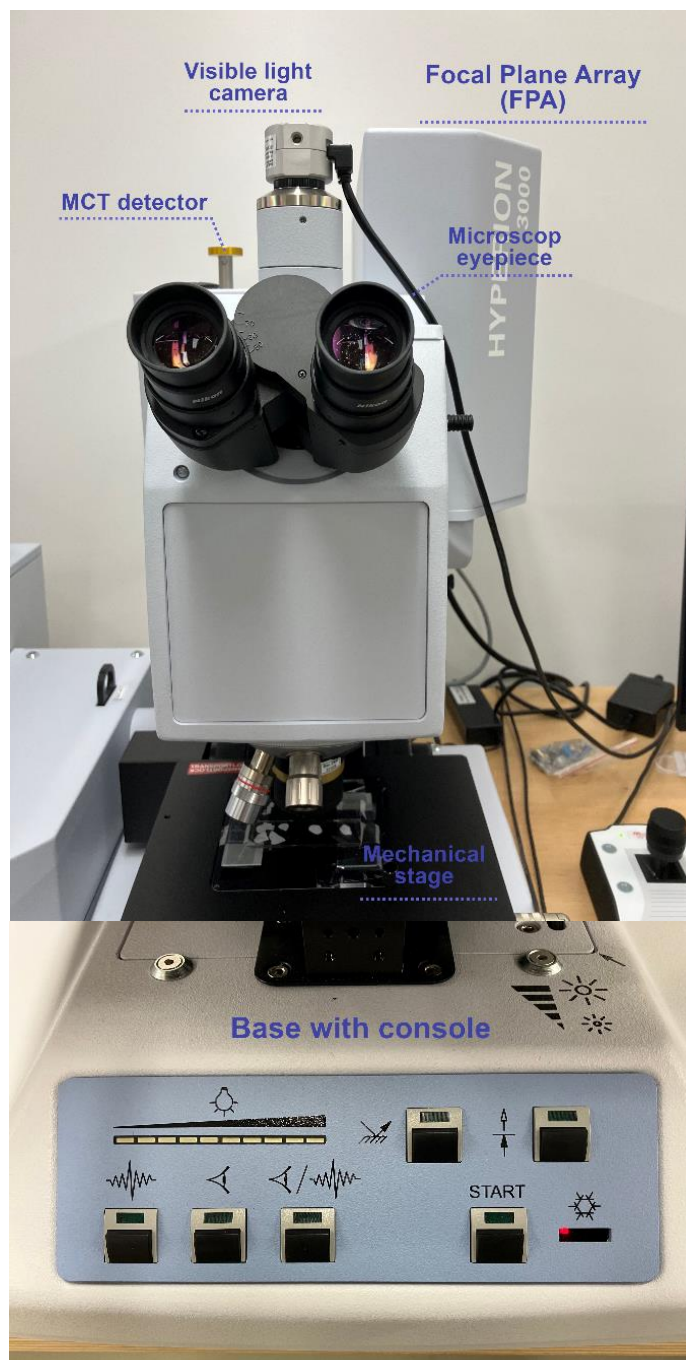
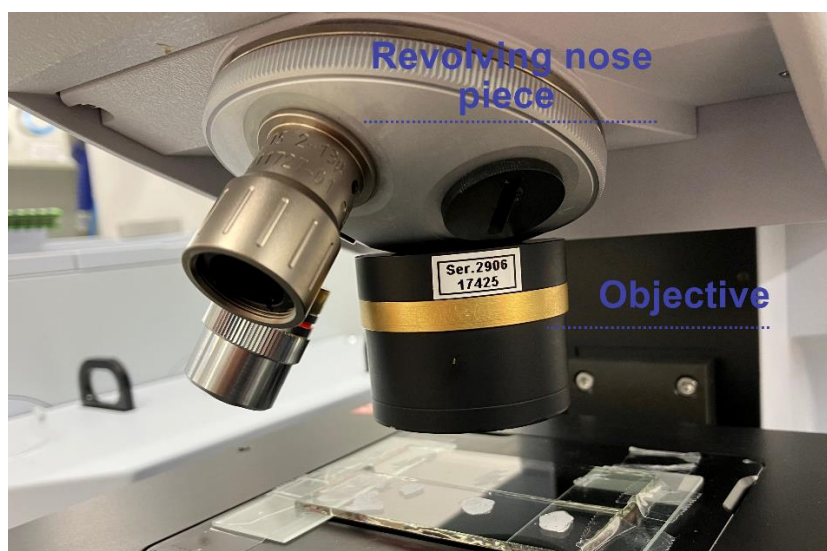
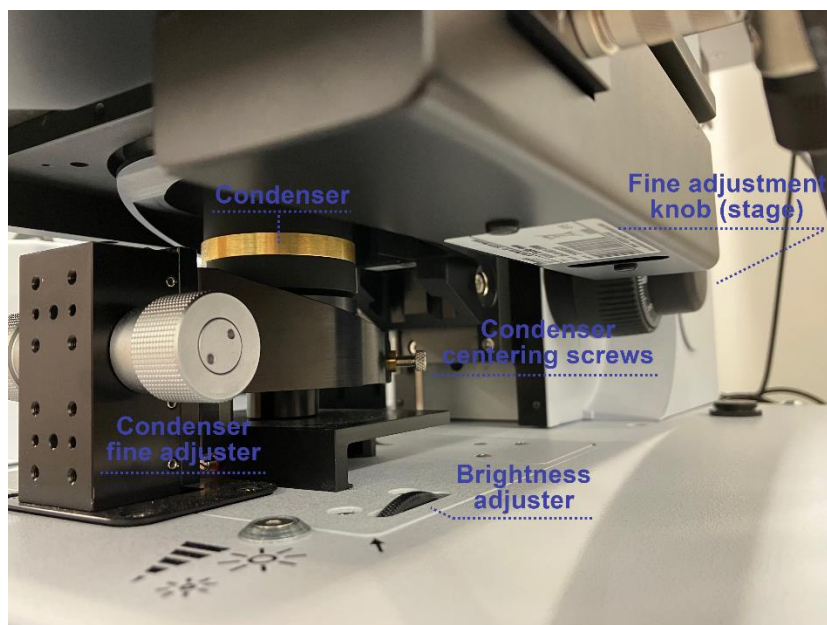


## Instrukcja do pomiarów na mikroskopie FT-IR Bruker Hyperion 3000 sprzężonym ze spektrometrem Vertex 80v

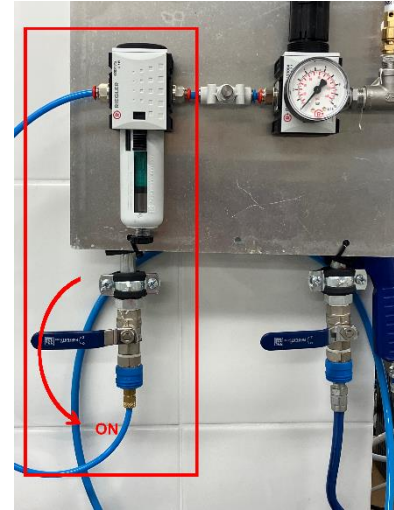
Najważniejsze elementy mikroskopu FT-IR to dwa detektory: MCT oraz FPA, obiektyw oraz kondenser, okular, kamera cyfrowa, stolik pomiarowy, konsola. Dodatkowo do mikroskopu jest podłączony dżojstik, który umożliwia poruszanie zautomatyzowanym stolikiem (lewo-prawo oraz góra-dół). Wszystkie wymienione elementy opisano na poniższych zdjęciach (Rys. 1).





