

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 569 550**

21 Número de solicitud: 201431491

51 Int. Cl.:

G01N 21/27 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

10.10.2014

43 Fecha de publicación de la solicitud:

11.05.2016

56 Se remite a la solicitud internacional:

PCT/ES2015/070732

71 Solicitantes:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS (CSIC) (100.0%)
C/ Serrano, 117
28006 Madrid ES**

72 Inventor/es:

**PINI, Valerio;
MONTEIRO KOSAKA, Priscila;
TAMAYO DE MIGUEL, Fco. Javier;
CALLEJA GÓMEZ, Montserrat;
RAMOS VEGA, Daniel;
MALVAR VIDAL, Óscar;
RUZ MARTÍNEZ, Jose Jaime y
ENCINAR DEL POZO, Mario**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

54 Título: **ESPECTROFOTÓMETRO**

57 Resumen:

Espectrofotómetro.

Se da a conocer un espectrofotómetro, en particular, a un espectrofotómetro con capacidad de análisis simultáneo en diferentes puntos de una misma muestra (4) disponiendo de una alta resolución espacial y sin requerir un sistema mecánico de barrido físico a lo largo de la muestra. Esto se consigue mediante la disposición de medios de procesamiento de la luz recibida por los fotodetectores (5) disponiendo dichos medios de procesamiento de una correlación en la que cada uno de los fotodetectores (5) corresponde a un punto espacial de la muestra (4).

La presente invención garantiza en el caso de aplicaciones de campo oscuro la normalización de los datos utilizando la misma medida.

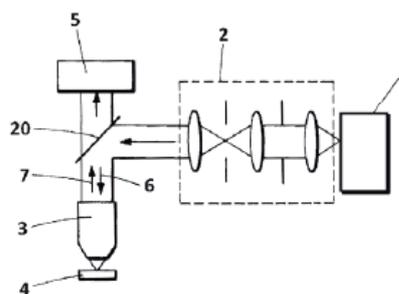


FIG. 1

ESPECTROFOTÓMETRO

DESCRIPCIÓN

5 **OBJETO DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere a un espectrofotómetro, en particular, la presente invención se refiere a un espectrofotómetro con capacidad de análisis simultáneo en diferentes puntos de una misma muestra disponiendo de una alta resolución espacial y sin requerir un sistema mecánico de barrido físico a lo largo de la muestra. Este análisis simultáneo se realiza de forma secuencial en el rango espectral (para diferentes longitudes de onda) a fin de tener un análisis de espectrometría para varios puntos de una muestra y a diferentes longitudes de onda.

Además, la presente invención permite, en ciertas condiciones experimentales, la obtención de señales normalizadas mediante la realización de una única medida.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Son conocidos en la técnica diversos tipos de espectrofotómetros para el análisis de muestras de laboratorio que permiten, entre otros, realizar un análisis espectral de una muestra respecto a una referencia. El proceso de espectrofotometría consiste en utilizar un haz de luz (de diversas longitudes de onda según el análisis que se pretenda realizar), dirigirlo hacia la muestra y analizar la luz transmitida o reflejada por dicha muestra.

En el campo de la espectrofotometría estándar, las soluciones existentes están hechas para medir propiedades ópticas globales de una muestra, normalmente se trata de una muestra líquida puesta en una cubeta y medida en transmisión; por lo tanto las medidas espectrales no tienen ninguna resolución espacial, tal y como se da a conocer, por ejemplo, en el documento US2013/0130400. Sin embargo, muchas de las aplicaciones científicas y técnicas requieren la caracterización óptica de una superficie con alta resolución espacial y por lo tanto un sistema estándar de espectrofotometría no es adecuado para todo este rango de aplicaciones.

En la literatura se pueden encontrar diferentes soluciones técnicas para el análisis espectral de una superficie resuelta espacialmente, también conocidas como técnicas micro-

espectrofotométricas. La solución más comúnmente utilizada consiste en acoplar un espectrómetro a un microscopio óptico mediante una fibra óptica. El haz colimado de una fuente de luz se enfoca mediante un lente hacia la muestra y la luz que proviene de una pequeña región de la muestra se analiza mediante una fibra óptica puesta en el plan imagen del microscopio óptico. Sin embargo, aunque esta solución obtiene resultados aceptables, está condicionada por el diámetro de la fibra óptica y, además, se requieren diversas calibraciones así como el alineamiento de la fibra óptica, dichas tareas requieren mucho tiempo del usuario y que dichos usuarios sean o, al menos, tengan acceso a personal especializado en este tipo de mediciones.

Existen otro tipo de soluciones técnicas que no requieren de una fibra óptica para realizar el análisis espectrofotométrico, ya que incorporan un espejo especial agujereado y, a través de dichos agujeros, se transmite la luz en lugar de utilizar la fibra óptica.

Estas dos soluciones logran buena resolución espacial, pero tienen la gran desventaja de que el mapeo espacial (también denominado a lo largo de la memoria como barrido en superficie) de una muestra hay que hacerlo de manera secuencial con un sistema mecánico de barrido que suele ser siempre muy lento. La resolución espacial en estos dos sistemas va a estar limitada y fijada por el diámetro de la fibra o del agujero del espejo y por la precisión del sistema de barrido.

Otra desventaja de estos dos sistemas es que siempre es necesario tomar cada una de las medidas con una muestra de referencia con el fin de eliminar la dependencia espectral de los fotodetectores, de la fuente de luz y las dependencias espectrales de todos los componentes ópticos.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención da a conocer un dispositivo que permite realizar una medición óptica en paralelo de diversos puntos de una muestra con alta resolución espacial y sin necesidad de incorporar un sistema mecánico de barrido en superficie.

En particular, la presente invención da a conocer un espectrofotómetro del tipo que comprende un emisor de un haz luz dirigido a través de una primera trayectoria óptica hacia una muestra y

un conjunto de fotodetectores dispuestos en una segunda trayectoria óptica definida como la trayectoria del haz de luz tras entrar en contacto con la muestra, caracterizado porque comprende medios de procesamiento del haz de luz recibido por los fotodetectores disponiendo dichos medios de procesamiento de una correlación en la que cada uno de los
5 fotodetectores corresponde a un punto espacial de la muestra.

Es importante destacar que el generador de luz de la presente invención dispone de medios para modificar la longitud de onda de la luz generada, de esta manera, dispone de medios para modificar, de forma secuencial, la componente espectral de la luz que se genera y, en
10 consecuencia, la componente espectral para la que se realizará el análisis de la muestra.

