

Badanie powierzchni folii celulozowych bez nadruku i z nadrukiem farbami biodegradowalnymi przy użyciu profilometru, mikroskopu konfokalnego i mikroskopu skaningowego

Słowa kluczowe: folie celulozowe, folie biodegradowalne, starzenie promieniowaniem, farba kompostowalna, mikroskop konfokalny, mikroskop skaningowy, profilometr

Część teoretyczna

Mikroskopia konfokalna i skaningowa oraz profilometria

Mikroskopia konfokalna jest to rodzaj mikroskopii świetlnej, który charakteryzuje się powiększonym kontrastem i rozdzielczością. Polega na detekcji wypromieniowanego światła po wcześniejszym pochłonięciu go przez daną substancję oraz na pomiarze fluorescencji związków chemicznych, które wiążą się z konkretnym rodzajem komórek, strukturami subkomórkowymi lub grupami chemicznymi. Do tego rodzaju zabiegów stosuje się wiele metod barwienia oraz liczne barwniki fluorescencyjne [1, 4–6, 9–10].

Zastosowanie mikroskopii konfokalnej jest szerokie i obejmuje m.in.: przemysł półprzewodnikowy, przemysł metalowy, surowce i przemysł chemiczny, przemysł elektroniczny, przemysł spożywczy i farmaceutyczny [1, 4–6, 9–10].

Wśród zalet mikroskopu konfokalnego wymienia się:

- wysoki kontrast oraz lepszą rozdzielczość niż w tradycyjnej mikroskopii optycznej,
- możliwość rekonstrukcji obrazu w 3D i 4D,
- rejestrację obrazów cienkich warstw preparatu,
- eliminację problemu poświaty wynikającej z warstw preparatu leżących poza płaszczyzną ostrości,
- możliwość wizualizacji żywych preparatów,
- łatwość użycia i elastyczność,
- wysoką głębię ostrości pola widzenia,
- obserwację obiektu pod wieloma kątami widzenia,
- obliczenia w czasie rzeczywistym,
- bezpośrednie zapisywanie ekranów obserwacyjnych,
- obserwację pod dowolnym kątem dzięki napędowi XYZ,
- przechodzące oświetlenie LED,
- funkcję nagrywania wideo [1, 4–6, 9–10].

Do wad mikroskopii konfokalnej należy zaliczyć:

- wpływ czynników otoczenia na przeprowadzany pomiar,
- gorszą rozdzielczość niż w mikroskopie elektronowym,
- wysoki koszt takich badań [1, 4–6, 9–10].

Skaningowa mikroskopia elektronowa służy do obserwacji i charakterystyki materiałów organicznych i nieorganicznych w skali od nanometrycznej do mikrometrycznej, umożliwiając obserwację topografii badanego materiału.

Do zalet skaningowej mikroskopii elektronowej zalicza się:

- możliwość wykorzystania do pomiarów dużego spektrum próbek,
- znacznie większą głębię ostrości niż w mikroskopii świetlnej,
- wysoką rozdzielczość,
- doskonałą jakość uzyskiwanych obrazów [8, 10].

Wśród ograniczeń skaningowych mikroskopów elektronowych wymienia się:

- duży udział zderzeń niesprężystych w materiałach o strukturze nieperiodycznej, który powoduje zwiększenie rozrzutu energetycznego wiązki i przez to większą aberrację chromatyczną,
- trudność przygotowania dostatecznie cienkiego preparatu, która może powodować zwiększenie rozmycia geometrycznego i energetycznego wiązki elektronów prześwietlającej preparat,
- straty energii elektronów uzależnione od liczby atomowej materiału próbki i od jej gęstości,
- ściśle i czasochłonne procedury przygotowania próbek [2, 10].

Zastosowania skaningowej mikroskopii elektronowej to przede wszystkim:

- obrazy topograficzne,
- analiza mikrostrukturalna,
- analiza pierwiastkowa w połączeniu z odpowiednim detektorem [2, 10].

Profilometria dostarcza wielu użytecznych informacji poprzez pomiar parametrów chropowatości i falistości powierzchni próbek [2, 7]. W zależności od metody pomiaru profilometrii dzieli się na:

- stykowe,
- bezstykowe optyczne, wykorzystujące:
- metodę przekroju świetlnego,
- pomiar zogniskowaną wiązką laserową,
- pomiar triangulacyjny i interferencyjny [2, 7].

Profilometrii wykorzystujące metodę stykową wymagają bezpośredniego kontaktu końcówki pomiarowej z powierzchnią obiektu. Ogranicza to możliwość badania delikatnych powierzchni niektórych materiałów, które mogą ulegać odkształceniu lub uszkodzeniu pod wpływem kontaktu z ostrzem pomiarowym [2, 7]. Jako wady tej metody podaje się również małą prędkość pomiaru i łatwość uszkodzenia końcówki pomiarowej [2, 7]. Z tego względu od wielu lat są prowadzone prace mające na celu opracowanie innych metod analizy geometrii powierzchni, alternatywnych wobec profilometrii stykowej. Wiodącą rolę odgrywają wśród nich techniki wykorzystujące światło jako nośnik informacji o mierzonych wielko-

ściach. Jest to możliwe dzięki szybkiemu rozwojowi optoelektroniki oraz postępowi w technice mikroprocesorowej. Optyczne systemy bezstykowe wykorzystują zjawiska odbicia lub rozpraszania światła od powierzchni badanego obiektu [2, 7].

