

09;15

Сканирующая ближнепольная оптическая нанотомография: метод многопараметрического 3D-исследования наноструктурированных материалов

© А.Е. Ефимов^{2,3}, А.Ю. Бобровский⁴, И.И. Агапов²,
О.И. Агапова², В.А. Олейников^{1,5},
И.Р. Набиев^{5,6}, К.Е. Мочалов^{1,5}

¹ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

² Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных
органов им. академика В.И. Шумакова Минздрава России, Москва,
Россия

³ ООО „СНОТРА“, Москва, Россия

⁴ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

⁵ Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ
(Московский инженерно-физический институт), Москва, Россия

⁶ Лаборатория по исследованиям в области нанонаук, Университет
г. Реймса Шампань-Арденн, 51 rue Когнак Жэ, 51100 Реймс, Франция
E-mail: mochalov@mail.ru

Поступило в Редакцию 9 октября 2015 г.

Разработан экспериментальный подход к многопараметрической наномасштабной 3D-характеризации широкого класса композитных наноматериалов. Метод позволяет одновременно исследовать оптические свойства, 3D-морфологию, а также распределение механических и электрических свойств одного и того же объемного участка образца. Комбинированный подход сочетает в себе методы конфокальной и ближнепольной оптической микроспектроскопии с латеральным разрешением до 50 nm (флуоресценция, комбинационное рассеяние) с методом сканирующей зондовой микроскопии. Возможность получения объемного распределения оптических, морфологических, электрических и механических свойств образца с наномасштабным разрешением реализуется благодаря последовательному исследованию слоев наноматериалов с шагом до 20 nm и общей глубиной Z-сканирования до 3 nm. Разработанная методика применена для исследования ЖК-полимера, допированного флуоресцентными нанокристаллами.

Необходимость многопараметрической наномасштабной 3D-характеризации как новейших гибридных наноматериалов, так и биологических объектов обуславливает бурное развитие методов корреляционной микроскопии в последнее десятилетие [1]. Объединение таких микроскопических и спектроскопических методик, как оптическая и электронная микроскопии (Correlative light and electron microscopy, CLEM) [2,3] или сканирующая зондовая микроскопия (СЗМ) и оптическая микроспектроскопия (ОМ) [4,5] позволяет получить такие важные взаимодополняющие параметры, как морфология, химический состав, локальные оптические, механические и электрические свойства одного и того же пространственного участка образца. При этом, несмотря на то что ближнепольная оптическая микроскопия (БОМ) и TERS-микроскопия (Tip Enhanced Raman Spectroscopy) позволяют получать оптические данные с разрешением, близким к 10 nm, они не приспособлены для проведения 3D-исследований [6–9]. Таким образом, создание комбинированного подхода, объединяющего в себе морфологические и аналитические методы с наномасштабным пространственным разрешением и возможностью проведения 3D-анализа, является одной из важнейших задач корреляционной микроскопии.

Данная работа посвящена созданию экспериментальной методики, позволяющей использовать различные типы ближнепольных методик ОМ для трехмерной многопараметрической характеристики наноматериалов, что является продолжением и развитием работ по объединению СЗМ с методами ультрамикротомии (УМТ) и оптической микроскопии [10–13]. Основной принцип работы созданной методики сканирующей ближнепольной оптической нанотомографии (СБОНТ) состоит в реконструкции трехмерной наноструктуры и распределения оптических свойств исследуемого объекта за счет объединения методик конфокальной БОМ и СЗМ с ультрамикротомированием образца в виде тонких срезов до 20 nm в толщину. При этом 3D-морфология и распределение оптических свойств образца восстанавливаются из последовательности 2D-сканов в режимах СЗМ и/или ОМ. Для выполнения исследований в ближнепольном режиме использованы БОМ-зонды в виде кантилеверов с наноразмерным отверстием в острие для выхода ближнего поля (ЗАО НТ-МДТ, Россия). В данном случае пространственное разрешение сбора/возбуждения флуоресценции может достигать величины порядка 50 nm (рис. 1). Система прецизионного

