

Raman- und CARS- **Mikrospektroskopie**

Versuch im Fortgeschrittenenpraktikum Physik

Anleitung

20.06.2019

Sven Reitzig, Prof. Lukas M. Eng

Institut für Angewandte Physik (IAP)
Technische Universität Dresden

Betreuer:

Sven Reitzig sven.reitzig@tu-dresden.de 0351/463-43354

Versuchsort:

Institut für Angewandte Physik (IAP)
Hermann-Krone-Bau (KRO)
Nöthnitzer Str. 61, 01187 Dresden
Raum S.01

Inhalt

1. Einführung	1
2. Grundlagen.....	2
2.1 Raman-Streuung an Molekülen.....	2
2.2 Raman-Streuung an Kristallen	6
2.3 Techniken der Raman-Spektroskopie.....	10
2.4 M-CARS.....	15
3. Durchführung.....	17
3.1 Messaufbau.....	17
3.2 Spektrenaufnahme	19
3.3 Sicherheitshinweise.....	20
3.4 Versuchsdurchführung.....	21
4. Hinweise zur Auswertung	22
5. Fragen	23
6. Literatur	24

1. Einführung

Die Techniken der Raman-Spektroskopie nutzen Effekte der inelastischen Streuung von Licht, um Informationen über Schwingungs- und Ordnungszustände von Molekülen und Festkörpern zu erlangen. Raman-spektroskopische Untersuchungen ermöglichen dabei nicht-invasive und zerstörungsfreie Stoffnachweise und Materialkontrolle, Bildgebung sowie (bei zeitaufgelöster Messung) die Verfolgung von chemischen Reaktionen oder biologischen Prozessen in-situ, oftmals ohne aufwendige Probenvorbereitung. Die erhaltenen Molekülspektren sind komplementär zu denen der auf Strahlungsabsorption basierenden Infrarot-Spektroskopie, sodass die Kombination beider Methoden eine wirkungsvolle Möglichkeit zur Strukturaufklärung von Stoffen darstellt. Aufgrund dieser Eigenschaften gehören Raman-spektroskopische Techniken zu den Standard-Analyseverfahren in den Materialwissenschaften und der Biologie.

Der Praktikumsversuch soll einen grundsätzlichen Einblick in die Messtechnik der Raman-Mikrospektroskopie gewähren, welche die gebräuchlichste der Raman-spektroskopischen Methoden darstellt, und die Abhängigkeit der gemessenen Spektren von konkreten Probeneigenschaften sowie spezifischen Messparametern beleuchten.

Zusätzlich wird mit der CARS-Technik (Coherent Anti-Stokes Raman Scattering) eine unkonventionellere Variante aus dem Bereich der nichtlinearen Raman-Streuung mit ihren spezifischen Eigenheiten vorgestellt und zur hyperspektralen Bildgebung an einer geeigneten Probe angewandt.

2. Grundlagen

2.1 Raman-Streuung an Molekülen

Der Effekt der inelastischen Streuung von Licht an Molekülen wurde 1923 von A. Smekal vorhergesagt^[1] und erstmals 1928 von C.V. Raman nachgewiesen,^[2] der als Namensgeber diente und 1930 für diese Entdeckung den Nobelpreis für Physik erhielt. Wird ein einfallender Lichtstrahl an einem Molekül oder Festkörper gestreut, treten sowohl elastische (Rayleigh) als auch inelastische (Raman) Streuprozesse auf. Während die Photonen bei der elastischen Streuung ihre Energie erhalten, tritt bei der inelastischen Streuung eine Zu- oder Abnahme der Photonenenergie auf.

Raman-Spektroskopie zählt wie die Infrarot-Spektroskopie zu den Methoden der Schwingungsspektroskopie. Diese basieren auf der Anregung der Normalschwingungen in einem Molekül. Anders als bei der Infrarot-Spektroskopie jedoch, die auf Absorption von Infrarot-Strahlung basiert, welche durch eine Dipoländerung der jeweils angeregten Molekülschwingungen verursacht wird, fußt die Raman-Streuung auf der Änderung der Polarisierbarkeit einer Bindung.^[3] Die beiden Methoden sind komplementär zueinander. Grundsätzlich gilt, dass polare Bindungen in einem Molekül besser mit Infrarot-Spektroskopie detektierbar sind, während unpolare Bindungen besser durch Raman-Spektroskopie nachgewiesen werden können. In Molekülen mit punktsymmetrischer Struktur gilt das sogenannte Alternativverbot: Keine Schwingung in einem solchen Molekül kann gleichzeitig Raman- und Infrarot-aktiv sein.^[4]

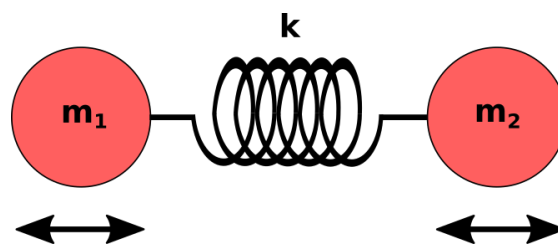


Abbildung 1: Modell einer Atombindung als harmonischer Oszillator nach dem Hookeschen Gesetz. Die Federkonstante beschreibt die Bindungsstärke, m_i ist die Atommasse.

Die Absorptions- bzw. Streufrequenz ν der jeweiligen Molekülbindung ist durch eine Ableitung des Hookeschen Gesetzes zugänglich, indem man die Bindung näherungsweise als harmonischen Oszillator beschreibt (s. Abb. 1). Die Kraftkonstante k beschreibt dabei die Stärke einer

chemischen Bindung, die reduzierte Masse μ ergibt sich aus den Massen m_i der gebundenen Atome (Gl. (1)-(2)).

$$\mu = \frac{m_1 \cdot m_2}{m_1 + m_2} \quad (1)$$

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{k/\mu} \quad (2)$$

Die in der Infrarot-Spektroskopie gebräuchliche Größe zur Zuordnung der Schwingungsbanden ist die Wellenzahl $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}], die aus der Schwingungsfrequenz ν direkt zugänglich ist (Gl. (3)).^[5]

$$\tilde{\nu} = \frac{\nu}{c} = \frac{1}{\lambda} \quad (3)$$

(mit c : Lichtgeschwindigkeit, λ : Wellenlänge)

In der Raman-Spektroskopie arbeitet man mit dem sogenannten Raman Shift, welche die Wellenzahl relativ zur Laserfrequenz (und damit auch zur Rayleigh-Streufrequenz) darstellt - statt der absoluten Frequenz wird hier zur Berechnung nach Gl. 3 also die Frequenzänderung durch den Streuprozess verwendet (Gl. (4)). Stokes-Verschiebungen werden durch positive, Anti-Stokes-Verschiebungen durch negative Raman Shifts gekennzeichnet.

Die Bandenpositionen der Molekülschwingungen beider Methoden sind direkt miteinander vergleichbar – ist eine Schwingung also sowohl Infrarot- als auch Raman-aktiv, stimmen Wellenzahl und Raman Shift der beiden Messungen überein.

$$\tilde{\nu}_R = \frac{\Delta\nu_R}{c} = \frac{\nu_0 - \nu_R}{c} = \frac{1}{\lambda_0} - \frac{1}{\lambda_R} \quad (4)$$

($\tilde{\nu}_R$: Raman Shift, ν : Frequenz, c : Lichtgeschwindigkeit, λ : Wellenlänge;

Indices: 0: einfallendes Licht, R: Raman-gestreutes Licht)

Energetisch lässt sich der Zustand im streuenden Molekül durch eine Erhebung in ein virtuelles Energieniveau mit anschließendem Rückfall in ein reales Vibrations-Energieniveau beschreiben (2-Photonen-Streuprozess, s. Abb. 2).^[6] Fällt der Energiezustand wieder in das Ausgangsniveau zurück, liegt Rayleigh-Streuung vor. Unterscheiden sich jedoch Ausgangs- und Endzustand, findet Raman-Streuung statt. Hierbei wird zwischen Stokes-Streuung (Energieabnahme des gestreuten Photons) und Anti-Stokes-Streuung (Energiezunahme des gestreuten Photons) unterschieden.

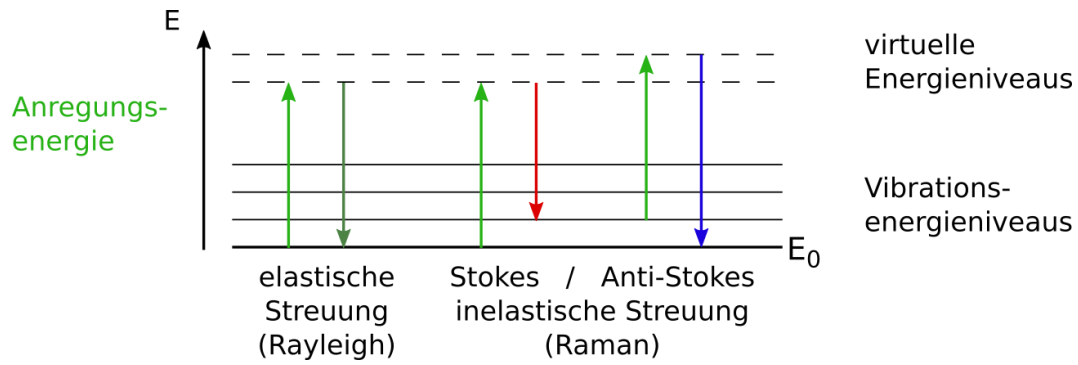


Abbildung 2: Jablonski-Diagramm für Rayleigh-Streuung sowie Stokes- und Anti-Stokes-Streuung.

