

Avtor: Sabina Kramar

## Vsebina

1. Uvod
2. Stereomikroskop
3. Optični mikroskop
4. Fluorescenčni mikroskop
5. Elektronski mikroskop
6. Ramanski mikrospektroskop
7. Mikrospektroskop FTIR
8. Drugi mikroskopi
9. Zaključek
10. Literatura in viri

## 1. Uvod

Mikroskopija je veda, ki mikroskope uporablja za proučevanje objektov oz. vzorcev, ki so premajhni, da bi jih lahko opazovali s prostim očesom. Beseda mikroskop izvira iz grških besed *mikrós*, ki pomeni majhno, in *skopeîn*, ki pomeni gledati ali videti. Najpogostejši tip mikroskopa in tudi prvi, ki so ga izumili, je svetlobni oz. optični mikroskop (**slika 1**). Ta instrument vsebuje eno ali več leč, ki prikažejo povečano sliko objekta. Poleg svetlobnega mikroskopa poznamo še mnogo več vrst mikroskopov.

Človek je že od nekdaj želel opazovati stvari, ki jih s prostim očesom ni mogel videti. Že v antiki je bilo znano, da steklo ukrivlja svetlobo. Rimljani so eksperimentirali z različnimi stekli in ugotovili, da so pri steklih oz. lečah različnih debelin predmeti videti večji. Leče se niso veliko uporabljale vse do konca 13. stoletja, ko so začeli izdelovati očala. Okoli leta 1600 so ugotovili, da lahko izdelajo optične inštrumente s kombiniranjem leč. Izum mikroskopa pripisujemo nizozemskima izdelovalcema očal Hansu in Zachariasu Jansenu, čeprav je težko reči, kdo je prvi izdelal mikroskop. Jansenova naj bi okoli leta 1590 izdelala preprost prototip mikroskopa, ki ga je predstavljala cev z lečo na vsaki strani. Med možnimi izumitelji

mikroskopa je tudi Galileo Galilej, ki je leta 1609 sestavil mikroskop s konkavno in konveksno lečo, Giovanni Faber pa je za to Galilejevo napravo leta 1625 skoval ime »mikroskop«. Mikroskopi se vse do danes izpopolnjujejo in uporabljajo v različnih vejah znanosti.

Mikroskope lahko delimo v različne skupine. Delimo jih glede na vire, ki jih uporabljamo za obsevanje vzorca, da pridobimo sliko, npr. svetlobo oz. fotone (optična mikroskopija) ali elektrone (elektronska mikroskopija), in tudi glede na to, ali analiziramo celoten vzorec naenkrat (optična mikroskopija, transmisijska elektronska mikroskopija) ali analiziramo vzorec skozi določeno območje (konfokalna optična



**Slika 1:** Predhodniki modernejšega mikroskopa so imeli le en okular – na sliki je optični mikroskop v Prirodoslovnem muzeju Slovenije.

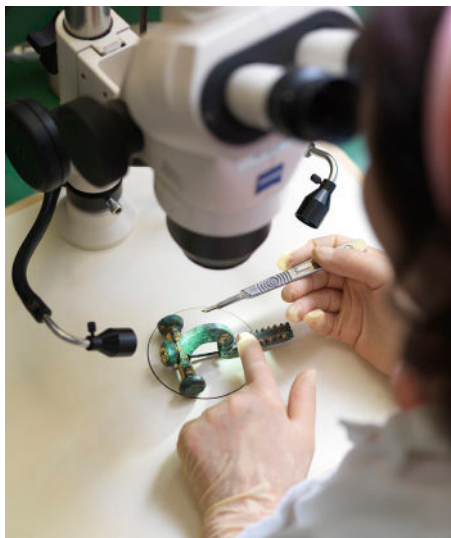
mikroskopija, vrstična elektronska mikroskopija).

Z različnimi mikroskopskimi tehnikami lahko opazujemo in proučujemo širok spekter materialov. Mikroskopi omogočajo opazovanje površine predmetov ali vzorcev, določanje njihove sestave in s tem avtentičnosti in provenience, proučevanje degradacije, ugotavljanje prisotnosti snovi, ki so posledica preteklih konservatorsko-restavratorskih posegov, opazovanje med čiščenjem in ugotavljanje učinkovitosti konservatorsko-restavratorskih postopkov.

## 2. Stereomikroskop

### Splošno

Stereomikroskop je pravzaprav vrsta optičnega mikroskopa, izdelanega za opazovanje vzorca ali predmeta pri manjših povečavah. Najpogosteje uporablja odsevno svetlobo, ki se odbije od površine objekta. Zaradi delovne razdalje, ki je mnogo večja od tiste pri svetlobnem mikroskopu, omogoča delo z materialom med samim opazovanjem. Je nepogrešljiv del laboratorijske opreme strokovnjakov, ki delamo na področju kulturne dediščine. Uporabljamo ga za opazovanje površin različnih vzorcev ali predmetov, čiščenje in konserviranje-restavriranje (slike 2, 4b–c), vzorčenje (slika 3), predpripravo materiala pred uporabo drugih mikroskopskih tehnik ali pripravo vzorcev za izdelavo mikroskopskih preparatov. Opazujemo lahko morebitne poškodbe vzorca, pa tudi barvo in druge teksture ter strukture predmeta ali samega materiala.



*Slika 2: Čiščenje poznorimske sponke v konservatorski delavnici Muzeja in galerij mesta Ljubljane*



*Slika 3: Priprava vzorca za obrus pod stereomikroskopom*

### Opis metode

S pomočjo dveh optičnih poti, ki omogočata pogled na opazovani objekt ali vzorec z dveh strani, nastane 3D-slika, kar še izboljša predstavo o opazovanem objektu. Stereomikroskopi omogočajo povečave v območju od 2- do 300-krat, najpogosteje pa v območju od 20- do 80-krat. Uporabljena povečava je odvisna od vrste informacije, ki jo želimo.

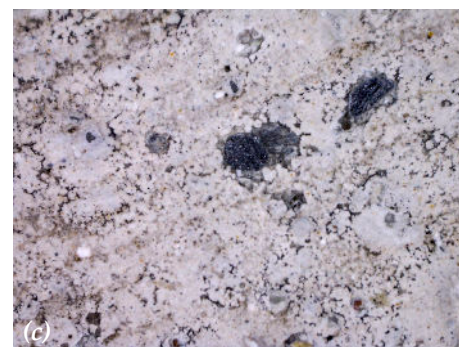
V zadnjem času se pojavljajo tudi različne prenosne naprave, ki omogočajo opazovanje površine predmeta s povečavami. Med njimi lahko omenimo digitalni USB-mikroskop (slika 4a).

### Priprava vzorca

Opazujemo lahko predmet, ki je dovolj majhen, da je v okviru delovne razdalje. Opazujemo lahko tudi odvzete nepripravljene ali pripravljene vzorce. Pri prenosni izvedbi odvzem vzorca ni potreben.

### Vrsta informacije

Pridobimo fotografijo vzorca oz. površine pri določeni povečavi.



*Slika 4: (a) Opazovanje učinkovitosti čiščenja stenske poslikave, (b) neočiščena površina pod mikroskopom in (c) očiščena površina*

### 3. Optični mikroskop

#### *Splošno*

Optična mikroskopija gotovo sodi med najpogosteje uporabljene metode, poleg tega je tudi dokaj dostopna. Ponavadi opazujemo za preiskavo posebej pripravljen vzorce, nekatere materiale, npr. vlakna, pa lahko opazujemo brez vnaprejšnje priprave. Najmanjša, z optičnim mikroskopom še vidna motnja mora biti velika vsaj nekaj mikrometrov. Z uporabo optičnega polarizacijskega mikroskopa dobimo do nekaj stokrat povečane slike površine vzorca. Preiskave v odsevni ali presevni svetlobi omogočajo proučevanje zgradbe velikega spektra materialov in njihovo identifikacijo, in to tako organskih kot anorganskih kovinskih in nekovinskih materialov; med njimi so naravni ali umetni materiali. Preiskujemo lahko stratigrafijo barvnih plasti in ometov, določamo vrsto kamnin, keramike, kovin, naravnih vlaken, stekel ali zgradbo sekundarnih pojavov, kot je nastanek raznih topnih soli in korozijskih produktov. Posledično lahko ugotavljamo avtentičnost materialov in morebitno provenienco.