Do zalet profilometrii zalicza się:

- otrzymanie rzeczywistego obrazu, nie poddanego manipulacjom matematycznym, czego efektem jest brak utraconych danych,
- brak wpływu odbicia światła od powierzchni próbki,
- brak wymagań odnośnie do przygotowania próbki,
- możliwość pomiarów obiektów powierzchniowych o stromych powierzchniach,
- możliwość pomiarów wszystkich typów próbek: przezroczyste/matowe, dyfuzyjne/spekularne, polerowane/chropowate,
- wysoka rozdzielczość [2, 7].

Część doświadczalna

Badanie powierzchni folii celulozowych z nadrukiem: ogłędziny makroskopowe

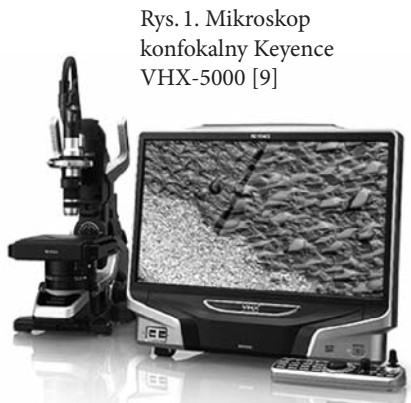
Mikroskopu konfokalnego używano do uzyskania wysokiej jakości obrazów oraz rekonstrukcji obrazów w trzech wymiarach [6]. Zasada działania mikroskopu konfokalnego, jest następująca: promień lasera pada na tzw. lustro dichroiczne, które selektywnie odbija fale świetlne. Następnie wiązka światła przechodzi przez lustro skanujące, które dzięki minimalnym ruchom obrotowym mogą nią kierować. Obiekt w skupia wiązkę w jednym punkcie – ta wzbudza wyznakowany barwnikiem preparat, co powoduje emisję dłuższej fali świetlnej. Wiązka powraca tą samą drogą przez lustro skanujące i dichroiczne, po czym natrafia na przesłonę z niewielkim otworem. W końcowym etapie wiązka dociera do detektora. Sygnał ten zostaje zamieniony przez przetworniki analogowo-cyfrowe na postać cyfrową i przeanalizowany przez komputer [1, 6, 9].

Obecnie używa się głównie trzech typów mikroskopów konfokalnych:

- skanujące laserowe mikroskopy konfokalne (ang. *Scanning Laser Confocal Microscopes*),
- mikroskopy konfokalne z wirującym dyskiem (ang. *Spinning-disk Confocal Microscopes*),
- PAM (ang. *Programmable Array Microscopes*) [1, 6, 9].

Na rys. 1 przedstawiono mikroskop konfokalny typu Keyence VHX-5000. Wykorzystano go do przeprowadzania oględzin mikroskopowych wybranych próbek folii.

Zasada działania skaningowego mikroskopu elektronowego jest następująca: wiązka elektronów bombarduje próbkę, skanując jej powierzchnię linia



Rys. 1. Mikroskop konfokalny Keyence VHX-5000 [9]

po linii. Pod wpływem wiązki elektronów próbka emituje różne sygnały: m.in. elektrony wtórne, elektrony wstecznie rozproszone, charakterystyczne promieniowanie rentgenowskie, które są rejestrowane za pomocą odpowiednich detektorów, a następnie przetwarzane na obraz próbki lub widmo promieniowania rentgenowskiego [3, 11].

Mikroskop skaningowy składa się z następujących elementów:

- działa elektronowego, gdzie wytwarzana jest wiązka elektronów,
- kolumny, w której następuje przyspieszanie i ogniskowanie wiązki elektronów,
- komory próbki, gdzie ma miejsce interakcja elektronów wiązki z próbką,
- zestawu detektorów odbierających różne sygnały emitowane przez próbkę,
- systemu przetwarzania sygnałów na obraz.

Mikroskop Zeiss Ultra Plus, który wykorzystano w badaniach, umożliwia oglądanie detali rzędu kilku nanometrów. Jest on wyposażony w trzy detektory pozwalające dostrzec różne szczegóły struktury:

- dwa detektory elektronów wtórnych:
- standardowy umieszczony w komorze SE2,
- wewnątrz kolumny InLens,
- detektory elektronów wstecznych ESB pracujące od niskich napięć, dzięki którym możliwe jest uzyskanie kontrastu nie tylko od liczby atomowej, ale też od różnych faz tego samego pierwiastka [8].



Rys. 2.
Skaningowy mikroskop
elektronowy firmy
Zeiss [8]

Na rys. 2 przedstawiono skaningowy mikroskop elektronowy typu Zeiss Ultra Plus, który posłużył do oględzin makroskopowych wybranych próbek.