Rys. 1. Elementy konstrukcji mikroskopu FT-IR

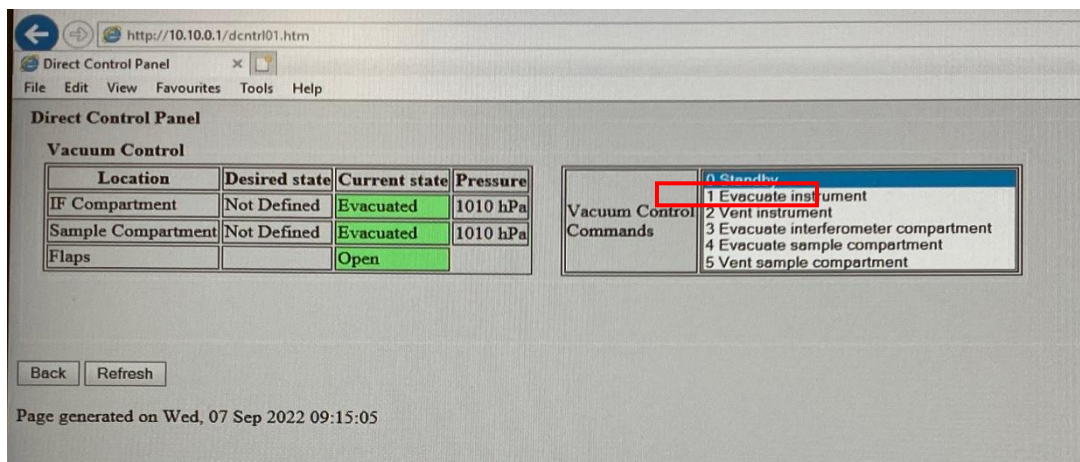
Do spektrometru połączonego z mikroskopem, w którym znajduje się standardowe źródło promieniowania, rozdzielacz wiązki (ang. *beamsplitter*), interferometr oraz układ lusterek kierujący wiązkę do komory pomiarowej lub mikroskopu, jest podłączone źródło sprężonego powietrza oraz pompa próżniowa (Rys. 2).



Rys. 2. Pompa próżniowa i zawór powietrza (na zdjęciu w pozycji zamkniętej)

### Etapy włączania mikroskopu to:

1. Sprawdzenie, czy spektrometr jest włączony (przycisk w tylnej, lewej części obudowy). System diod wskazuje na stan urządzenia
2. Otworzenie przepływu powietrza (zawór na ścianie, przekręcenie ręczki w pozycję pionową)
3. Włączenie pompy próżniowej (zielony przycisk) oraz rozpoczęcie odpompowywania układu – włączenie przeglądarki Internet Explorer, na załadowanej stronie wybranie pozycji „Direct Control Panel”, a następnie „Evacuate instrument”. Ciśnienie oraz status urządzenia są na bieżąco wyświetlane. Powietrze w spektrometrze zostało poprawnie odpompowane, jeśli wyświetla się status „Evacuated” na zielonym tle (Rys. 3)



Rys. 3. Panel kontroli odpompowywania spektrometru i mikroskopu

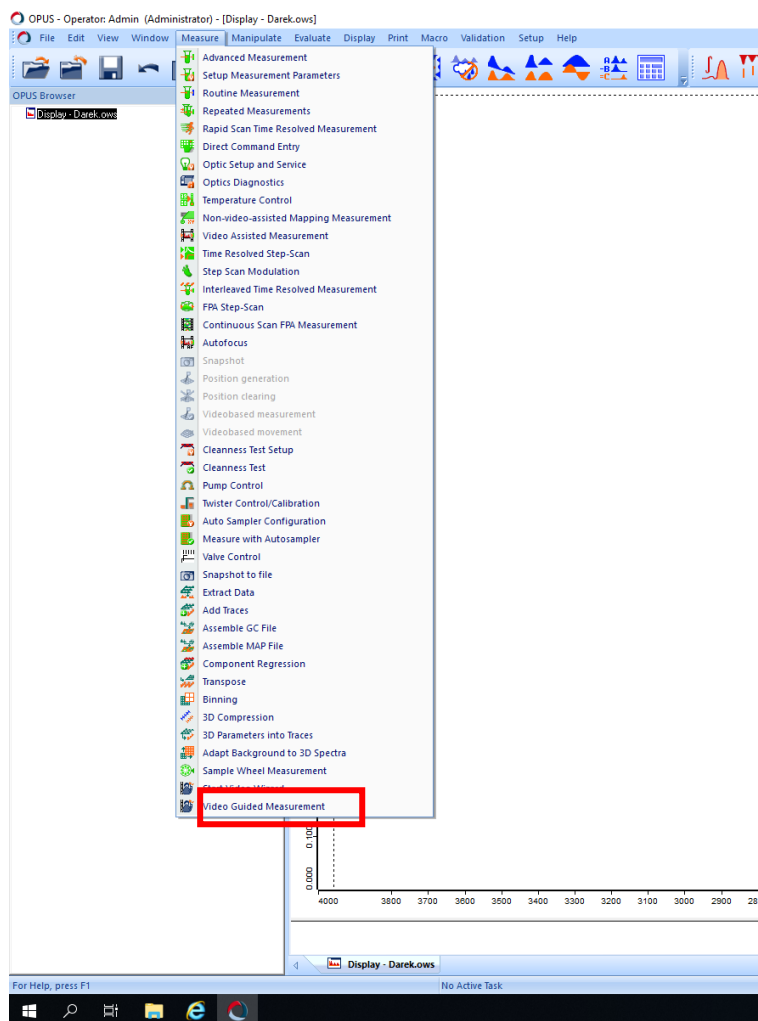
4. Włączenie mikroskopu – przycisk w tylnej, dolnej części obudowy. Detektor FPA posiada osobny włącznik (spodnia część obudowy detektora)
5. Używany do pomiaru detektor (MCT, FPA lub oba) należy schłodzić ciekłym azotem przed rozpoczęciem badań\*

\*Proszę pytać opiekuna mikroskopu o dostęp do ciekłego azotu. Wymagane są okulary ochronne, rękawice i odzież ochronna.

## I. Pomiar w trybie transfleksji lub refleksji (z detektorem FPA)

1. Pomiar zaczyna się od znalezienia obszaru zainteresowania. W programie OPUS sterującym mikroskopem należy wybrać opcję „Video Guided Measurement” (Rys. 4) na końcu rozwijanej listy, a następnie wybrać opcję „Hyperion 3000-FPA”.

W pierwszym panelu należy wybrać punkty, które posłużą do określenia obszaru, dla którego zostanie wykonany za pomocą kamery cyfrowej zestaw pojedynczych zdjęć składających się



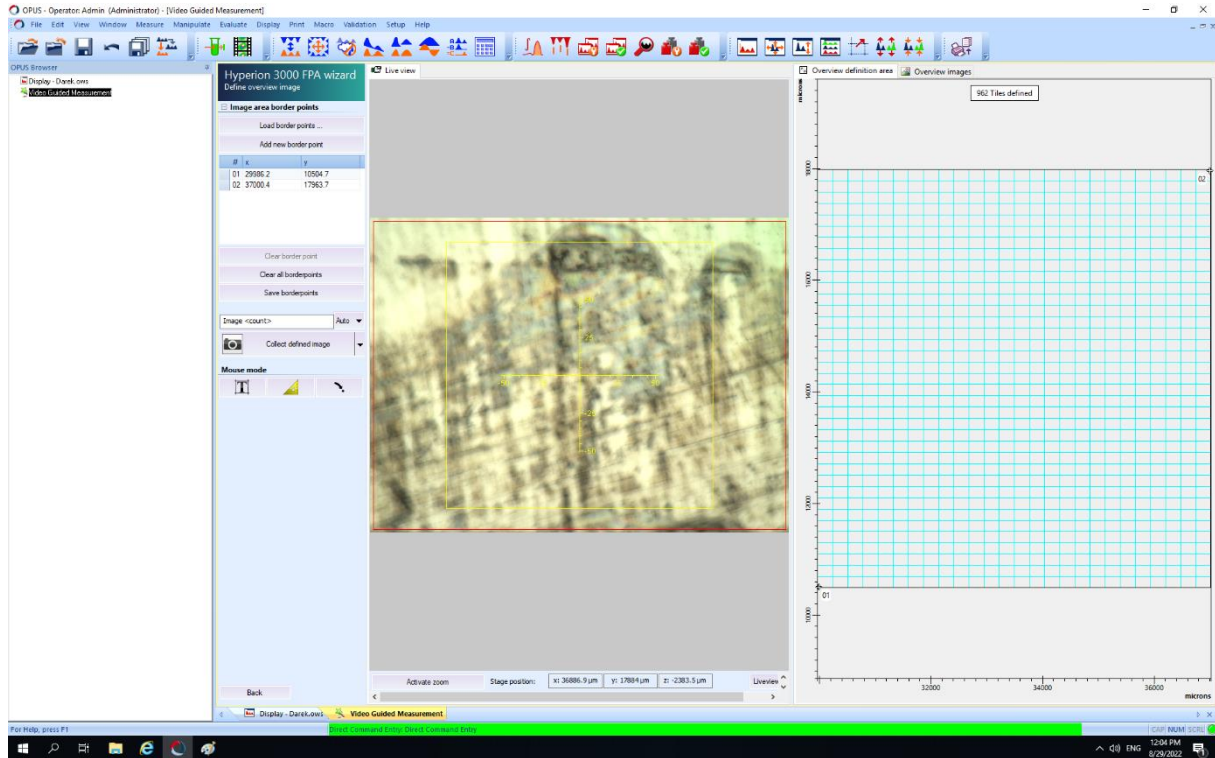
w macierz obrazów – „Collect defined image” (Rys. 5) Przed wykonaniem zdjęcia należy znaleźć ostrość na powierzchni próbki przez poruszanie stolikiem góra-dół za pomocą dżojstika. Wcisnąć „Next”.