Minerale, ki sestavljajo različne materiale, prepoznamo po njihovih optičnih lastnostih, ki so lahko vidne oz. prepoznavne v presevni ali odsevni svetlobi. V presevni svetlobi opazujemo minerale, ki so presevni (prozorni ali vsaj prosojni). Z uporabo polarizirane svetlobe lahko prepoznamo optično anizotropne minerale in njihove lastnosti, v odsevni svetlobi pa prepoznavamo t.i. kovinske minerale, ki ne presevajo svetlobe, pa če jih zbrusimo v še tako tanko ploščico.

#### *Opis metode*

Optični mikroskop omogoča preiskave in prepoznavanje mineralnih materialov, ki so

dovolj veliki, da za vidno svetlobo predstavljajo motnjo, na kateri se svetloba lomi, skozi katero preseva ali se v njej absorbira. V ta namen lahko uporabljamo polikromatsko ali monokromatsko vidno svetlobo. Običajno uporabljamo tudi polarizirano svetlobo. To pomeni, da po prehodu skozi polarizator, ki je sestavni del mikroskopa, nihajni vektor svetlobe niha samo v eni smeri. Sistem leč – kondenzor zbere svetlobo tako, da vpada na vzorec pod pravim kotom. Za polarizacijo svetlobe se uporablja Nicolova prizma. Pri večini mikroskopov je nihajna smer analizatorja fiksna – pravokotno na smer polarizatorja. Pri nekaterih mikroskopih lahko nihajno smer analizatorja tudi spreminjamo. Kadar opazujemo preparat z vključenim analizatorjem, pravimo tudi, da opazujemo pri navzkrižnih nikolih. Kadar je analizator izključen, opazujemo pri vzporednih nikolih ali v linearno polarizirani svetlobi.

Sliko vzorca, ki nastane v zadnji goriščni ravnini objektiva, okular kot naslednja zbiralna leča optičnega mikroskopa poveča do te mere, da jo opazovalec lahko prepozna. Povečava mikroskopa je definirana s produktom povečave objektiva in okularja in omogoča povečave do nekaj stokrat. Ker optično anizotropni minerali svetlobe ne prepuščajo v vseh smereh enako, lahko z uporabo polarizirane svetlobe prepoznamo mineral, ki ga opazujemo. Z uporabo dodatnih leč na optičnem mikroskopu lahko ugotavljamo različne optične lastnosti mineralov, po katerih prepoznamo posamezni mineral.

V nasprotju s preiskavami z optičnim mikroskopom v presevni svetlobi preiskujemo optično nepresevne minerale z optičnim mikroskopom v nepresevni svetlobi. V tem primeru vir svetlobe ne leži pod vzorcem, pač pa nad njim.

Svetloba, ki jo zbere kondenzor, pade na površino vzorca, se od nje odbije in delno absorbira. Jakost odbite svetlobe je značilnost minerala in ga po njej tudi prepoznamo.

#### *Priprava vzorca*

Za preiskave odvezamo vzorec, ki ga ponavadi zalijemo v smolo in spoliramo v obrus ali tanek zbrusek (*slike 5–7*).

Za preiskave materialov v presevni svetlobi potrebujemo vzorec, ki je za vidno svetlobo preseven. V ta namen iz kompaktnega dela odvzetega vzorca pripravimo **zbrusek**. To je nekaj deset mikrometrov debela ploščica vzorca, nalepljena na objektno steklo. Zrna, ki so v vzorcu še prepoznavna, morajo biti velika vsaj nekaj mikrometrov. Minimalna potrebna količina vzorca je odvisna od homogenosti vzorca in velikosti delcev, ki ga sestavljajo. Vzorce lahko tudi obarvamo z različnimi **barvili**, če želimo ločiti določene minerale. Eno izmed njih je rdeče barvilo alizarin S. Kristali kalcita, ki so dobro topni v HCl, se kratek čas jedkajo v tej kislini, nato pa se zaradi rdečega barvila alizarin S obarvajo. Dolomit, ki je v solni kislini bistveno manj topen, se ne ojedka in posledično tudi ne obarva s tem barvilom. Na tak način lahko v presevni svetlobi kalcit ločimo od dolomita.

Če preiskujemo materiale, ki niso presevni (opaki, kovinski), naredimo iz vzorca **obrus**. To je kompakten vzorec, ki ima čim bolj gladko površino, da pridejo na njej do izraza optične lastnosti, značilne za nepresevne minerale. Opazujemo jih z optičnim mikroskopom v odsevni svetlobi. Z obrusi opazujemo tudi stratigrafijo barvnih plasti.

Optimalna je priprava vzorca v obliki poliranega zbruska, ki

omogoča, da lahko isto mesto opazujemo v presevni in odsevni svetlobi. Tako dobimo več podatkov o istem mestu v vzorcu. Poliran zbrusek je primeren tudi za opazovanje z elektronskim mikroskopom ali drugimi analiznimi tehnikami oz. za izdelavo točkovne kemične analize, ki bo opisana v poglavju o kemični analizi vzorca.

Prav tako je pomembno, kako je vzorec, ki smo ga odvzeli za pripravo zbruska, usmerjen glede na površino kamnine, ki jo preiskujemo. Praviloma odvzamemo vzorce, usmerjene pravokotno na površino kamnine, ki je v stiku z okoljem. Tako lahko ugotovljamo, kako debela je določena barvna plast in koliko je teh plasti, ali plast določenega materiala preperela in kako globoko vanj segajo sekundarne spremembe.

Pri pripravi zbruska moramo biti posebej previdni, da z neprimernimi sredstvi za brušenje ne uničimo oz. poškodujemo vzorca. Tako ga ne smemo žagati, če žaganje lahko povzroči nastanek novih razpok, ki jih nato v zbrusku ne bomo prepoznali kot posledico nepravilne priprave vzorca. Če vzorec vsebuje v vodi topne minerale, ga ne smemo brusiti v prisotnosti vode. Brusimo in čistimo ga v alkoholu, olju ali v katerem drugem brezvodnem tekočem mediju. Brusno sredstvo, ki se lahko v sicer majhnih količinah po pripravi zbruska v njem zadrži, lahko preiskavo moti, zato zbrusek vedno pripravljamo s sredstvi, ki jih v vzorcu ne iščemo.

### Vrsta informacije

Na ta način lahko ugotovimo sestavo in vrsto materialov, velikost mineralnih zrn, stik med njimi, vrsto in velikost por, vidimo lahko sekundarne minerale, kateri so, koliko jih je in kako so razporejeni po materialu (slike 8–12). Če je



Slika 5: (a) Odvzeti vzorec barvnih plasti, (b) vzorci, zaliti s smolo za pripravo obrusa

delec ali pora manjša, jo lahko opazujemo samo še z elektronskim mikroskopom.

Lastnosti, po katerih minerale prepoznamo v presevni svetlobi, so:

1. **Lomni količnik** je značilnost vsakega minerala, pa tudi amorfnih snovi. Na podlagi izmerjenega lomnega količnika minerale prepoznamo. V optično gostejšem mineralu se svetloba širi z manjšo hitrostjo kot v praznem prostoru, zato je lomni količnik vedno večji od 1. Bolj ko je mineral preseven, manjša je njegova optična gostota in nižji lomni količnik ima. Optično izotropni minerali (in amorfnih snovi, npr. stekla) imajo eno samo vrednost lomnega količnika, optično anizotropni minerali pa imajo lahko dva ali celo tri različne lomne količnike. **Dvolom** pove, kakšna je razlika med največjim in najmanjšim lomnim količnikom v optično anizotropnem mineralu.
2. **Barva minerala** je prav tako značilnost minerala in ga po njej lahko prepoznamo. Obarvanost je posledica kemične sestave minerala.



Slika 6: Poliranje površine obrusa

3. Pri uporabi polarizirane svetlobe in z vključenim analizatorjem se optično anizotropni minerali značilno obarvajo. V odvisnosti od velikosti **dvoloma** in od usmerjenosti mineralnega zrna glede na smer širjenja svetlobe se obarvajo z značilno **interferenčno barvo**. Po njej prav tako prepoznamo mineral.
4. **Odsevna sposobnost** je lastnost minerala, da se vidna svetloba z znano jakostjo odbija od površine nepresevnega minerala. Bolj ko je mineral nepreseven, višjo odsevno sposobnost ima.

