

УДК 535.2, 535.8

Оптоелектронна візуалізація нанорозмірних об'єктів

Волонтир Д.Л., к.т.н., доц. Чадюк В.О.

Вступ.

В наш час відбувається технологічна революція, пов'язана з розвитком та виходом на ринок нанотехнологій, а саме перехід до використання наночастинок, розміри яких не перевищують 100 нм. Це приводить нас у наносвіт, об'єкти якого якось треба спостерігати.

Для візуалізації нанорозмірних об'єктів використовують методи оптичної мікроскопії надвисокої роздільної здатності, які мають переваги над електронною, тунельною та атомною силовою мікроскопією при спостереженні живих біологічних нанооб'єктів.

Ближньопольова оптична мікроскопія. Роздільна здатність звичайних оптичних систем має дифракційне обмеження, яке визначається межею Аббе, згідно з якою мінімальний розмір R об'єкта чи його деталей, які можна спостерігати у звичайний оптичний мікроскоп, дорівнює $\lambda/2$ або згідно з критерієм Релея

$$R = 0,61 \cdot \frac{\lambda}{NA},$$

де λ – довжина хвилі лазерного випромінювання, NA – числова апертура об'єктива мікроскопа.

Ближньопольова оптична мікроскопія дозволяє зняти дифракційне обмеження й отримати зображення нанорозмірних об'єктів за рахунок реєстрації ближнього поля дифракції. Ближньопольовий оптичний мікроскоп був створений Дітером Полем (Цюрих, Швейцарія 1982 р.) [1]. Принцип дії даного приладу базується на явищі проходження світла через точкову діафрагму з діаметром отвору, набагато меншим за довжину хвилі випромінювання (Рис. 1).

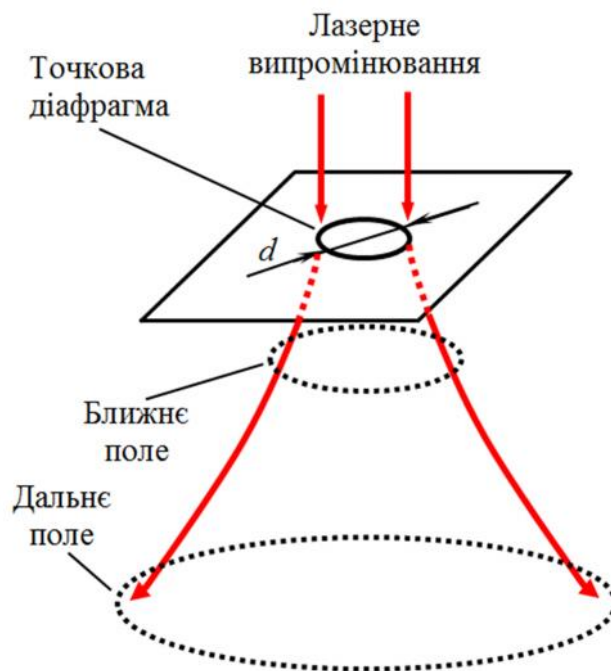


Рис. 1. Формування точковою діафрагмою ближнього та

дальнього поля дифракції

Внаслідок проходження світла крізь отвір діаметром $d = 2a$ електромагнітне поле набуває складної структури. За відстані $L < 100a$ (ближня зона) електромагнітне поле існує у вигляді нерозповсюджуваних мод, локалізованих поблизу поверхні діафрагми. За відстані $L > 100a$ (дальня зона) спостерігаються тільки випромінювальні моди (Рис. 2).

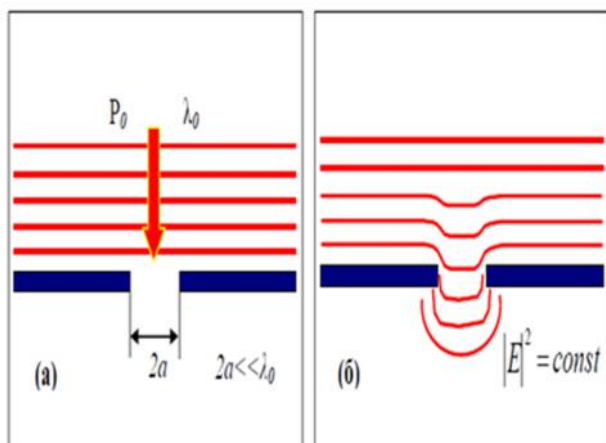


Рис. 2. Лінії постійної інтенсивності випромінювання до точкового отвору (а) та за ним

Висока роздільна здатність такого виду мікроскопу досягається за рахунок ближньопольового зонду, повз який переміщують поверхню досліджуваного об'єкта, наприклад, за допомогою п'єзоприводів. Ближньопольове зображення формують шляхом реєстрації розподілу інтенсивності оптичного випромінювання $I(x, y)$ за точковою діафрагмою у процесі двокоординатного сканування. Сканувальний ближньо-польовий

оптичний мікроскоп (СБОМ) має роздільну здатність від 1 до 50 нм [2].