Uwaga 1: Mikroskop musi być ustawiony w tryb refleksji. Patrz: rys. 1 – konsola mikroskopu. Tryb refleksji jest przedstawiony jako strzałka odbijająca się od poziomej linii. Dioda przy niej powinna się świecić. Jeśli tak nie jest, należy użyć przycisku.

Rys. 4. Opcja pomiaru w trybie „Video Guided Measurement”

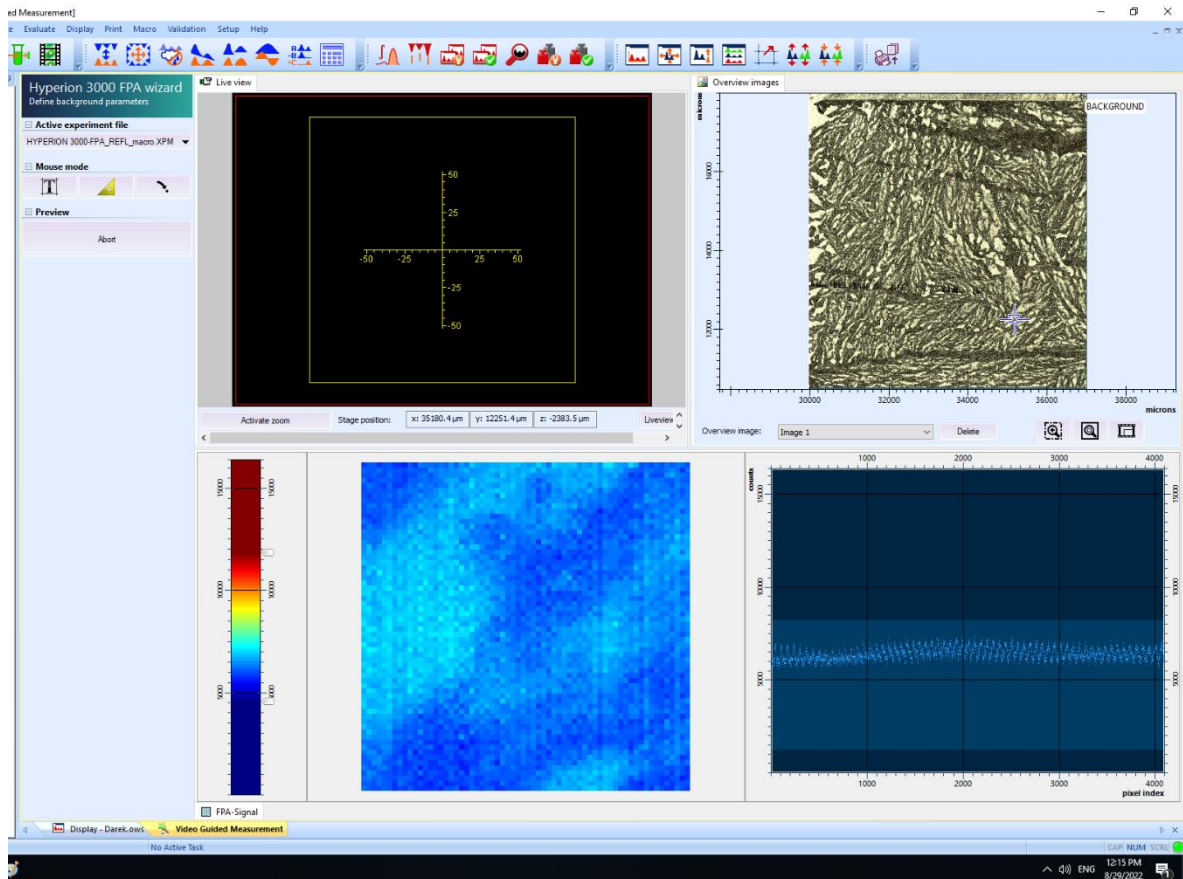


Uwaga 2: Rodzaj obiektywu, którego używamy, musi się zgadzać z obiektywem wybranym w „Video Guided Measurement”. W zależności od powiększenia obiektywu obraz jest zbierany z różnym krokiem. Program automatycznie łączy pojedyncze „kafelki” w pełen obraz próbki.



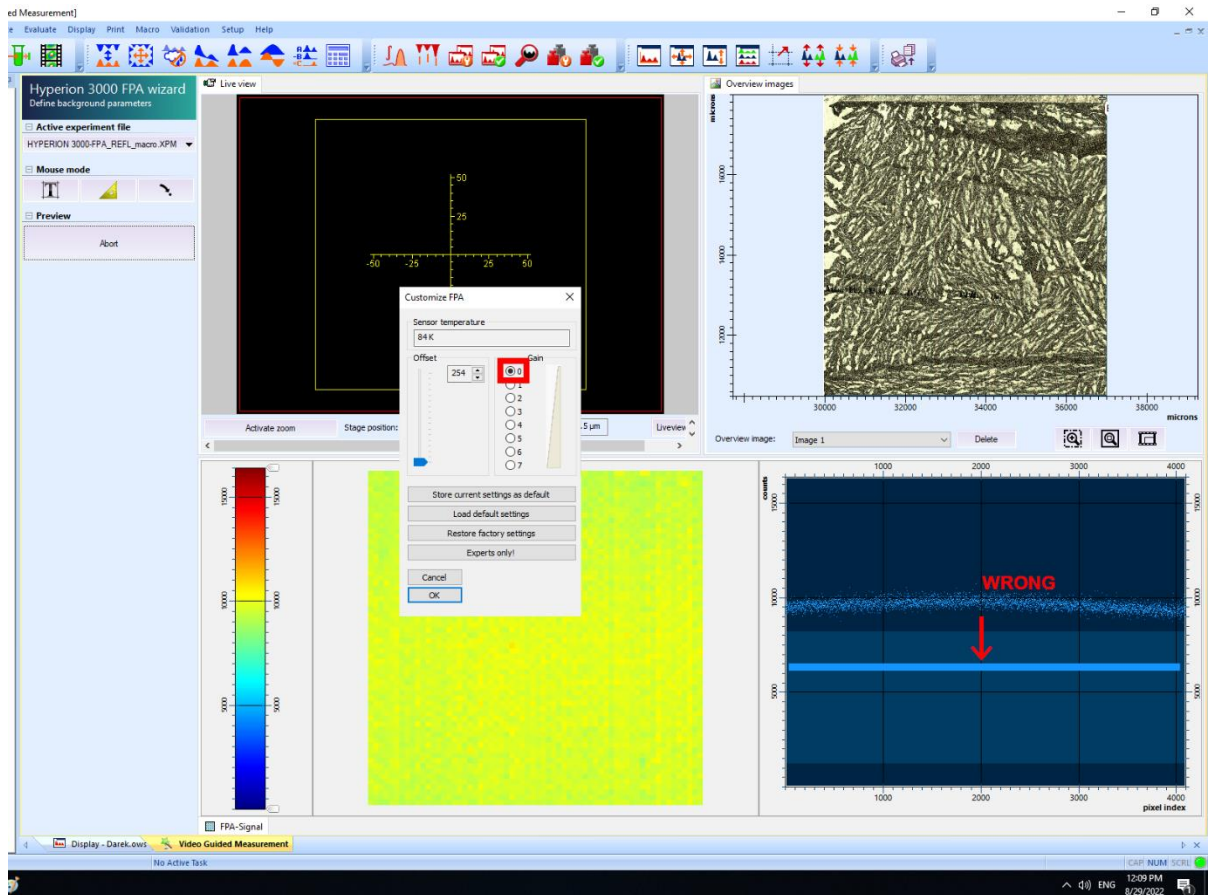
Rys. 5. Wybranie punktów do kolekcji zdjęć miejsca zainteresowania