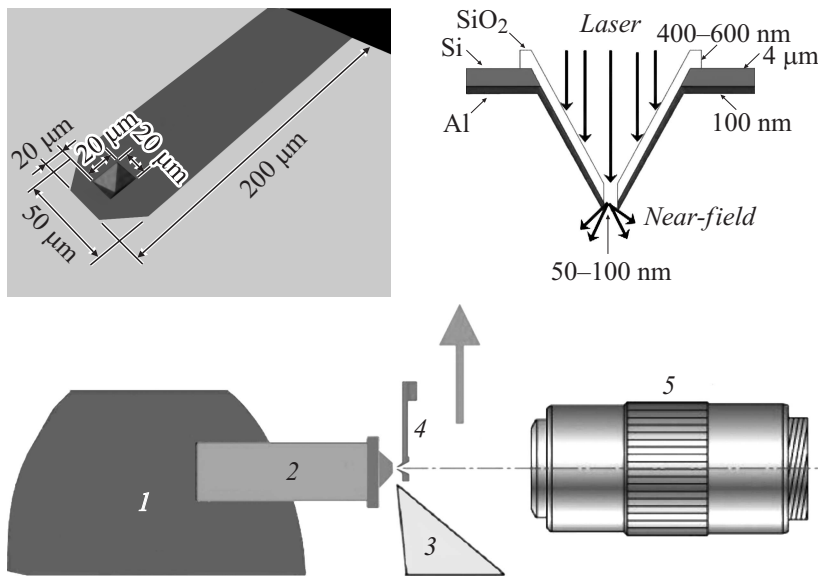


Рис. 1. Схематическое представление кантилеверов с наноразмерным отверстием в острие для выхода ближнего поля и их использования в методике, объединяющей СЗМ, УМТ и БОМ: 1 — ультрамикротом, 2 — пьезосканер, 3 — нож ультрамикротомы, 4 — БОМ-зонд, 5 — объектив.

позиционирования СЗМ-зондов позволяет менять по мере надобности различные СЗМ-зонды для комплементарного получения данных в режимах БОМ, TERS или атомно-силовой микроскопии (АСМ) от одной и той же точки образца.

Процедура подготовки образца измерений включает в себя следующие стадии.

1. На установке УМТ/СЗМ (Ntegra-Tомо, ЗАО НТ-МДТ, Россия) выполняется первичный срез образца среза алмазным ножом УМТ. При этом для удобства дальнейшей работы площадь среза не превышает 1 mm^2 .

2. Проводится исследование 2D-оптических (БОМ) и топографических (СЗМ) свойств образца на установке ОМ/СЗМ с использованием БОМ-зондов. Установка ОМ/СЗМ разработана нами с це-

люю объединения СЗМ (платформа Ntegra, ЗАО НТ-МДТ, Россия) и инвертированного микроскопа с возможностью „прямого“ заведения света с верхней стороны балки БОМ-зонда с использованием „прямого“ микроскопа Optem Zoom 125 (США). В ходе исследования образцы со срезом, полученным на первом шаге, закрепляются на сканирующем ХУ-пьезостоліке, установленном на перемещаемом столе инвертированного оптического микроскопа. СЗМ-головка устанавливается на этот же столик так, чтобы острие БОМ-зонда находилось непосредственно на оптической оси микроскопа. Излучение лазера для возбуждения вторичного излучения (комбинационное рассеяние, флуоресценция) заводится со стороны БОМ-зонда через специально надстроенный прямой микроскоп. Спектральная информация, получаемая в режиме БОМ/конфокальной микроскопии, собирается объективом ($\times 100$) в инвертированном режиме и, проходя через конфокальную схему, попадает в спектрометр. Таким образом удается достигнуть совмещения полей зрения для СЗМ и ОМ во всех режимах. Полученное 2D-СЗМ-изображение является ориентиром для выполнения третьей стадии работы.

3. На третьей стадии работы на установке УМТ/СЗМ в режиме СЗМ выполняется поиск области, исследованной в режиме ОМ/СЗМ, и производится следующий срез для повторения второй стадии работы. Последовательное повторение описанной процедуры позволяет реконструировать 3D-оптические и морфологические свойства наноматериалов. На рис. 2 приведен пример использования описанной методики для случая единичного среза жидкокристаллического (ЖК) полимера, допированного флуоресцентными полупроводниковыми квантовыми точками (КТ). Целью исследования являлось установление корреляции между особенностями морфологии образцов ЖК/КТ и пространственным распределением полупроводниковых флуоресцирующих КТ в этих структурах. Стоит отметить, что недавно разработанные нами структуры ЖК/КТ [14] представляют собой уникальную систему из образованной за счет фотополимеризации мономеров в присутствии холестерических ЖК-молекул полимерной сетки с эффектом памяти, в которую внедряется большое (до нескольких весовых процентов) количество КТ. В результате КТ находятся в своеобразной брэгговской решетке, образованной полимерной матрицей, имеющей пространственную периодичность, шаг которой составляет порядка 200 нм. Введение КТ в подобные системы аналогично их внедрению в одномерные фотонные кристаллы: совпадение длины волны пика селективного отра-