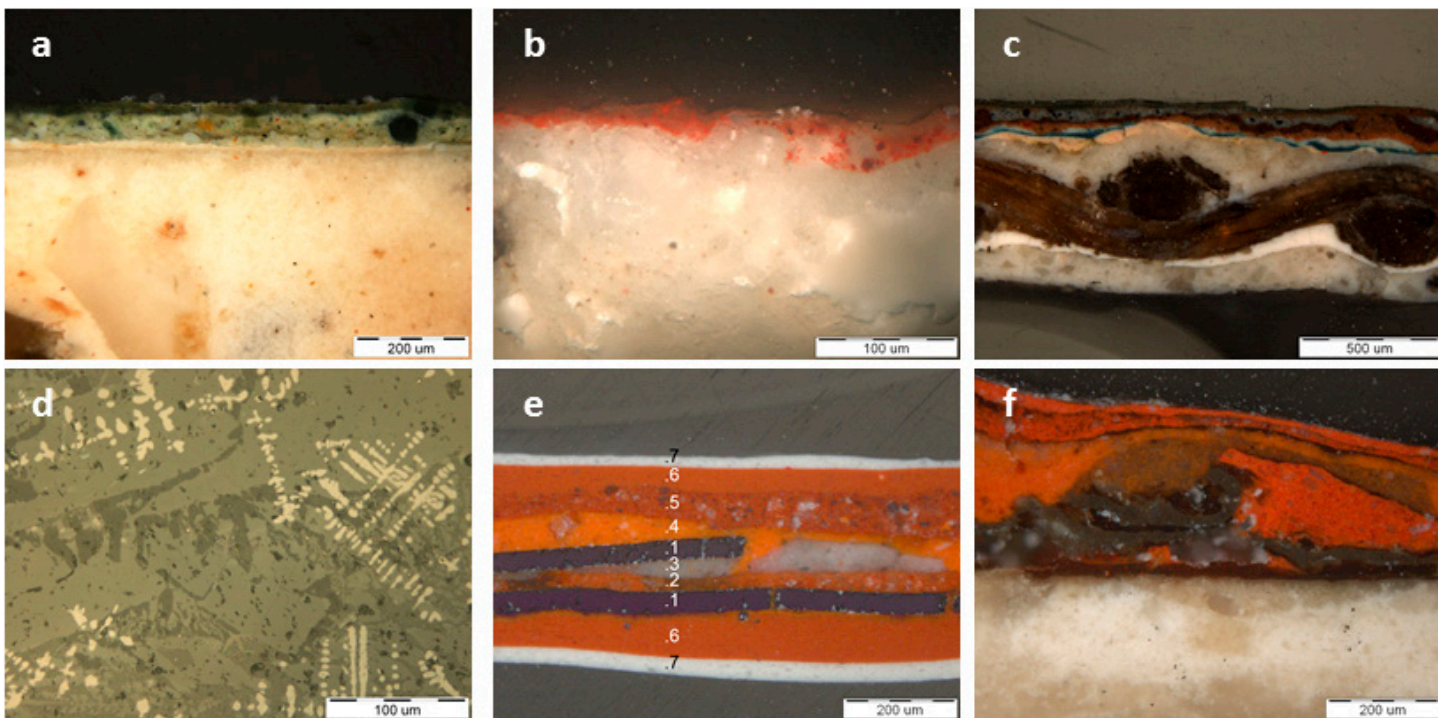
Zbrusek ali obrus pa lahko, če seveda predstavlja reprezentativen kos materiala, uporabimo tudi za **kvantitativno analizo**. S statističnim (enakomernim) pregledovanjem površine vzorca (točkovna analiza) lahko ugotovljamo količino posameznih komponent v vzorcu. Tako lahko ugotovljamo kvantitativno mineralno sestavo, razmerje med količino por in mineralnih komponent (poroznost, vidna z optičnim mikroskopom), razmerje med agregatom in vezivom v ometu itd.



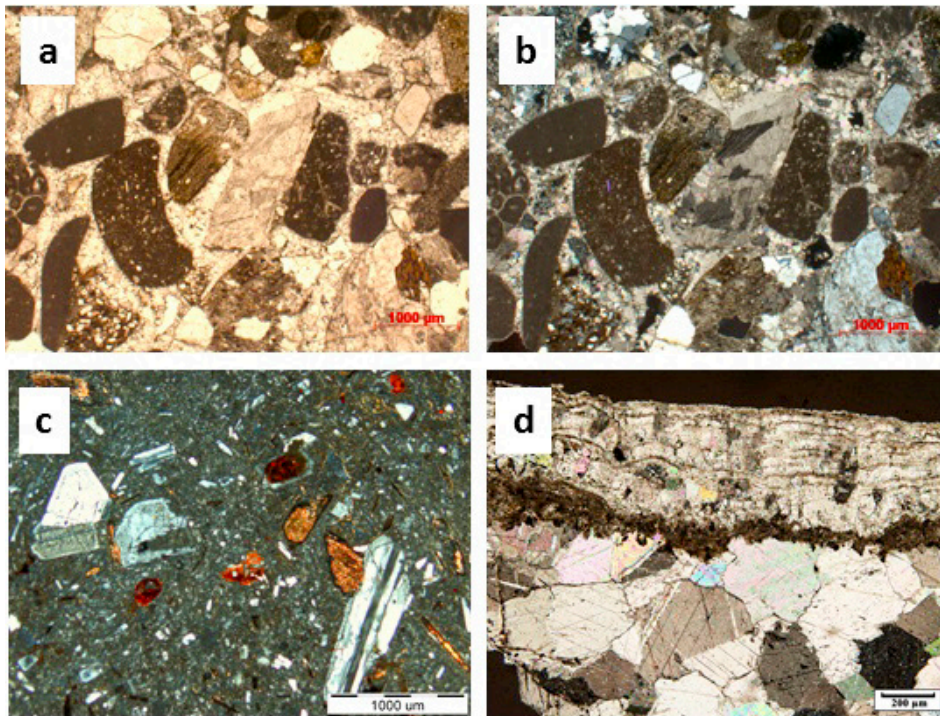
*Slika 7: Pripravljeni vzorci obrusov in zbruskov za mikroskopiranje*



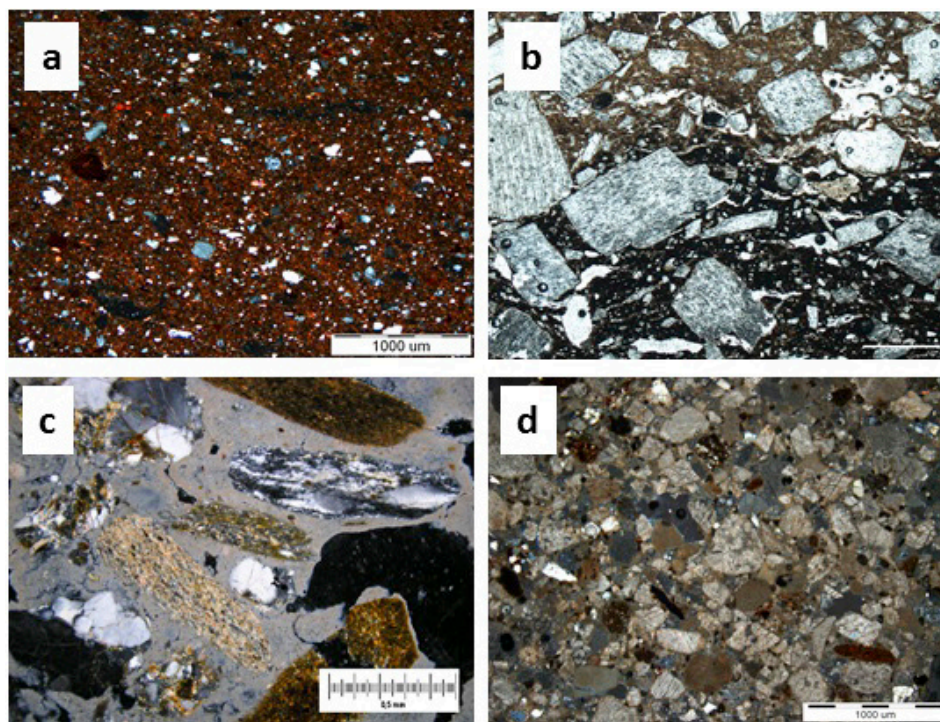
*Slika 8: Preiskava barvnih plasti z optičnim mikroskopom*



