

# Scelta della lunghezza d'onda del laser più adatta alla propria applicazione Raman

Nel corso degli anni, la spettroscopia Raman dispersiva è stata sempre più implementata per l'analisi dei campioni, inclusa l'identificazione dei materiali, la ricerca biomedica e archeologia grazie alla sua portabilità e flessibilità di campionamento. Quando si sceglie uno strumento Raman, una delle preoccupazioni principali è la lunghezza d'onda del laser integrato nel sistema spettrometrico Raman. L'impronta digitale Raman e la posizione di picco specifica di qualsiasi materiale è correlata alla struttura chimica unica del materiale ed è indipendente dalla lunghezza d'onda di eccitazione, quindi l'impronta molecolare sarà la stessa indipendentemente dalla lunghezza d'onda del laser di eccitazione. Tuttavia, diverse lunghezze d'onda di eccitazione forniscono punti di forza e di debolezza

specifici consentendo all'utente di ottimizzare la misurazione di diversi campioni scegliendo la lunghezza d'onda del laser di eccitazione Raman. Quindi, come si seleziona una lunghezza d'onda di eccitazione laser per applicazioni particolari? Esistono molte diverse opzioni di eccitazione, ma le tre più utilizzate sono 532 nm, 785 nm e 1064 nm. Il più popolare è il sistema di eccitazione a 785 nm in quanto offre il miglior equilibrio tra potenza del segnale, sensibilità alla fluorescenza, costo e prestazioni complessive e può essere utilizzato per raccogliere rapidamente lo spettro Raman della maggior parte dei materiali organici. Quando i campioni sono fluorescenti nelle altre lunghezze d'onda, la lunghezza d'onda di 1064 nm è vantaggiosa.

## FATTORI DA CONSIDERARE

Di seguito sono elencati alcuni importanti indicatori di

prestazione per queste tre lunghezze d'onda:

	<u>532 nm</u>	<u>785 nm</u>	<u>1064 nm</u>
Efficienza di eccitazione	alto	medio	basso
Fluorescenza	alto	medio	basso
Assorbimento di calore	basso	medio	alto

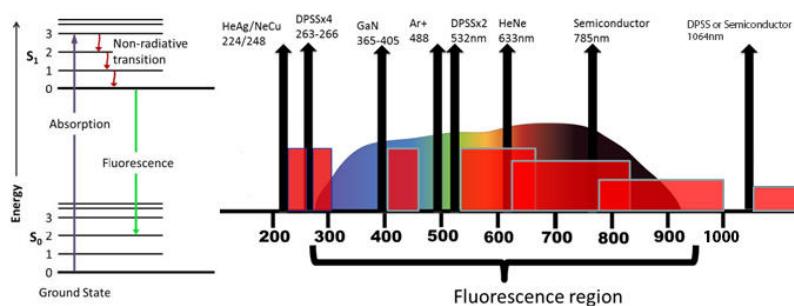
La differenza più evidente è l'efficienza di eccitazione. L'efficienza dello scattering Raman è proporzionale a  $\lambda^{-4}$ , dove  $\lambda$  è la lunghezza d'onda del laser. Ad esempio, lo scattering Raman a 532 nm è 4,7 più efficiente rispetto a 785 nm e 16 volte migliore

rispetto a 1064 nm, il che significa che il tempo di scansione a lunghezze d'onda maggiori deve essere molto più lungo rispetto al tempo di scansione per raccogliere lo spettro utilizzando 532 nm, assumendo che tutte le altre condizioni rimangano le stesse.

$$P_{Scattered} \propto \frac{I_o}{\lambda^4}$$

La sensibilità del rivelatore è un'altra preoccupazione. Poiché la maggior parte degli strumenti utilizzano lo spettro Stokes Raman, i segnali Raman eccitati da un laser a 532 nm vengono distribuiti nella gamma del visibile, dove la risposta è migliore per la maggior parte dei rivelatori CCD a base di silicio. I segnali Raman provenienti da sistemi a 785 nm rientrano nell'intervallo NIR (750-1050 nm), dove la risposta è ancora relativamente buona. Per 1064 nm, tuttavia, poiché non c'è risposta dal silicio al di sopra di 1100 nm, i rivelatori InGaAs sensibili al NIR vengono normalmente utilizzati per strumenti dispersivi. Inoltre, un sensore da 512 pixel è integrato per la maggior parte degli strumenti Raman a 1064 nm dispersivi (vs. 2048 per la maggior parte degli altri) a causa di problemi di controllo dei costi, che porta a una risoluzione del rivelatore relativamente inferiore e a una copertura dello shift Raman potenzialmente inferiore.