2. Kolejnym krokiem jest wybranie miejsca do pomiaru tła oraz parametrów pomiaru – w przypadku transfleksji jest to czysty, niezabrudzony fragment szkła typu Low-E lub innego użytego jako substrat (odbijającego światło IR), w przypadku refleksji specjalnego, okrągłego elementu (z metaliczną warstwą) w nakładce dla stolika pomiarowego dostarczonego przez producenta. Ponieważ ścieżki pokonywane przez światło widzialne oraz podczerwień nie są takie same, należy wyostrzyć obraz IR na krawędzi próbki lub małym okruszku. Służy do tego opcja „Live spectrum”, która umożliwia podgląd sygnału docierającego do FPA na żywo (Rys. 6). Dolne lewo okno przedstawia integrację dla każdego piksela z całego widma. Poruszając za pomocą dżojstiku stolikiem w górę lub dół należy wyostrzyć krawędzie próbki.



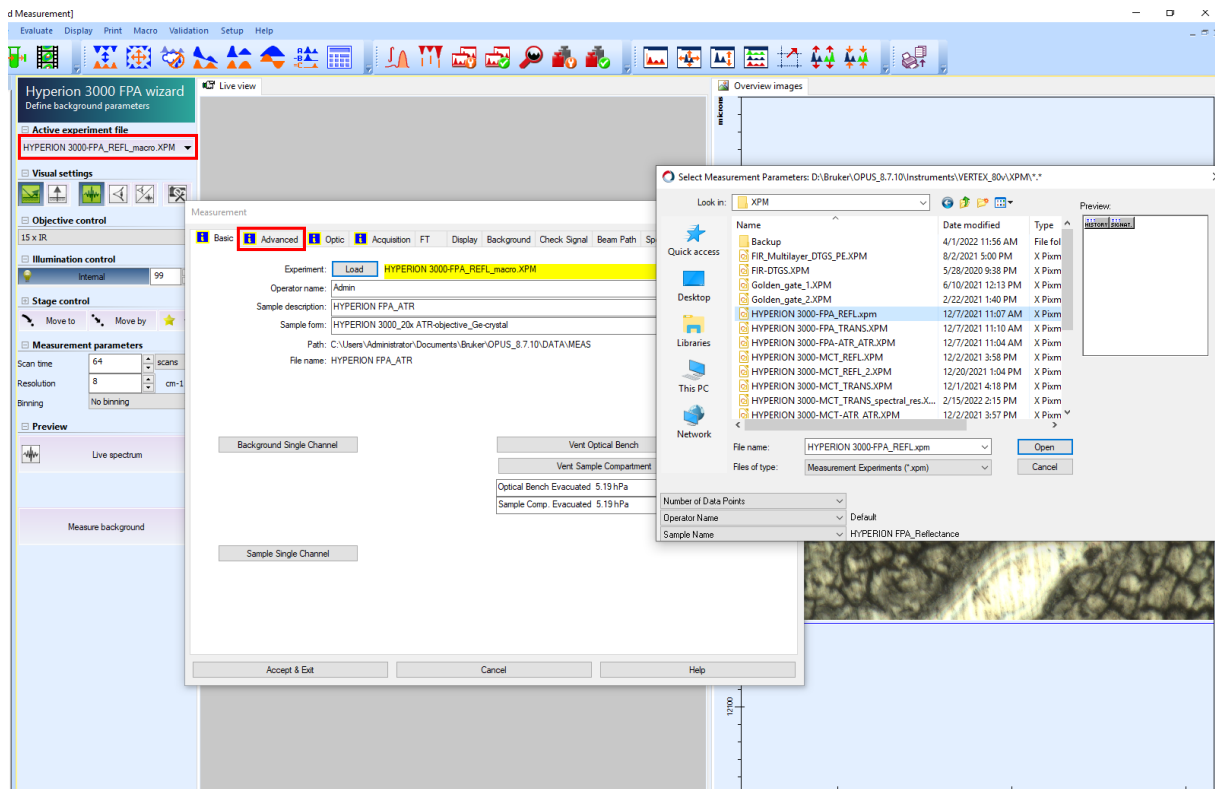
Rys. 6. Podgląd sygnału na detektorze FPA trybie „live spectrum”

Po dobraniu wysokości stolika należy wrócić na pozycję tła. Prawe dolne okno pokazuje zliczenie pikseli. Parametry FPA należy ustawić tak, aby „linia pikseli” znajdowała się w górnej części dozwolonego zakresu (jaśniejszy, szeroki pasek). Po kliknięciu prawym przyciskiem w rejonie dolnego, prawego ekranu pojawia się opcja dobrania parametrów FPA („Customize FPA”). Należy ustawić „Gain” na zero, dobrać „Offset”, a po wejściu w „Expert only” czas ekspozycji (Exp. time) – Rys. 7.



Rys. 7. Podgląd sygnału na detektorze FPA trybie „live spectrum” – ustawianie parametrów detekcji sygnału

3. Dobór parametrów eksperymentu – rozdzielczość spektralną, zakres pomiarowy długości fal oraz rodzaj zapisywanych danych (absorbancja, interferogram itp.) wybiera się i zapisuje się w tzw. eksperymencie. W górnym lewym rogu znajduje się informacja o załadowanym eksperymencie („Active experiment file”). W przypadku pomiarów w transfleksji lub refleksji z listy eksperymentów należy wybrać „HYPERION 3000-FPA\_REFLECT.XPM”, jeśli używamy detektora FPA (Rys. 8).



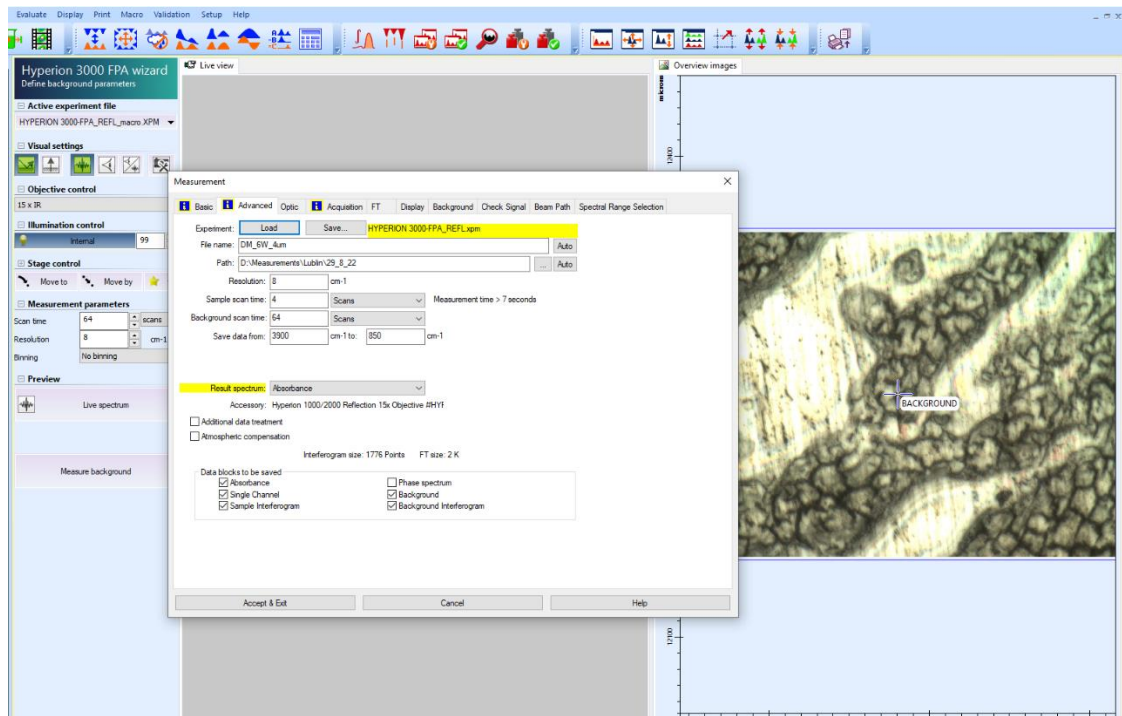
Rys. 8. Ładowanie wybranego eksperymentu