*Slika 9: Mikroskopski posnetki vzorcev v odsevni svetlobi:  
 (a) stratigrafija barvnih plasti stenske poslikave v secco tehniki,  
 (b) barvna plast stenske poslikave v fresco tehniki,  
 (c) stratigrafija barvnih plasti pri sliki na platnu,  
 (d) mikrostruktura arheološke žindre,  
 (e) stratigrafija barvnih plasti na kovinskem nosilcu (Aljažev stolp),  
 (f) stratigrafija barvnih plasti na polihromiranem lesenem kipu*



**Slika 10:** Mikroskopski posnetki različnih vzorcev kamnin v presevni svetlobi: (a) posnetek konglomerata rimskih žrmlj z navzkrižnimi nikoli in (b) enak posnetek z vzporednimi nikoli, (c) magmatska kamnina – trahiandezit – rimske žrmlje, navzkrižni nikoli, (d) črna obloga na marmorju Robbovega vodnjaka, navzkrižni nikoli



**Slika 11:** Mikroskopski posnetek fine (a) in grobe (b) keramike in ometa (c, d) v presevni svetlobi



**Slika 12:** Mikroskopski posnetek različnih naravnih vlaken (z leve: bombaž, lan, volna) v presevni svetlobi

## 4. Fluorescenčni mikroskop

### Splošno

Fluorescenčni mikroskop je optični mikroskop, pri katerem se za proučevanje organskih ali anorganskih snovi uporablja fluorescenca ali fosforescenca. Fluorescenčni mikroskop omogoča, da nam preparatov ni treba obarvati s posebnimi barvili, da bi opazili določene strukture. Z njim opazujemo preparate, v katerih so prisotne snovi, ki fluorescirajo. To pomeni, da lahko absorbirajo svetlobo krajših valovnih dolžin (UV, modra, vijolična) in oddajajo svetlobo daljših valovnih dolžin (rumena, rdeča). Ugotavljamo lahko prisotnost organskih snovi v vzorcih (slika 13), pa tudi kontaminacijo predmetov oz. vzorcev z mikroorganizmi (sliki 14, 15). Ločimo lahko različne vključke v dragih kamnih in na

podlagi njih provenienco kamnin ter tudi sintetične drage kamne od naravnih.

### Opis metode

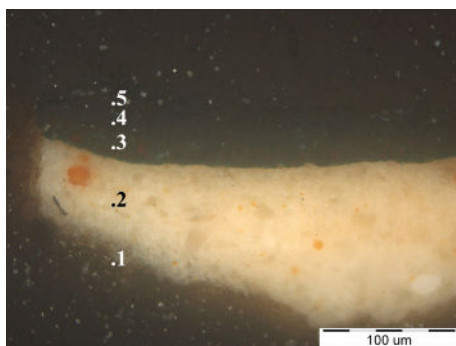
Vir svetlobe je pri fluorescentnem mikroskopu živosrebrna žarnica (pri navadnem svetlobnem mikroskopu pa volframova ali halogenska), ki oddaja oz. vzbuja svetlobo nižjih valovnih dolžin. Preparat osvetljujemo od zgoraj, se pravi, da objektiv opravlja nalogo kondenzorja in objektiva. Med žarnico in preparatom je vzbujevalni filter in loči tisti del spektra svetlobe, ki ima nižjo valovno dolžino. Med objektivom in okularjem mora biti še zaporni filter, ki zaustavi vzbujevalno svetlobo, saj lahko poškoduje oči (predvsem UV). Med obema filtroma je še posebno zrcalo, ki vzbujevalno svetlobo usmeri nazaj v objektiv, fluorescentno pa v okular.

### Priprava vzorca

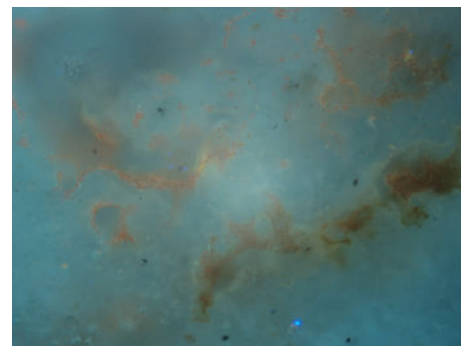
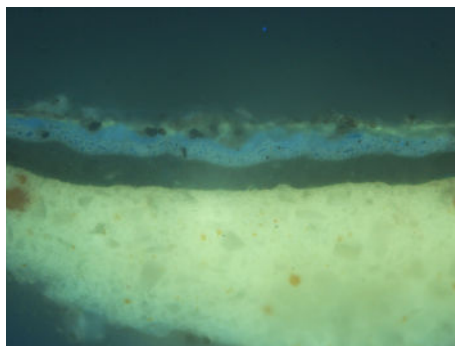
Priprava vzorca je podobna kot pri optičnem mikroskopu. Opazujemo lahko preseke vzorcev. Vzorce lahko tudi barvamo z različnimi barvili, ki potem značilno fluorescirajo, in tako lahko ločimo snovi.

### Vrsta informacije

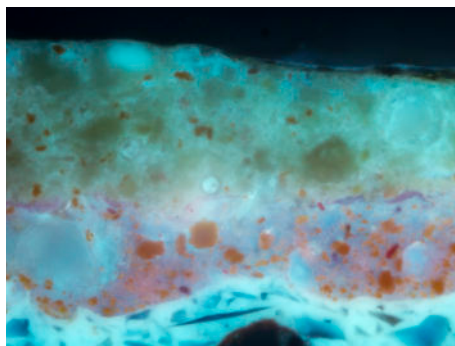
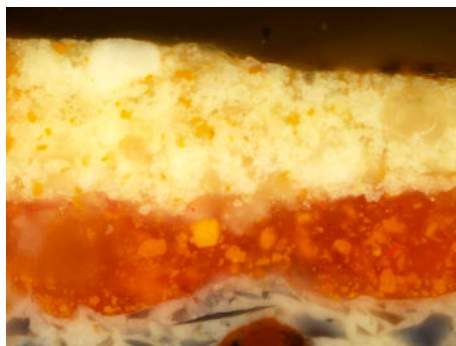
Z mikroskopom ugotavljamo prisotnost fluorescenčnih snovi v vzorcu. Z njo lociramo in identificiramo proteine oz. prisotnost organskih veziv pri barvnih plasteh različnih poslikav. Fluorescenčna mikroskopija predstavlja specifično analizo metodo za prepoznavanje in mapiranje različnih organskih veziv v kompleksni matrici. Različna organska veziva lahko imajo zanje različne karakteristične barve in intenzitete.



Slika 13: Mikroskopski posnetek vzorca barvnih plasti (levo) v odsevni svetlobi. V UVF (desno) so bolj razvidne dve modri plasti in plast laka s plesnijo.



Slika 14: Mikroorganizmi v marmorju Robbovega vodnjaka. UVF-posnetek obrusa.



Slika 15: V UVF-posnetku (desno) sta pri sliki na platnu vidna plesen in svinčevo milo. Levo mikroskopski posnetek v odsevni svetlobi.

## 5. Vrščni elektronski mikroskop

### Splošno

Z vrščnim elektronskim mikroskopom lahko ugotovljamo morfologijo predmeta ali vzorca (slika 16). Z vrščnim elektronskim mikroskopom z energijskiodisperzijskim spektrometrom (SEM/EDS) ugotovljamo tudi kemijsko sestavo vzorca v točno določeni točki. Opazujemo lahko zgradbo predmetov, npr. debelino določenih plasti ali glazur, prisotnost sekundarnih snovi, kot so npr. različne soli, poškodbe materialov, velikost in obliko posameznih zrn itd. Poleg tega lahko opazimo spremembe, ki z optičnim mikroskopom niso vidne. Vzorca ni treba posebej pripraviti, kadar pa je predmet dovolj majhen, lahko njegovo površino opazujemo v celoti.