Die Energieänderung der inelastisch gestreuten Photonen (auch Stokes-Verschiebung genannt) ist an eine Frequenzänderung und damit einhergehend an eine Wellenlängenverschiebung gebunden (Gl. (5)-(7)). Darüber ergibt sich für Stokes-Streuung eine Verschiebung zu größeren Wellenlängen, für Anti-Stokes-Streuung hingegen eine Verschiebung zu kürzeren Wellenlängen.

$$\Delta E = E_0 - E_R \quad (5)$$

$$\Delta E = h(\nu_0 - \nu_R) \quad (6)$$

$$\Delta E = hc\left(\frac{1}{\lambda_0} - \frac{1}{\lambda_R}\right) \quad (7)$$

(E: Energie, h: Planck-Konstante, ν : Frequenz, c: Lichtgeschwindigkeit, λ : Wellenlänge;

Indices: 0: einfallendes Licht, R: Raman-gestreutes Licht)

Wie in Abb. 2 erkennbar ist, kann Anti-Stokes-Streuung nur an Molekülen oder Festkörpern auftreten, die sich bereits in einem erhöhten Vibrationszustand befinden - zahlenmäßig relevant ist hierbei die Besetzung des ersten angeregten Vibrationsniveaus. Das Verhältnis von Stokes- zu Anti-Stokes-Streuung entspricht näherungsweise dem temperaturabhängigen Zahlenverhältnis von Molekülen in Grund- und erstem angeregten Zustand in der Probe, die sich durch eine Boltzmann-Verteilung beschreiben lässt. Somit ermöglicht der Intensitätsvergleich von Stokes- und Anti-Stokes-Moden einer Probe eine Temperaturbestimmung bei jeder Raman-Messung (Gl. (8) für Intensitätsmessung über Photonenzählung). Dieses Verfahren wird auch als Raman-Thermometrie bezeichnet.^[7]

$$\frac{I_{AS}}{I_S} = \frac{(\nu_0 + \Delta\nu_R)^3}{(\nu_0 - \Delta\nu_R)^3} \exp\left(-\frac{h\Delta\nu_R}{k_B T}\right) \quad (8)$$

($I_{S/AS}$: Stokes-/Anti-Stokes-Peakintensität, h: Planck-Konstante, k_B : Boltzmann-Konstante, ν_0 : Frequenz des einfallenden Lichts, $\Delta\nu_R$: Frequenzänderung (Raman Shift), T: Temperatur)

Raman-Spektroskopie ist grundsätzlich zur Aufnahme quantitativer Messungen geeignet. Die Signalerzeugung ist allerdings ein komplexer Prozess und die detektierte Intensität von vielen experimentellen Faktoren abhängig, die eine theoretische Berechnung absoluter Raman-Intensitätswerte unmöglich machen^[8] und deren exakte Aufschlüsselung den Zweck dieses Praktikums übersteigt. Dennoch ist für den praktischen Gebrauch eine Kenntnis der zugrundeliegenden Proportionalitäten hilfreich, da diese für die Wahl des geeigneten Versuchsaufbaus entscheidend sind. Im Folgenden sollen einige dieser Abhängigkeiten kurz beleuchtet werden (Gl. (9)-(11)).^[8, 9]

Die Intensität I einer Raman-Mode ist zur Intensität des eingestrahnten Lichts I_0 direkt proportional, da im 2-Photonen-Streuprozess nur ein eingestrahktes und ein gestreutes Photon vorliegen (linearer Prozess). Dies gilt nur für die in diesem Kapitel behandelten spontanen Raman-Streuprozesse, nicht aber für komplexe Mehrphotonenanregungen wie das in Kapitel 2.4 vorgestellte CARS. Für den Spektroskopisten bedeutet dies, dass eine Halbierung der eingestrahkten Laserleistung eine Halbierung der detektierten Signalintensität zur Folge hat. In Kapitel 3.2 wird die Wahl des Versuchsaufbaus unter den hier genannten Gesichtspunkten, aber auch hinsichtlich auftretender Nebeneffekte näher beleuchtet.

$$I \propto I_0 \quad (9)$$

$$I \propto \nu_R^4 \quad (10)$$

$$I \propto |e_0 R e_s|^2 \quad (11)$$

(I : Streuintensität, I_0 : Intensität des eingestrahkten Lichts, ν_R : Frequenz des gestreuten Lichts, e_0/s : Polarisationsrichtung des einfallenden/gestreuten Lichts, R : Raman-Tensor)

Die Streuintensität ist auch hinsichtlich der Wahl der Laserquelle ein wichtiger Faktor: sie ist zur Frequenz des gestreuten Lichts in vierter Potenz proportional (Gl. (10)). Dieser Abhängigkeit nach ist die Wahl eines möglichst kurzwelligen Lasers (blaues Licht bis nahes Ultraviolett) vorteilhaft – Gründe für den praktischen Einsatz anderer Laserarten werden an anderer Stelle erörtert.

Schließlich soll die Abhängigkeit der Intensität vom Raman-Tensor beleuchtet werden, welcher die Wechselwirkung zwischen Materie und Licht beschreibt. Dieser ist eine spezifische Eigenschaft der betrachteten Schwingungsmoden im untersuchten Material und über die gemessene Intensität direkt zugänglich, da die Polarisationsrichtungen des eingestrahkten und gemessenen Lichts durch den Messaufbau frei wählbar sind. Im Umkehrschluss können aus dem Raman-Tensor, der sich aus der Symmetrie der untersuchten Molekülschwingung ergibt, die Auswahlregeln für die Detektierbarkeit von Schwingungsmoden per Raman-Spektroskopie abgeleitet werden.

2.2 Raman-Streuung an Kristallen

Die bisherigen Betrachtungen zur Raman-Spektroskopie bezogen sich auf die Schwingungsanregung von Bindungen in Molekülen, wie sie vor allem bei Messungen in Flüssig- und Gasphase festgestellt werden können. In jenen Medien sind die Moleküle isotrop im Raum verteilt, sodass alle 3 Raumrichtungen (x,y,z) zu je einem Drittel zur Gesamtintensität beitragen.

Bei Messungen an Festkörpern hingegen bestimmen die Ordnungszustände im Material auf signifikante Weise das messbare Spektrum. ^[10, 11] Abb. 3 zeigt dies für das Material SiO_2 : während für kristallines Quarz diskrete Peaks v.a. bis 500 cm^{-1} gemessen werden, weist das Spektrum von Quarzglas („fused quartz“) breite Banden über einen weiteren Spektralbereich. Die Ursache hierfür ist der Einfluss der Fernordnung in Materialien mit Translationssymmetrie (also geordneter Kristallstruktur). Während in amorphen Materialien lediglich die Nahordnung die Raman-Streuung beeinflusst, also intermolekulare Wechselwirkungen in der direkten Umgebung einer angeregten Bindung, werden durch die Fernordnung in Kristallen Phononen angeregt. Diese sind ebenfalls quantisierte Schwingungen, allerdings handelt es sich hierbei um wandernde Wellen mit konkretem Ausbreitungsvektor und es schwingt das gesamte Kristallgitter statt einzelnen Bindungen. Den starken Einfluss des Ordnungszustands auf Raman-Spektren zeigt auch die Tatsache, dass in Abb. 3 das Spektrum von Quarzglas größere Ähnlichkeit zu dem eines handelsüblichen Glas-Objekträgers - der eine andere chemische Zusammensetzung, aber einen ähnlichen Ordnungszustand besitzt - aufweist, als zu dem des Quarzkristalls.

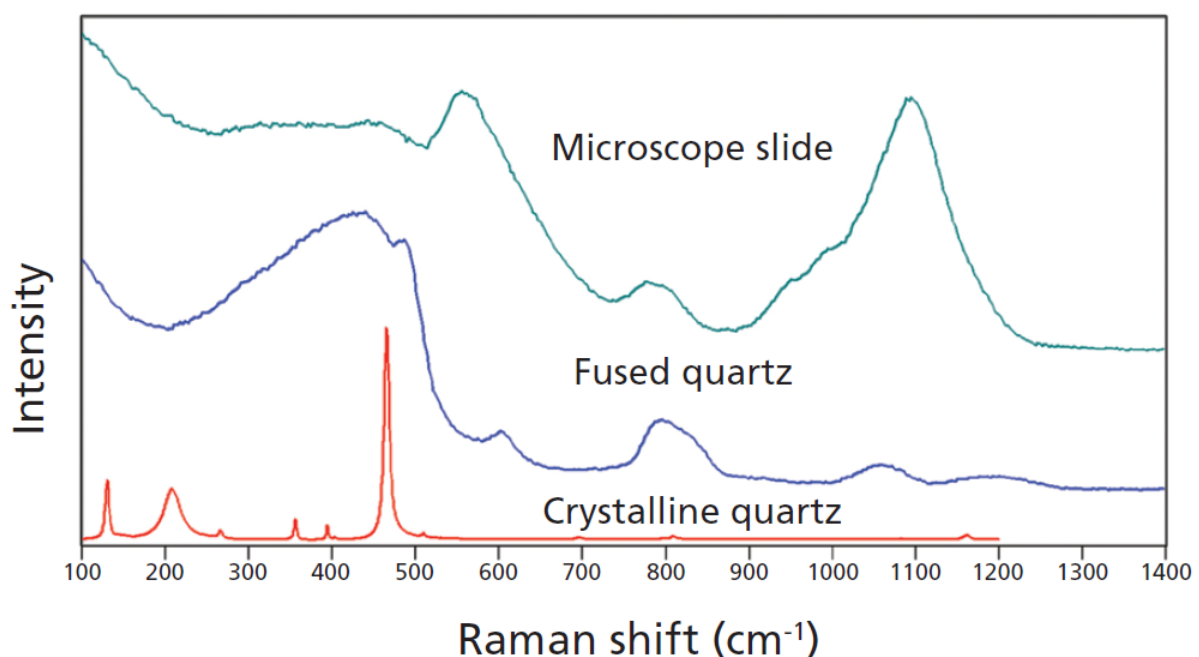


Abbildung 3: Raman-Spektren eines Objekträgers, eines Quarzkristalls und von Quarzglas.^[10]

Die Position der Raman-Peaks eines Festkörpers ist abhängig von der Phononendispersion im reziproken Raum, genauer der 1. Brillouin-Zone der zugehörigen Kristallstruktur ($k = -\pi/a \dots \pi/a$ mit a : Länge der Einheitszelle), da diese alle Symmetrieelemente enthält. Für einen Aufbau mit 180° Rückstreuung ergibt sich für den Phononenvektor q des durch Raman-Streuung angeregten Phonons (Gl. (12)-(13)):

$$q \approx 2k_i \quad (12)$$

$$q \approx 4\pi\tilde{\nu} \quad (13)$$

(q : Phononenvektor, k_i : Vektor d. eingestrahnten Photons; $\tilde{\nu}$: Wellenzahl d. eingestrahnten Lichts)

Beispielhaft soll hier mit blau-grünem Licht ($\tilde{\nu} \approx 20\,000\text{ cm}^{-1}$) eingestrahlt werden. Daraus erhält man Gl. (14):

$$q \approx 2,5 \cdot 10^5 \text{ cm}^{-1} \quad (14)$$

Angenommen, der Rand der Brillouin-Zone wäre bei $a = 3\text{ \AA}$ erreicht. Nach Gl. (15)-(16) entspräche das einem Vektor k von:

$$k = \frac{\pi}{a} = \frac{\pi}{3 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^{-1}} \quad (15)$$

$$k \approx 10^8 \text{ cm}^{-1} \quad (16)$$

Der Phononenvektor q der angeregten Phononen ist mit den in der Raman-Spektroskopie genutzten Lasern also bezogen auf den Vektor k der Brillouin-Zone so klein, dass er näherungsweise als 0 angesehen werden kann, was dem Γ -Punkt entspricht. Für ideale Kristalle gilt damit, dass die detektierten Peakfrequenzen der Phononenverteilung am Γ -Punkt entsprechen.

