，對同樣品進行的TRRS測量始終能夠提供可用且全面的拉曼資訊。在五個案例中，我們如預期獲得了ABS光譜。此外，我們也分別從藍色和橘色磚塊中採集了酞菁藍和溶劑橙3顏料的光譜。TRRS技術使我們能夠從透明磚塊中獲得完整的光譜。利用光譜搜尋和Renishaw聚合物資料庫，我們確定該透明磚塊不含ABS，而是類似於一種醋酸纖維素衍生物，並混合了鄰苯二甲酸二甲酯增塑劑。

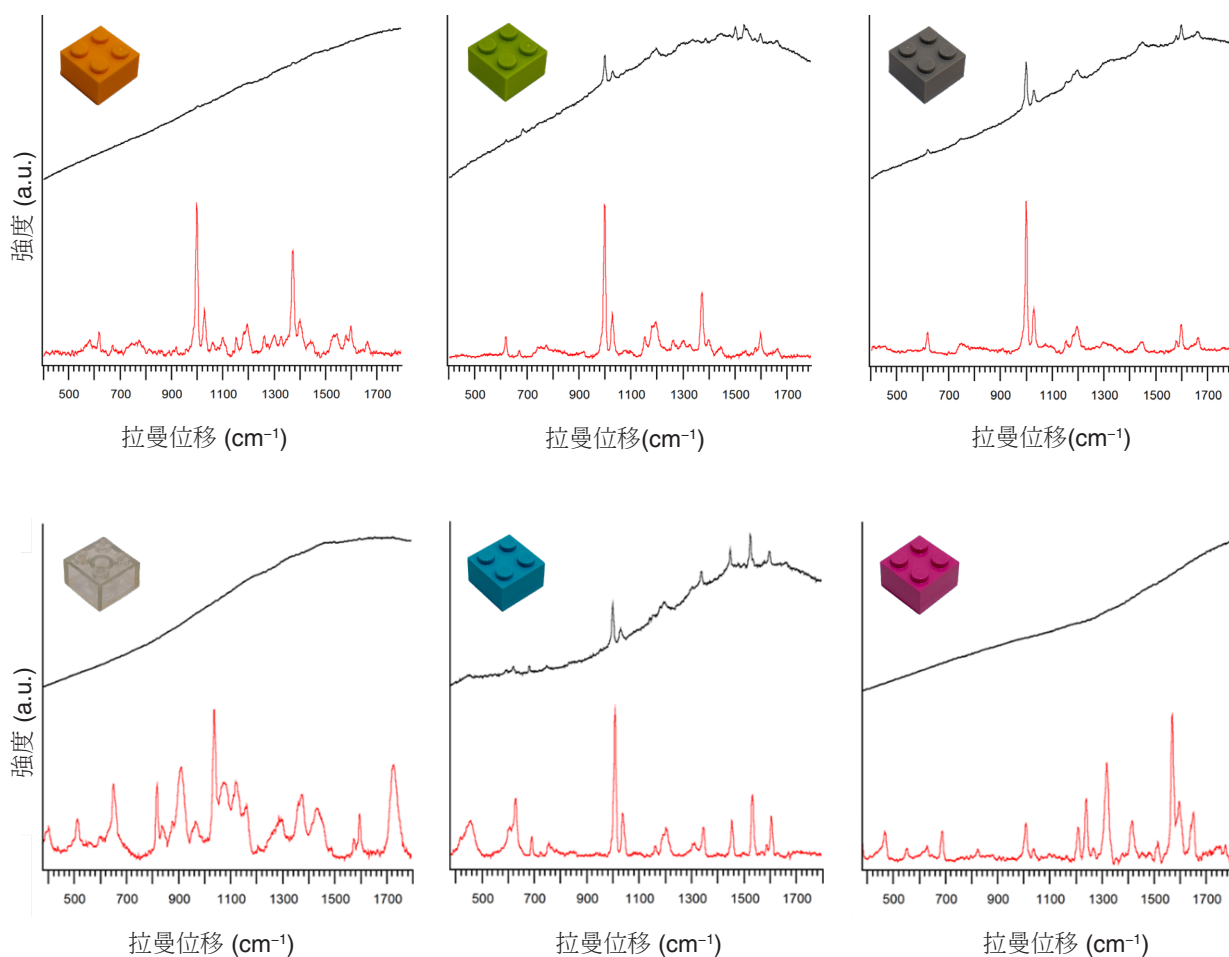
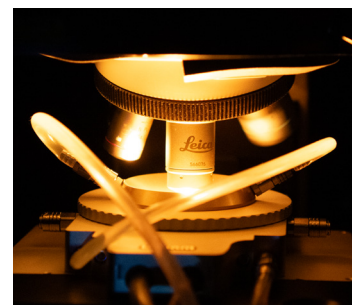