Un altro importante fenomeno che si verifica e interferisce con la misurazione dello spettro Raman è la fluorescenza, che nella maggior parte dei casi è un fattore decisivo quando l'efficienza di eccitazione è molto importante. La fluorescenza è prodotta in un processo molto simile allo scattering Raman ma si basa sul meccanismo della fotoluminescenza. I picchi Raman mantengono una separazione costante dalla frequenza di eccitazione; nel frattempo, la fluorescenza è ancorata a una frequenza o lunghezza d'onda specifica, il che significa che non si sposta con il laser di eccitazione. Inoltre, l'effetto sbiancante della fluorescenza fa diminuire i segnali di fluorescenza nel tempo. Per ridurre al minimo l'interferenza della fluorescenza con uno spettro Raman, è preferibile l'eccitazione laser a lunghezza d'onda superiore. La fluorescenza può essere forte quando si misurano campioni, coloranti e prodotti naturali più scuri.



**Figure 1.** Diagramma energetico per fluorescenza e laser di diversa lunghezza d'onda utilizzati nell'intervallo spettrale di fluorescenza.

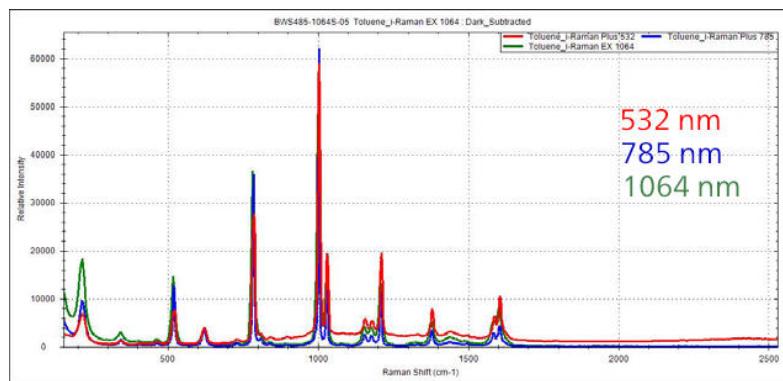
Deve essere preso in considerazione anche l'assorbimento di energia laser da parte dei campioni poiché ciò potrebbe causare il riscaldamento del campione e portare a cambiamenti nel campione. Generalmente, maggiore è la lunghezza d'onda di eccitazione, più il campione assorbe la luce e si riscalda. In casi estremi, campioni liquidi di piccole dimensioni possono essere portati a ebolizione, mentre i campioni colorati, scuri o neri possono essere danneggiati. Il danno del campione correlato all'assorbimento di energia laser può essere evitato o

ridotto al minimo, ruotando il campione o abbassando la densità di potenza del laser sul campione, ma questi passaggi aggiungono complessità e/o aumentano il tempo di misurazione. Pertanto, con determinate configurazioni di misurazione errate, è possibile che si verifichino danni al campione a causa di una manipolazione impropria anche se Raman è una tecnologia non distruttiva. Anche altri fattori, come l'effetto Raman di risonanza, dovrebbero essere presi in considerazione quando si sceglie una lunghezza d'onda.