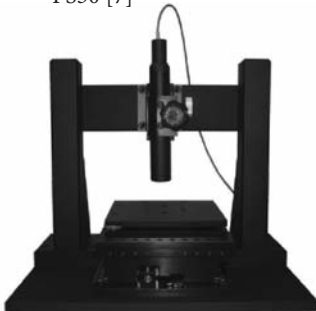
W celu wykonania badań profilometrycznych wykorzystano bezdotykowy, optyczny profilometr Nanovea PS50, który został przedstawiony na rys. 3.

Jest to funkcjonalne rozwiązanie umożliwiające badania według norm m.in.: ISO:4287, ISO:12180, ISO:12181, ISO:12185, ISO:13565. Profilometr zbiera w formie 2D i 3D obrazy dowolnych typów powierzchni i próbek. Odznacza się wysokim stopniem modułowości oraz optymalizacji pod kątem potrzeb użytkownika. Rozdzielczość profilometrów Nanovea jest szeroka, mieści się w granicach od nano- do milimetrów [2].

Ten profilometr jest przeznaczony do pomiarów:

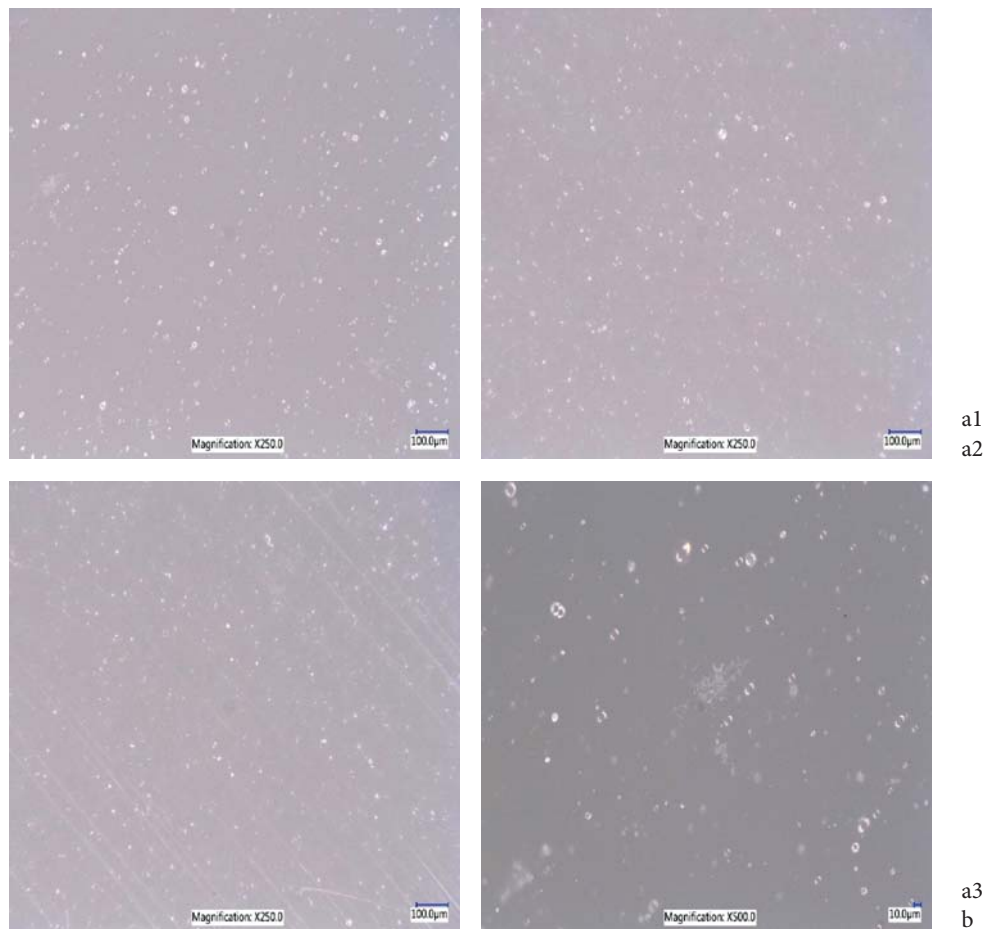
- metrologii 3D,
- profilu powierzchni, chropowatości i tekstury,
- kształtów i form topograficznych,
- objętości elementów powierzchni,
- pola badanej powierzchni,
- powierzchni przekroju poprzecznego,

Rys. 3.
Profilometr Nanovea
PS50 [7]



- grubości warstw oraz wysokości skoków,
- wymiarów ziaren [2, 7].