Parametry pomiaru dobiera się w zakładce „Advanced” (Rys. 9):

- Resolution (rozdzielczość spektralna) – standardowo 4 lub 8  $\text{cm}^{-1}$ ,
- Sample scan time (liczba skanów) – im więcej skanów, tym mniejsze zaszumienie widma. Jednak zwiększenie liczby skanów wydłuża czas pomiaru. Obok podawany jest teoretyczny czas pomiaru, ale nie uwzględnia on czasu potrzebnego na ruch stolika i zapisanie danych
- Background scan time: (liczba skanów tła),
- Save data from (zakres spektralny, dla którego będą zapisywane dane) – zakres spektralny. Maksymalny to 4000-650  $\text{cm}^{-1}$  dla średniej podczerwieni. W przypadku detektora MCT i opartego na nim FPA poniżej 650  $\text{cm}^{-1}$  bardzo spada czułość.

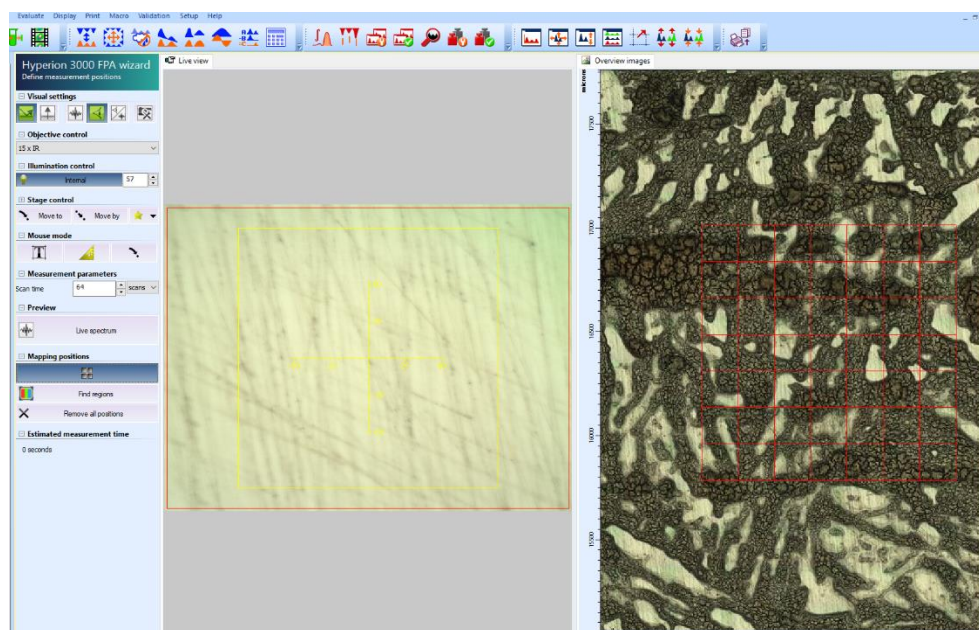
Zmiany należy zapisać.





Rys. 9. Zakładka „Advanced”.

Właściwy pomiar zaczyna się od pomiaru tła. Opcja „Measure Background” na rysunku 9. Należy sprawdzić „Scan time” i „Resolution” i poprawić wartości, jeśli nie odpowiadają wcześniej wybranym w eksperymencie. W kolejnym kroku określamy obszar do pomiaru próbki. Na przygotowanym wcześniej zdjęciu optycznym próbki nakładamy siatkę, jak przedstawiono na rysunku 10, używając opcji „Mapping Positions” i dobieramy liczbę kafelków.



Rys. 10. Wybór miejsca pomiaru i ilości „kafelków”

W kolejnym oknie przed rozpoczęciem pomiaru trzeba podać ścieżkę, w której zapisywane będą wyniki pomiarów oraz nazwę próbki.

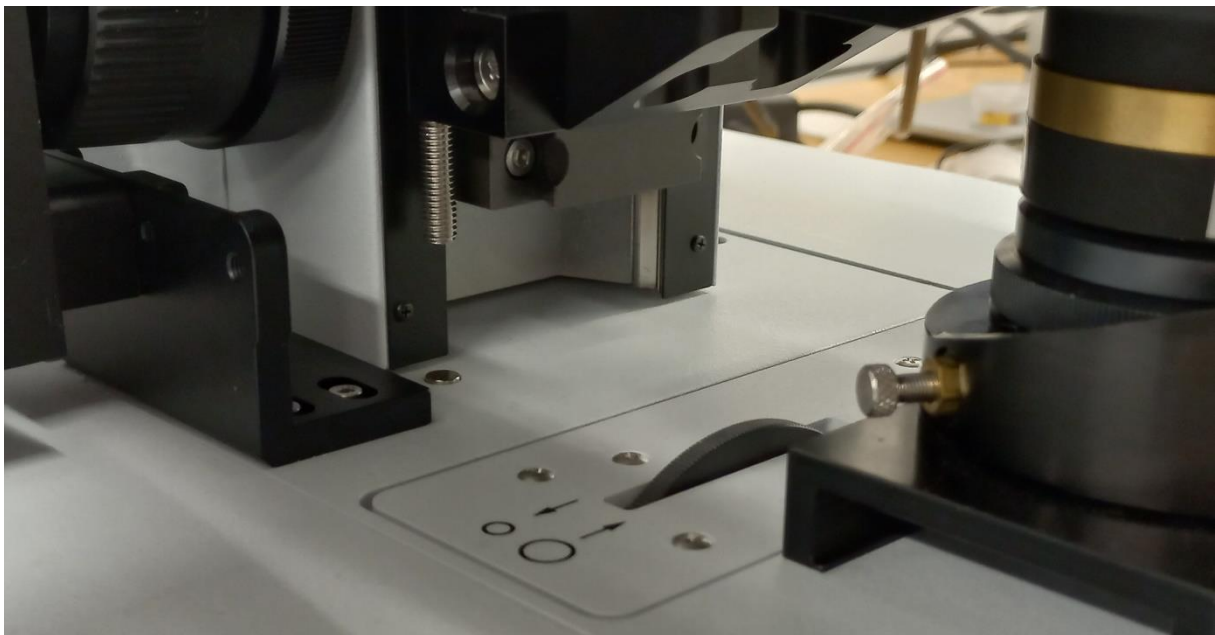
## II. Pomiary w trybie transmisji z detektorem FPA

Instrukcja pomiaru w trybie transmisji jest rozwinięciem opisu w pomiaru w trybie transfleksji/refleksji. Przed rozpoczęciem pomiarów należy zapoznać się również z poprzednią częścią instrukcji.