## ANALISI

Di seguito, mostriamo alcuni spettri campione che mostrano le diverse prestazioni di varie eccitazioni. Va notato che ci sono molti materiali che possono essere scansionati usando qualsiasi lunghezza d'onda senza

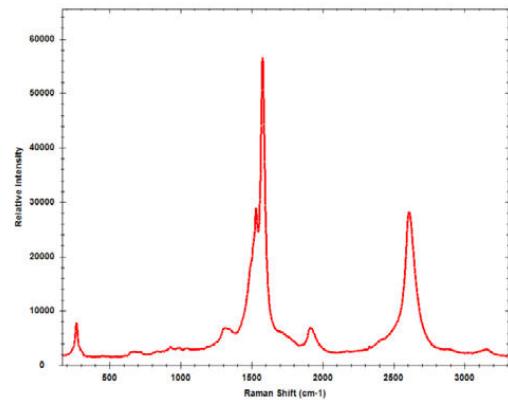
problemi. Nell'esempio, viene mostrato che lo spettro Raman del toluene può essere misurato facilmente utilizzando tutti e tre i laser di eccitazione standard.



**Figure 2.** Spettri Raman di toluene misurati con eccitazione laser a 532 nm, 785 nm e 1064 m.

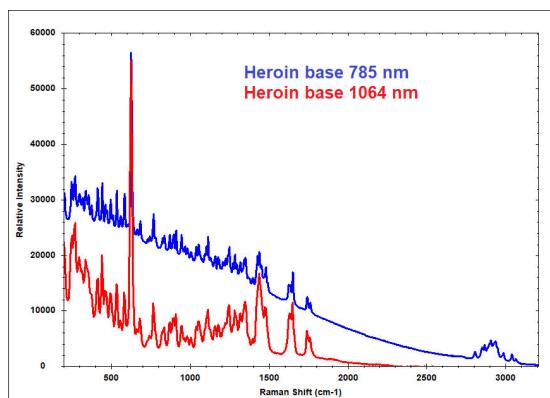
L'eccitazione laser a 532 nm fornisce una buona sensibilità ed è comunemente utilizzata per analisi dei nanotubi di carbonio, dove il campione potrebbe bruciare a 785 nm. Certo, c'è l'opzione di abbassare la potenza del laser per la lunghezza d'onda più alta, ma ciò comporterà un SNR inferiore. L'eccitazione a 532 nm è consigliata anche per ossidi metallici o minerali e materiali inorganici in genere. Lo strumento a 532 nm ha anche il vantaggio di coprire l'intera gamma da  $65\text{ cm}^{-1}$  a  $4000\text{ cm}^{-1}$ , che può essere una considerazione importante per alcune applicazioni in cui sono presenti segnali distinti nella regione di shift Raman superiore, inclusi i gruppi funzionali  $-\text{NH}$  e  $-\text{OH}$  tra  $2800$  e  $3700\text{ cm}^{-1}$ .

L'eccitazione della lunghezza d'onda di 785 nm è la lunghezza d'onda più popolare e di comune in uso, poiché funziona in modo efficiente per oltre il 90% dei materiali attivi Raman con un'interferenza limitata dalla fluorescenza. A seconda del campione e della potenza del segnale Raman corrispondente, una



**Figure 3.** Spettro Raman di nanotubi di carbonio raccolti con eccitazione a 532 nm.

singola acquisizione di scansione può richiedere da un secondo a diversi minuti. Tra le 3 lunghezze d'onda standard, l'equilibrio tra riduzione della fluorescenza e risoluzione spettrale rende il 785 nm la scelta più popolare.

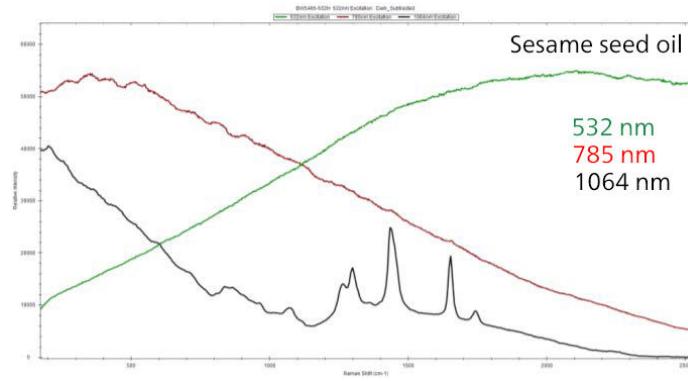


**Figure 4.** Spettri Raman dell'eroina raccolti con eccitazione a 785 nm e 1064 nm, dimostrando che la fluorescenza è attenuata quando si utilizza la lunghezza d'onda più lunga.