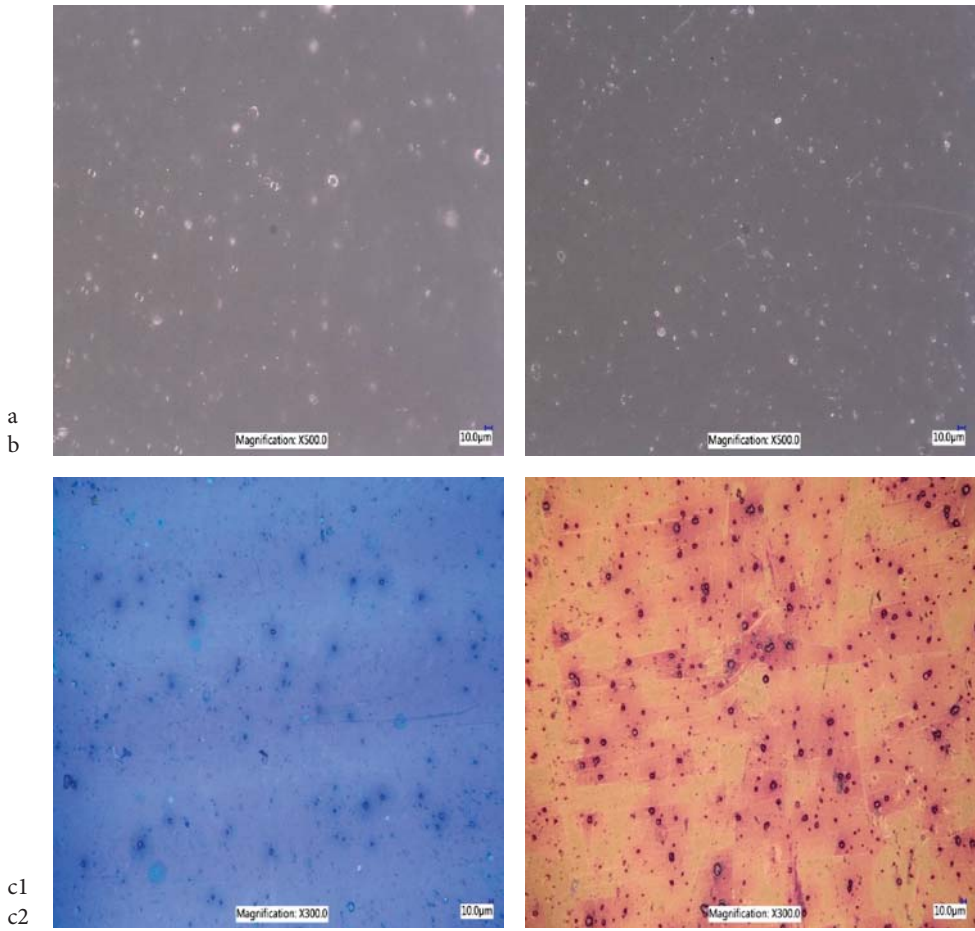
Na rys. 4–8 przedstawiono zobrazowaną za pomocą mikroskopu konfokalnego strukturę powierzchni wybranych próbek folii celulozowych, gdzie folia Cellotherm T jest wyłącznie biodegradowalna, folie z serii NatureFlex: NK i NVS dodatkowo są kompostowalne, z nadrukiem. Na rys. 9 przedstawiono powierzchnię próbek zobrazowaną za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego, na rys. 10–11 przedstawiono profil wybranych próbek.



Rys. 4.

Zdjęcie wykonane mikroskopem konfokalnym dla folii:

- a) niestarzonej: 1. NatureFlex NVS, 2. NatureFlex NK, 3. Cellotherm T,
b) NatureFlex NVS starzonej w komorze o natężeniu promieniowania 500 W/m^2 , w czasie 90 h



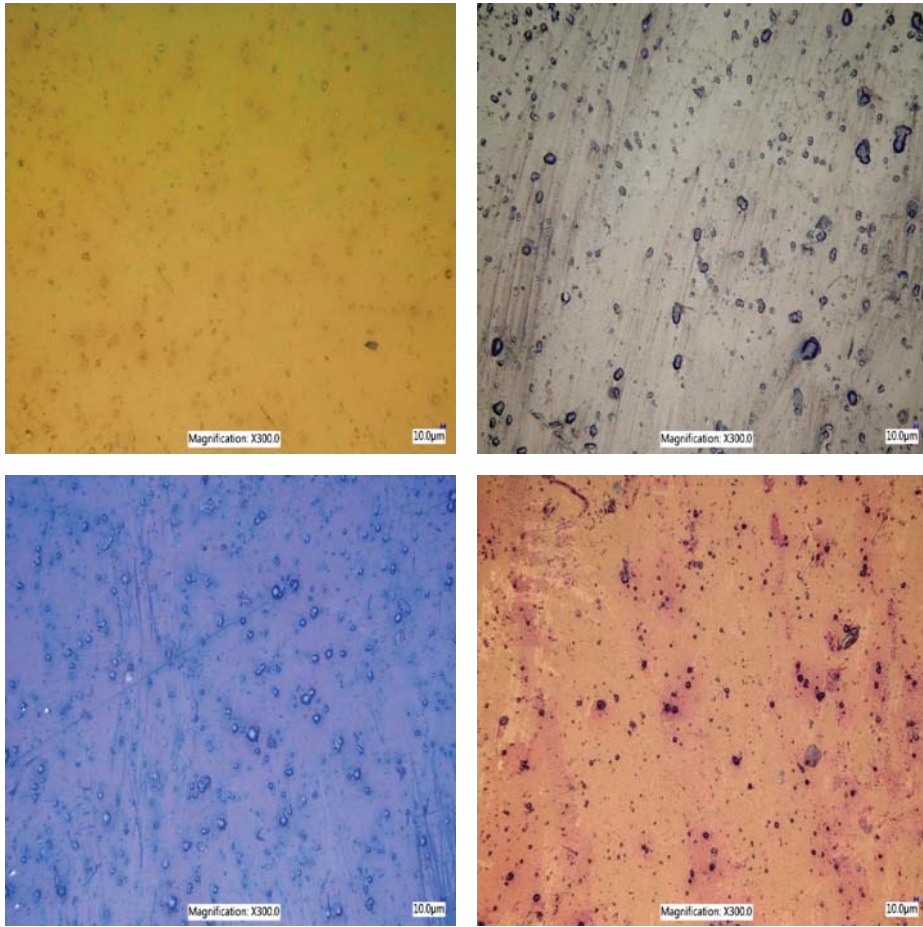
Rys. 5.