### Opis metode

Pri vrščnem elektronskem mikroskopu vzorec obstreljujemo s snopom elektronov. Ko elektronski snop trči na površino vzorca, pri tem nastanejo odbiti, sekundarni in Augerjevi elektroni ter elektromagnetni valovi v ultravijoličnem in rentgenskem delu spektra. SEM omogoča povečave od 20.000- do 300.000-krat. Poznamo visokovakuumski – HV in nizkovakuumski – LV SEM. Razlika je v nivoju vakuumu v delovnem prostoru mikroskopa. Pri visokovakuumskem SEM so možne večje povečave, ker je energija snopa elektronov večja, s tem pa je izboljšana tudi njegova ločljivost (ob zmanjšani globinski ostrini). Kemično sestavo (kvalitativno in kvantitativno) na površini vzorca lahko ugotovljamo s t. i. energijsko disperzijo rentgenskih žarkov – EDX in disperzijo rentgenskih žarkov glede na njihovo valovno



Slika 16: Delo z vrščnim elektronskim mikroskopom z EDS



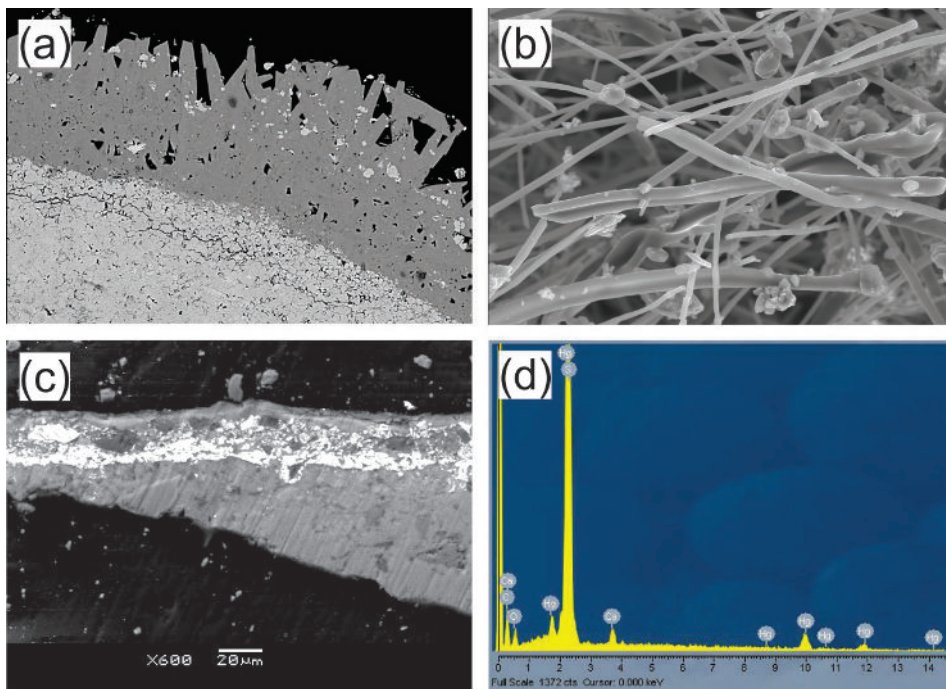
Slika 17: Komora vrščnega elektronskega mikroskopa z brusom vzorca

dolžino – WDX. Za obe metodi velja še drugačno poimenovanje: uporabljata se tudi imeni energijska disperzijska spektroskopija – EDS in spektroskopija disperzije valovnih dolžin – WDS. Obe metodi sta sestavni del elektronskega mikroskopa.

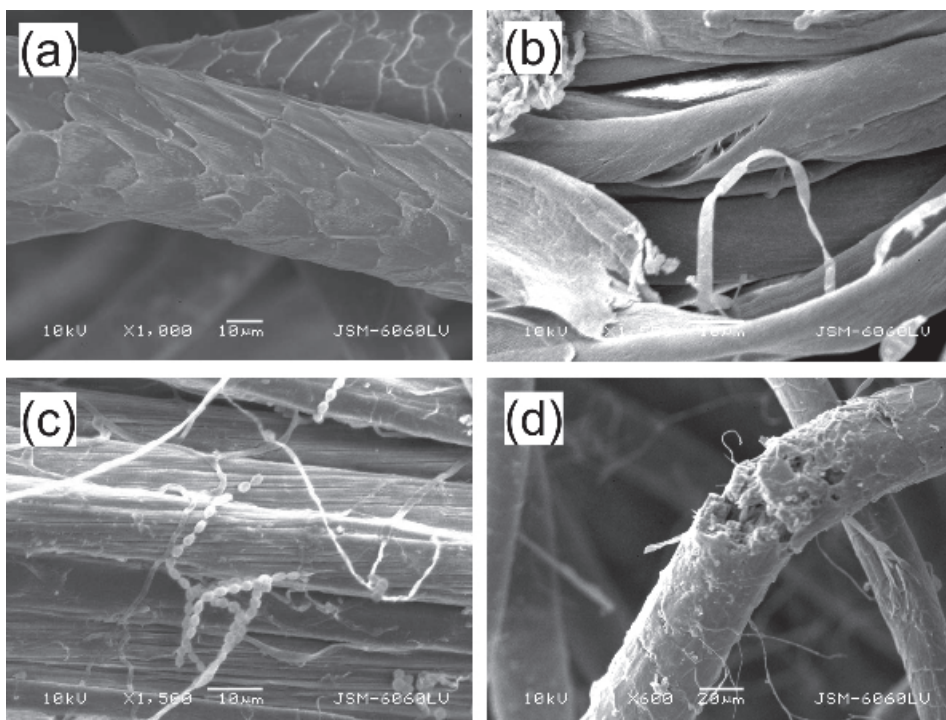
Snop elektronov, s katerim obstreljujemo mineralni vzorec, ima

dovolj energije, da lahko v atomih elementov, ki sestavljajo obsevano mesto na vzorcu, povzročijo emisijo za te elemente karakterističnih rentgenskih žarkov. Glede na energijo (EDX-spekter) ali glede na valovno dolžino (WDX-spekter) emitiranih rentgenskih žarkov lahko sklepamo na kemično sestavo na obsevanem mestu. Intenziteta





**Slika 18:** Posnetki z vrstičnim elektronskim mikroskopom: (a) presek črne obloge na kamnitem elementu, (b) soli na površini kamnitega elementa, (c) barvna plast stenske poslikave, (d) EDS-spekter analize zrna pigmenta nakazuje cinober



**Slika 19:** (a) Volna (in večina drugih živalskih dlak) ima značilno površinsko morfologijo, ki jo lahko opazujemo s SEM. Poškodbe vlaken, ki nastanejo zaradi različnih zunanjih dejavnikov in procesov staranja, najlažje opazujemo s SEM (b – bombaž, c – lan, d – volna). Najpogostejše poškodbe so vzdolžne razpoke (vidne pri bombažu in lanu) ter prečni prelomi (vidni pri bombažu in volni).

emitiranih žarkov v EDX/WDX-spektru nam pove količino elementa na obsevanem mestu.

#### **Priprava vzorca**

Za preiskavo ne potrebujemo nujno gladke površine. Uporabimo lahko svež, nepripravljen vzorec oz. opazujemo svež prelom. S tem dobimo nepoškodovano površino

oz. morfologijo materiala, ki ga opazujemo. Opazujemo lahko zelo majhne vzorce, tudi nanodelce. Velikost vzorca oz. predmeta je omejena na velikost delovnega prostora mikroskopa – torej na nekaj centimetrov (slika 17).

Za HV SEM je treba vzorec nepariti oz. napašiti s toplotno in električno prevodno plastjo kovine (ogljik,

zlato; s tem tudi onemogočimo nadaljnje preiskave na istem vzorcu z drugimi analiznimi metodami). V nizkovakuumskem SEM pa naparevanje vzorca ni potrebno, kar omogoča nadaljnje preiskave na istem vzorcu.