圖 4 顯示了從六塊不同顏色的樂高積木採集的常規拉曼光譜（黑色）和時間分辨拉曼光譜（紅色），結果顯示螢光基線顯著降低。在許多情況下，染料的螢光會主導常規拉曼光譜，導致難以獲得結構和化學資訊。TRRS 測量提供了所有積木的拉曼光譜，並確定了藍色和橘色積木中使用的顏料分別為酞菁藍和溶劑橙 3。此外，還可以確定透明積木類似醋酸纖維素衍生物。

降低高溫下的黑體輻射

由於寬廣的黑體輻射會完全掩蓋樣品的拉曼光譜，因此在高溫下對樣品進行拉曼光譜分析極具挑戰性。圖 5(a) 展示了藍寶石在室溫（藍色）和 1500 °C（紅色）下的測量結果。在室溫下，拉曼數據的採集較為直接，但隨著溫度升高，螢光訊號變得顯著。在 1500 °C 時，僅能觀察到藍寶石最強的拉曼譜帶，訊號雜訊比約為 1:1。



TRRS測量能夠分離並擷取雷射脈衝後短時間內採集的拉曼數據。因此，系統的佔空比（即拉曼資料收集時間與整個測量時間的比值）非常小。這意味著環境光和黑體輻射對整體光譜背景的貢獻顯著降低。因此，整合在inVia顯微鏡上的TRRS系統能夠利用可見雷射激發波長輕鬆測量具有高黑體輻射發射的熱樣品。

圖5(b)展示了使用整合在inVia顯微鏡上的TRRS系統所採集的藍寶石樣品在室溫至1500 °C範圍內加熱後的光譜。圖中清晰地顯示了藍寶石的所有拉曼譜帶，包括弱模式，即使在最高溫度下也是如此。如預期的那樣，隨著溫度升高，這些晶體聲子模式會展寬並向低能量方向移動。我們甚至可以觀察到隨著溫度升高，405 cm⁻¹和390 cm⁻¹處的拉曼譜帶發生混合。這些數據使我們能夠準確計算所有藍寶石模式的聲子溫度依賴性。