Zdjęcie wykonane mikroskopem konfokalnym dla folii starzonej w komorze o natężeniu promieniowania 500 W/m^2 , w czasie 90 h:

a) NatureFlex NK,

b) Cellotherm T,

c) NatureFlex NVS z nadrukiem wykonanym farbami AquaBio 1. cyan, 2. magenta



a1
a2

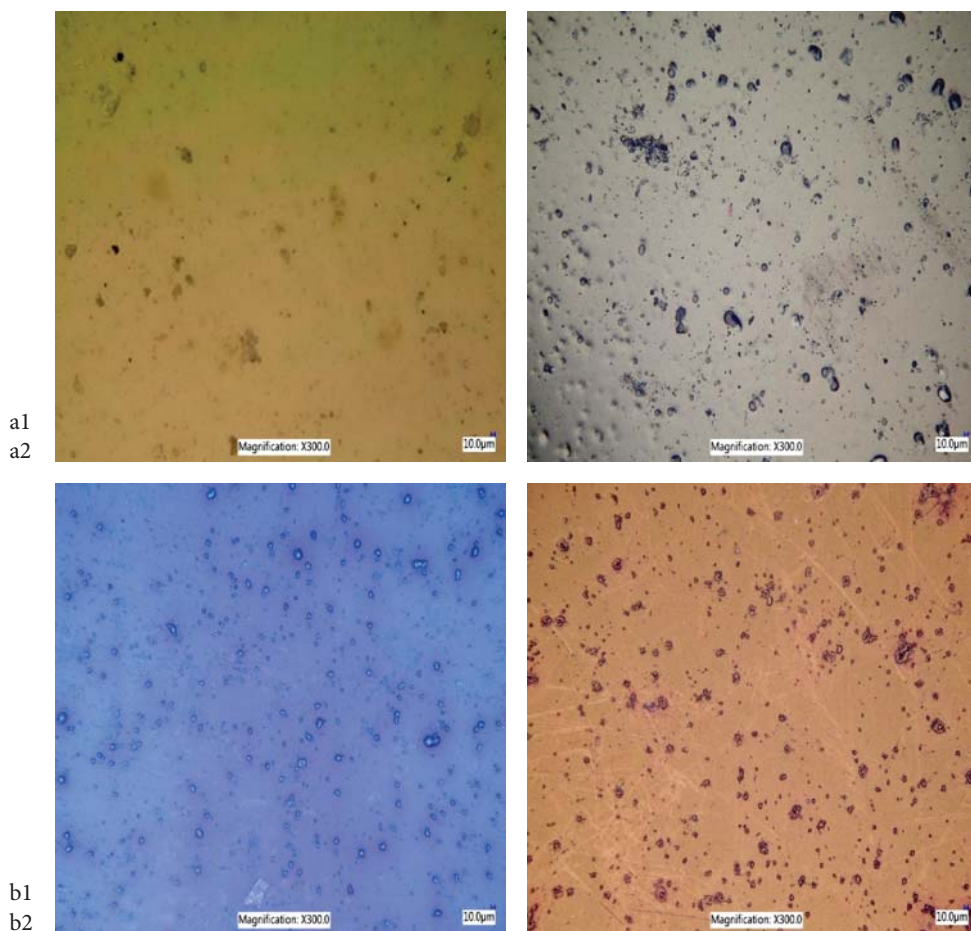
b1
b2

Rys. 6.