In amorphen Materialien hingegen herrscht keine Fernordnung, es liegen keine propagierenden Wellen (also: Phononen) vor, sondern chemische Bindungen und lokale Wechselwirkungen (Nahordnung) bilden wieder den Haupteinfluss auf das Spektrum. Effektiv kann man sagen, dass hier die gesamte Brillouin-Zone gemessen wird, sodass die Raman-Spektren amorpher Materialien ihrer Phononen-Zustandsdichte (DOS) ähneln. Der Vergleich von Abb. 4 mit den Quarz-Spektren aus Abb. 3 verdeutlicht dies: Während die Raman-Peaks des Quarzkristalls (kristallin) näherungsweise den Phononenfrequenzen am Γ -Punkt entsprechen, sind die breiten

Banden des Quarzglas-Spektrums (amorph) grob mit der Phononen-Zustandsdichte (DOS) von Quarz vergleichbar.

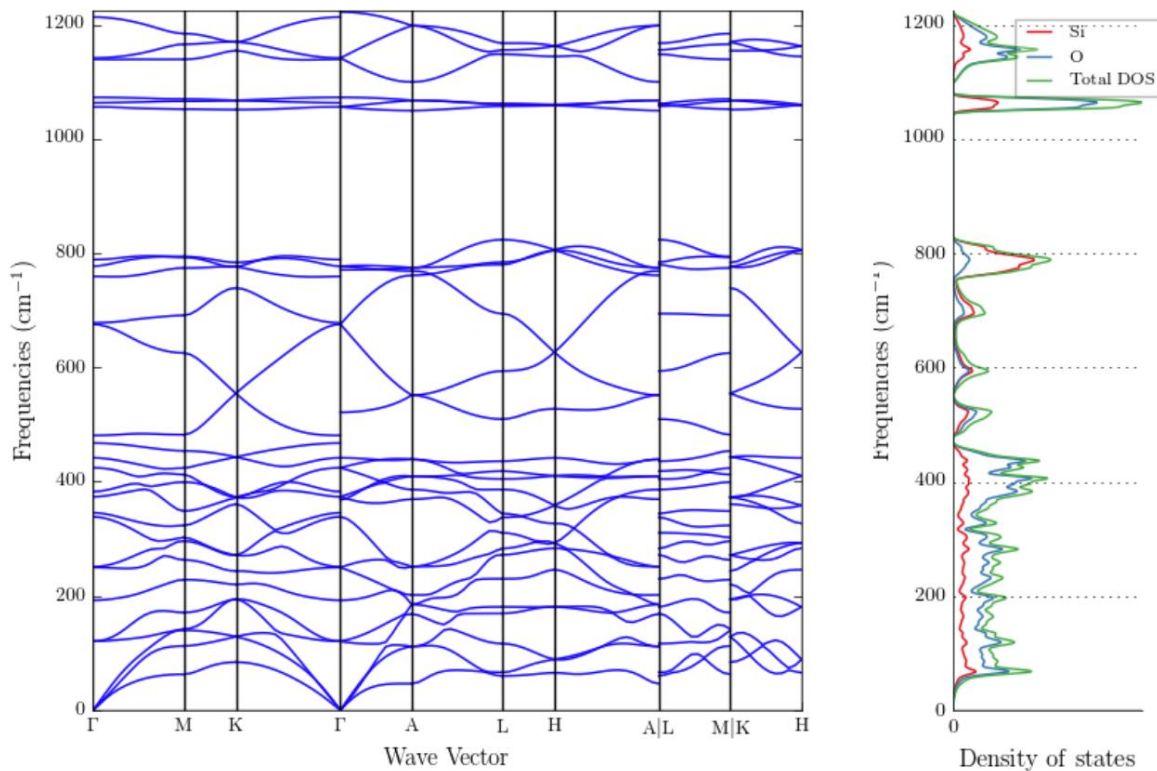


Abbildung 4: Phononenverteilung und -zustandsdichte von Quarz (SiO₂).^[12]

Abweichungen von diesen Berechnungen für ideale Kristalle entstehen durch in realen Kristallen immer vorhandene Defekte (Fehlstellen, Dotanden, Stress, el. Felder...). Die Kenntnis der Phononenmoden und der Vergleich von theoretischen und Experimentalwerten ermöglicht damit unter Umständen Rückschlüsse auf die Art und das Ausmaß von Defekten in Kristallen.

Der Vergleich von Abb. 3 und 4 zeigt auch, dass nicht alle Phononen als Peaks im Raman-Spektrum identifizierbar sind. Wie für die Bindungsschwingungen bei der Raman-Streuung an Molekülen gibt es auch für die Phononenstreuung in Kristallen feste Auswahlregeln zur Detektierbarkeit. Die dafür herangezogenen Punktgruppen – Klassifizierungen geometrischer Symmetrien um einen Fixpunkt – leiten sich bei Kristallen aus der kristallographischen Raumgruppe ab. Für Kristalle der gleichen Raumgruppe treten also stets die gleiche Anzahl und Art von Phononenmoden auf.^[13,14]

Die Raman-Aktivität von Phononen ergibt sich aus der Kristallsymmetrie, da für gleich strukturierte Kristalle die gleichen vibrationsbedingten Atomverschiebungen zu Änderungen der Polarisierbarkeit führen. Die chemische Zusammensetzung beeinflusst die Intensitäten der Phononenbanden (entsprechend der Änderung der Polarisierbarkeit für jedes Phonon) und deren

Frequenz (abhängig von Atommassen und Bindungsstärken, siehe Ableitung aus dem Hookeschen Gesetz in Kapitel 2.1).

Zur Unterscheidung der Phononenarten im Kristall werden verschiedene Aspekte betrachtet: ihre irreduzible Darstellung (ausgedrückt durch die in der Gruppentheorie verwandte Mulliken-Symbolik), die über die Symmetrie der Schwingung im Kristallgitter Aufschluss gibt, die Aufteilung in optische und akustische Moden sowie die Unterscheidung zwischen longitudinalen und transversalen Phononen.

Die Detektierbarkeit von Phononenarten in einer gewählten Messgeometrie wird durch den Raman-Tensor ausgedrückt und ist abhängig von der Ausbreitungsrichtung sowie der Polarisationsrichtung des einfallenden und des gestreuten Lichts. Üblicherweise werden diese Informationen durch die nach dem brasilianischen Physiker Sérgio Porto benannte Porto-Notation ausgedrückt: $\mathbf{k}_i (\mathbf{e}_i \mathbf{e}_s) \mathbf{k}_s$ (mit $\mathbf{k}_{i/s}$: Wellenvektor des eingestrahnten/gestreuten Lichts, $\mathbf{e}_{i/s}$: Einheitsvektor in Richtung der Polarisation des eingestrahnten/gestreuten Lichts). Zum Beispiel würde ein Versuchsaufbau, bei dem in z-Richtung x-polarisiertes Licht eingestrahlt und in 180°-Rückstreuung y-polarisiertes Licht detektiert wird, nach der Porto-Notation mit $z(x\ y)\bar{z}$ oder $z(x\ y)\bar{z}$ beschrieben werden.

Dass die Messgeometrie die Art der detektierten Phononen eines Kristalls bestimmt und Kristalle der gleichen Raumgruppe sich hinsichtlich der Auswahlregeln gleich verhalten, zeigt Tabelle 1^[15] für die Kristalle von LiNbO_3 , LiTaO_3 und KTiOPO_4 : abhängig von Strahlrichtung und -polarisation werden die verschiedenen Phononenzweige detektiert, wobei für LiNbO_3 und LiTaO_3 (beide Raumgruppe $R3c$) die gleichen Auswahlregeln gelten, für KTiOPO_4 (Raumgruppe $\text{Pna}2_1$) jedoch andere.

Tabelle 1: Detektierte Phononenzweige der Kristalle von LiNbO_3 , LiTaO_3 und KTiOPO_4 für alle Rückstreugeometrien.^[15] Die Mulliken-Symbole A_1 , A_2 , B_1 , B_2 und E klassifizieren die Phononen entsprechend der an ihnen durchführbaren Symmetrioperationen, TO und LO beschreiben longitudinale und transversale optische Phononen.

Streugeometrie	LiNbO_3 und LiTaO_3	KTiOPO_4
$x(y\ y)\bar{x}$	$A_1\text{-TO} + E\text{-TO}$	$A_1\text{-TO}$
$x(y\ z)\bar{x}$	$E\text{-TO}$	$B_2\text{-TO}$
$x(z\ z)\bar{x}$	$A_1\text{-TO}$	$A_1\text{-TO}$
$y(x\ x)\bar{y}$	$A_1\text{-TO} + E\text{-LO}$	$A_1\text{-TO}$
$y(x\ z)\bar{y}$	$E\text{-TO}$	$B_1\text{-TO}$
$y(z\ z)\bar{y}$	$A_1\text{-TO}$	$A_1\text{-TO}$
$z(x\ x)\bar{z}$	$A_1\text{-LO} + E\text{-TO}$	$A_1\text{-LO}$
$z(x\ y)\bar{z}$	$E\text{-TO}$	$A_2\text{-TO}$
$z(y\ y)\bar{z}$	$A_1\text{-LO} + E\text{-TO}$	$A_1\text{-LO}$

2.3 Techniken der Raman-Spektroskopie

Raman-Spektroskopie ist eine vielseitige Analysemethode, deren Aufbau in den vergangenen Jahrzehnten vielfach modifiziert und mit anderen optischen Techniken kombiniert wurde, um Messempfindlichkeit und Auflösung den experimentellen Erfordernissen anzupassen. Nachfolgend soll eine Auswahl gängiger Techniken der Raman-Spektroskopie kurz vorgestellt werden.