Досліди показують, що при використанні діафрагм з отвором, меншим 10 нм, потужність випромінювання в дальній зоні дуже мала порівняно з потужністю падаючого випромінювання. Тому досліджувані об'єкти розміщують за отвором в ближній зоні. Це сприяє взаємодії еванесцентних мод з об'єктом, тобто частина енергії електромагнітного поля переходить у випромінювальні моди, інтенсивність яких може бути зареєстрована фотоприймачем.

Серед ближньопольових мікроскопів найбільшого використання набула схема, в якій лазерне випромінювання освітлює об'єкт за допомогою волоконного зонда (Рис. 3). Загострений кінчик волокна має апертуру радіусом 5–10 нм, що дозволяє отримувати світлову пляму на об'єкті приблизно такого ж розміру.

Основними перевагами методів ближньопольової мікроскопії є:

- висока локальність, яка визначається взаємодією зонда і поверхні;
- можливість використання зонда для модифікації поверхні об'єкта;
- можливість використання не тільки у вакуумі, а й на повітрі і в рідкому середовищі.

Основними недоліками такого мікроскопа є:

- сильна залежність результатів від форми і природи зонда;
- технологічні складнощі виготовлення зондів СБОМ.
- низька швидкість, зумовлена механічною системою сканування;

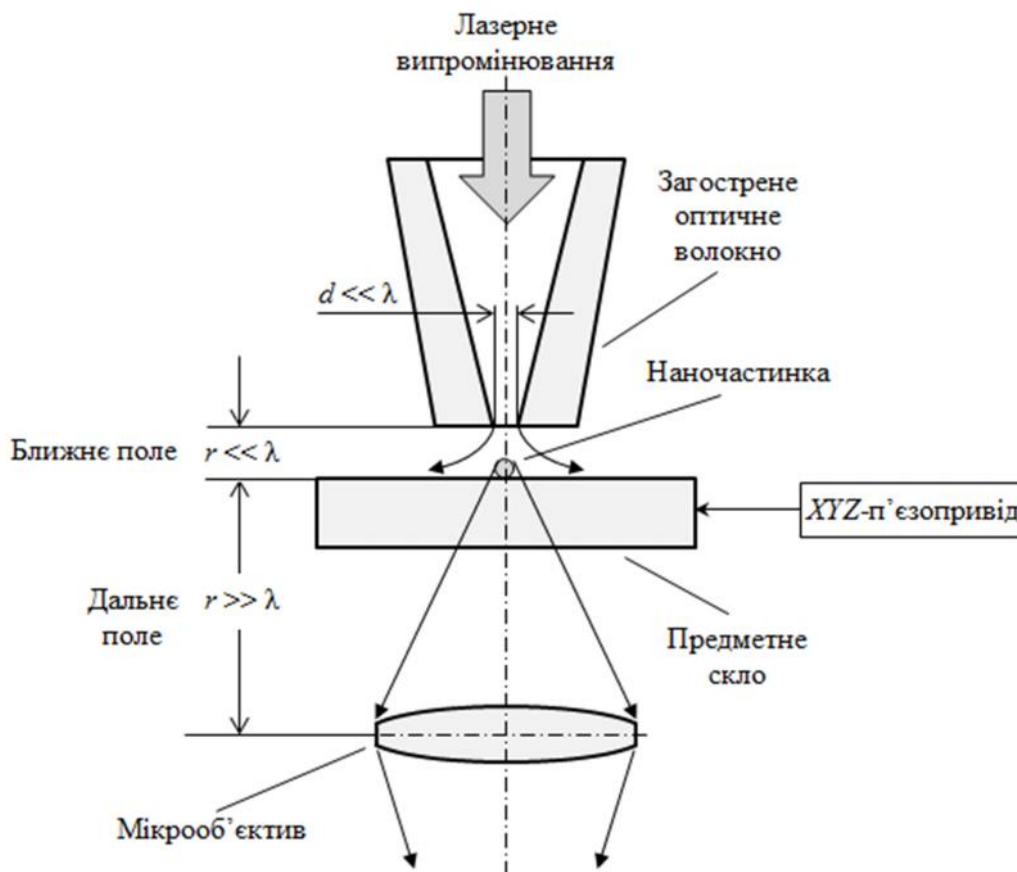


Рис. 3. Схема сканувального оптичного ближньопольового мікроскопу

Лазерна конфокальна флуоресцентна мікроскопія. Конфокальна флуоресцентна мікроскопія також має високу роздільну здатність, яка істотно збільшила можливість неруйнівного аналізу прозорих зразків. Висока роздільна здатність та високий контраст зображення досягаються завдяки використанню в конфокальних мікроскопах лазерів як джерел світла та конфокальної діафрагми для просторової фільтрації

флуоресценції за межами фокальної області.