Zdjęcie wykonane mikroskopem konfokalnym dla folii NatureFlex NVS starzonej w komorze o natężeniu promieniowania 500 W/m^2 , w czasie 90 h, z nadrukiem wykonanym farbami:

a) AquaBio 1. yellow, 2. black,

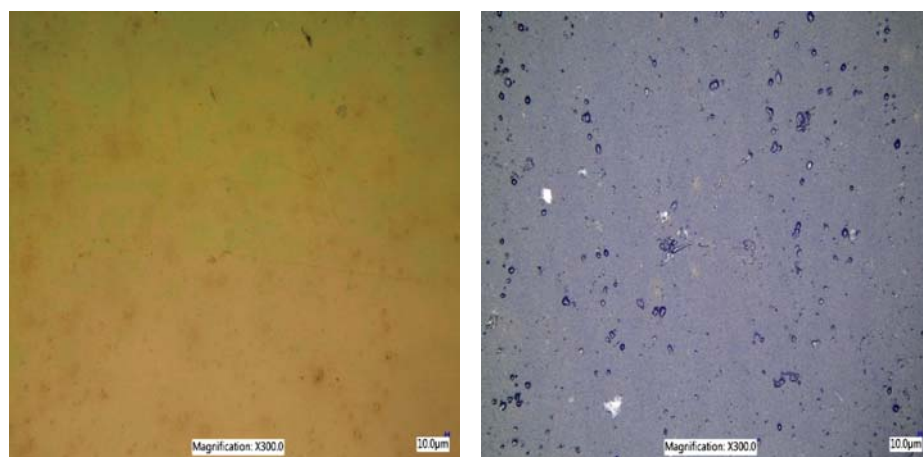
b) GeckoFrontalEco 1. cyan, 2. magenta



Rys. 7.

Zdjęcie wykonane mikroskopem konfokalnym dla folii starzonej w komorze o natężeniu promieniowania 500 W/m^2 , w czasie 90 h, z nadrukiem wykonanym farbami GeckoFrontalEco:

- a) NatureFlex NVS 1. yellow, 2. black,
- b) NatureFlex NK 1. cyan, 2. magenta



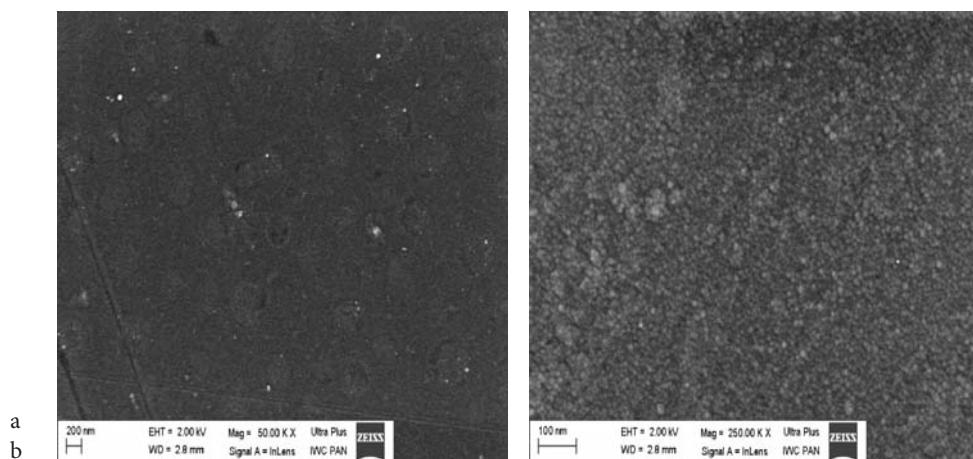
Rys. 8. Zdjęcie wykonane mikroskopem konfokalnym dla folii NatureFlex NK starzonej w komorze o natężeniu promieniowania 500 W/m^2 , w czasie 90 h, z nadrukiem wykonanym farbami GeckoFrontalEco: a) yellow, b) black

Porównując, przy powiększeniu 250 i 500 razy, strukturę folii niestarzonych oraz folii starzonych promieniowaniem UVB o maksymalnym czasie starzenia i dawce promieniowania, tzn. odpowiednio: 90 h i 500 W/m^2 , można stwierdzić, iż najbardziej zauważalne są zmiany w strukturze folii NatureFlex NVS. Najmniej natomiast widoczne, charakterystyczne są te zmiany dla folii Cellotherm T. Kratery na powierzchni próbek powiększają się. Gdy porównuje się folie niestarzone, widoczne jest, iż wśród nich największą liczbą rozłożonych małych kraterów charakteryzują się folie NatureFlex NVS, najmniejszą zaś folie Cellotherm T. Zmiany na powierzchni folii wynikają z efektów starzenia promieniowaniem.

Na folii NatureFlex NVS starzonej promieniowaniem UVB o natężeniu 500 W/m^2 i o czasie starzenia 90 h, z nadrukiem wykonanym farbą AquaBio o barwach CMYK, obserwowanej w powiększeniu $300 \times$ stwierdzono, iż najwięcej kraterów widocznych jest dla barwy magenta, najmniej natomiast dla barwy yellow. Kratery o największej powierzchni występują na powierzchni próbki o barwie black.

Z kolei dla folii NatureFlex NVS starzonej promieniowaniem UVB o natężeniu 500 W/m^2 i o czasie starzenia 90 h, z nadrukiem wykonanym farbą GeckoFrontalEco o barwach CMYK, obserwowanej w powiększeniu $300 \times$, stwierdza się, iż najwięcej kraterów widocznych jest dla barwy magenta, najmniej natomiast dla barwy yellow. Tak jak w wypadku nadruku wykonanego farbą AquaBio, kratery o największej powierzchni występują na powierzchni próbki o barwie black.