A título de ejemplo, se contemplan las siguientes opciones de emisores de luz:

- 1) Generador de luz con banda espectral ancha (tal como una bombilla emisora de luz blanca) con un selector de longitud (tal como un monocromador, filtros ópticos, prismas etc.); o
15
- 2) Una serie de múltiples generadores de luz de una única longitud de onda (por ejemplo, múltiples LED o múltiples LASER) para lo que no se necesitaría un selector de longitud de onda, simplemente se deben disponer de medios para la selección del LED que ilumina la muestra, así se puede hacer un barrido en longitud de onda cambiando de un LED a otro.
20

En una realización especialmente preferente, el generador del haz de luz comprende un monocromador para el control selectivo de la longitud de onda enviada a la muestra de manera que se emite un haz de luz de una determinada longitud de onda. Así, se realiza un análisis en simultáneo de distintos puntos de la muestra a una misma longitud de onda y, posteriormente, se selecciona mediante el monocromador otra longitud de onda de manera que la muestra se ilumina secuencialmente con diversas longitudes de onda.
25

El espectrofotómetro de la presente invención puede ser realizado para aplicaciones de campo claro y campo oscuro tanto para medidas en reflexión o transmisión, siempre que se utilicen los componentes ópticos adecuados para cada una de las técnicas.
30

Adicionalmente, el espectrofotómetro de la presente invención se puede realizar para la toma de medidas de polarización cruzada, siempre que se acoplen los polarizadores adecuados a lo largo del haz que incide la muestra y a lo largo del recorrido del haz que va hacia el conjunto de fotodetectores.

5

Preferentemente, el conjunto de fotodetectores es una cámara CCD en la que una serie de píxeles de la misma es un fotodetector. Dicha serie puede ser un píxel o un conjunto de ellos.

10

Para aplicaciones de microespectrofotometría, el espectrofotómetro de la presente invención dispone de un conjunto de lentes en la primera trayectoria que sirven para colimar y enfocar la luz de manera que se pueden hacer lecturas incluso en aplicaciones que requieren un análisis sub-micrométrico.

15

En realizaciones particulares de la presente invención, el generador del haz de luz comprende un monocromador de manera que se emite un haz de luz de una determinada longitud de onda. De esta manera se realiza un análisis en paralelo de distintos puntos de la muestra a una misma longitud de onda.

20

Entre los diferentes generadores de haz con banda espectral ancha que podrían utilizarse para realizar el análisis espectrofotométrico el generador del haz puede ser un generador de luz visible, ultravioleta y/o infrarroja.

25

En cuanto a los medios de transmisión de las señales ópticas, la presente invención contempla que la segunda trayectoria del haz de luz no comprenda medios de transmisión de luz cableados. De esta manera, la resolución del dispositivo no es dependiente del calibre de, por ejemplo, una fibra óptica.

30

En un primer ejemplo de realización de la presente invención, la segunda trayectoria es la trayectoria definida por la luz al ser reflejada por la muestra

En otro ejemplo de realización de la presente invención la segunda trayectoria es la trayectoria definida por la luz al atravesar la muestra.

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Para complementar la descripción que se está realizando y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características de la invención, de acuerdo con un ejemplo preferente de realización práctica de la misma, se acompaña como parte integrante de dicha descripción, un juego de dibujos en donde con carácter ilustrativo y no limitativo, se ha representado lo siguiente:

La figura 1 muestra una vista esquemática de una realización de la presente invención en la que la medida se realiza utilizando la luz reflejada por la muestra.

La figura 2 muestra una vista esquemática de una segunda realización de la presente invención en la que la medida se realiza a partir de la luz transmitida por la muestra.

La figura 3 muestra una vista en perspectiva de los elementos básicos de un espectrofotómetro según la presente invención.

La figura 4A muestra, para una primera prueba de concepto, una fotografía obtenida con un microscopio de barrido electrónico de un conjunto de micro-palancas a analizar

La figura 4B muestra las mediciones de la luz reflejada de una micro-palanca para diferentes longitudes de onda.

La figura 4C muestra un gráfico en el que se muestra la micro-palanca para la que se ha realizado la medida y, para dicha micro-palanca, las medidas del porcentaje de cambio de reflectividad normalizado.

La figura 4D muestra un gráfico en el que se ilustra el cambio normalizado de reflectividad en función de la longitud de onda del emisor de luz obtenidas en tres diferentes zonas de la micro-palanca (cerca del anclaje de la micro-palanca, en el medio y cerca de la extremidad libre).

La figura 5 muestra un mapeo del grosor de diversas palancas utilizando una medición espectrofotométrica en modalidad de campo claro con un dispositivo según la presente invención.

La figura 6 muestra imágenes de microscopio obtenidas en modalidad de campo oscuro, en una segunda prueba de concepto, para nanopartículas plasmónicas a diferentes longitudes de onda.

5 La figura 7 muestra un ejemplo de normalización de la señal obtenida mediante espectrofotometría aplicable a la prueba de concepto de la figura 6.

La figura 8 muestra los resultados obtenidos en la segunda prueba de concepto de espectrofotometría en modalidad de campo oscuro de nanopartículas plasmónicas utilizando una normalización del tipo descrito haciendo referencia a la figura 7.

REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION

La figura 1 muestra una primera realización a título de ejemplo de la presente invención, en particular, en la figura 1 se observa un conjunto emisor de luz (1) medios de transmisión y/o adecuación de dicha luz (2) y, en este caso particular, se dispone de un divisor de haces (20) y un objetivo de microscopio (3) focalizado hacia la muestra (4).

La salida de dicho conjunto emisor de luz (1) es un haz de luz que, posteriormente, pasa hacia los medios de transmisión y/o adecuación de dicha luz (2) pudiendo comprender dichos medios de transmisión y/o adecuación de la luz (2) lentes, colimadores, entre otros. A la salida de estos medios de transmisión y/o adecuación de la luz (2) se tiene el haz incidente (6) que se envía a la muestra (4) y, opcionalmente, pueden disponerse elementos intermedios como divisores de haces (20), lentes (como, por ejemplo, objetivos de microscopio (3)), etc. Se define todo este recorrido como una primera trayectoria y, en adelante, se denominará este haz que se aplica a la muestra como haz incidente (6). Posteriormente, se analiza la luz reflejada siendo esta luz un nuevo haz que, en lo posterior, se denominará como haz resultante (7).

El haz resultante (7) pasa nuevamente a través del objetivo de microscopio (3) y el divisor de haces (20) dirige este haz resultante (7) hacia un conjunto de fotodetectores (5).

En este caso particular, se utiliza un objetivo de microscopio (3) para poder analizar la muestra con una mayor resolución, sin embargo, este objetivo de microscopio (3) debe

entenderse como un elemento meramente opcional ya que se puede prescindir de éste si se tienen medios de análisis del haz resultante de muy alta resolución o si los fotodetectores, por si mismos, disponen de una suficiente resolución espacial para realizar el análisis sin necesidad de incorporar dicho objetivo.

5

Otra posible realización de la presente invención se describirá a continuación haciendo referencia a la figura 2. Esta configuración es útil para la caracterización espectral de muestras en transmisión debido a que el haz incidente y el haz resultante no comparten ningún elemento óptico. En esta realización, se utilizan lentes de microscopio (3) independientes, uno para el haz incidente (6) y otro para el haz resultante (7).