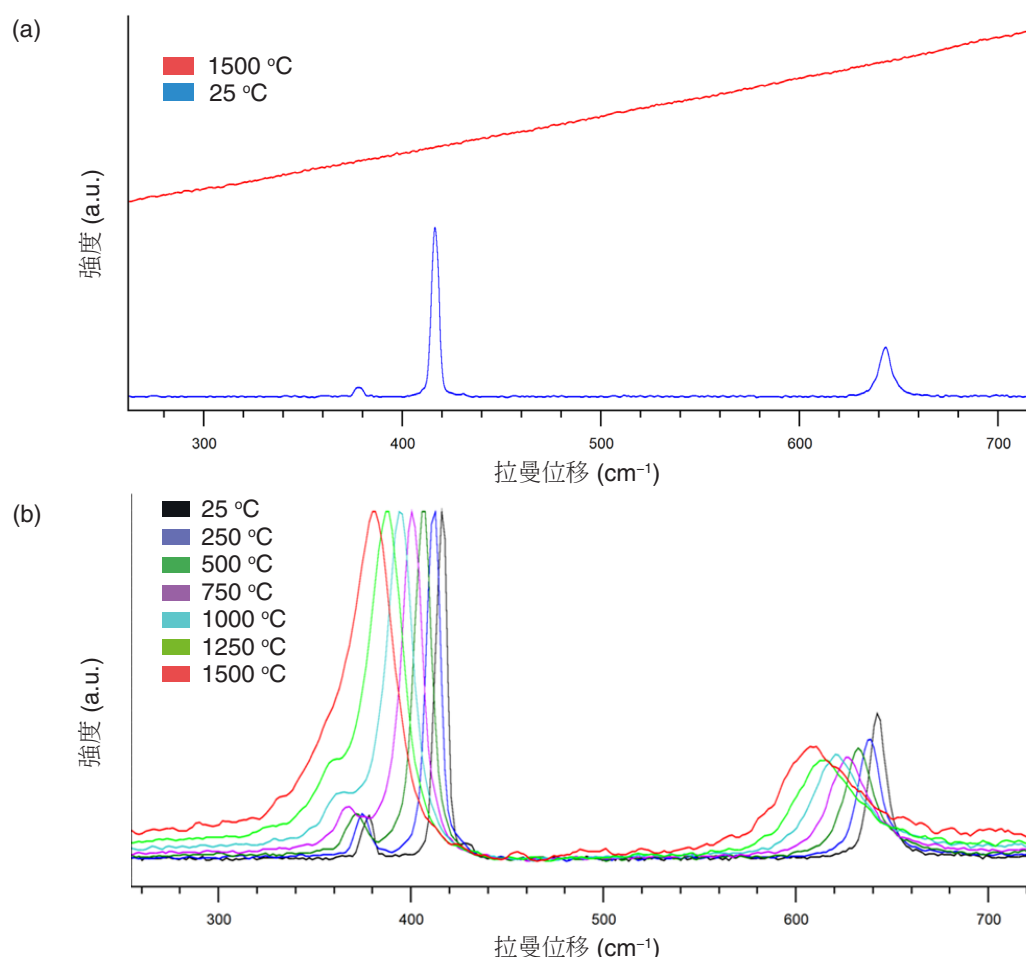
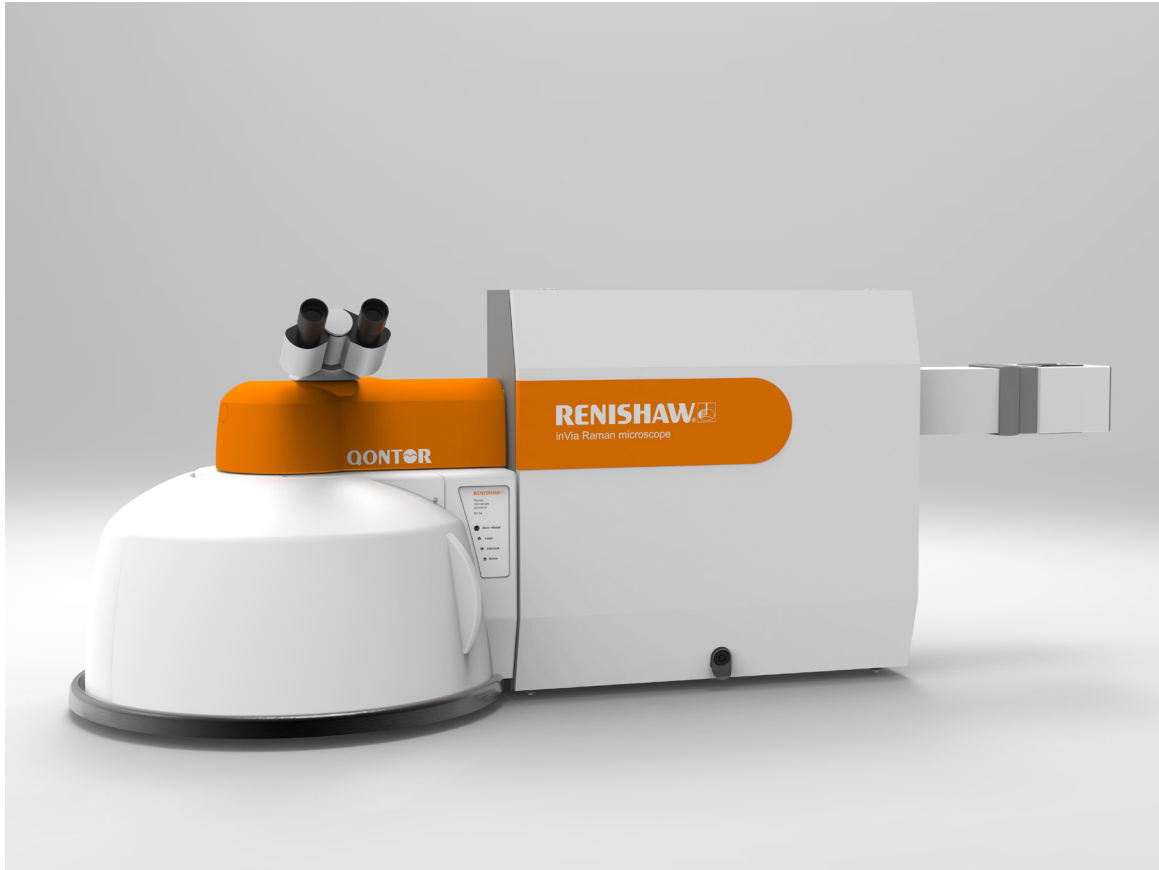


圖 5 (a) 藍寶石在 25 °C（藍色）和 1500 °C（紅色）下的常規拉曼光譜。測量採用 532 nm 激發光。在 1500 °C 時，黑體輻射占主導地位，僅能分辨出最強的藍寶石譜帶，訊號雜訊比為 1:1。(b) 使用時間分辨拉曼光譜 (TRRS) 技術在不同溫度下獲得的藍寶石拉曼光譜。TRRS 技術消除了黑體輻射的干擾，從而能夠精確測量藍寶石的拉曼譜帶，並便於計算光子強度隨溫度的變化關係。

立即聯絡我們了解 TRRS 的相關信息

我們為 inVia 顯微鏡整合的 TRRS 技術提供了一種令人振奮的新方法，可以克服背景螢光，並從具有挑戰性的樣品中獲得高品質的拉曼光譜。許多樣品都存在較高的背景螢光，例如高度共軛的聚合物和油類，以及高溫樣品。借助 TRRS 技術，現在可以對這些實際樣品進行拉曼分析，從而獲得深刻的化學和結構資訊。



如需了解更多關於 TRRS 的信息，請聯繫我們。
eric_cheng@utekinco.com.tw

友德國際股份有限公司

☎ 02-2799-3339

✉ eric_cheng@utekinco.com.tw

#renishawraman