Bei der einfachsten Analysemethode basierend auf Raman-Streuung wird der monochromatische Laser direkt auf die zu untersuchende Probe gerichtet. Dieses Verfahren kann beispielsweise zur Materialprüfung in automatisierten Prozessen genutzt werden und lässt sich unkompliziert anwenden, besitzt allerdings nur eine Auflösung in der Größenordnung des Strahldurchmessers (üblicherweise im Millimeter-Bereich). In der Wissenschaft findet diese Methode selten Anwendung.

Raman-Mikroskopie

Die in wissenschaftlichen Laboren meistverbreitete Technik ist die Raman-Mikrospektroskopie, die auch in diesem Praktikum angewendet wird (der Messaufbau des verwendeten Gerätes wird in Kapitel 3.1 behandelt). Hier wird der Laserstrahl durch eine Mikroskop-Optik geleitet und so auf der Probe fokussiert, was eine erhebliche Verbesserung der Auflösung zur Folge hat. Wie bei der Lichtmikroskopie lässt sich die Auflösungsgrenze d mit dem Abbe-Limit nach Gl. (17) berechnen:

$$d = \frac{\lambda}{2NA} \quad (17)$$

(mit λ : Wellenlänge des eingestrahnten Lichts, NA: numerische Apertur des Objektivs)

Da das Auflösungsvermögen wellenlängenabhängig ist, führt die Anwendung kurzwelliger Laser zu einer höheren Auflösung. Außerdem ist hierbei die numerische Apertur NA des angewandten Mikroskop-Objektivs entscheidend. Sie beschreibt den Winkelbereich des ausgestrahlten bzw. gesammelten Lichts eines Objektivs und ergibt sich als dimensionslose Größe aus Gl. (18):

$$NA = n \cdot \sin \alpha \quad (18)$$

(mit n : Brechungsindex des Mediums zwischen Objektiv und Probe, α : halber Öffnungswinkel)

Insbesondere für die Untersuchung an Kristallen, die wie in Kapitel 2.2 beschrieben stark von der Einstrahlgeometrie abhängig ist, muss beachtet werden, dass durch den Öffnungswinkel des Mikroskop-Objektivs ein Winkelbereich auf die Probe eingestrahlt und wieder gesammelt wird. Dies führt dazu, dass bspw. bei einer Einstrahlung entlang der z-Richtung auch stets ein Teil der in x- und y-Richtung detektierbaren Phononen angeregt wird. Übliche numerische Aperturen für an Luft arbeitende Objektive sind z.B. $NA = 0,3$ für 10x-Vergrößerung oder $NA = 0,9$ für 100x-Vergrößerung. Durch die Verwendung von Immersions-Objektiven kann die numerische Apertur und damit die erreichbare Auflösung verbessert werden. Üblicherweise kommen hier Wasser ($n = 1,33$) oder Immersionsöle (i.d.R. $n \approx 1,52$) zum Einsatz. Bei der Verwendung von Immersionsöl muss allerdings beachtet werden, dass die hier zum Einsatz kommenden Substanzen Raman-aktiv sein und damit die Messung stören können.^[16]

Plasmonisch verstärkte Raman-Spektroskopie: SERS, TERS und NERS

Um die Auflösung Raman-spektroskopischer Messungen in den Nanometer-Bereich bis hin zu molekularer Auflösung zu verbessern, sind verschiedene Ansätze umgesetzt worden, die alle auf plasmonischer Verstärkung des Streusignals fußen (s. Abb. 5). In diese Kategorie fallen Techniken wie Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS), Tip-Enhanced Raman Scattering (TERS) oder Nanoparticle-Enhanced Raman Scattering (NERS). Im Folgenden sollen kurz ihre Grundprinzipien erläutert werden – da sie nicht Ziel dieses Praktikumsversuchs sind, sind für eine ausführlichere Betrachtung Veröffentlichungen der Fachliteratur zu empfehlen.^[17-20]

SERS basiert auf der Nutzung von nanostrukturierten metallischen Substraten (z.B. Gold oder Silber), an deren Grenzfläche zum Analyten lokale Oberflächenplasmonen-Resonanz (LSPR) im Wellenlängenbereich des eingestrahnten und gestreuten Lichts angeregt werden. Dabei handelt es sich um kollektive Oszillationen der Elektronen im Leitungsband der verwendeten Metalle. Mit dieser Methode können durch die drastische Verstärkung des elektrischen Feldes in der Umgebung der Nanostrukturen Verstärkungen der detektierten Raman-Streuintensität von bis zu $5 \cdot 10^{10}$ erreicht werden, was die Detektion von Einzelmolekülen ermöglicht.^[21]

Einen ähnlichen Ansatz verfolgt die NERS-Technik, die oft als spezielle Variante von SERS betrachtet wird: in diesem Falle wird ebenso eine plasmonische Verstärkung des elektrischen Feldes im Streuprozess angeregt, jedoch wird hierbei nicht ein nanostrukturiertes Substrat verwendet, sondern metallische Nanopartikel. Dies ermöglicht eine Anwendung in Lösungen, aber auch das Verfolgen chemischer Oberflächenprozesse (z.B. Wasserstoff-Erzeugung auf Platin-Oberflächen^[20]), die aufgrund des geringen Streuquerschnitts der adsorbierten Moleküle ohne plasmonische Verstärkung nicht detektierbar sind.

Als Weiterentwicklung des SERS-Ansatzes verbindet TERS die Anwendung der Raman-Streuung mit dem Auflösungsvermögen der Rastersondenmikroskopie (SPM). Die plasmonische

Verstärkung wird hier durch den Einsatz von AFM-Spitzen aus plasmonisch aktiven Materialien realisiert. Die lokale Feldverstärkung findet hier ausschließlich am Apex der Spitze statt, sodass durch Rastern der Probe multispektrale Karten mit Auflösungen von unter 10 nm erzeugt werden können.

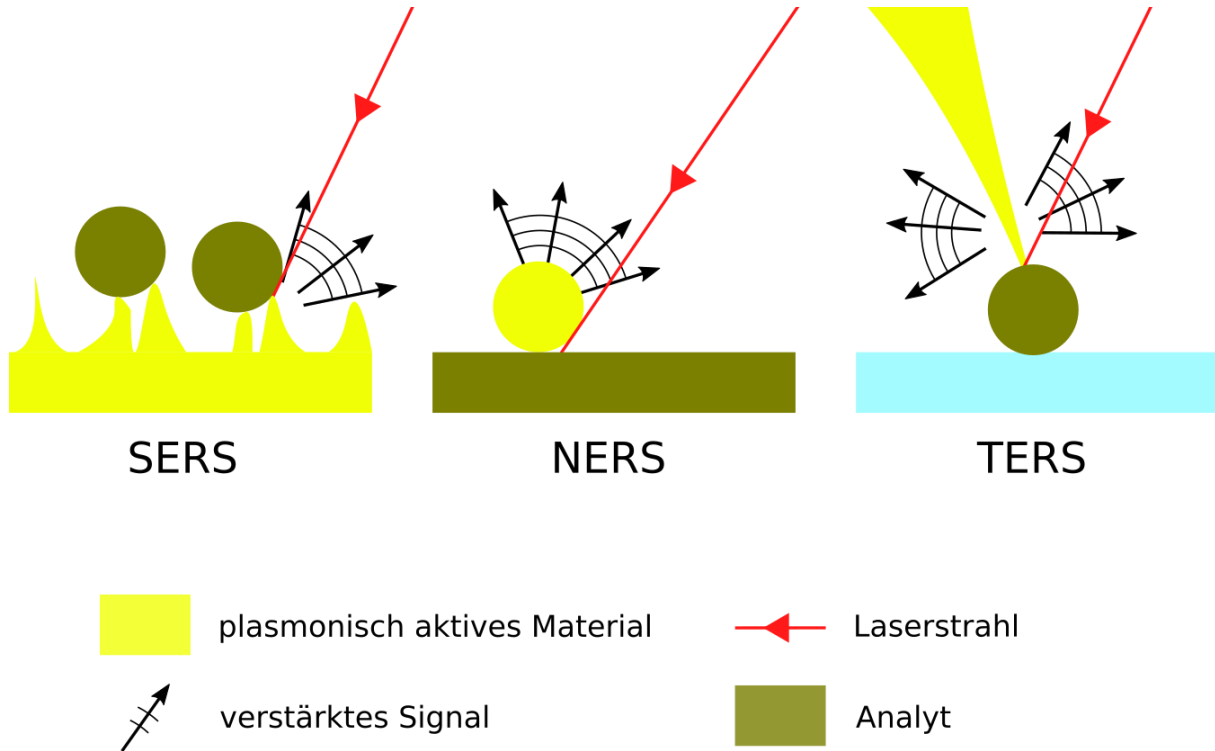


Abbildung 5: Schematische Funktionsweisen von SERS, NERS und TERS. Bei SERS wird das Raman-Signal lokal durch ein plasmonisch aktives, raues Substrat verstärkt. Bei NERS regt das oberflächensensitive Signal des Analyten auf der darauf liegende plasmonische Nanopartikel an, die es verstärkt abstrahlen. Für TERS wird die Probe mit einer plasmonisch aktiven AFM-Spitze gerastert und die Probe zeitgleich direkt am Apex der Spitze bestrahlt, sodass das Signal lokal unter dieser verstärkt wird.