10

En esta realización se muestra un generador de luz (10) con banda espectral muy ancha (por ejemplo una lámpara alógena, una lámpara de mercurio, una lámpara de Xenón) conectado a un selector de longitud de onda (puede ser un monocromador (11), un prisma, una serie de filtros ópticos, etc.). Esta configuración permite el envío secuencial de longitudes de onda pre-determinadas. El cambio secuencial y selectivo de la longitud de onda se puede realizar por ejemplo motorizando el selector de longitud de onda.

15

En esta realización el análisis de la muestra se puede realizar, alternativamente, mediante la utilización de un conjunto de emisores de luz de diferentes longitudes de onda que se pueden encender secuencialmente.

20

A la salida de dicho conjunto emisor de luz (1) se puede transferir la luz, por ejemplo, mediante fibra óptica (8) (o cualquier otro tipo de guía óptica) hacia los medios de transmisión y/o adecuación de dicha luz (2) que puede comprender, lentes, colimadores, entre otros. A la salida de estos medios de transmisión y/o adecuación de la luz (2) se tiene el haz incidente (6) que se envía a la muestra (4) y pueden disponerse elementos intermedios como espejos (21), lentes de microscopio (3), etc.

25

A diferencia del caso de la figura 1, en este ejemplo de realización lo que se analiza es la luz que atraviesa la muestra (4) para lo que podríamos disponer lentes de microscopio (3) de la luz que atraviesa la muestra y analizar el haz resultante (7), de igual manera, mediante un conjunto de fotodetectores (5).

30

Es importante destacar que la presente invención carece de medios cableados de transmisión de luz a lo largo del haz resultante (7). Sin embargo, en algunas realizaciones sí que se pueden utilizar medios cableados para la transmisión del haz de luz incidente o de haces de luz en cualquier punto entre el generador de luz y la muestra.

5

Esta carencia de medios cableados de transmisión de luz (o fibras ópticas) del haz resultante (7) tiene la ventaja de que la resolución espacial de una muestra analizada no depende del diámetro de la fibra óptica.

10

Para ilustrar este efecto basta con suponer que se pretende hacer un análisis de una muestra para determinar artefactos en dicha muestra de un diámetro de $5\ \mu\text{m}$ en una muestra de $1\ \text{mm}^2$. Para poder detectar estos artefactos mediante técnicas de espectrofotometría estándar haría falta una fibra óptica de un diámetro inferior a los mismos (al menos de $1\ \mu\text{m}$), realizar un barrido por toda la muestra, tareas de alineamiento de la misma y un procesamiento de datos para determinar que parte de la muestra se está analizando, en cambio, el hecho de poder realizar medidas espectrales en paralelo y de forma simultánea en toda la muestra permite encontrar un pequeño artefacto en una muestra relativamente grande. Por ejemplo, con un haz incidente (6) que disponga de un diámetro de, al menos, $1\ \text{mm}^2$ y un conjunto de fotodetectores (5) con una resolución tal que permita detectar dichos artefactos y, sobretodo, no hace falta disponer de un sistema de barrido físico a lo largo de la muestra. Alternativamente, se pueden disponer lentes de microscopio (3) que magnifican el haz resultante (7) facilitando la labor del conjunto de fotodetectores (5) ya que la imagen de la muestra se ve magnificada por dichos lentes.

15

20

25

La figura 3 muestra una vista en perspectiva de un ejemplo de realización de la presente invención.

En esta figura se muestra un conjunto emisor de luz (1) que comprende un generador de luz (10) y un monocromador (11) (o, de manera más general, un selector de longitud de onda).

30

Para facilitar la comprensión de la presente invención, se asume que el haz a la salida del monocromador (11) (es decir, el incidente (6)) es un haz lineal. Además, en realizaciones particulares de la presente invención, el haz puede ser, de igual manera un haz bidimensional cuya longitud de onda se puede modificar de manera secuencial.

El haz resultante se analiza de manera tal que, una primera componente (101) corresponde a un punto determinado de la muestra y, para este punto de la muestra, se asigna un primer fotodetector (110). De igual manera una segunda componente (102) incide en un segundo punto de la muestra asignado a un segundo fotodetector (120) y una tercera componente (103) corresponde a un tercer fotodetector (130). Todos los puntos de la muestra analizada se verán iluminados de manera secuencial a las distintas longitudes de onda preseleccionadas y analizados de igual forma para cada una de dichas longitudes de onda. Esta correlación se almacena en medios de procesamiento como, por ejemplo, un ordenador y es configurable en función de la muestra. Además, en dichos medios de procesamiento se puede analizar el tamaño de la muestra, por ejemplo, mediante un cuarto fotodetector (140) al que no llega luz y, así, se podrían definir los límites del contenedor de la muestra que pueden ser útiles para procesamientos posteriores.

En definitiva, basta con tener una correlación entre puntos de la muestra y fotodetectores de manera que se puede determinar que el análisis que se está llevando a cabo por cada uno de los detectores corresponde a una coordenada espacial determinada de la muestra.

Aunque la figura 3 se refiera, para facilidad de la explicación de la invención, a un haz incidente lineal, es importante recalcar que se pueden utilizar, por ejemplo, haces circulares con un diámetro mayor al de la muestra y que el conjunto de fotodetectores (5) no sea una fila de fotodetectores sino una matriz de los mismos, por ejemplo, como conjunto de fotodetectores (5) se puede disponer una cámara CCD en la que cada uno de los píxeles (o un conjunto de ellos) corresponde a un fotodetector. Así, se podrían realizar medidas simultáneas de toda la muestra.

Una primera prueba de concepto de la presente invención se describe a continuación haciendo referencia a las figuras 4A, 4B, 4C y 4D. En ellas, se muestra la medición espectral de micro-palancas del tipo utilizado en aplicaciones de microelectrónica. Esta prueba de concepto se ha realizado en reflexión en modo de campo claro, es decir, utilizando una configuración similar a la de la figura 1.

Como prueba de concepto en modo de campo claro, se realizó un análisis espectral de la superficie de micro-palancas (300) de silicio del tipo comercialmente disponible (CLA-500-010-08, Concentris, GmbH, Switzerland), en la figura 4A se muestran una imágenes obtenidas

con un microscopio de barrido electrónico y se muestran las principales características geométricas de dichas micro-palanca. Todo el conjunto se compone de ocho micro-palanca conectadas al chip (400) a través de una región de pre-anclaje (301) de 6 μm de espesor (ver figura 4A). Dichas micro-palanca (300) tienen 500 μm de longitud, 100 μm de anchura y 1 μm de grosor. Las mediciones se realizaron mediante la utilización de un objetivo de microscopio (objetivo LU Plan Fluor 10X, Nikon, apertura numérica N.A. 0.3).