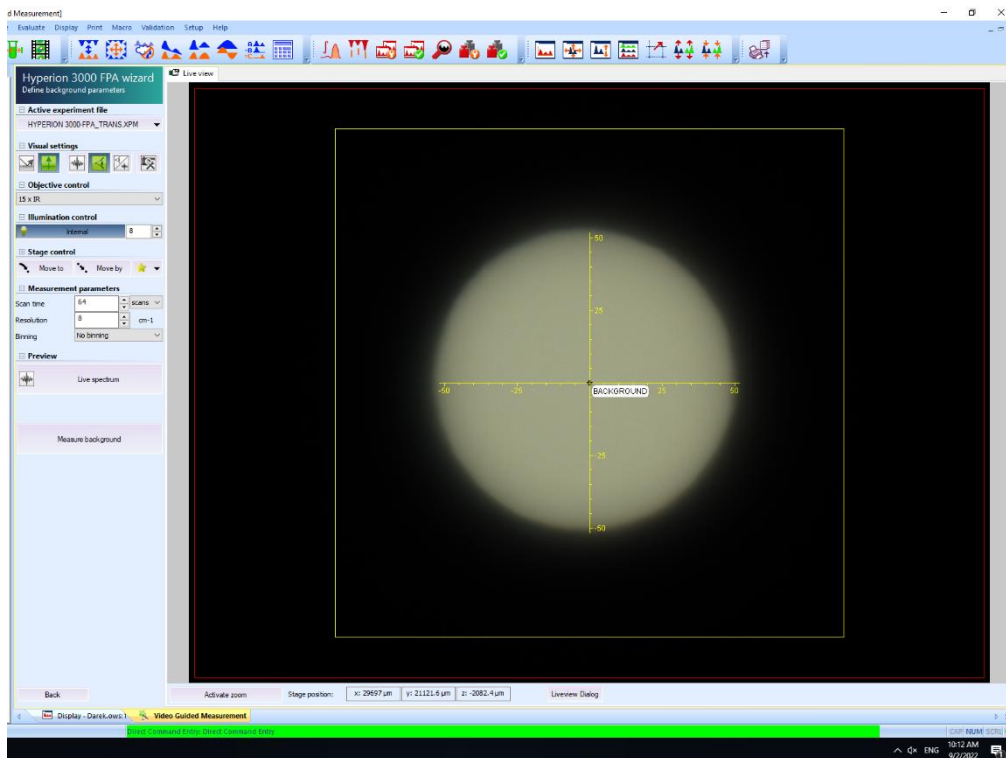
Dodatkowym etapem w przypadku pomiarów w trybie transmisji jest ustawianie kondensera, z którego wychodzi wiązka. Po ustawieniu ostrości (z użyciem obiektywu) obrazu widzialnego poprzez ruch stolikiem (Patrz: instrukcja pomiarów w trybie transfleksji), należy przejść w tryb transmisji (Rys. 1 – konsola mikroskopu, przycisk z oznaczony dwoma pionowymi strzałkami przechodzącymi przez poziomą linię). W trybie refleksji można również wykonać zdjęcie próbki z użyciem kamery. Jest to również możliwe później w trybie transmisji.

Ustawienie kondensera dla światła widzialnego:

1. Należy wybrać miejsce na substracie (Substrat dla pomiarów w transmisji musi być przezroczysty dla promieniowania podczerwonego!) pozbawione próbki i zabrudzeń
2. Zamknąć aperturę kondensera (Rys. 11), ruchem w lewo. Na ekranie oraz w okularze pojawi się obraz z kondensera z nałożoną okrągłą aperturą. Używając śrub centrujących kondensera (Rys. 1.), należy ustawić koło tak, aby jego środek pokrywał się z przecięciem dwóch osi (Rys. 12).

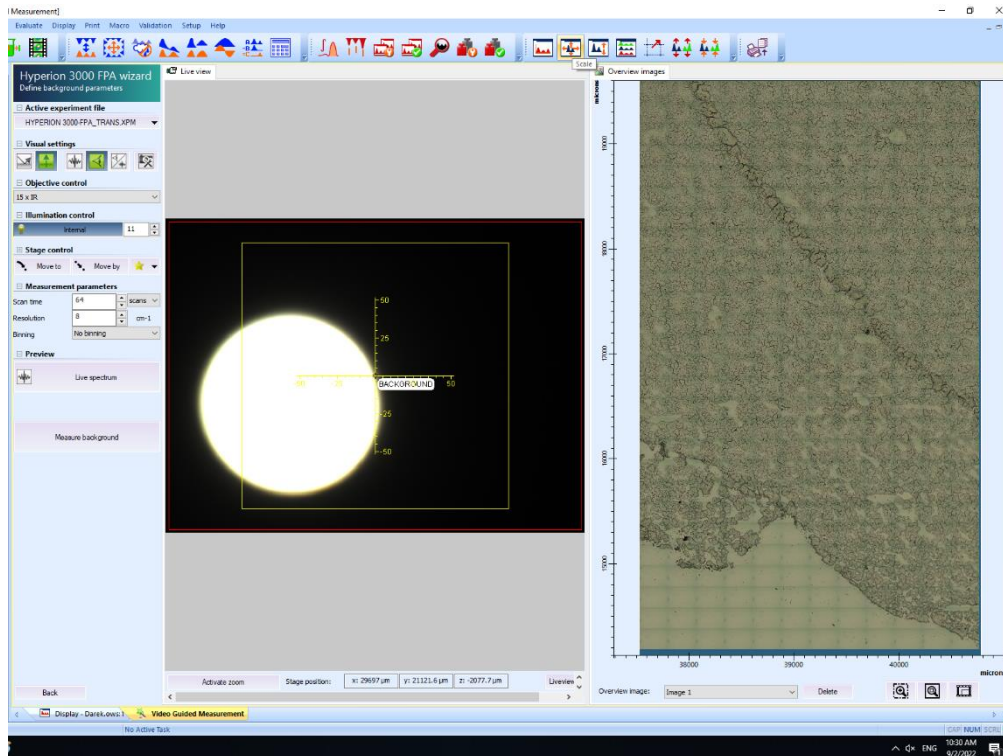


Rys. 11. Zamknięcie apertury kondensera (ruch w lewo) i otwarcie (ruch w prawo)



Rys. 12. Apertura kondensera po wycentrowaniu

3. Kolejnym krokiem jest wyostrenie obrazu w trybie transmisji. Należy ustawić wysokość kondensera używając śruby (Rys. 1), tak aby koło było jak najmniejsze, a jego brzegi jak najostrejsze. Rys. 13 przedstawia obraz z dobrze ustawioną ostrością, ale nie wycentrowanym kondenserem. Po zakończeniu ustawień trzeba otworzyć aperturę.



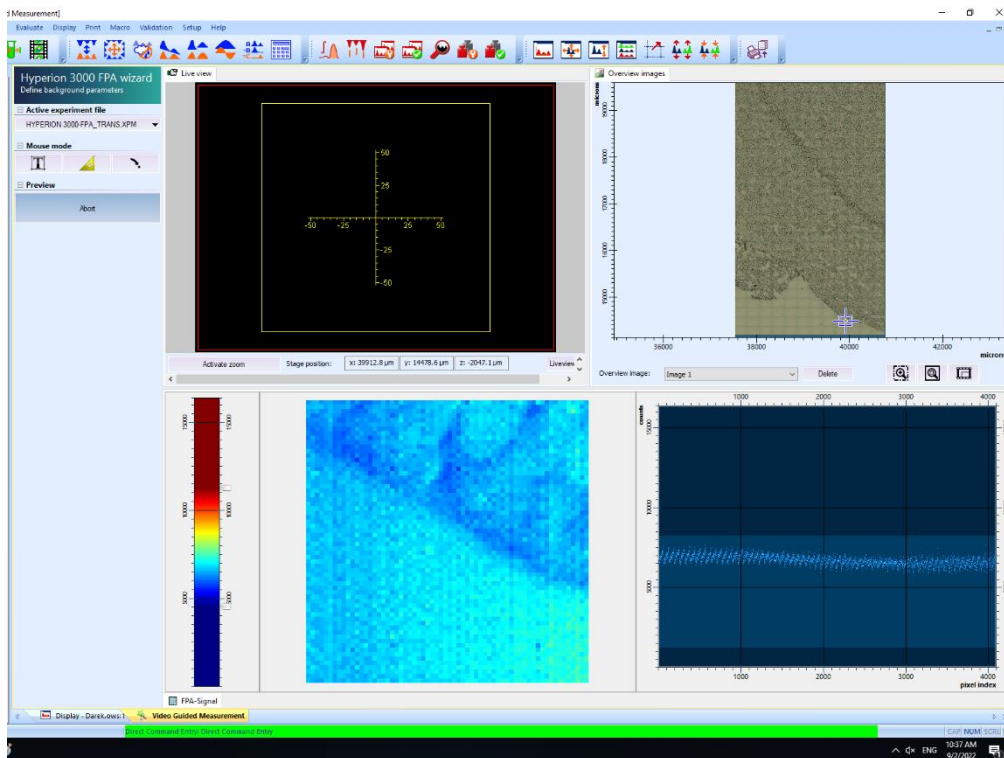
Rys. 13. Ostry obraz kondensera z zamkniętą aperturą, ale w złej, nie centralnej pozycji

Jeśli zdjęcie próbki nie zostało wykonane w trybie transfleksji, można je zrobić teraz.