Porównując nadruk wykonany farbą GeckoFrontalEco CMYK na folii NatureFlex NK z nadrukiem tym samym rodzajem farb na folii NatureFlex NVS można stwierdzić, iż zmiany w postaci kraterów na powierzchni folii są podobne. Dla folii NatureFlex NK najwięcej kraterów zaobserwowano dla barw cyan i magenta, najmniej dla barwy yellow, natomiast największą powierzchnię kraterów zauważono dla barwy black.



Rys. 9. Zdjęcie wykonane pod skaningowym mikroskopem elektronowym dla folii NatureFlex NVS starzonej w komorze o natężeniu promieniowania 500 W/m^2 , w czasie 90 h, w powiększeniu: a) $50\times$, b) $250\times$

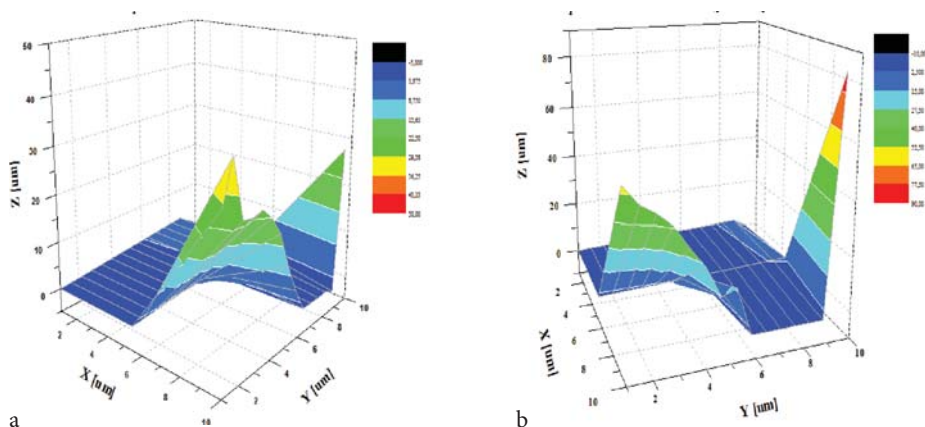
Na podstawie zdjęć wykonanych skaningowym mikroskopem elektronowym dla folii NatureFlex NVS starzonej promieniowaniem UVB o natężeniu 500 W/m^2 w czasie 90 h w wypadku powiększenia $50\times$ również na powierzchni próbki widoczne są kratery. W wypadku powiększenia $250\times$ na powierzchni obserwuje się nieregularną strukturę w postaci małych, nieregularnych punktów.

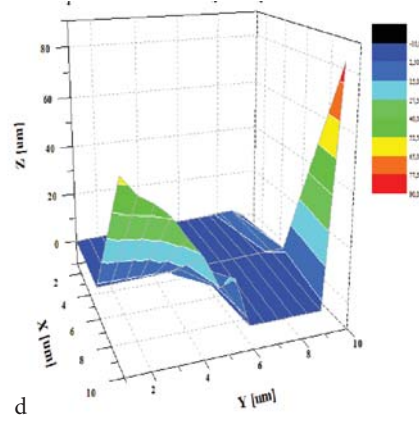
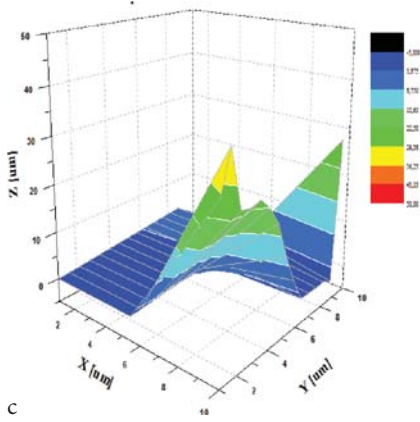
Na rys. 10–11 przedstawiono profile wybranych folii z nadrukiem farbami AquaBio i GeckoFrontalEco poddanych działaniu promieniowania 500 W/m^2 w komorze, w czasie starzenia 90 h.

Rys. 10.