El uso de un objetivo de baja magnificación nos permite tener un área de detección suficientemente grande para medir simultáneamente cuatro palanca. El objetivo de microscopio utilizado garantiza una resolución espacial de alrededor de 1 μm . Las mediciones ópticas se han hecho en el rango espectral del visible desde 538 nm hasta 700 nm con paso de 1 nm y poniendo 1 ms de tiempo de adquisición por cada imagen. La completa caracterización de una muestra lleva menos de 2 minutos.

Todas las medidas se han normalizado con una muestra de referencia de silicio para eliminar la dependencia espectral del generador de luz, de la CCD y de todos los elementos ópticos utilizados. Todos los datos que se presentaran desde ahora para esta prueba de concepto tendrán en cuenta esta normalización.

En la figura 4B, un primer gráfico (30) muestra las mediciones de la luz reflejada por una micro-palanca para diferentes longitudes de onda. Dichas medidas se toman de forma simultánea para todos los puntos en la superficie, repitiéndose esta medida para cada una de las longitudes de onda ilustradas. Los objetos que se analizan son: una primera zona (301) que corresponde a un pre-anclaje; y la micro-palanca, que corresponde a una segunda zona (302).

Tal y como se observa en el primer gráfico (30) se han realizado medidas para longitudes de onda (λ) de 577 nm, 589 nm, 606 nm, 622 nm, 642 nm, 662 nm y 686 nm. Dichas medidas se realizan secuencialmente (es decir, primero para 577 nm, posteriormente para 589 nm y así sucesivamente).

Las imágenes de este primer gráfico (30) muestran que existe una diferencia sustancial en la reflectividad de la micro-palanca (es decir, en la segunda zona (302)) en función de la longitud de onda, mientras que en la primera zona (301) no se observan variaciones sustanciales de reflectividad.

En la figura 4C, se muestra una imagen óptica (306) de una micro-palanca (300) para la que se ha realizado la medida y bajo esta micro-palanca (300) se muestra un segundo gráfico (31) con las medidas del porcentaje de cambio de reflectividad normalizado obtenido a lo largo de la micro-palanca (es decir, a lo largo de la línea discontinua (307) de la imagen óptica (306)) en función de la longitud de onda (eje de las ordenadas). En particular, se analizarán tres puntos distintos a lo largo de dicha micro-palanca: la base (303), un punto intermedio (304) y el extremo libre (305).

Para cada punto de la micro-palanca se puede observar una modulación de la reflectividad en función de la longitud de onda. Esta modulación se debe a la presencia de interferencias múltiples dentro de la palanca que pueden producir interferencias constructivas (máximos de reflectividad) o interferencias destructivas (mínimos de reflectividad) según la longitud de onda analizada. En el caso de la zona de pre-anclaje no se observa este tipo de modulación porque la absorción del silicio no permite interferencias múltiples dentro de una estructura tan espesa (6 μm).

La figura 4D muestra un tercer gráfico (32) en el que se puede observar como las modulaciones de reflectividad entre base (303), punto intermedio (304) y extremo libre (305) están desplazadas entre ellas debido a que varía el espesor a lo largo de la palanca. En esta prueba de concepto el único parámetro que modifica el desplazamiento espectral es debido al cambio de espesor de la palanca, por lo cual con esta técnica óptica se puede sencillamente calcular el grosor de la estructura estudiada.

La figura 5 muestra un mapeo del grosor de 5 de las micro-palanca de la figura 4A utilizando una medición espectrofotométrica con un dispositivo según la presente invención en el que la escala de grises mostrada a la derecha de cada figura representa el grosor de cantiléver expresado en nanómetros. El mapeo del grosor se ha obtenido mediante el análisis de la reflectividad normalizada por cada píxel de la CCD y ajustando dicha reflectividad a un modelo teórico conocido en la técnica. Cada micro-palanca se detecta a través de unos 50.000 píxeles.

Los mapeos de grosor de la figura 5 evidencian, de forma general, variaciones importantes del grosor en varias de las micro-palanca a lo largo de su anchura. Algunas de las micro-palanca, como por ejemplo la primera micro-palanca (12) y la segunda micro-palanca (13) presentan una buena homogeneidad en grosor pero, por el contrario, la tercera micro-palanca

(14), la cuarta micro-palanca (15) y la quinta micro-palanca (16) muestran variaciones importantes de grosor que merecerían un análisis más exhaustivo.

5 En particular, la tercera micro-palanca (14) presenta una grieta (141) con un grosor sustancialmente inferior al resto de su superficie y un segundo escalón (142) que presenta un grosor muy superior que el resto.

10 En cuanto a la cuarta micro-palanca (15), esta presenta una primera zona (151) con un grosor sustancialmente superior al de una segunda zona (152).

15 Finalmente, la quinta micro-palanca (16) tiene cerca de la zona de anclaje una primera zona (160) con un engrosamiento de espesor y una segunda zona (161) donde el espesor es muy inferior al espesor promedio.

20 La segunda prueba de concepto ha consistido en el estudio espectrofotométrico de nanopartículas plasmónicas de oro de 100 nm de diámetro. En este caso, se utiliza la presente invención para un medición de espectroscopía de campo oscuro (o, "dark-field spectroscopy", como se conoce en la técnica) en reflexión, según el esquema experimental dibujado en la Figura 1. Con el fin de realizar una medida espectroscópica de campo oscuro, se ha modificado el sistema experimental de la primera prueba de concepto, sustituyendo el objetivo de microscopio con uno de campo oscuro (LU Plan Fluor 100X, Nikon, apertura numérica N.A. 0.9) y el divisor de haces con uno específico para esta modalidad.

25 Tal y como se puede observar de la figura 6, en esta prueba se realiza una medición de una muestra (17) de silicio que dispone de una serie de nanopartículas de oro sobre ella. La alta apertura numérica del objetivo utilizado (apertura numérica 0.9) garantiza, en este caso, una resolución espacial de alrededor de 300 nm.

30 En la presente invención la medición de toda la muestra (17) se ha obtenido sin realizar barridos de superficie y únicamente mediante la iluminación de toda la muestra a varias longitudes de onda de forma secuencial para los diferentes valores de dicha longitud de onda. Las medidas se han realizado en el rango espectral del visible desde 480 nm hasta 680 nm con paso de 1 nm y 30 ms de tiempo de adquisición por cada imagen.

De manera ilustrativa, la figura 6 representa imágenes de luz dispersada de una sola nanopartícula (170) a algunas de las longitudes de onda del rango espectral visible, esto es, a 495 nm (171), 508 nm (172), 554 nm (173), 574 nm (174), 608 nm (175) y 658 nm (176).