#### **Vrsta informacije**

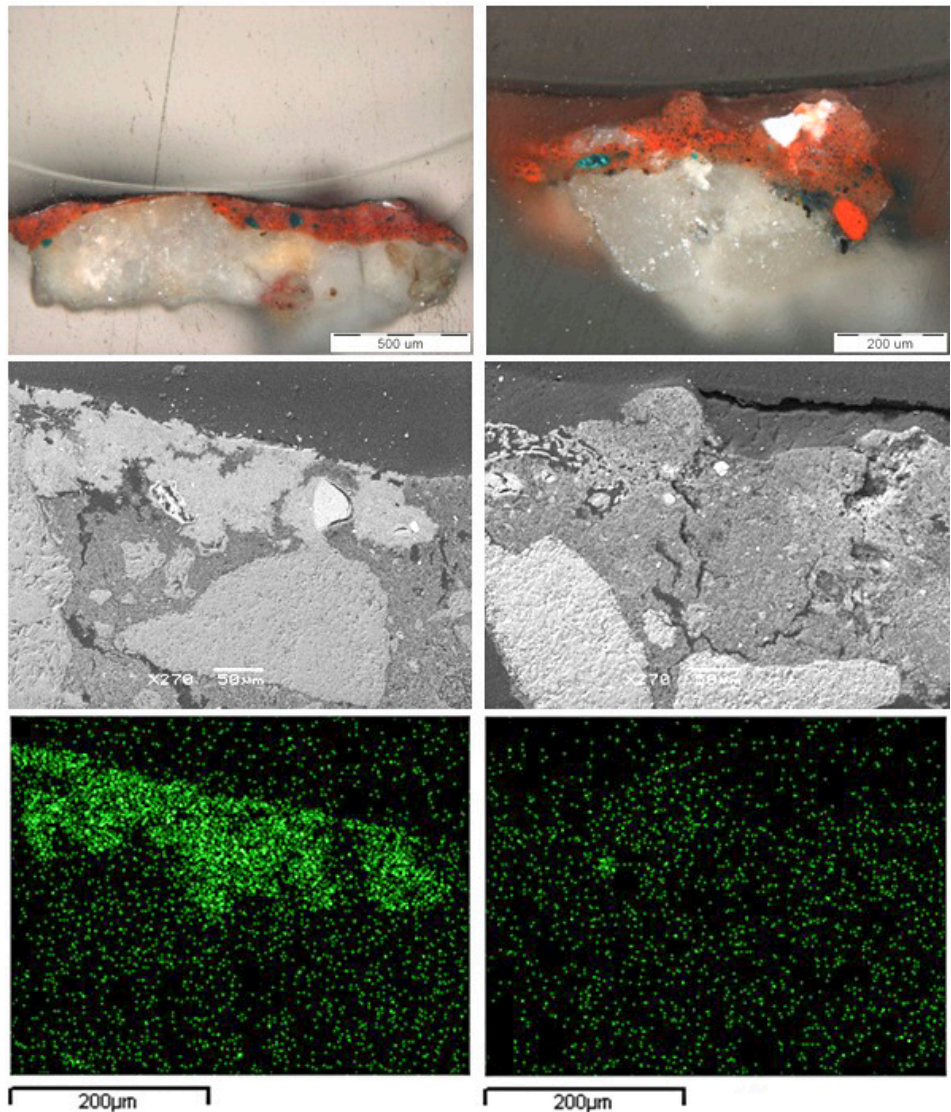
Morfologija in sestava na površini

vzorca (sliki 18 in 19). Pri SEM dobimo sliko vzorca na zaslonu kot posledico emisije sekundarnih elektronov – SEM SE, ki jih na površini vzorca vzbudi snop vpadlih elektronov, s katerimi obsevamo (obstrelujemo) vzorec. Površina, na kateri se je emitiralo več sekundarnih elektronov, da na zaslonu svetlejšo sliko in obratno.

Vpadli snop elektronov se na površini oz. tik pod površino vzorca lahko tudi odbija – SEM BSE. Ti odbiti elektroni na zaslonu tvorijo sliko površine vzorca. Na mestih, na katerih se je odbilo več elektronov, je slika svetlejša in obratno. Jakost odbitih elektronov je odvisna od kemične sestave vzorca na obsevanem mestu. Tako je praviloma slika mineralov, ki jih sestavljajo elementi z večjo atomsko maso, svetlejša kot slika mineralov, ki jih sestavljajo predvsem kamninotvorni elementi (nekovinski). Opisani princip je pravilo tudi pri optični mikroskopiji v odsevni svetlobi, čeprav je nekaj razlik. S slike SEM BSE tako lahko posredno že sklepamo na kemično sestavo opazovanega vzorca.

**Kemijska sestava.** EDX- in/ali WDX-analizo lahko izvajamo v točki vzorca. Govorimo o točkovni analizi. Kot rezultat dobimo spekter: št. sunkov/čas. enoto =  $f$  (valovne dolžine ali energije emitiranih karakterističnih rentgenskih žarkov). Na spektru točkovne analize dobimo karakteristične pike vseh elementov, ki sestavljajo vzorec v preiskovani točki. Intenziteta posameznega pika je odvisna od količine elementa, ki je za posamezni pik značilen. Pri taki kemični analizi povzročajo problem lahki elementi.

Druga možnost je, da ugotavljamo količino enega elementa v določeni smeri na vzorcu – linijska analiza. Za vsak element tako naredimo v tej smeri ločeno analizo in dobimo kot rezultat št. sunkov/čas. enoto =  $f$  (smeri v vzorcu). Linijska kemična



**Slika 20:** Mapiranje površine vzorca prikazuje odsotnost žvepla in s tem sulfatnih soli po postopku razsoljevanja stenske poslikave. Levi stolpec: pred postopkom, desni stolpec: po postopku čiščenja. Zgoraj sta mikroskopska posnetka v odsevni svetlobi, sledi SEM posnetek ter mapping, ki prikazuje področja s prisotnostjo žvepla.

analiza je uporabna npr. pri preiskavi reakcijskih robov, lahko tudi sledimo, od kod prihajajo sestavine za kristalizacijo sekundarnih mineralov.

Kemijsko sestavo lahko ugotavljamo tudi na celotni preiskovani površini vzorca. Kot rezultat dobimo sliko točk, ki jih je več (svetlejša slika) na tistem mestu, kjer je analiziranega elementa več, in obratno. Vsaka slika nam da podatek o količini enega elementa na preiskovani površini. To je površinska kemična

analiza ali kemijsko mapiranje. Tudi rezultat mapiranja je uporaben, saj lahko npr. ugotovimo, kam se vgrajuje določeni element v kamnini kot posledica preperevanja kamnine. Ali pa lahko ugotovimo, kateri minerali so vir elementa, ki se porablja za kristalizacijo sekundarnih mineralov. Metoda je zelo uporabna za ugotavljanje učinkovitosti razsoljevanja, saj je vidna prisotnost oz. odsotnost žvepla, ki je sestavni del sulfatnih soli (slika 20).

## 6. Ramanska mikrospektroskopija

### Splošno

Ramanska mikrospektroskopija omogoča identifikacijo anorganskih in organskih materialov (slika 21). Uporabljamo jo predvsem pri identifikaciji in degradaciji pigmentov in sekundarnih produktov, kot so vrste topnih soli. Uporabna je za preiskavo različnih mineralnih materialov, kot so ometi, keramika, žindra, naravni kamen in dragi kamni, ter tudi naravnih vlaken. Za analizo potrebujemo zelo malo vzorca.

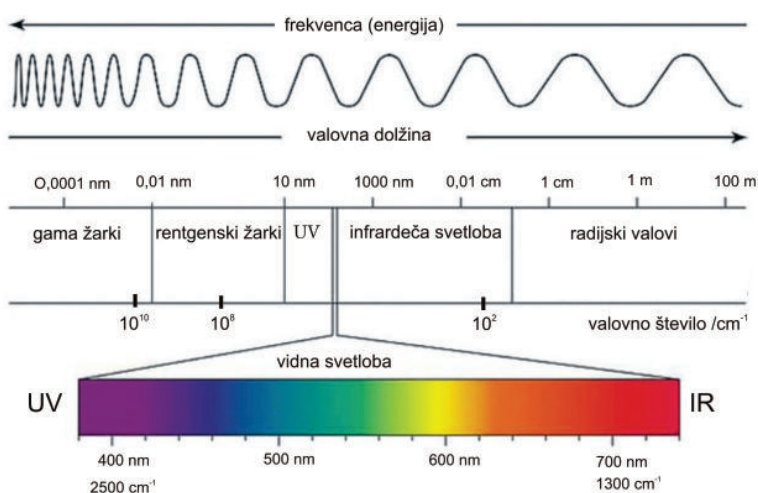
### Opis metode

Ramanska spektroskopija je spektroskopska metoda, ki temelji na neelastičnem sipanju oz. ramanskem sipanju monokromatske svetlobe. Ta ima izvor v laserju, v območju vidnega, delu blizu infrardečega ali delu blizu ultravijoličnega spektra elektromagnetnega valovanja (slika 22). Ko obsevamo vzorec z laserjem, se okoli 99,99 % vpadle svetlobe elastično siplje, pri čemer se njena valovna dolžina praktično ne spremeni. Pojavu pravimo Rayleighovo sipanje. Preostali odstotek sipane svetlobe se siplje neelastično, kar imenujemo ramanski efekt. Pri tem poleg osnovne frekvence dobimo še nove, ki so višje ali nižje, odvisno od tega, ali je foton pri neelastičnem trku energijo dobil ali izgubil. Pri tem nastali t. i. frekvenčni oz. ramanski premiki je odvisen od kemijske strukture snovi – je karakterističen, na podlagi tega pa lahko sklepamo, katera skupina atomov vibrira in na kakšen način.