Resonante Raman-Spektroskopie

Eine Möglichkeit zur Verstärkung der gemessenen Intensität, die keine eigenständige Technik im eigentlichen Sinne ist, sondern durch die Auswahl einer geeigneten Laserquelle erreicht werden kann, ist die resonante Raman-Spektroskopie. Eine resonante Anregung tritt dann auf, wenn die Energie der eingestrahlten Photonen ungefähr der eines elektronischen Übergangs im Analyten entspricht. Die energetische Übereinstimmung von Übergang und anregenden Photonen ist hierbei der Hauptfaktor für das Ausmaß der Intensitätsverstärkung, die Größenordnungen von bis zu 10^6 erreichen kann. Diese erreicht ihr Maximum, wenn die Laserwellenlänge dem Absorptionsmaximum der Verbindung entspricht. Aus diesem Grund werden für die resonante Raman-Spektroskopie oft Laser mit verstellbarer Wellenlänge genutzt.

In einem resonant verstärkten Raman-Spektrum werden lediglich Schwingungen verstärkt, die mit dem der der Laserwellenlänge assoziiert werden – dieses Verfahren ist also äußerst selektiv, was besonders in der Biologie zur Bildgebung von Strukturen und Prozessen in Zellen und

Gewebe genutzt wird. Gleichzeitig ist zu beachten, dass sich in Stoffen mit mehreren elektronischen Übergängen die Intensitäten der Raman-Peaks massiv verändern können, wenn die Probe mit verschiedenen Laserwellenlängen untersucht wird.

Beispiele für Strukturen mit elektronischen Übergängen im Bereich sichtbaren Lichts sind konjugierte Doppelbindungen sowie aromatische Moleküle, die in biologischen Proben häufig auftreten. Die resonante Verstärkung ermöglicht hierbei Messungen bei geringer Laserleistung, was eine schonende Untersuchung der biologischen Proben begünstigt.^[22,23]

Nichtlineare Raman-Spektroskopie: SRS, CARS und HRS

Die Erzeugung von Resonanz im Streuprozess kann auch durch nichtlineare Prozesse^[24-26] realisiert werden (d.h. 3- oder 4-Photonen-Mischprozesse, in denen die gemessene Signal-Intensität nichtlinear zur eingestrahlten Laserleistung skaliert). Im Unterschied zur zuvor behandelten resonanten Raman-Streuung jedoch werden hier keine elektronischen Übergänge resonant angeregt, sondern Übergänge zwischen verschiedenen Vibrationszuständen. Die in diese Kategorie einzuordnenden wichtigsten Techniken werden im Folgenden anhand ihrer Grundprinzipien kurz erläutert. Eine genauere Betrachtung eines dieser Prozesse, die kohärente Anti-Stokes-Raman-Streuung (CARS) inklusive der speziellen Technik des Multiplex-CARS, soll im folgenden Kapitel erfolgen.

Während spontane Raman-Streuung als 2-Photonen-Prozess mit einem einfallenden und einem gestreuten Photon beschrieben werden kann, dessen Intensität nach Gl. (9) linear mit der eingestrahlten Laserintensität skaliert, handelt es sich bei nichtlinearer Raman-Streuung um Wellen-Mischprozesse mit mehreren eingestrahlten Photonen, deren Intensität nichtlinear mit der eingestrahlten Laserleistung skalieren.

Im Falle der stimulierten Raman-Streuung (SRS) wird eine spezifische Schwingung im Analyten durch die räumlich und zeitlich kohärente Superposition zweier eingestrahlter Photonen (Pump- und Stokes-Photon) von Lasern unterschiedlicher Wellenlänge angeregt (s. Abb. 6), wodurch in der Folge eine verstärkte Raman-Streuung an dieser Mode stimuliert wird. In Resonanz entspricht die Energie der angeregten Mode dabei der Energiedifferenz der beiden eingestrahlten Photonen, wodurch der Prozess eine signifikante Verstärkung erfährt. Die Photonen des Pump-Lasers werden vermehrt durch Raman-Streuung in Photonen der Wellenlänge des Stokes-Lasers umgewandelt, sodass man durch Detektion des Intensitätsverlustes des Pump-Lasers (Stimulated Raman Loss, SRL) oder der Intensitätszunahme des Stokes-Lasers (Stimulated Raman Gain, SRG) die Streuintensität für die jeweilige Energiedifferenz eingestrahlten Photonen bestimmt werden kann.

Bei der kohärenten Anti-Stokes Raman-Streuung (CARS) wird ein ähnliches Prinzip angewandt wie bei SRS, jedoch wird beim CARS-Prozess ein Anti-Stokes Shift angeregt, indem zusätzlich zum

Anregungsmechanismus der SRS ein weiteres Photon des Pump-Lasers eingestrahlt wird (oft als Probe Light bezeichnet, s. Abb. 6; es gilt $E_P = E_{Pr}$). Die Superposition von Pump- und Stokes-Laser dient hierbei zur resonanten Anregung des Analyten in einen erhöhten Vibrationszustand, von dem aus dann mit dem dritten Photon die inelastische Streuung mit Anti-Stokes Shift erzeugt werden kann. Im Gegensatz zu SRS wird durch den CARS-Streuprozess Licht bei einer neuen Wellenlänge erzeugt. Durch Veränderung der Wellenlänge des Stokes-Lasers (in diesem Fall wird ein Laser mit verstellbarer Wellenlänge genutzt) oder Nutzung eines breitbandigen Stokes-Lasers (Multiplex-CARS, s. Kapitel 2.4) kann ein vollständiges Raman-Spektrum aufgenommen werden.

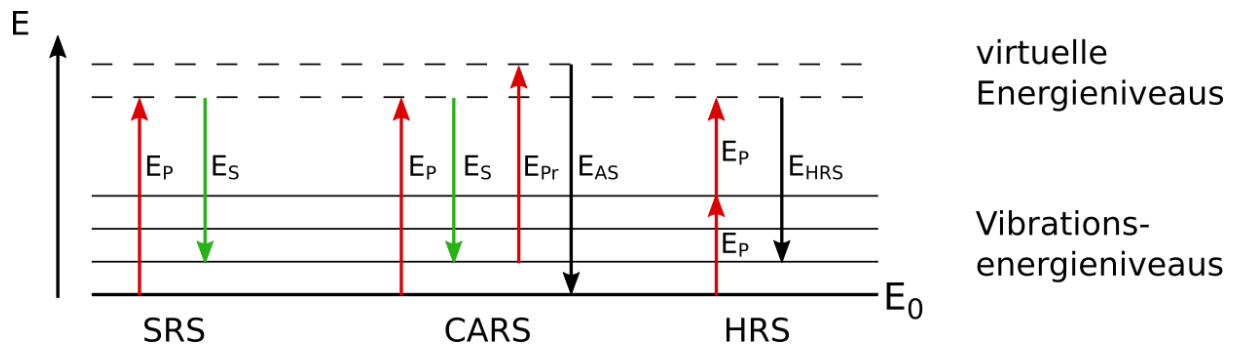


Abbildung 6: Jablonski-Diagramm für Stimulierte Raman-Streuung (SRS), Kohärente Anti-Stokes-Raman-Streuung (CARS) und Hyper-Raman-Streuung (HRS). Indices: P: Pump, S: Stokes, Pr: Probe AS: Anti-Stokes, HRS: Hyper-Raman-Streuung.

Die dritte wichtige Technik der nichtlinearen Raman-Spektroskopie ist die Hyper-Raman-Streuung (HRS). Diese arbeitet nur mit einer anregenden Laserwellenlänge und ihr Grundprinzip ähnelt der spontanen Raman-Streuung, doch im Gegensatz zu dieser findet hier eine Zwei-Photonen-Anregung statt, die effektiv wie eine Frequenz-Verdopplung des einstrahlenden Lasers wirkt (s. Abb. 6). Die Streuintensitäten der HRS sind vergleichsweise gering, sodass ihr Anwendungsgebiet begrenzt ist, doch können mit ihr Anregungen bei Energien hochfrequenten Lichts im Analyten erzeugt werden, ohne kurzwellige Laser nutzen zu müssen. Der wichtigste Aspekt der HRS ist jedoch, dass hier nicht mehr die Auswahlregeln der spontanen Raman-Spektroskopie Anwendung finden, sondern solche gelten, die sowohl von denen der Raman-Streuung, als auch denen der Infrarot-Absorption unabhängig sind. Somit stellt HRS eine dritte komplementäre Art der Schwingungsspektroskopie dar. Mit HRS können unter Umständen Schwingungsmoden angeregt werden, die in den anderen beiden Messmethoden „still“ sind, also kein Signal erzeugen.

2.4 M-CARS

In diesem Praktikum wird neben der spontanen Raman-Mikrospektroskopie auch die Methode der kohärenten Anti-Stokes-Raman-Streuung (CARS) in der Praxis vorgestellt. Das allgemeine Grundprinzip dieser Technik wurde bereits im vorigen Kapitel behandelt und soll nun genauer betrachtet werden. Wie zuvor erwähnt, existieren zwei übliche Wege, um die Vibrationsübergänge im Analyten anzuregen: entweder wird ein in der Wellenlänge veränderbarer Stokes-Laser verwendet, sodass die Energiedifferenz zwischen Pump- und Stokes-Laser beliebig angepasst werden kann, oder es kommt ein breitbandiger Stokes-Laser zum Einsatz. Das zweite Verfahren wird Multiplex-CARS (kurz: M-CARS) genannt und findet in diesem Praktikum Anwendung. ^[24,27]

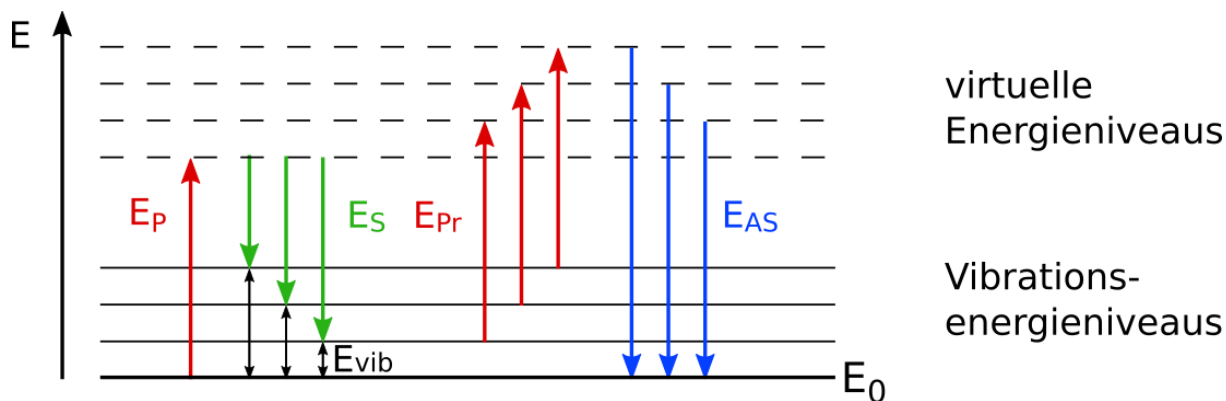


Abbildung 7: Jablonski-Diagramm für M-CARS. Der breitbandige Stokes-Laser ermöglicht die zeitgleiche resonante Anregung in verschiedene Vibrationsniveaus, was zur Detektion unterschiedlicher Anti-Stokes-Streufrequenzen führt.