5 En dichas mediciones se observa que el comportamiento de la luz dispersada es diferente en dependencia de la longitud de onda que se pretenda analizar. La luz dispersada de dicha nanopartícula ha sido normalizada según un método que representa un importante elemento de novedad comparado con las anteriores técnicas experimentales.

10 La figura 7 muestra un dibujo esquemático de un ejemplo de normalización de la señal obtenida mediante espectrofotometría aplicable a la prueba de concepto de la figura 6.

Cada objeto dispersor de luz (22) tiene a su alrededor una región más oscura (23) que representa la luz dispersada que viene desde la muestra y que resulta muy útil como señal de referencia para el objeto dispersor de luz cercano. De esta manera, la normalización de la señal se hace de manera muy específica para cada objeto dispersor de luz garantizando un aumento notable de la razón señal-ruido de las medidas.

20 Con este método de normalización, en una sola medida se obtiene la señal que se desea medir y, asimismo, la señal de referencia obtenidas en las mismas condiciones experimentales (misma intensidad del generador de luz, mismo enfoque y misma intensidad de iluminación). Otra ventaja añadida de este aspecto es que la caracterización óptica de la muestra resulta más rápida en cuanto a que no hace falta realizar dos mediciones sucesivas tal y como ocurre en los espectrofotómetros de la técnica anterior.

25 En la figura 8 se muestran los espectros normalizados de la luz dispersada para diversas nanopartículas de la figura 6.

30 El tratamiento de los datos se ha realizado con una rutina escrita en Matlab®, que reconoce automáticamente todas las posiciones de las nanopartículas y por cada una de dichas nanopartículas se realiza la normalización de la luz dispersada.

Además, se muestran el espectro normalizado de la dispersión promedio (18) de todas nanopartículas de la figura 6.

REIVINDICACIONES

1. Espectrofotómetro del tipo que comprende un emisor (1) de un haz luz dirigido a través de una primera trayectoria óptica hacia una muestra (4) y un conjunto de fotodetectores (5) dispuestos en una segunda trayectoria óptica definida como la trayectoria del haz de luz tras entrar en contacto con la muestra (4), caracterizado porque comprende medios de procesamiento del haz de luz recibido por los fotodetectores (5) disponiendo dichos medios de procesamiento de una correlación en la que cada uno de los fotodetectores (5) corresponde a un punto espacial de la muestra (4).
2. Espectrofotómetro, según la reivindicación 1, caracterizado porque el emisor (1) comprende un generador (10) de luz con banda espectral ancha y un selector de longitud de onda.
3. Espectrofotómetro, según la reivindicación 2, caracterizado porque comprende medios para la modificación de la longitud de onda seleccionada por el selector de longitud de onda.
4. Espectrofotómetro, según cualquiera de las reivindicaciones 2 ó 3, caracterizado porque el selector de longitud de onda es un monocromador (11).
5. Espectrofotómetro, según la reivindicación 1, caracterizado porque el emisor (1) comprende una serie de generadores de luz generando cada uno de dichos generador de luz, un haz de luz a una longitud de onda diferente.
6. Espectrofotómetro, según la reivindicación 5, caracterizado porque comprende medios de selección del generador de luz (10) que ilumina la muestra (4).
7. Espectrofotómetro, según la reivindicación 6, caracterizado porque los medios de selección del generador de luz (10) que ilumina la muestra comprenden medios de modificación secuencial del generador que ilumina la muestra (4).
8. Espectrofotómetro, según la reivindicación 1, caracterizado porque el conjunto de fotodetectores (5) es una cámara CCD en la que cada uno de los píxeles de la serie de píxeles de dicha cámara CCD es un fotodetector.

9. Espectrofotómetro, según la reivindicación 1, caracterizado porque dispone de un conjunto de lentes en la primera trayectoria.

5 10. Espectrofotómetro, según la reivindicación 9, caracterizado porque el conjunto de lentes comprende al menos un objetivo de microscopio (3).

11. Espectrofotómetro, según la reivindicación 1, caracterizado porque la segunda trayectoria del haz de luz comprende medios de transmisión de luz no cableados.

10 12. Espectrofotómetro, según la reivindicación 1, caracterizado porque la segunda trayectoria es la trayectoria definida por la luz al atravesar la muestra (4).

13. Espectrofotómetro, según la reivindicación 1, caracterizado porque la segunda trayectoria es la trayectoria definida por la luz al ser reflejada por la muestra (4).