Ramanski premiki, število ramanskih trakov in njihove relativne intenzitete so odvisni od vibracije molekul in kristalnih rešetk. Ramanski spekter je torej izredno specifičen za posamezni



Slika 21: Delo z ramanskim mikrospektroskopom



Slika 22: Spekter elektromagnetnega valovanja (povzeto po <https://svetilaled.wordpress.com/>)

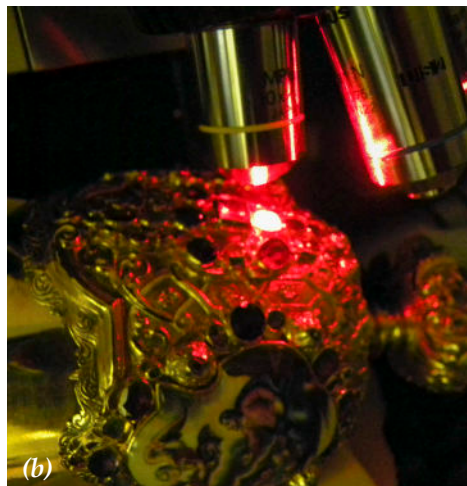
vzorec, zato ga lahko uporabimo za identifikacijo neznane snovi.

Mesto preiskave v vzorcu lahko določimo z optičnim mikroskopom, če je ta sestavni del ramanskega spektrometra, zato metodo imenujemo ramanska mikrospektroskopija. Vzorec lahko obsevamo z laserskim žarkom različnih valovnih dolžin.

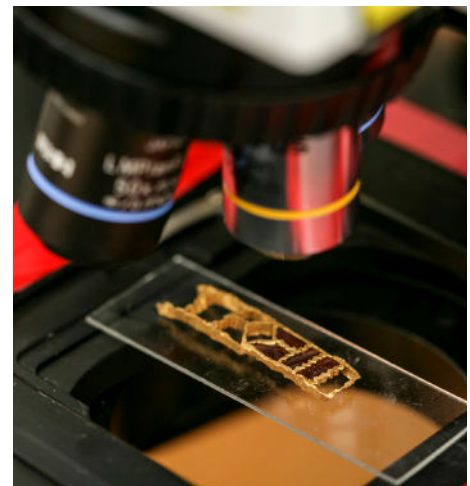
### Priprava vzorca

Z metodo lahko analiziramo vzorce v vseh agregatnih stanjih

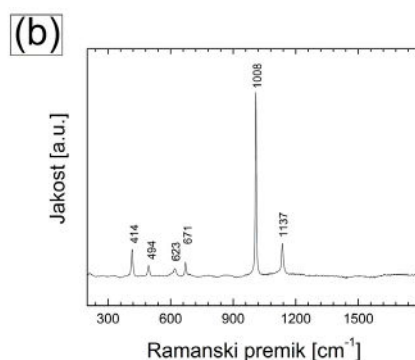
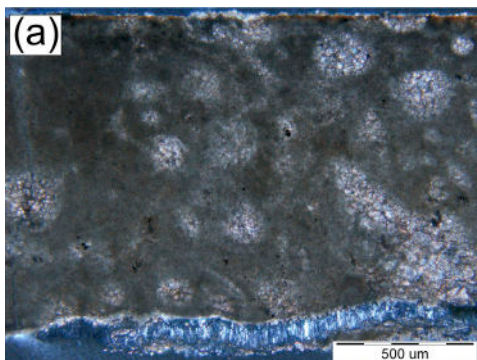
(plinasto, tekoče, trdno). Metoda načeloma ne zahteva priprave vzorca. Preiskujemo lahko majhne količine vzorca (2 μm), poleg tega pa je možna tudi neporušna analiza. Obstajajo izvedbe prenosnega ramanskega spektrometra, ki omogoča in situ preiskave objektov ali predmetov brez odvzema vzorca. Nekateri spektrometri pa imajo horizontalni izhod laserskega žarka, kar omogoča analizo predmeta. Nedestruktivno lahko analiziramo tudi manjše predmete, katerih velikost je omejena z razdaljo med



**Slika 23:** (a) Nameščanje predmeta za preiskavo z ramanskim mikrospektroskopom, (b) izvajanje meritev z ramanskim mikrospektroskopom z rdečim laserskim žarkom



**Slika 24:** Merjenje granatnih dragih kamnov na poznoantični fibuli



**Slika 25:** Mikroskopski posnetek kristalizacije topne soli v kamnitem elementu iz apnenca (a) in ramanski spekter topne soli sadre (b)

mizico in objektivom mikroskopa (sliki 23, 24). Z metodo lahko analiziramo pripravljene (zbruske, obruse) ali nepripravljene vzorce, kot so posamezni kristali ali zrna mineralnega materiala ali vlakna. Metoda omogoča analizo v točno določeni točki vzorca, linijsko analizo ali mapiranje. Je neobčutljiva za vodo, zato lahko vzorce opazujemo tudi v vodni raztopini. Poleg tega tudi steklo ne moti ramanskih spektrov, zato je priprava celic za opazovanje tekočin in plinov veliko enostavnejša kot pri infrardeči spektroskopiji. Metoda je površinska, vdorna globina laserske

svetlobe je do nekaj nanometrov, torej analiziramo le površinsko plast kristalov. Efektivna lateralna resolucija je lahko do 1  $\mu\text{m}$ .

### Vrsta informacije

Kot rezultat dobimo spekter, ki je karakterističen za posamezni mineral (slika 25). Spektri so neodvisni od valovne dolžine vpadne svetlobe (od uporabljenega laserja) ter kota odbite ali prepuščene svetlobe. Na podlagi spektralnih baz določimo **kvalitativno mineralno sestavo vzorca**. Na podlagi relativnih intenzitet ramanskih trakov, ki

so proporcionalne z relativnimi koncentracijami določene spojine – minerali, dobimo **kvantitativno mineralno sestavo vzorca**.

Intenziteta je sorazmerna s četrto potenco frekvence vpadle svetlobe. Ramansko sipanje je odvisno od kristalografske usmerjenosti vzorca. Torej so variacije v relativni intenziteti ramanskih trakov lahko posledica usmerjenosti vzorca in odsotnost določenega traku v spektru ne pomeni, da vibracije ni. Najpogosteje analiziramo naključno usmerjene vzorce.

Pri preiskavah historičnih materialov lahko pogosto naletimo na analitske artefakte. Eden izmed njih je pojav luminiscence, ki prekriva ramanske trakove. Do pojava prihaja predvsem pri uporabi laserjev nižjih valovnih dolžin. Težavi se izognemo tako, da zamenjamo laser. Pri obsevanju vzorca z laserjem se lahko lokalno poviša temperatura, zaradi česar se lahko vzorec spremeni ali poškoduje. Eden najbolj znanih primerov je npr. oksidacija magnetita v hematit. Temu se lahko izognemo, če zmanjšamo moč laserja s filtrom, zmanjšamo čas obsevanja ali laser zamenjamo s takim, ki ima manjšo moč.

## 7. Mikrospektroskopija FTIR

### Splošno

Spektroskopijo FTIR uporabljamo predvsem za identifikacijo organskih snovi oz. materialov v vzorcih (slika 26). Z njo identificiramo veziva v barvnih plasteh in tudi prisotnost morebitnih utrjevalcev. Poleg tega lahko ločimo tudi različne mineralne materiale in naravna vlakna. Velikokrat se spektroskopija FTIR in ramanska spektroskopija dopolnjujeta, saj so nekatera nihanja vidna pri ramanski, druga pa pri infrardeči spektroskopiji.