Der Vorteil des M-CARS ist die direkte Verfügbarkeit des kompletten Anti-Stokes-Spektrums ohne aufwendige Variation der Stokes-Laser-Wellenlänge, da direkt alle anregbaren Vibrationsniveaus besetzt werden (s. Abb. 7). Das erhaltene CARS-Spektrum ist allerdings nicht direkt mit Spektren der spontanen Raman-Spektroskopie vergleichbar, denn neben den resonanten Vibrationsübergängen werden auch viele nicht resonante Übergänge angeregt, die sich durch den kohärenten Charakter der Messung zu einem nicht-resonanten Beitrag aufsummieren. Die Suszeptibilität 3. Ordnung $\chi^{(3)}$, die maßgebend für das detektierte CARS-Signal ist (s. Gl. (19)-(21)), enthält somit neben dem resonanten Beitrag $\chi_R^{(3)}$ auch einen nicht-resonanten Beitrag $\chi_{NR}^{(3)}$. Das CARS-Signal kann als Ergebnis eines 2-Wellen-Interferometers mit diesen zwei Komponenten betrachtet werden, das aus einem resonanten, einem nicht-resonanten und einem Mischbeitrag (dem sogenannten heterodynen Beitrag) besteht (Gl. (22)). ^[24]

$$I_{CARS} = |P^{(3)}|^2 \quad (19)$$

$$P^{(3)} = \chi^{(3)} \cdot E_P^2 \cdot E_S \quad (20)$$

$$\chi^{(3)} = \chi_R^{(3)} + \chi_{NR}^{(3)} \quad (21)$$

$$I_{CARS} \propto |\chi_R^{(3)}|^2 + |\chi_{NR}^{(3)}|^2 + 2\chi_{NR}^{(3)} \cdot \text{Re} [\chi_R^{(3)}] \quad (22)$$

(mit I_{CARS} : CARS-Intensität, $P^{(3)}$: induzierte nichtlineare Polarisation, $\chi^{(3)}$: Suszeptibilität 3. Ordnung, E_P : Pump-Feld, E_S : Stokes-Feld, Indices: R: resonant, NR: nicht resonant)

Der nicht resonante Hintergrund kann über den Messbereich als konstant angesehen werden und eine reale Größe, während der resonante Beitrag einen Imaginärteil besitzt. Da in den heterodynem Beitrag nur der Realteil des resonanten Beitrags einfließt, kann durch Isolation des imaginären Anteils am CARS-Signal ein rein resonanter Part gewonnen werden. Dies kann mit Techniken wie der Kramers-Kronig-Umwandlung realisiert werden, die in der Fachliteratur beschrieben sind^[28,29] und hier nicht näher vertieft werden sollen. Erst der so erhaltene rein resonante Teil des CARS-Signals ist mit Spektren der spontanen Raman-Spektroskopie direkt vergleichbar.

$$I_{CARS} \propto I_0^3 \quad (23)$$

$$I_{CARS} \propto N^2 \quad (24)$$

(mit I_{CARS} : CARS-Streuintensität, I_0 : Einstrahl-Intensität, N : Streudichte im Analyten)

Der nichtlineare Charakter dieser Technik zeigt sich in der Proportionalität der CARS-Intensität zu Laserintensität und Streudichte (Gl. (23)-(24)).^[30] Wird die Intensität des einstrahlenden Lasers verdoppelt, verachtfacht sich das generierte Signal. Bei Verdoppelung der Streudichte im Analyten vervierfacht sie sich. Aus diesem Grund können mit CARS bei Einsatz hoher Laser-Intensitäten sehr starke Streuintensitäten detektiert werden. Genauso sinkt das Messsignal allerdings auch bei Reduktion der Laserleistung und Streudichte nichtlinear, was bei sehr empfindlichen Proben problematisch werden kann, auf denen die eingestrahlte Leistungsdichte auf niedrigem Niveau gehalten werden muss. Einen Ausweg aus diesem Dilemma bietet die Tatsache, dass Pump- und Stokes-Laser nicht als CW-Laser, sondern gepulst eingesetzt werden. Durch die Modulation der Pulsfrequenz kann der Energieeintrag auf der Probe reduziert werden, ohne die Laserleistung pro Puls senken zu müssen, sodass auf diesem Wege lediglich eine lineare Absenkung des CARS-Signals verursacht wird.

3. Durchführung

3.1 Messaufbau

Im Praktikumsversuch wird das Raman-Spektroskop LabRAM HR Evolution von Horiba mit inversem Mikroskop-Aufsatz verwendet, das Messungen in 180° Rückstreugeometrie ermöglicht. Die wichtigsten Bestandteile des Gerätes sind schematisch in Abb. 8 dargestellt.

Der eingestrahelte Laser wird zunächst (optional) durch ein Polarisator-Element geleitet, das zum Beispiel aus einem Glan-Thompson-Prisma oder (bei linear vorpolarisiertem Laserlicht) einem $\lambda/2$ -Plättchen bestehen kann. Der nachfolgende Neutralsdichtefilter dient der Variation der Einstrahlintensität – über ein Rad mit Filtern verschiedener optischer Dichte kann diese von 0,01% bis 100% der ursprünglichen Laserintensität verändert werden. Über ein Spiegelsystem wird der Laserstrahl durch Einstellung des passenden Winkels in Totalreflexion zur Mikroskopeinheit gelenkt und dort durch ein Objektiv auf der Probe fokussiert. Diese lagert auf einem dreidimensional verfahrbaren Halter, sodass Beleuchtungsort und -fokus angepasst werden können.

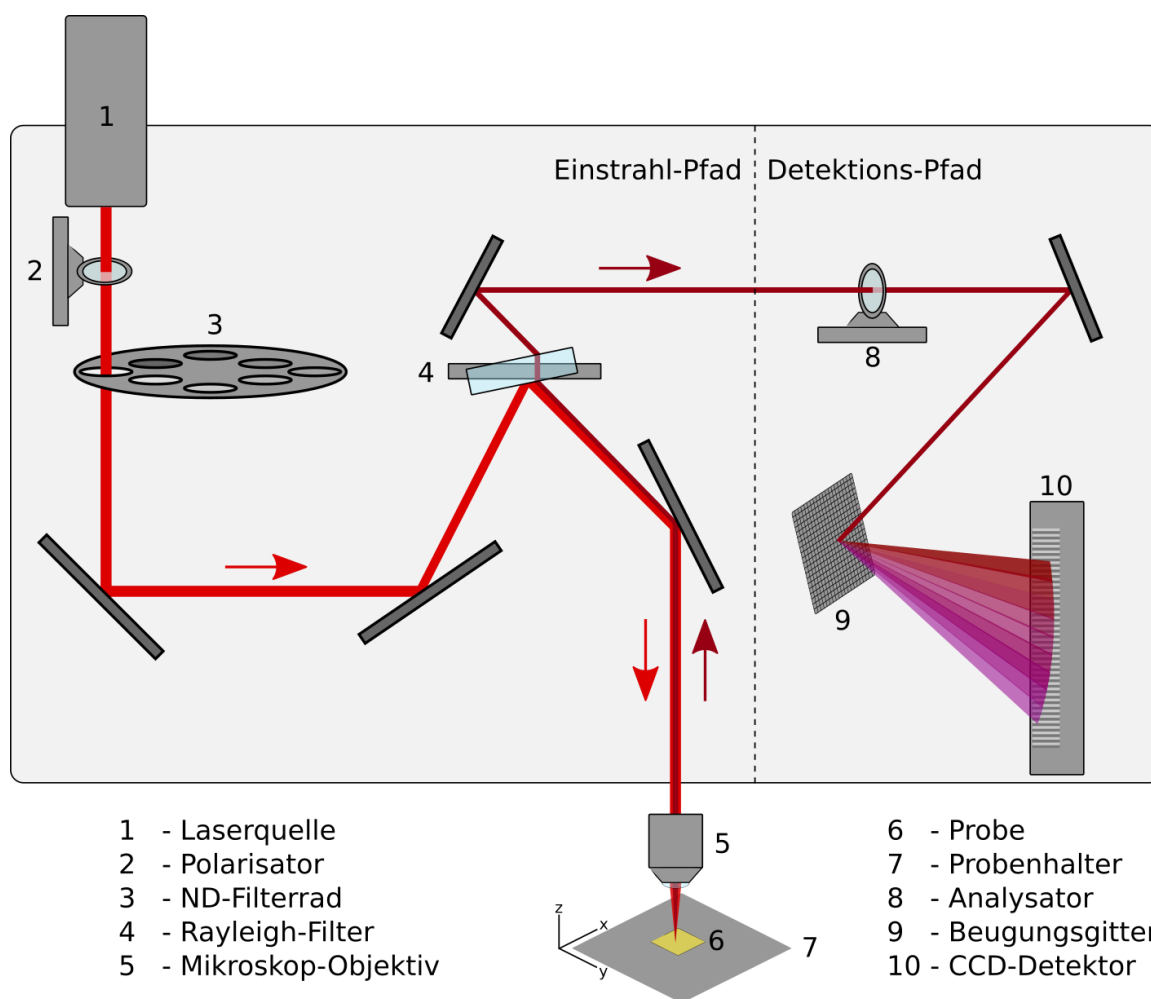


Abbildung 8: Aufbauschema des Horiba LabRAM HR Evolution Raman-Spektroskops mit den wichtigsten Elementen.