15

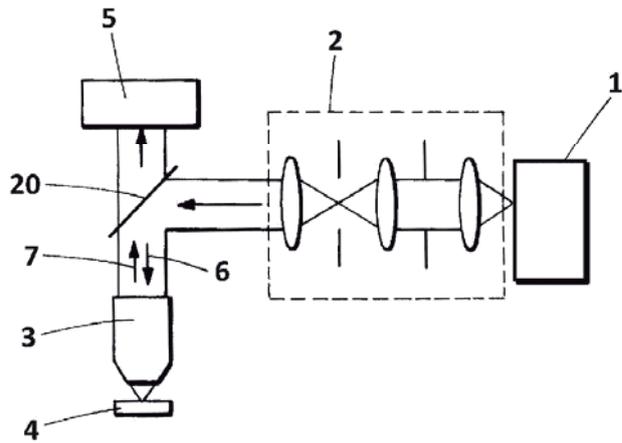


FIG. 1

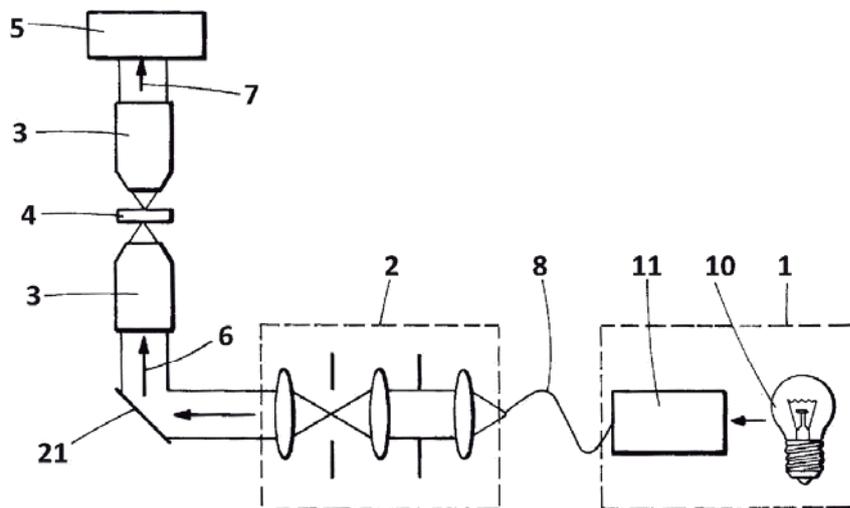


FIG. 2

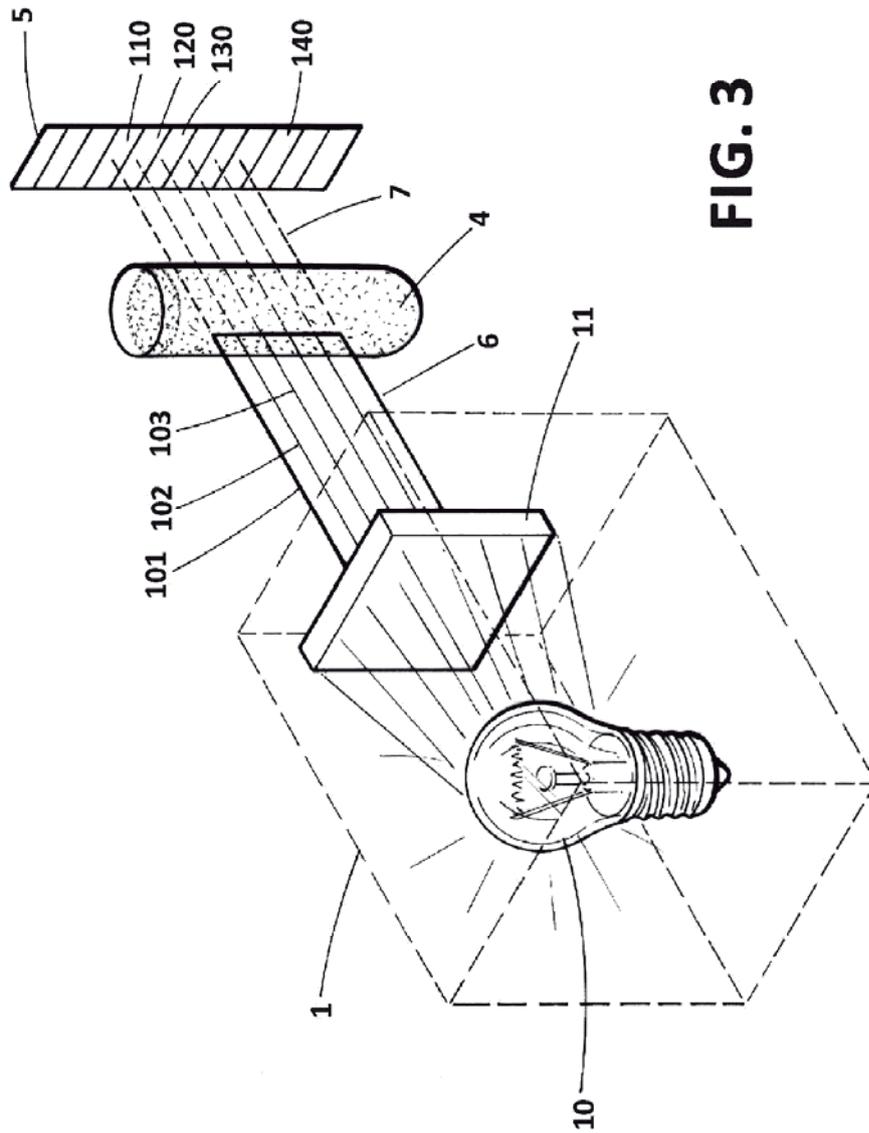


FIG. 3

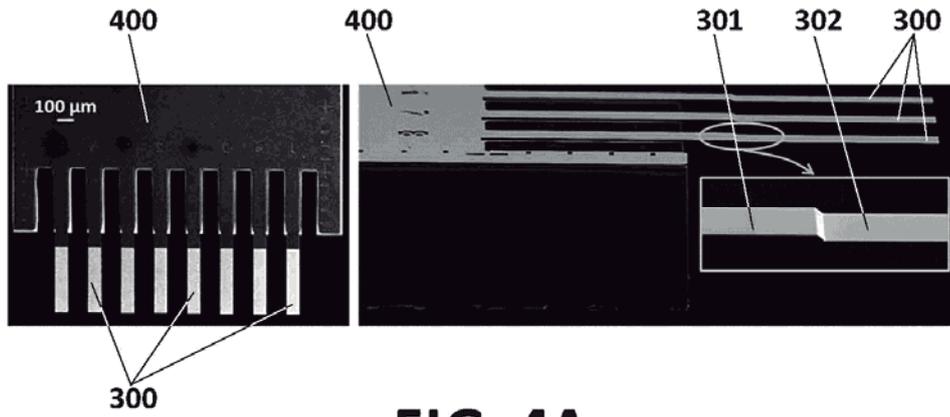