Ścieżka światła widzialnego nie pokrywa się dokładnie ze ścieżką światła podczerwonego, więc ustawienia obiektywu i kondensera należy powtórzyć dla podczerwieni używając opcji „Live spectrum”:

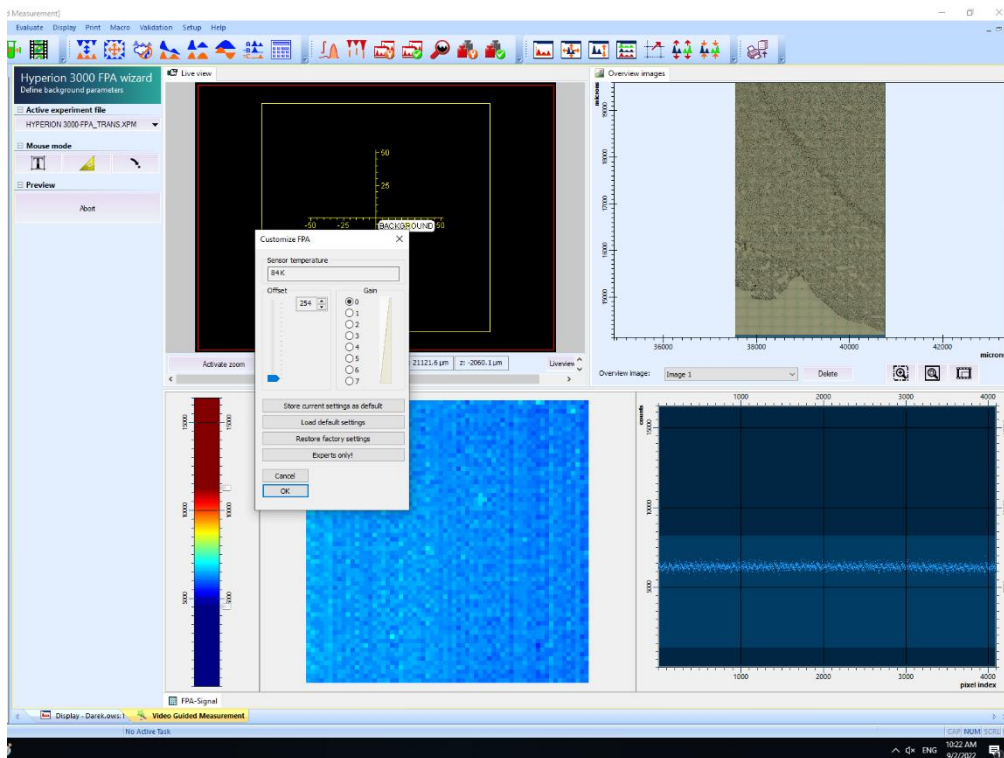
1. Przemieszczenie się używając dźwostka na krawędź próbki lub fragment substratu z drobnym „paprochem”. Ostrość obrazu należy dobrać, poruszając stolikiem powolnymi ruchami góra-dół. Próbka powinna ostro odcinać się od tła (rys. 14)





Rys. 14. Podgląd sygnału na detektorze FPA trybie „live spectrum” – ustawienie ostrości

2. Powrót na tło i ponowne ustawienie kondensera – należy zamknąć okrągłą aperturę i wyostrzyć brzegi koła. Kondensator może też wymagać drobnej korekty pozycji względem centrum. Aperturę należy ponownie otworzyć
3. Dobranie parametrów detektora FPA – po kliknięciu prawym klawiszem myszy na dolny, prawy obraz w trybie „Live spectrum”, należy wybrać „Customize FPA”. Dla opcji „Gain” należy wybrać zero, następnie dobrać „Offset”, a po wejściu w opcję „Experts only” czas ekspozycji (Exp. Time). Piksele, których sygnał zbierany jest z tła, powinny tworzyć na wykresie ze zliczeniem prostą linię umiejscowioną w górnej części dozwolonego obszaru (rys. 15).

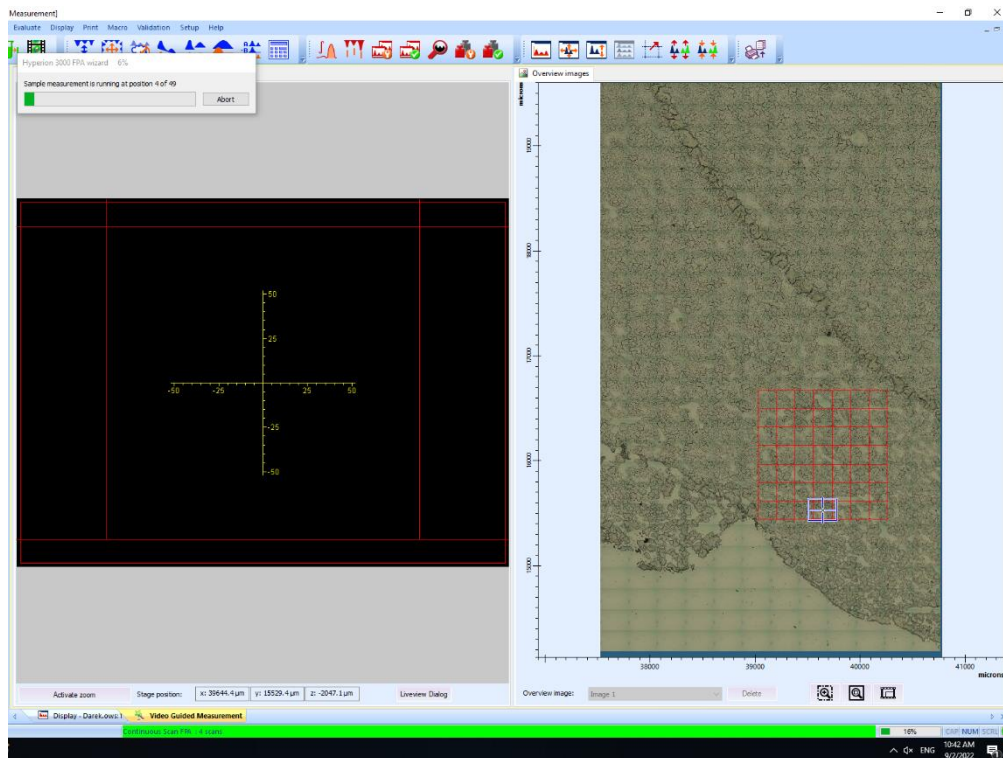


Rys. 15. Podgląd sygnału na detektorze FPA trybie „live spectrum” – ustawianie parametrów detekcji sygnału

Ponieważ pomiar odbywa się w trybie transmisji należy załadować odpowiedni eksperyment w „Active experiment life”. Powinien być to „Hyperion 3000-FPA\_TRANS.XPM”. Dobieranie parametrów w eksperymencie jest opisane w punkcie 3 w instrukcji pomiarów w trybie transfleksji/refleksji.

Pomiar zaczyna się od tła. Jest to opcja „Measure Background” (rys. 13). Przed rozpoczęciem pomiaru należy sprawdzić, czy wyświetlana rozdzielczość spektralna i liczba skanów pokrywa się z parametrami zapisanymi w eksperymencie, jeśli tak nie jest, trzeba dokonać korekty.

Po pomiarze tła należy wybrać obszar próbki do pomiaru, nakładając na nią siatkę. Każdy kwadrat to tzw. „kafelek” – obszar, z którego jednorazowo jest zbierany sygnał za pomocą FPA (rys. 16). W ostatnim oknie należy wskazać ścieżkę do folderu, gdzie mają być zapisywane dane oraz nazwę próbki.



Rys. 16. Wybór miejsca pomiaru i ilości kafelków. Pomiar zaczyna się od lewego dolnego kafelka, kończy się na prawym górnym

### III. Pomiary z użyciem detektora MCT

Kolejne etapy pomiarów z użyciem detektora MCT są analogiczne do pomiarów FPA, z wyłączeniem optymalizacji parametrów detekcji sygnału (rys. 7 i 15). Dodatkowym etapem jest zawężenie obszaru, z którego zbierany jest sygnał za pomocą apertury mechanicznej.