Das Gerät arbeitet in 180°-Rückstreugeometrie, das Streulicht wird also über das gleiche Objektiv wieder gesammelt und zurückgeleitet – allerdings in einem leicht veränderten Winkel, sodass es durch den Rayleigh-Filter in den Detektions-Pfad geleitet wird.

Die Aufgabe des Rayleigh-Filters ist die Abschwächung des elastisch gestreuten Lichts, das die Wellenlänge des einstrahlenden Lasers aufweist, weil die Rayleigh-Streuung um den Faktor 10^3 bis 10^4 stärker ist als Raman-Streuprozesse – die Intensität des Rayleigh-Peaks würde somit die empfindlichen CCD-Detektoren schädigen. Zwei verschiedene Filter-Modelle sind dabei üblich: Kantenfilter (engl. edge filter) schwächen das Licht ober- oder unterhalb einer einstellbaren Wellenlänge ab (abhängig davon, ob Stokes oder Anti-Stokes Shift gemessen werden soll), während Kerbfilter (engl. notch filter) lediglich in einem schmalbandigen Wellenlängenbereich um die Laserwellenlänge herum filtern.

Im Detektions-Pfad kann (wiederum optional) ein Analysator-Element installiert werden, das nur Licht einer bestimmten Polarisationsrichtung durchlässt (z.B. Glan-Thompson-Prisma). Das transmittierte Licht wird nun auf ein Beugungsgitter gelenkt, an dem es der Wellenlänge entsprechend durch verschieden große Beugungswinkel spektral aufgefächert wird. Die so aufgetrennten Komponenten regen schließlich in einem CCD-Detektor das Messsignal an, wobei bestimmte Pixel des Detektors durch Kalibrierung einer festen Wellenlänge des detektierten Lichts zugeordnet werden. Neben der Pixelgröße des Detektors bestimmt somit auch die Wahl des Beugungsgitters die spektrale Auflösung der Messung, also den Wellenlängenabstand zwischen zwei Pixeln des Detektors. Je feiner das Gitter ist, desto präziser ist die Auftrennung, desto kleiner ist aber auch der Spektralbereich, in dem mit einer Messung das Signal detektiert werden kann. Für das im Praktikum vorhandene Gerät sind Beugungsgitter mit Feinheiten von 100 bis 2400 Einkerbungen pro Millimeter vorhanden.

Für die spontane Raman-Spektroskopie stehen im Labor 4 verschiedene monochromatische Laserquellen zur Verfügung. Die Laserwellenlängen betragen 266 nm (UV), 405 nm (blau), 633 nm (rot) und 785 nm (IR), sodass bei verschiedenen Farben des sichtbaren Lichts und darüber hinaus eingestrahlt werden kann.

Für CARS-Experimente werden ein monochromatischer Pump-Laser mit einer Wellenlänge von $\lambda_p = 1064 \text{ nm}$ und ein Stokes-Laser mit einem Wellenbereich von $\lambda_s = 1064 \dots 2200 \text{ nm}$ eingesetzt. Durch die maximale Energiedifferenz der Photonen von ca. 0,6 eV ergibt sich ein messbarer Anti-Stokes Shift bis ca. 4840 cm^{-1} .

3.2 Spektrenaufnahme

Vor jedem Versuch am Raman-Spektroskop muss das System mit Hilfe einer bekannten Probe für die genutzte Kombination aus Laserquelle und Beugungsgitter kalibriert werden. Einerseits können hierfür bekannte Materialien wie Silizium verwendet werden, die einen deutlich messbaren und isolierten Raman-Peak aufweisen, dessen Raman Shift exakt bekannt ist. Andererseits kommen hier auch die Plasma-Linien von Gasentladungslampen zum Einsatz, da diese sehr präzise Kalibrierungen ermöglichen – der Nachteil dieser Methode ist, dass die Plasmalinien bei einer fest definierten Wellenlänge detektiert werden (im Gegensatz zu Referenzproben wie Silizium, das einen fest definierten Raman Shift besitzt), sodass Gasentladungslampen nicht für alle Laserquellen gleichermaßen nutzbar sind. Generell gilt, dass die zur Kalibrierung genutzten Signale etwa im Spektralbereich des zu untersuchenden Analyten liegen sollten, um eine möglichst exakte Kalibrierung zu erreichen.

Vor der Messung muss die eingesetzte Laserquelle anhand verschiedener Kriterien ausgewählt werden. Einerseits ist hier die in Kapitel 2.1 erwähnte Proportionalität der Raman-Streuintensität zur vierten Potenz der Laserfrequenz zu beachten (Gl. (10)), die die Wahl eines möglichst kurzwelligen Lasers begünstigt. Andererseits können bei bestimmten Wellenlängen resonante Übergänge angeregt werden, die (wie in Kapitel 2.3 behandelt) erwünschte, aber auch unerwünschte Nebenwirkungen haben können.

Außerdem kann bei der Nutzung langwelliger Laser das Auftreten von Fluoreszenzeffekten vermieden werden, die zum Beispiel bei organischen Proben oft auftreten und das Raman-Spektrum überlagern können, da die niedrigere Photonenenergie langwelliger Laser oft zu gering zur Anregung von Fluoreszenz ist. Klar definierte Photolumineszenz-Peaks, die das Spektrum störend überlagern, können durch Änderung der Laserwellenlänge auch spektral von den Raman-Peaks getrennt werden, da Photolumineszenz bei festen Wellenlängen auftritt, während die spektrale Position der Raman Peaks immer relativ zur eingestrahlten Laserwellenlänge ist.

Ein letzter wichtiger Faktor ist die optische und thermische Belastung der Probe: durch die Fokussierung des Laserstrahls mittels des Mikroskop-Objektivs können temperaturempfindliche und optisch wenig stabile Materialien selbst bei geringen Laserleistungen degradieren. Langwellige Laser sind hierbei in der Regel schonender für den Analyten, doch hängt die Belastung vom spezifischen Absorptionsverhalten, der Hitzeabführung sowie der chemischen Umgebung der Probe ab. In jedem Falle sollte man sich der Tatsache bewusst sein, dass durch den Energieeintrag des Lasers der Analyt chemisch und strukturell verändert werden kann.

Wurden ein geeigneter Laser und ein passendes Beugungsgitter ausgewählt und die Kalibrierung erfolgreich durchgeführt, kann das Ergebnis der Spektrenaufnahme durch die Wahl der spezifischen Einstellungen entscheidend verändert werden. Beispielsweise kann die breite des Laserstrahls vor der Fokussierung durch eine Lochblende verändert werden, ebenso bestimmt die Wahl des Objektivs entsprechend des Auflösungsvermögens und der numerischen Apertur die Genauigkeit und Stringenz der Auswahlregeln in der Messung.

Durch die Wahl des geeigneten ND-Filters kann die Laserintensität entsprechend der spezifischen Anforderungen an die Messung angepasst werden. Neben der thermischen und optischen Belastung für die Probe ist hier auch zu beachten, dass das obere Detektionslimit des CCD-Detektors bei 64.000 Zählungen pro Messung liegt – stärkere Signale werden nicht nur abgeschnitten, die Signalflutung des Detektors verfälscht auch die Signale der umliegenden Pixel und schädigen auf Dauer den Detektor. Wie in Kapitel 2.4 erwähnt, ist für CARS-Messungen zu beachten, dass das Signal nichtlinear abfällt, wenn die Laserintensität reduziert wird. Eine Alternative ist hier die Verringerung der Pulsfrequenz die im natürlichen Betriebsmodus bei 29 kHz liegt und im modulierten Modus im Bereich 10...20 kHz eingestellt werden kann.

Darüber hinaus kann die Zahl der Akkumulationen festgelegt werden – also der Messwiederholungen, die schließlich zu einem Durchschnittswert zusammengefasst werden. Durch Erhöhung der Messzeit und der Zahl der Akkumulationen kann Signalrauschen ausgeglichen und das Spektrum so geglättet werden. Außerdem ermöglicht die Akkumulation mehrerer Messungen, Artefakte kosmischer Strahlung aus dem Spektrum zu eliminieren, die vom CCD-Detektor gemessen werden. Wenn es die Umstände der Messung ermöglichen, sollten in der Regel mindestens zwei Akkumulationen gewählt werden.

3.3 Sicherheitshinweise

In diesem Versuch können Laser der Klassen 3B und 4 zum Einsatz kommen. Bei ordnungsgemäßer Nutzung der im Praktikum verwendeten Funktionen des Horiba LabRAM HR Evolution Raman-Spektroskops besteht keine Gefahr für die Anwender und keine Notwendigkeit zum Tragen entsprechender Sicherheitsausrüstung, da der Laserstrahl durch das Gehäuse des Geräts abgeschirmt ist und beim Öffnen der vom Nutzer bedienten Elemente durch automatische Shutter unterbrochen wird. Allerdings existieren weitere Gerätefunktionen, mit denen die Laser ausgekoppelt werden. Aus diesem Grund sind Gerätefunktionen ausschließlich nach Einweisung in der erklärten Art und Weise zu nutzen.

Laser der Klassen 3B und 4 können ernsthafte Schäden der Haut und insbesondere der Augen hervorrufen. Selbst Streulicht stellt hierbei eine nicht zu vernachlässigende Gefahr dar, insbesondere bei Lasern in für das menschliche Auge nicht sichtbaren Wellenlängenbereichen.