### Opis metode

Spektroskopija FTIR (Fourier transform infrared) je analizna metoda za identifikacijo snovi, pri kateri merimo valovno dolžino in intenziteto absorpcije srednje valovne IR-svetlobe elektromagnetnega valovanja v vzorcu (slika 22). IR-absorpcijska spektroskopija temelji na analizi spektra, ki ga dobimo, če vzorec presvetlimo z elektromagnetnim valovanjem IR-izvora. Odvisno od tipa analize se žarek odbije od vzorca ali preseva skozenj. V vzorcu absorbirana toplotna energija se pretvori v povečano/

spremenjeno molekularno gibanje. Spekter ozadja merimo zaradi relativne skale intenzitete absorpcije. Meritve ozadja ponavadi izvajamo kot meritev brez vzorca. Absorbirana valovna dolžina sevanja je karakteristična za določeno kemijsko vez oz. funkcionalno skupino. Kompleksni »prstni odtis« je značilen za vsako spojino. Računalniška kontrola in obdelava spektrov omogočata hitro primerjavo in iskanje po spektralnih knjižnicah. Nihajni spekter je grafični prikaz absorbirane ali prepuščene IR-svetlobe (v %) pri določenih valovnih dolžinah.

Za majhne vzorce so na voljo spektrometri, sklopljeni z mikroskopom, na katerih lahko snemamo refleksijske ali transmisijske spektre tako majhnih vzorcev, kot je 20  $\mu\text{m}$ .

Poleg naštetih obstajajo še druge tehnike snemanja, kot je npr. ATR (attenuated total reflection), ki temelji na ponavljajočem se odboju svetlobe od površine vzorca. Pri tem se del svetlobe absorbira in tako dobimo spekter, ki ni čisto enak absorpcijskemu.

### Priprava vzorca

IR-spektre snemamo z različno pripravljenimi vzorci. Za snemanje

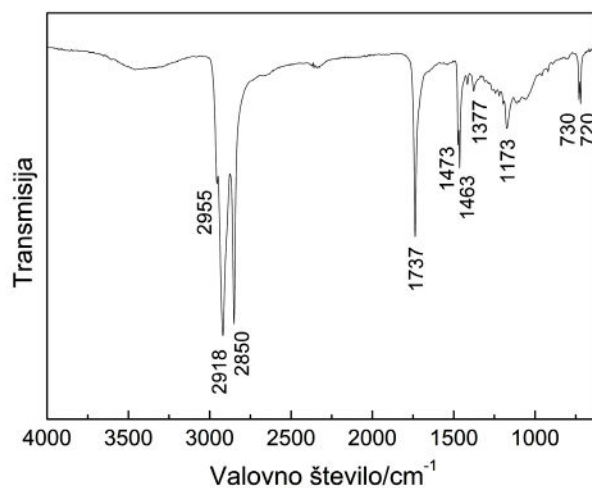
IR-spektrov potrebujemo zelo majhne količine vzorcev, ki jih moramo zdrobiti, raztopiti ali raztaliti. Trdne snovi za snemanje pripravimo tako, da vzorec (okrog 1 mg) v terilnici zdrobimo skupaj s 40–50 mg kalijevega bromida, ki je preseven za infrardečo svetlobo. Zdrobljeno zmes nato v primernem orodju stisnemo v tableto. Kalijev bromid mora biti suh, sicer vidimo v spektru tudi absorpcijske trakove vode. Snovi lahko snemamo tudi v celicah z okni iz različnih materialov (diamantna celica). Pri tehniki snemanja ATR vzorec zdrobimo v prah. Morebitno prisotnost organskih veziv iz vzorca moramo ekstrahirati; to naredimo z različnimi topili.

### Vrsta informacije

Kot rezultat analize dobimo spekter vzorca (slika 27), ki omogoča kvalitativno mineralno sestavo vzorca na podlagi spektralnih knjižnic. Moderna programska oprema omogoča kvantitativno analizo. Jakost absorpcije je namreč proporcionalna s koncentracijo snovi v vzorcu. Določimo lahko sestavo homogeniziranega vzorca, sestavo v določeni točki vzorca ter na podlagi mapiranja porazdelitve posameznih faz po površini vzorca.



Slika 26: Analiza vzorca z mikrospektroskopom FTIR



Slika 27: Spekter organskega veziva – vosek v barvni plasti

## 8. Druge vrste mikroskopov

Obstaja še cela vrsta drugih mikroskopov, vendar se na področju kulturne dediščine uporabljajo redkeje ali le za specifične raziskovalne namene. Omenimo lahko **konfokalni mikroskop**, **transmisijski elektronski mikroskop** (TEM), **mikroskop na atomsko silo** (AFM).

Sožariščna (konfokalna) mikroskopija je mikroskopska tehnika, ki nadgrajuje klasično presevno mikroskopijo. Konfokalni mikroskop se od navadnega razlikuje po tem, da naenkrat osvetlimo le izbrano rezino vzorca, kar močno izboljša kontrast slike in omogoča tridimenzionalno slikanje. Pogosto se uporablja v kombinaciji s fluorescentno mikroskopijo. S presevnim ali transmisijskim elektronskim mikroskopom – TEM lahko opazujemo delce (minerale), katerih velikost je manjša od 10  $\mu\text{m}$ . Minimalna velikost delca je odvisna od mikroskopa oz. od valovne dolžine snopa elektronov, s katerim obsevamo vzorec. Mikroskop na atomsko silo deluje na način »tipanja« površine vzorca in merjenja medatomske sile med ostro preiskovalno konico tipala in površino vzorca. Z AFM dosežemo nanometrsko in tudi subnanometrsko (atomsko) ločljivost.

## 9. Zaključek

Poznamo celo vrsto mikroskopov, ki jih uporabljamo na področju kulturne dediščine. Z njimi ugotavljamo stanje predmetov, njihovo sestavo in posledično tudi avtentičnost ter provenienco, pa tudi učinkovitost določenega posega. Omogočajo nam preiskavo širokega spektra po sestavi različnih materialov. Pri večini opisanih mikroskopov moramo za analizo z objekta oz. predmeta odvzeti

vzorec, pa čeprav majhno količino. Z nekaterimi so možne tudi nedestruktivne preiskave na mestu samem (in situ), če pa je predmet premičen, lahko preiskave opravimo tudi v laboratoriju.

## 10. Literatura in viri

- 1 D. Bersani, J. M. Madariaga, Applications of Raman spectroscopy in art and archaeology. *Journal of Raman Spectroscopy*, 2012, 43, 1523–1528, <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jrs.4219/pdf>.
- 2 Michele R. Derrick, Dusan Stulik, James M. Landry, *Infrared spectroscopy in conservation science*, Los Angeles : Getty Conservation Institute, 1999, 235 str.
- 3 W. C. McCrone (1994), »Polarized Light Microscopy in Conservation: A Personal Perspective«. *Journal of the American Institute for Conservation*, Vol. 33, No. 2.
- 4 D. Magrini, Su. Bracci, I. C. Anca Sandu, Fluorescence of organic binders in painting cross-sections. *Procedia Chemistry* 8 ( 2013 ), str. 194–201.
- 5 Joseph Edith Michelle Maryse, *Application of FTIR Microscopy To Cultural Heritage Materials*. Università di Bologna, 2009, 181 str.
- 6 E. A. Varela, *Conservation Science for Cultural heritage: Application of Instrumental Analysis*, Lecture Notes in Chemistry 79, Springer, 2013, 344.

## Avtorji fotografij

Valentin Benedik: slike 8, 21, 24

Petra Bešlagič: slike 9c, 9e, 9f, 13, 15, 20a–b, 26

Sonja Fister: slike 3, 5a, 5b in 6

Maja Gutman: slike 9a–b, 27

Miha Jeršek: slika 1

Martina Lesar Kikelj: slika 4a

Katja Kavkler: slike 4b, 4c, 12, 19

Sabina Kramar: slike 9d, 10a–d, 11a–d, 14, 16a–b, 18, 20, 22c–f, 23, 24, 25

Mojca Mušič: sliki 16 in 17

Matevž Paternoster: slika 2

Miran Udovč: slika 7