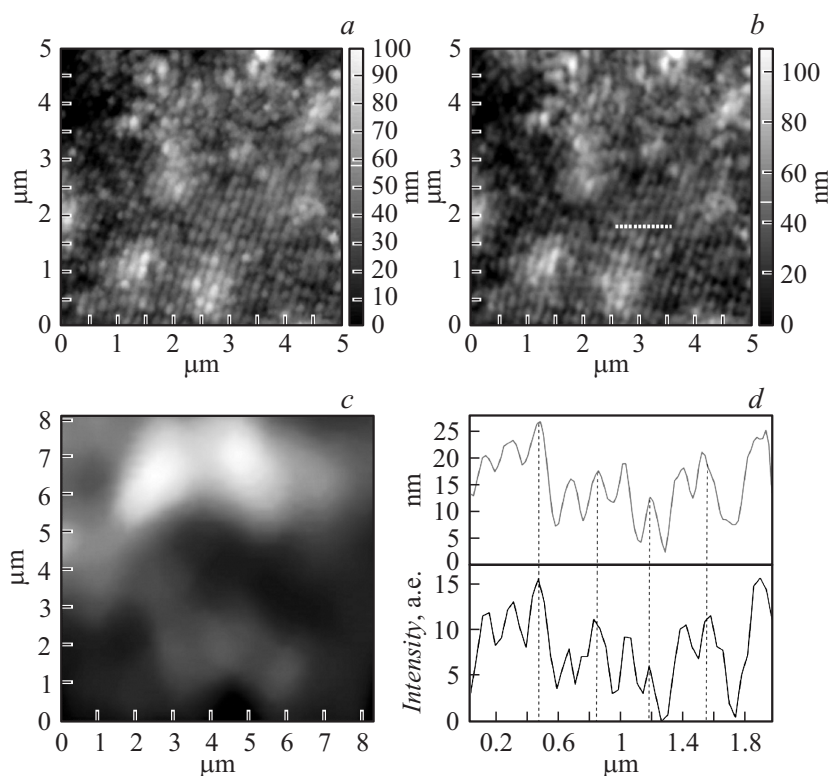


Рис. 2. АСМ-изображения поверхности среза ЖК-полимера, допированного флуоресцентными полупроводниковыми КТ, выполненные при помощи обычного АСМ-зонда (*a*) и БОМ-зонда (*b*). Полуконтактный режим АСМ, размер изображения $5.0 \times 5.0 \mu\text{m}^2$, вариация высоты 100 нм. *c* — конфокальное флуоресцентное изображение того же участка образца, размер изображения $8.0 \times 8.0 \mu\text{m}^2$. *d* — сравнение поперечных сечений, полученных в режимах АСМ (вверху) и БОМ (внизу) вдоль линии, обозначенной на фрагменте *b*.

жения и флуоресценции КТ позволяет сильно модулировать испускание флуоресценции. Разработанные системы перспективны для создания однофотонных источников света, систем хранения и отображения информации и устройств с низкороговой лазерной генерацией.