Ad esempio, è possibile misurare lo spettro Raman dell'olio di semi di sesamo, un liquido scuro, può essere misurato con un'eccitazione di 1064 nm, ma le

Negli spettri a sinistra della base di eroina scansionata usando l'eccitazione a 785 nm e 1064 nm, lo spettro a 785 nm mostra più dettagli grazie alla migliore risoluzione, ma ha una linea di base inclinata a causa della fluorescenza. È stato anche acquisito utilizzando un tempo di integrazione molto più breve rispetto a 1064 nm, 10 secondi contro decine di secondi elevati. Nella maggior parte dei casi, viene scelta l'eccitazione laser a 1064 nm per ridurre al minimo la fluorescenza.

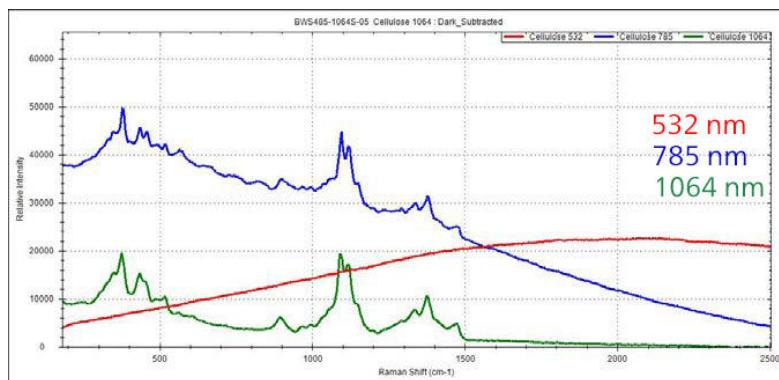
caratteristiche Raman negli spettri raccolti da 532 nm e 785 nm sono mascherate da una forte fluorescenza.



**Figure 5.** Spettri Raman dell'olio di sesamo, sovrapposti dalla fluorescenza quando misurati con eccitazione a 532 e 785 nm e con picchi Raman chiaramente evidenti a eccitazione a 1064 nm.

Sebbene in passato ci siano state preoccupazioni sulla fluorescenza nella cellulosa, è possibile raccogliere un buon spettro utilizzando 785 nm e 1064 nm, con un contributo di fondo inferiore utilizzando 1064 nm. La

fluorescenza è dannosa per misurare lo spettro Raman della cellulosa solo se misurata utilizzando 532 nm.



**Figure 6.** Spettri Raman di cellulosa misurati con eccitazione laser a 532 nm, 785 nm e 1064 m.

## **RIASSUNTO**

- Il laser a 532 nm fornisce la massima energia per bombardare la struttura del campione, portando ad una maggiore fluorescenza, che lo rende ideale per materiali inorganici;
- Il laser a 785 nm fornisce un equilibrio di prestazioni con un'efficienza di eccitazione inferiore ma anche inferiore fluorescenza, offrendo le migliori prestazioni economiche e rendendola la scelta migliore per la maggior parte delle sostanze chimiche;
- Il laser a 1064 nm funziona con la minor fluorescenza ma richiede anche un tempo relativamente più lungo per ottenere livelli di segnale adeguati da analizzare, pur avendo una maggiore probabilità di riscaldare un campione se non si presta particolare attenzione. Questo lo rende più adatto per materiali colorati e più scuri come prodotti naturali, coloranti, oli e polimeri colorati.

## **ULTERIORI LETTURE**

[Analisi del carbonio con spettroscopia Raman portatile ad alta velocità di trasmissione del segnale](#)

## **CONTACT**

Metrohm Italiana Srl  
Via G. Di Vittorio, 5  
21040 Origgio (VA)

[info@metrohm.it](mailto:info@metrohm.it)

## CONFIGURAZIONE



### Spettrometro Raman portatile i-Raman Plus 532H

i-Raman® Plus 532H fa parte della nostra serie di spettrometri Raman portatili insignita di premi ed è dotato della nostra innovativa tecnologia spettrometrica intelligente. Questo spettrometro Raman portatile utilizza un sensore con array CCD ad elevata efficienza quantica, il raffreddamento termoelettrico e un intervallo dinamico elevato per garantire prestazioni eccezionali con il minimo rumore, anche in caso di tempi di integrazione che arrivano fino a 30 minuti. In questo modo è possibile misurare anche segnali Raman deboli.