Повне зображення в конфокальному мікроскопі формується завдяки послідовному зчитуванню поверхні об'єкта сканувальною системою. Накопичення інформації відбувається завдяки інерційності зору у разі швидкого сканування або з використанням оптоелектронної техніки.

Конфокальний мікроскоп винайшов у 1957 р. американський дослідник Марвін Мінські. Схема

запропонованого ним мікроскопа зображена на Рис. 4. У цьому конфокальному мікроскопі точкова діафрагма A конденсора C , на якій збирається світло джерела випромінювання, встановлена у передньому фокусі конденсора. Задній фокус конденсора C співпадає з переднім фокусом об'єктива O , в задньому фокусі якого встановлена «конфокальна» діафрагма B [2].

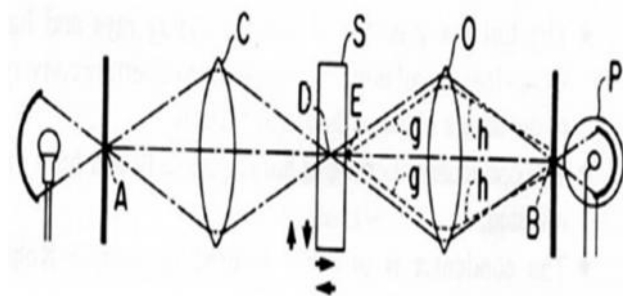


Рис. 4. Схема першого конфокального мікроскопа A , B – діафрагми, C – конденсатор, O – об'єктив, S – об'єкт, P – фотоприймач

У сучасних конфокальних мікроскопах джерелами світла є лазери, а для керування всією системою формування та збереження інформації використовують комп'ютери (Рис. 5).

Завдяки просторовій фільтрації розсіяного світла конфокальний мікроскоп створює чітке контрастне зображення зразка, яке при використанні звичайного мікроскопа здається розмитим.

STED-мікроскопія. *STED* (англ. *stimulated emission depletion* – заглушення вимушеного випромінювання) – метод мікроскопії, за якого в об'єкті одним лазером збуджують флуоресценцію і тут же

другим лазером гасять її всюди, окрім невеличкої області в центрі фокальної плями кільцевидної форми другого лазера [3].

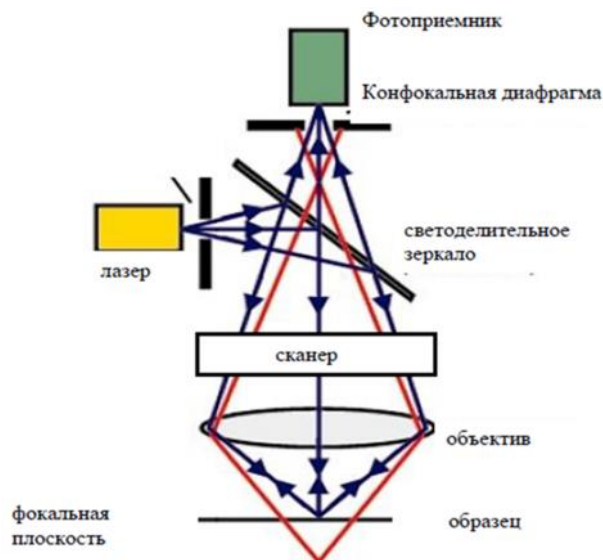


Рис. 5. Сучасний лазерний сканувальний конфокальний мікроскоп

Для реалізації цього методу у конфокальному мікроскопі використовують два лазери:

- перший лазер збуджує у фокальній площині гауссова пучка флуоресценцію об'єкта у вигляді круглої фокальної плями;
- фокальна пляма другого лазера (з більшою довжиною хвилі) має кільцевий розподіл інтенсивності, який, накладаючись на гауссів розподіл першої плями, викликає гасіння збудженої флуоресценції всюди, окрім області всередині кільця. Це сприяє підвищенню роздільної здатності до 90–100 нм.

Висновки. Близньопольова мікроскопія має значно вищу роздільну здатність порівняно з

класичною мікроскопією, але складнішу реалізацію.

Основні переваги конфокальної мікроскопії в порівнянні з традиційною оптичною мікроскопією – це висока контрастність зображення та вища роздільна здатність. Недоліки конфокальної мікроскопії – складність налаштування приладу, висока вартість обладнання та його експлуатації.

Література

1. Pohl D. W. Optical stethoscopy: image recording with resolution $\lambda/20$ / D. W. Pohl, W. Denk, M. Lanz. – Appl. Phys. Lett, 1984, vol. 44, issue 7. – P. 651–653.
2. Миронов В. Л. Основы сканирующей зондовой микроскопии/ В. Л. Миронов. – Нижний Новгород : изд-во Института физики микроструктур РАН, 2004. – 114 с.
3. Hell S. W. Nanoscopy with focused light. Nobel lecture, December 8, 2014/ S. W. Hell. – Електронний ресурс. Режим доступу: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2014/hell-lecture-slides.pdf.