FIG. 4A

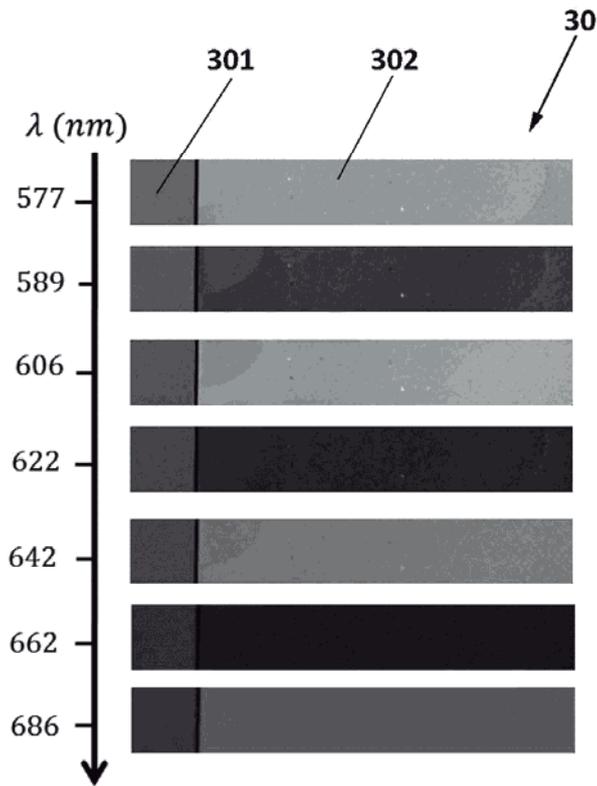


FIG. 4B

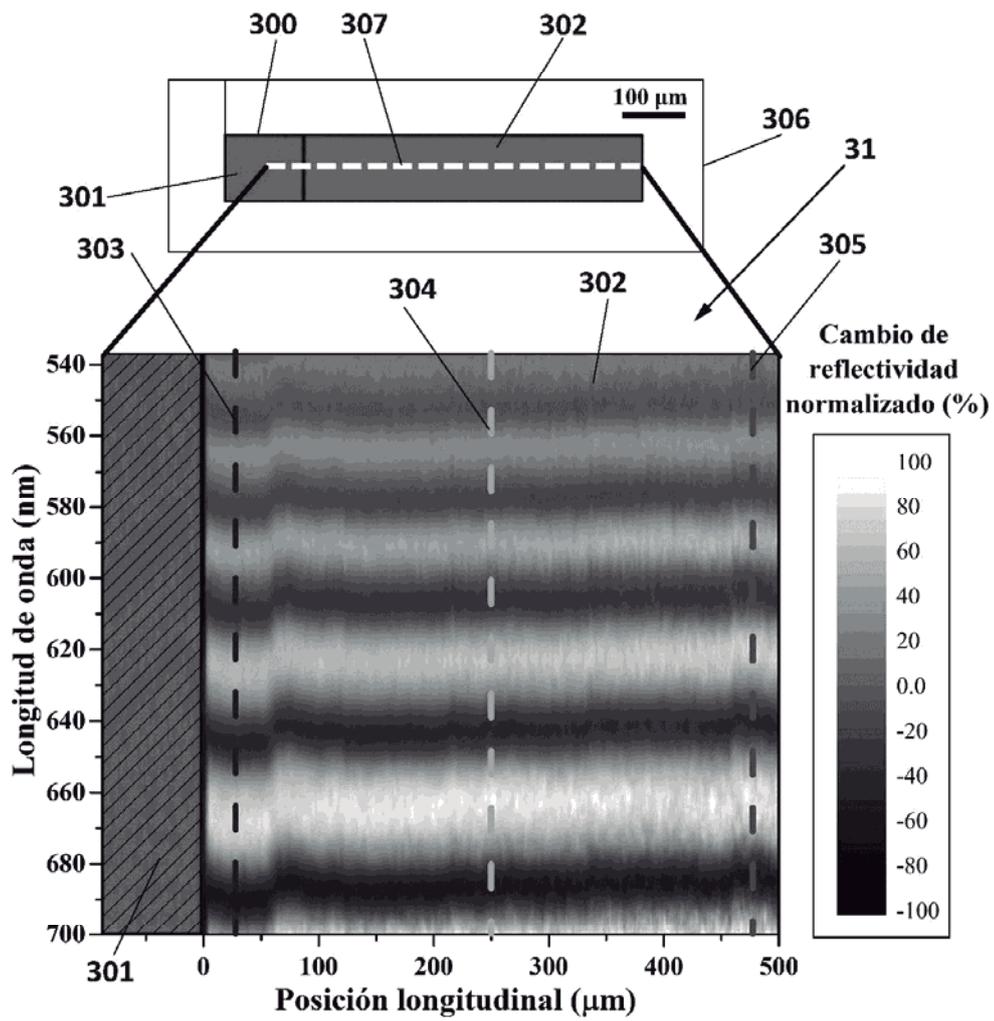


FIG. 4C

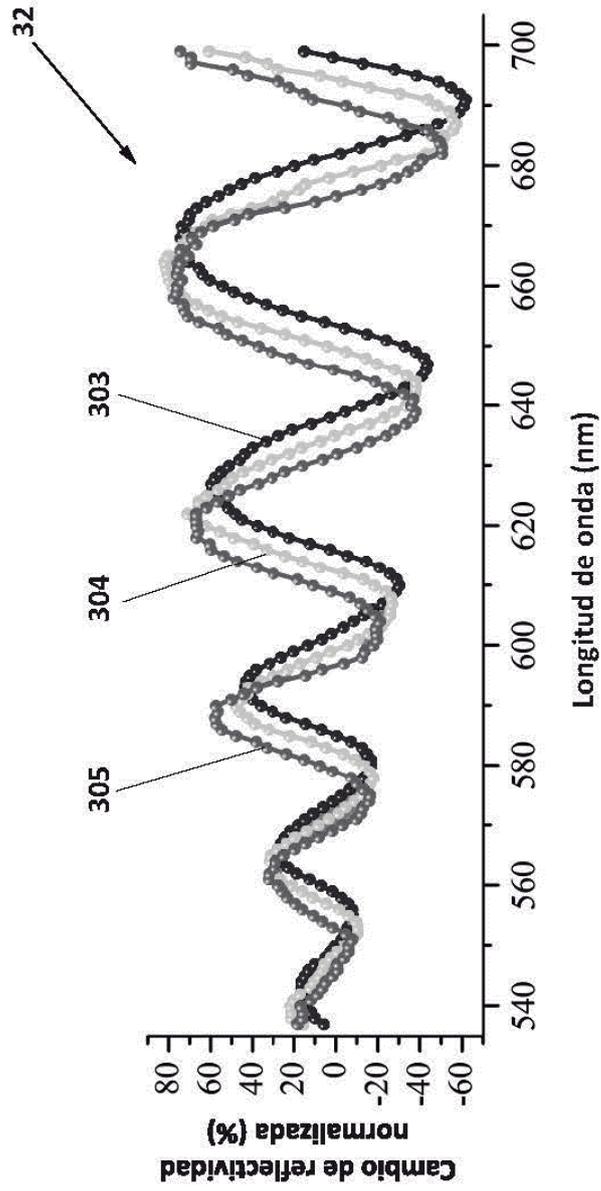


FIG. 4D