Lo strumento i-Raman Plus 532H si caratterizza per la combinazione unica di ampia gamma spettrale ed elevata risoluzione con configurazioni che consentono di effettuare misure da  $65\text{ cm}^{-1}$  a  $3.400\text{ cm}^{-1}$ . La base piccola, la leggerezza e il consumo ridotto di energia permettono di eseguire analisi Raman dappertutto, a livello di ricerca. i-Raman Plus è dotato di sonda a fibra ottica per un campionamento facile ed è utilizzabile con un supporto per cuvette, un videomicroscopio, un tavolo scorrevole XYZ con supporto per sonda, nonché con il nostro software per l'analisi multivariata BWIQ® e il software per l'identificazione BWID®. Con lo strumento i-Raman Plus, avrete sempre una soluzione Raman ad alta precisione per l'analisi qualitativa e quantitativa.



### Spettrometro Raman portatile i-Raman Plus 785S

i-Raman® Plus 785S fa parte della nostra serie di spettrometri Raman portatili insignita di premi ed è dotato della nostra innovativa tecnologia spettrometrica intelligente. Questo spettrometro Raman portatile utilizza un sensore con array CCD ad elevata efficienza quantica, il raffreddamento termoelettrico e un intervallo dinamico elevato per garantire prestazioni eccezionali con il minimo rumore, anche in caso di tempi di integrazione che arrivano fino a 30 minuti. In questo modo è possibile misurare anche segnali Raman deboli.

Lo strumento i-Raman Plus 785S si caratterizza per la combinazione unica di ampia gamma spettrale ed elevata risoluzione con configurazioni che consentono di effettuare misure da  $65\text{ cm}^{-1}$  a  $3.350\text{ cm}^{-1}$ . La base piccola, la leggerezza e il consumo ridotto di energia permettono di eseguire analisi Raman dappertutto, a livello di ricerca. i-Raman Plus è dotato di sonda a fibra ottica per un campionamento facile ed è utilizzabile con un supporto per cuvette, un videomicoscopio, un tavolo scorrevole XYZ con supporto per sonda, nonché con il nostro software per l'analisi multivariata BWIQ® e il software per l'identificazione BWID®. Con lo strumento i-Raman Plus, avrete sempre una soluzione Raman ad alta precisione per l'analisi qualitativa e quantitativa.



### Spettrometro Raman portatile i-Raman EX

i-Raman<sup>®</sup> EX fa parte della nostra serie, insignita di premi, di spettrometri Raman portatili i-Raman dotata del laser CleanLaze<sup>®</sup> da noi brevettato per eccitazione laser a 1.064 nm. Con un rilevatore con array InGaAs ad alta sensibilità dotato di raffreddamento termoelettrico profondo, un intervallo dinamico elevato e uno spettrografo a portata elevata, questo spettrometro Raman portatile produce un elevato rapporto segnale/rumore senza il rilascio di autofluorescenza, rendendo quindi possibile la misura di un'ampia gamma di prodotti naturali, campioni biologici (ad esempio colture cellulari) e campioni colorati.

i-Raman EX garantisce un intervallo di copertura spettrale da  $100\text{ cm}^{-1}$  a  $2.500\text{ cm}^{-1}$ , permettendo quindi la misura nell'intera regione dell'impronta. Le dimensioni ridotte del sistema, il design leggero e il consumo ridotto di alimentazione permettono di eseguire analisi Raman, a livello di ricerca, in qualsiasi luogo. Per ampliare le capacità di analisi, è utilizzabile con il nostro software brevettato Vision e con il software per analisi multivariata BWIQ<sup>®</sup>, nonché con il software di identificazione BWID<sup>®</sup>. Con lo strumento i-Raman EX, avrete sempre una soluzione Raman ad alta precisione per l'analisi quantitativa e qualitativa senza fluorescenza.

BWS485III