Po wybraniu miejsca zainteresowania i wykonaniu zdjęcia za pomocą kamery, obszar pomiarowy zawęża się za apertur znajdujących się nad obiektywem (rys. 17). Apertury można zawężać (tryb oznaczony dwoma współśrodkowymi kwadratami) oraz obracać (tryb oznaczony kółkiem).

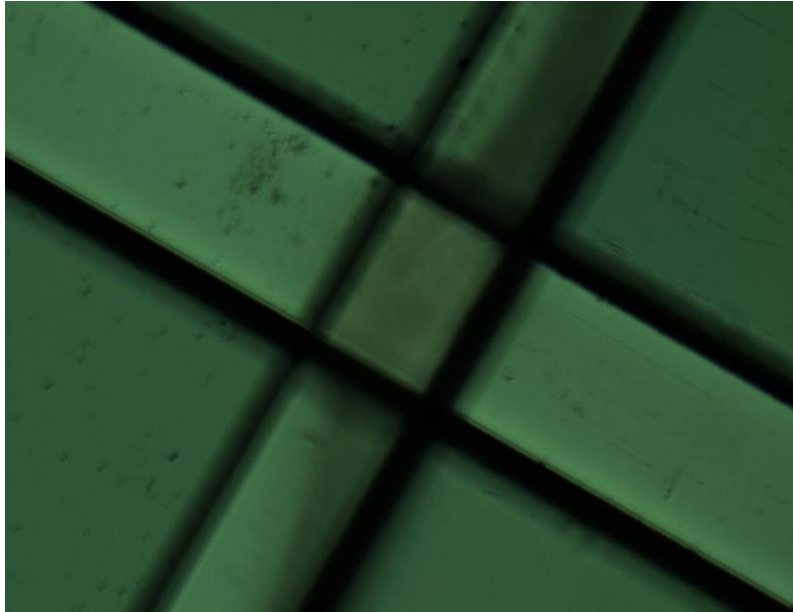
Uwaga! W przypadku pomiarów w trybie transmisji należy przed nałożeniem apertury ustawić kondensator, tak jak opisano w podrozdziale II „Pomiary w trybie transmisji z detektorem FPA”.



Rys. 17. Apertury mechaniczne. Góra – tryb zsuwania i rozsuwania. Dół – tryb obracania

Na rysunku 18 przedstawiono obszar, z którego zbierany jest pojedynczy sygnał trafiający do detektora MCT (zbierane jest jedno widmo), który został ograniczony przekręconą aperturą.

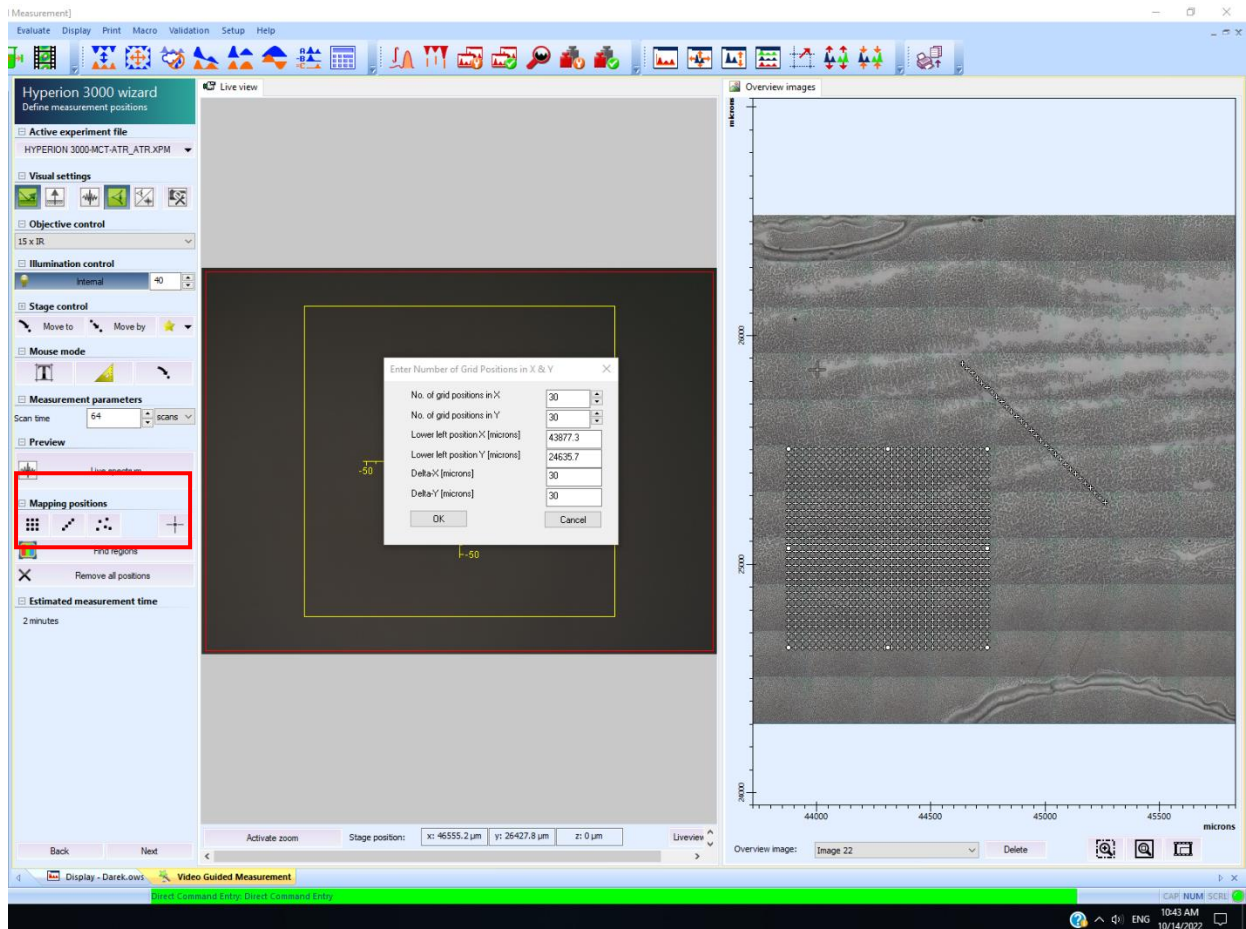




Rys.18. Miejsce pomiary ograniczone aperturą

W celu zmierzenia tła wykonuje się pojedynczy pomiar z wybraną wcześniej aperturą. Wcześniej należy wybrać w („Active experiment file”) odpowiedni eksperyment (rys. 8). Dla pomiarów w trybie refleksji i transfleksji jest to „HYPERION 3000-MCT\_REFL\_2.XPM”, a w przypadku transmisji „HYPERION 3000-MCT\_TRANS.XPM”.

Za pomocą detektora MCT można dokonywać pojedynczych pomiarów lub mapować próbkę. W tym celu definiujemy obszar pomiaru przez zaznaczenie na zdjęciu pojedynczych punktów pomiarowych, linii punktów lub siatki (rys. 19).



Rys. 19. Wybieranie pozycji mapowania

W przypadku opcji linii prostej oraz siatki punktów pojawia się okno, w którym definiuje się ilość punktów („No. of grid positions”) oraz krok („Delta [microns]”). Na rysunku 19 widoczne jest okno dla siatki. Jeśli zmapowany ma być cały obszar bez pustych przestrzeni, wielkość apertury musi zgadzać się z krokiem. Jeśli wielkość apertury będzie większa niż krok, punkty pomiarowe będą na siebie nachodzić.

### Etapy wyłączenia mikroskopu:

1. Zamknięcie programu OPUS
2. Wyłączenie detektora FPA (jeśli był włączony) – spodnia część obudowy detektora
3. Wyłączenie mikroskopu – przycisk znajduje się w dolnej, tylnej części obudowy
4. Wybranie na stronie załadowanej w Internet Explorer opcji „Standby” (rys. 3)
5. Wyłączenie pompy (rys. 2)
6. Zamknięcie dopływu sprężonego powietrza (rys. 2). Przekręcenie wajchy zaworu w pozycję poziomą.