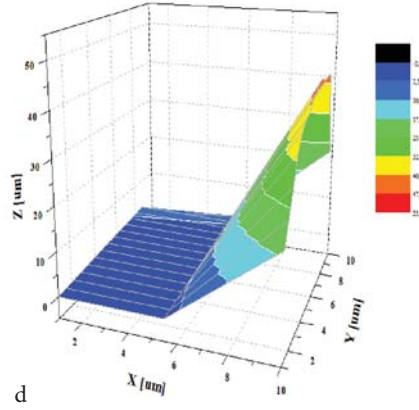
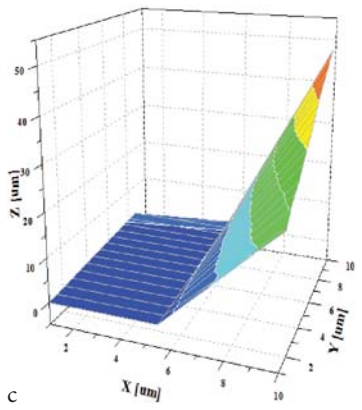
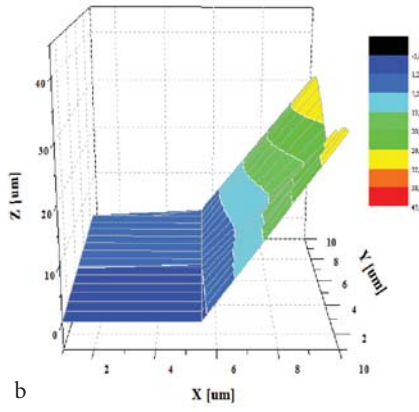
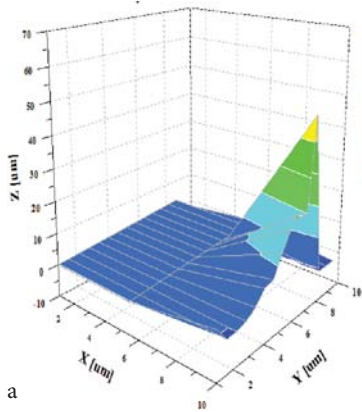
Profil folii NatureFlex NVS starzonej w komorze o natężeniu promieniowania 500 W/m^2 , w czasie 90 h, z nadrukiem wykonanym farbami AquaBio:

a) cyan, b) magenta, c) yellow, d) black





Rys. 11.
 Profil folii NatureFlex NVS starzonej w komorze o natężeniu promieniowania 500 W/m², w czasie 90 h, z nadrukiem wykonanym farbami GeckoFrontalEco:
 a) cyan, b) magenta, c) yellow, d) black



Analizując profil próbek folii NatureFlex NVS z nadrukiem wykonanym farbą AquaBio, starzonych w komorze o natężeniu promieniowania 500 W/m^2 w czasie 90 h, można stwierdzić, iż powierzchnia folii jest pofalowana. Największe pofalowanie powierzchni charakterystyczne jest dla nadruku o barwie black, najmniejsze natomiast dla barwy yellow. W wypadku nadruku farbami GeckoFrontalEco dla tego samego rodzaju folii oraz parametrów starzenia największe pofalowanie charakteryzuje nadruk farbą o barwie yellow, najmniejsze natomiast farbą o barwie cyan. Porównując zmiany profilu folii NatureFlex NVS z nadrukiem farbami AquaBio i GeckoFrontalEco widzimy, iż wielkość tych zmian jest podobna. Profil folii wynika z efektów starzenia. Nadruk na foliach został wykonany prawidłowo, dlatego odrzuca się stwierdzenie, iż profil wynika z nierównomiernego nałożenia warstwy farby.

Bibliografia

1. Brożek-Pluska B., *Mikroskopia konfokalna*. Dostępny w internecie: <http://www.mitr.p.lodz.pl/raman/brozek/pliki/zajecia/ANALIZA%20INSTRUMENTALNA%20TOWAROZNAWSTWO/wyklad7.pdf>.
2. Czajka P. i in., *Profilometr laserowy do odtwarzania geometrii powierzchni*, „Przegląd Elektrotechniczny” 2014, z. 8. Dostępny w internecie: <http://biomist.pl/biologia/elektronowa-mikroskopia-skaningowa-sem/5369>.
3. Hrynkiewicz A., Rokita E., *Fizyczne metody badań w biologii, medycynie i ochronie środowiska*, Warszawa 1999. Hrynkiewicz A., Rokita E., *Fizyczne metody diagnostyki medycznej i terapii*, Warszawa 1999.
4. Korczyński J., Wolny A., *Mikroskopia konfokalna: techniki obrazowania i komputerowa analiza danych*. Dostępny w internecie: <http://konfokal.nencki.gov.pl/Prezentacja1.pdf>.
5. Materiały informacyjne firmy Nanovea. Dostępne w internecie: <http://nanovea.com/profilometers>.
6. Materiały informacyjne firmy Zeiss. Dostępne w internecie: <http://labnano.pl/aparatura/mikroskop-elektronowy/zeiss-ultra-plus>.
7. Materiały informacyjne firmy Keyence [<http://carleton.columbia.edu/keyence-vhx-5000-digital-microscope>],
8. Mazerski J., *Materiały pomocnicze do wykładów z podstaw biofizyki. Techniki mikroskopowe*, s. 9–17. Dostępny w internecie: <http://chem.pg.edu.pl/documents/175361/28234243/cz4.pdf>.
9. Teper E., *Podstawy mikroskopii skaningowej*. Dostępny w internecie: <http://www.kgmip.wnoz.us.edu.pl/wp-content/uploads/2015/04/Podstawy-mikroskopii-skaningowej.pdf>.

Abstract

Examination of the surface of cellulose films with and without printing, made with biodegradable inks by means of a profilometer, confocal and scanning microscopes

The article presents the visual effects of solar and UV-VIS radiation with appropriate intensity and aging time on three types of cellulose foils with and without overprint. The print was made with biodegradable AquaBio and compostable GeckoFrontalEco inks. Photographs of the film surface were taken using a confocal and scanning microscope, and their profile was determined using a profilometer.