Важной частью данной работы было определение при помощи разработанного комбинированного метода, упорядочивается ли расположение внедренных в ЖК-матрицу КТ в соответствии с периодической структурой матрицы. Для ответа на этот вопрос ЖК/КТ-материал был срезан методом УМТ вдоль оси холестерика, и на поверхности среза были обнаружены характерные периодичности морфологии, соответствующие шагу спирали в ~ 200 nm (рис. 2, *a, b*). При этом АСМ-изображения были получены как с использованием стандартного кантилевера, так и БОМ-зонда. Сравнение рис. 2, *a* и *b* показывает, что качество изображений, полученных при использовании БОМ-зонда, лишь незначительно уступает качеству изображений, полученных при использовании стандартного кантилевера, позволяя при этом существенно улучшить сопоставление областей исследования методами АСМ и БОМ. Далее, в одной и той же области с наличием холестерических периодических структур были сопоставлены поперечные сечения, полученные методами АСМ и БОМ (рис. 2, *b, d*). Изображения, полученные методом БОМ, строились при длине волны флуоресценции КТ 570 nm со временем накопления 20 s на точку при возбуждении Ag^+ -лазером с длиной волны 488 nm (ЛГН-519М, ОАО „Плазма“, Россия). Очевидно, что из-за низкого пространственного разрешения конфокальной микроскопии изображения, полученные в этом режиме, не позволяют определить, являются ли флуоресцирующие участки (рис. 2, *c*) пространственно промодулированными периодическими структурами ЖК-матрицы. Из рис. 2, *d* видно идеальное совпадение морфологии периодических структур, связанных с шагом холестерической спирали, полученной методом АСМ, с пространственным распределением флуоресценции КТ, полученным методом БОМ. Этот результат свидетельствует об эффективной модуляции пространственного распределения КТ в полимерной матрице в соответствии с периодом образуемой ею брэгговской решетки и дает основания для дальнейшего совершенствования подобных структур и разработки эффективных фотонных устройств на их основе.

Разработанный в работе метод СБОНТ должен найти применение в широкой области нанотехнологических и материаловедческих исследований, направленных на создание и изучение различных типов современных композитных материалов с заданными свойствами, разрабатываемых на основе внедрения полупроводниковых, металлических, углеродных наночастиц и нанокластеров в объемные полимерные, жидкокристаллические и подобные им матрицы.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ, грант № 11.G34.31.0050 — разработка специализированного ближнепольного микроскопа; Министерства образования и науки Республики Казахстан, грант № 4360/ГФ4 — разработка блоков для комбинирования систем ближнепольного микроскопа и ультрамикротомы; Российского научного фонда, проект № 14-50-00131 — создание модельных систем для апробации разработанной методики.

Список литературы

- [1] *Caplan J., Niethammer M., Taylor R.M., Czymmek K.J.* // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2011. V. 21. N 5. P. 686–693.
- [2] *Mironov A.A., Beznoussenko G.V.* // *J. Microsc.* 2009. V. 235. P. 308–321.
- [3] *Spiegelhalter C., Tosch V., Hentsch D.* et al. // *PLoS One.* 2010. V. 5. P. e9014.
- [4] *Colombelli J., Besser A., Kress H.* et al. // *J. Cell Sci.* 2009. V. 122. P. 1665–1679.
- [5] *Labernadie A., Thibault C., Vieu C., Maridonneau-Parini I., Charrière G.M.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010. V. 107. N 49. P. 21 016–21 021.
- [6] *Betzig E., Trautman J.K., Harris T.D., Weiner J.S., Kostelak R.L.* // *Science.* 1991. V. 251. P. 1468–1470.
- [7] *Zenhausen F., O'Boyle M.P., Wickramasinghe H.K.* // *Appl. Phys. Lett.* 1994. V. 65. P. 1623–1625.
- [8] *Pettinger B., Ren B., Picardi G., Schuster R., Ertl G.* // *Phys. Rev. Lett.* 2004. V. 92. P. 096 101.
- [9] *Amenabar I., Poly S., Nuansing W., Hubrich E.H., Govyadinov A. A., Huth F., Krutokhvostov R., Zhang L., Knez M., Heberle J., Bittner A.M., Hillenbrand R.* // *Nat. Communications.* 2013. V. 4. P. 2890.
- [10] *Efimov A.E., Tonevitsky A.G., Dittrich M., Matsko N.B.* // *J. Microsc.* 2007. V. 226. P. 207–216.
- [11] *Efimov A.E., Gnaegi H., Schaller R., Grogger W., Hofer F., Matsko N.B.* // *Soft Matter.* 2012. V. 8. P. 9756–9760.
- [12] *Mochalov K.E., Efimov A.E., Bobrovsky A., Agapov I.I., Chistyakov A.A., Oleinikov V., Sukhanova A., Nabiev I.* // *ACS Nano.* 2013. V. 7. N 10. P. 8953–8962.
- [13] *Bobrovsky A., Mochalov K., Oleinikov V., Sukhanova A., Prudnikau A., Artemyev M., Shibaev V., Nabiev I.* // *Adv. Mater.* 2012. V. 24. N 46. P. 6216–6222.
- [14] *Bobrovsky A., Samokhvalov P., Shibaev V.* // *Adv. Opt. Mater.* 2014. V. 2. P. 1167–1172.