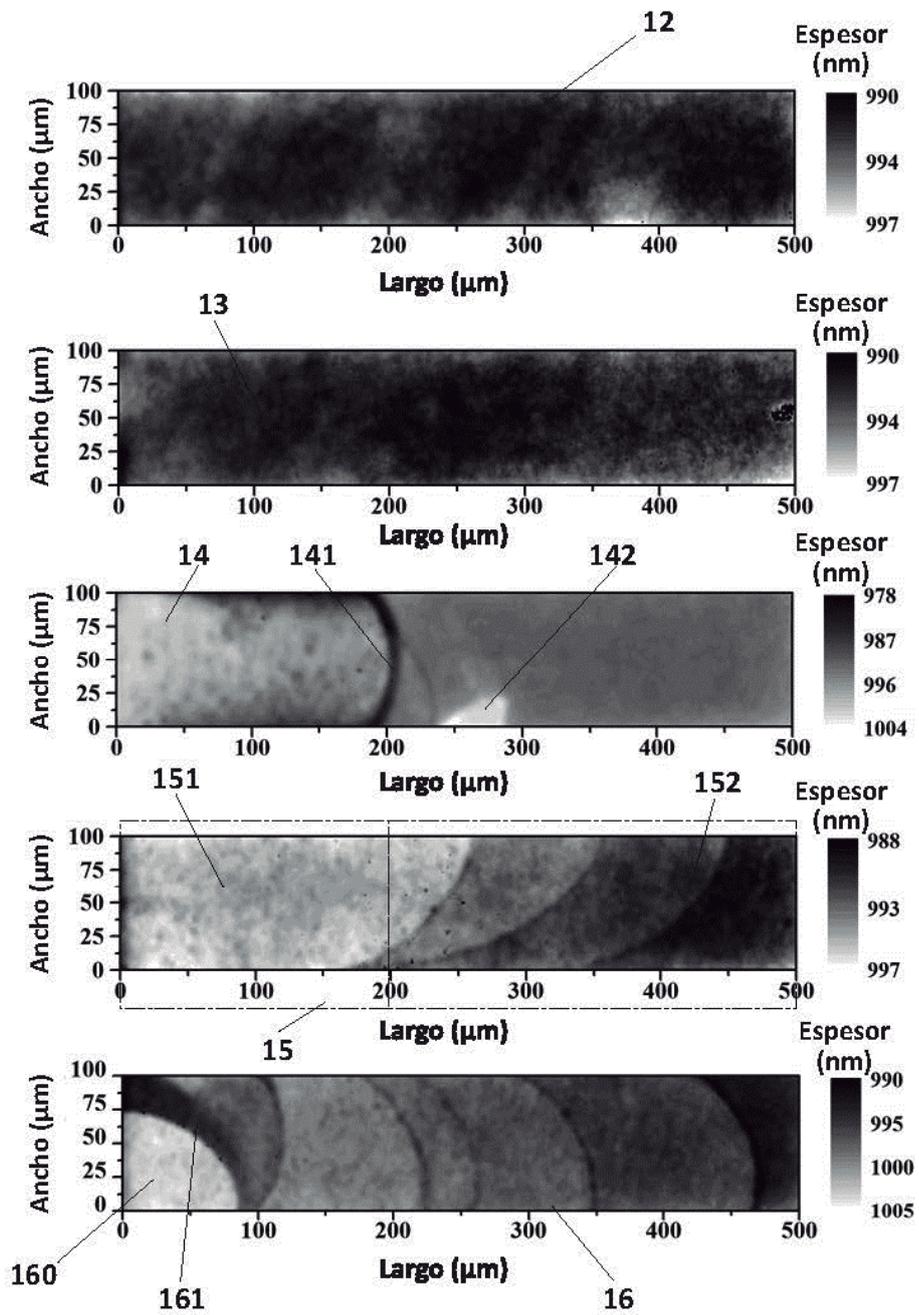


FIG. 5

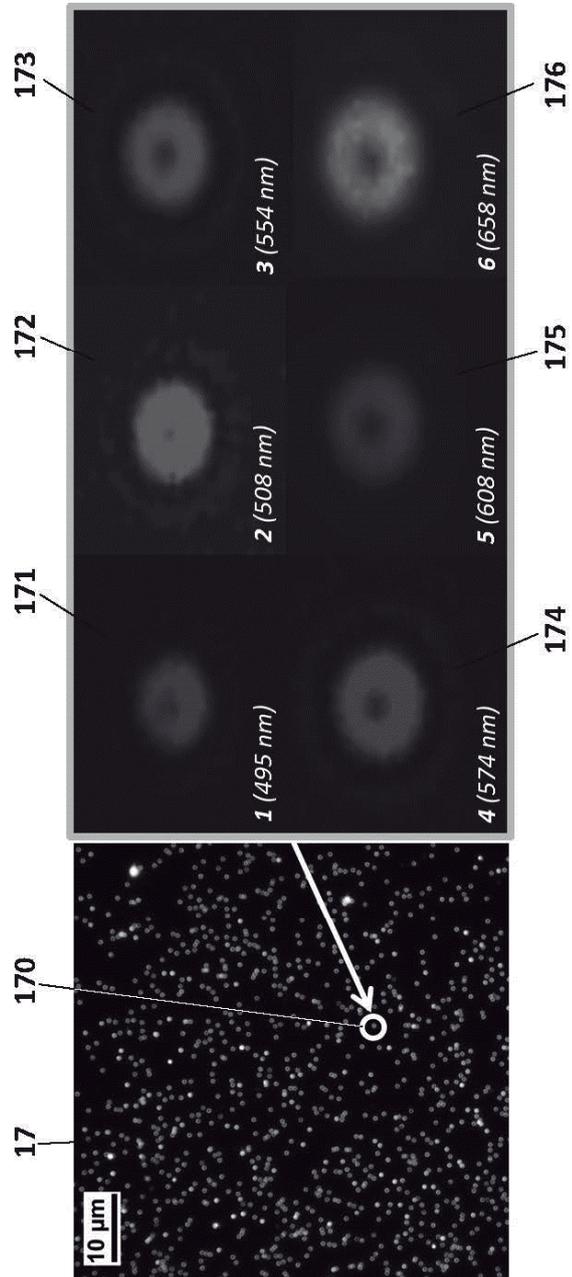


FIG. 6

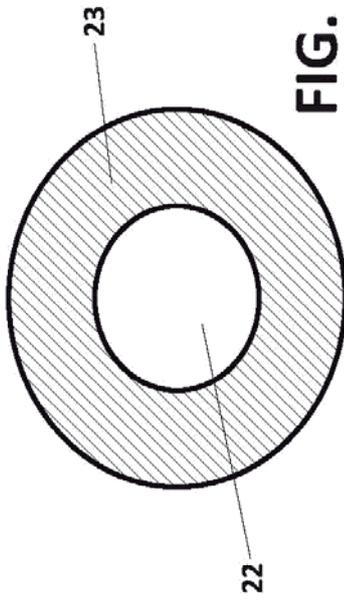


FIG. 7

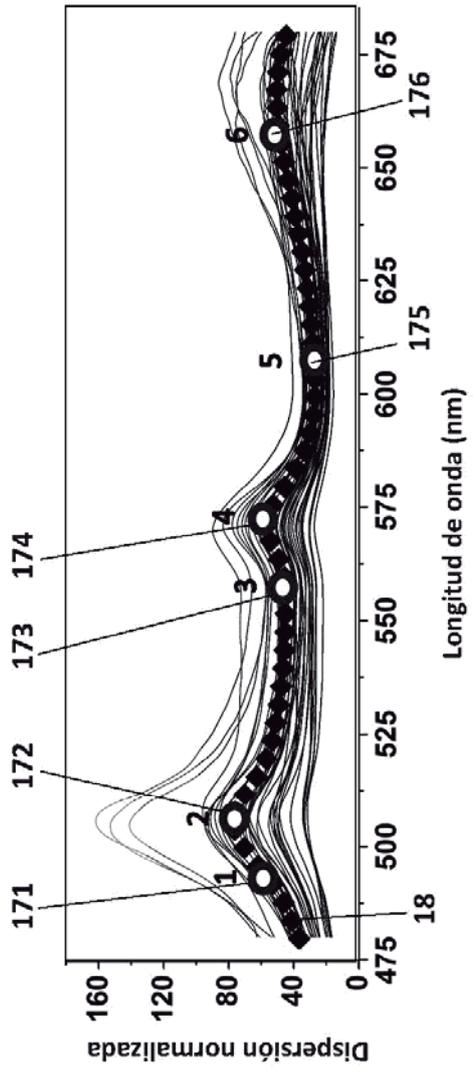


FIG. 8