3.4 Versuchsdurchführung

1. Führen Sie mit Hilfe einer Silizium-Standardprobe die Kalibrierung des Systems für die 405 nm- und 633 nm-Laserquellen mit beiden eingebauten Beugungsgittern (600 gr/mm und 1800 gr/mm) durch! Was gilt für diese Art der Kalibrierung zu beachten? Kann sie auch für den CARS-Laser verwendet werden?
2. Nehmen Sie das Raman-Spektrum einer WS₂-Monolage mit dem 633 nm- und 405 nm-Laser auf! Inwiefern gleichen sich die Spektren, worin unterscheiden sie sich? Vergleichen Sie mit Literaturwerten und ordnen Sie den gemessenen Peaks die zugehörigen Phononen zu!
3. Messen Sie auf stöchiometrischem Lithiumniobat in den Geometrien $z(y\ y)\bar{z}$ und $z(x\ y)\bar{z}$! Erklären Sie die verschiedenen Beobachtungen und weisen Sie den Peaks mit Hilfe von Literaturdaten die zugehörigen Phononen zu! Wären diese Spektren auch für x- und y-Schnitte des Kristalls zu erwarten?
4. Nehmen Sie die Spektren von stöchiometrischem und kongruentem Lithiumniobat auf (beide im z-Schnitt, 633 nm-Laser, 100x-Objektiv, kein Analysator)! Worin gleichen sich die Proben, welche Unterschiede treten in den Spektren auf?
Nehmen Sie von der stöchiometrischen Probe neben dem Spektrum mit dem 100x-Objektiv (NA = 0,9) auch eines mit dem 10x-Objektiv (NA = 0,3) auf, vergleichen Sie und erklären Sie die beobachteten Unterschiede!
5. Messen Sie das Raman-Spektrum von Isopropanol mit dem 633 nm-Laser! Versuchen Sie, die Peaks den verschiedenen Atombindungen im Molekül zuzuordnen (die Bestimmung der Schwingungsart ist nicht notwendig)! Wie sind die Intensitätsunterschiede zwischen den Banden zu erklären? Können Sie jeder Bindung im Molekül einen Peak zuordnen? Welche Intensitätsverhältnisse würden Sie für Infrarot-Spektroskopie am gleichen Stoff erwarten?
6. Führen Sie Linien-Scans über Domänenwände auf einer Probe periodisch gepoltem Lithiumniobat (5% Mg-dotiert) mit dem 633 nm-Laser und M-CARS durch! Vergleichen Sie hinsichtlich Messaufbau, Detektionsgeschwindigkeit und detektiertem Signal!
Führen Sie mit beiden Techniken Punktmessungen bei 100% und 50% Einstrahl-Leistung durch und vergleichen Sie die gemessenen Signal-Intensitäten! Wie kommen diese Unterschiede zustande?

4. Hinweise zur Auswertung

Die Durchführung der Messungen und Auswertung geschieht mit der Messsoftware LabSpec 6 von Horiba. Dies kann an einem Rechner im Labor (nach Absprache auch außerhalb des Praktikums möglich) geschehen, die Software kann aber auch als 30-Tage-Testversion auf dem heimischen Rechner installiert werden (Größe des Installationsordners: 74 MB). Hierfür und für die Speicherung der aufgenommenen Daten wird mindestens ein USB-Stick pro Praktikumsgruppe benötigt.

Die Software ermöglicht die Darstellung und Anpassung von Spektren, die Subtraktion von Vergleichsspektren, die grafische Darstellung hyperspektraler Karten und das Fitting sich überlagernder Peaks.

Literatur zur Auswertung der gefundenen Raman-Peaks für die untersuchten Materialien kann i.d.R. mittels Google Scholar gefunden werden, auf konkrete Anfrage werden entsprechende Paper auch bereitgestellt.

Problemstellungen und Erkenntnisse sollten kurz und prägnant zusammengefasst werden. In dieser Anleitung vermitteltes Wissen wird als bekannt betrachtet und muss zur Auswertung nicht bis ins Detail wiederholt werden.

Bei der Auswertung sollten folgende Fragen stets im Hinterkopf behalten werden:

Warum habe ich diese Einstellungen gewählt?

Was sind störende Einflüsse während der Messung?

Welche Erkenntnisse können gewonnen werden? Sind diese eindeutig? Warum evtl. nicht?

5. Fragen

Zur Vorbereitung auf das Praktikum sollten folgende Fragen beantwortet werden können:

1. Welcher Effekt wird bei der Raman-Spektroskopie genutzt?
2. In welcher Verbindung stehen Raman- und Infrarot-Spektroskopie zueinander?
3. In welcher Maßeinheit werden Peakpositionen im Spektrum angegeben? Warum?
4. Über welche physikalischen Eigenschaften einer Probe können aus Raman-Spektren Informationen gewonnen werden?
5. Inwiefern unterscheidet sich Raman-Streuung an Kristallen zu der in Gläsern oder Lösungen?
6. Kann man abschätzen, wie viele Raman-Peaks man für eine bekannte Probe erhält und wo im Spektrum sie auftauchen?
7. Was sind gängige Techniken der Raman-Spektroskopie? Inwiefern unterscheiden sie sich?
8. Was ist M-CARS? Sind damit erlangte Spektren mit „normalen“ Raman-Spektren vergleichbar?
9. Was sind die wichtigsten Teile eines Raman-Spektroskops?
10. Nach welchen Gesichtspunkten wird die Auswahl des genutzten Lasers getroffen?
11. Welche Nebeneffekte können bei einer Messung auftreten? Wie kann man sie umgehen?
12. Wann ist der Einsatz polarisationssensitiver Raman-Spektroskopie sinnvoll?
13. Welchen Effekt können Defekte auf das Raman-Spektrum eines Kristalls haben?
14. Wann ist der Einsatz spontaner Raman-Spektroskopie sinnvoll, wann der von M-CARS?

6. Literatur

- [1] A. Smekal, Die Naturwissenschaften **11**, Nr. 43, 873 (1923).
- [2] C.V. Raman, Indian J. Phys. **2**, 387 (1928).
- [3] I.R. Lewis, H.G.M. Edwards, *Handbook of Raman Spectroscopy: From the Research Laboratory to the Process Line*, 1. Ed., S. 1 ff., Marcel Dekker Inc. (2001).
- [4] T. Venkatarayudu, J. Chem. Phys. **22**, 1269 (1954).
- [5] A. P. French, *Vibrations and Waves*, 1. Ed., S. 214, W. W. Norton (1971).
- [6] J.R. Ferraro, K. Nakamoto, C.W. Brown, *Introductory Raman Spectroscopy*, 2. Ed., S. 16, Academic Press (2003).
- [7] D. Tuschel, Spectroscopy **31**, Issue 12, 8–13 (2016). Verfügbar unter: https://www.lbt-scientific.com/uploads/6/0/1/3/60131373/spectroscopy_31_12_8-13_2016_reprint.pdf
- [8] M.S. Amer, *Raman Spectroscopy, Fullerenes and Nanotechnology*, 1. Ed., S. 95 f., RCS Publishing (2010).
- [9] H.A. Szymanski, *Raman Spectroscopy: Theory and Practice Vol. 2*, 1. Ed., S. 35, Plenum Press New York (1970).
- [10] D. Tuschel, Spectroscopy **32**, Issue 3, 26–33 (2017). Verfügbar unter: http://www.lbt-scientific.com/uploads/6/0/1/3/60131373/spectroscopy_32_3_26-33_2017_reprint.pdf
- [11] D. Tuschel (Horiba), *Raman spectra in crystalline and amorphous solids*, Webinar, 2016. Verfügbar unter: <http://www.horiba.com/de/scientific/products/raman-spectroscopy/raman-academy/webinars/raman-spectra-in-crystalline-and-amorphous-solids/> (aufgerufen 11.06.19).
- [12] The Materials Project, *SiO₂*, Datenbankeintrag. Verfügbar unter: <https://materialsproject.org/materials/mp-7000/> (aufgerufen 11.06.19).
- [13] D. Tuschel, Spectroscopy **29**, Issue 2, 14–23 (2014). Verfügbar unter: https://www.lbt-scientific.com/uploads/6/0/1/3/60131373/spectroscopy_29_2_14-23_2014_reprint.pdf
- [14] D. Tuschel, Spectroscopy **29**, Issue 3, 14–22 (2014). Verfügbar unter: https://www.lbt-scientific.com/uploads/6/0/1/3/60131373/spectroscopy_29_3_14-22_2014_reprint.pdf
- [15] M. Rüsing et al., Physical Review Materials **2**, 103801 (2018).
- [16] D. Tuschel, Spectroscopy **32**, Issue 9, 14–23 (2017). Verfügbar unter: https://www.lbt-scientific.com/uploads/6/0/1/3/60131373/spectroscopy_32_9_14-23_2017_reprint.pdf
- [17] K.A. Willets, R.P. Van Duyne, Annu. Rev. Phys. Chem. **58**, 267–97 (2007).
- [18] D. Kurouski, H. Lee, F. Roschangar, C. Senanayake, Spectroscopy **32**, Issue 11, 2–9 (2017).
- [19] N. Jiang et al., Chemical Physics Letters **659**, 16 (2016).
- [20] J. F. Li et al., Nature Letters **464**, 392 (2010).
- [21] E.J. Blackie, E.C. Le Ru, P. G. Etchegoin, J. Am. Chem. Soc. **131**, 14466 (2009).

-
- [22] F. Adar, Spectroscopy **28**, Issue 6 (2017). Verfügbar unter: <https://pdfs.semanticscholar.org/9d34/ac3d0c0f87d48d754ce0bdfa06f140351e39.pdf>
- [23] D. Tuschel, Spectroscopy **33**, 12 (2018). Verfügbar unter: http://files.pharmtech.com/alfresco_images/pharma/2018/12/12/9367631c-71e9-4aca-a20d-f8d863d5ad9c/Spectroscopy_Dec2018.pdf
- [24] H. Rigneault, P. Berto, APL Photonics **3**, 091101 (2018).
- [25] Y.R. Shen, N. Bloembergen, Phys. Rev. **137**, A1787 (1965).
- [26] L.D. Ziegler, J. Raman Spectr. **21**, 769 (1990).
- [27] J.-X. Chieng, X.S. Xie, J. Phys. Chem. B **108**, 827 (2004).
- [28] M.T. Cicerone, K.A. Aamer, Y. J. Lee, E. Vartiainen, J. Raman Spectrosc. **43**, 637 (2012).
- [29] Y. Liu, Y.J. Lee, M.T. Cicerone, Opt. Lett. **34**, 1363 (2009).
- [30] E.O. Potma, S. Mukame, *Theory of Coherent Raman Scattering*, in: *Coherent Raman Scattering Microscopy*, 1. Ed., S. 9, CRC Press (2013).