



Ústav fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského, AVČR v.v.i.
Dolejškova 3, 182 23 Praha 8

Mikroskopie rastrovací sondou II analytické/optické metody

Pavel Janda

Laboratoř mikroskopie rastrovací sondou

Odd. elektrochemických materiálů

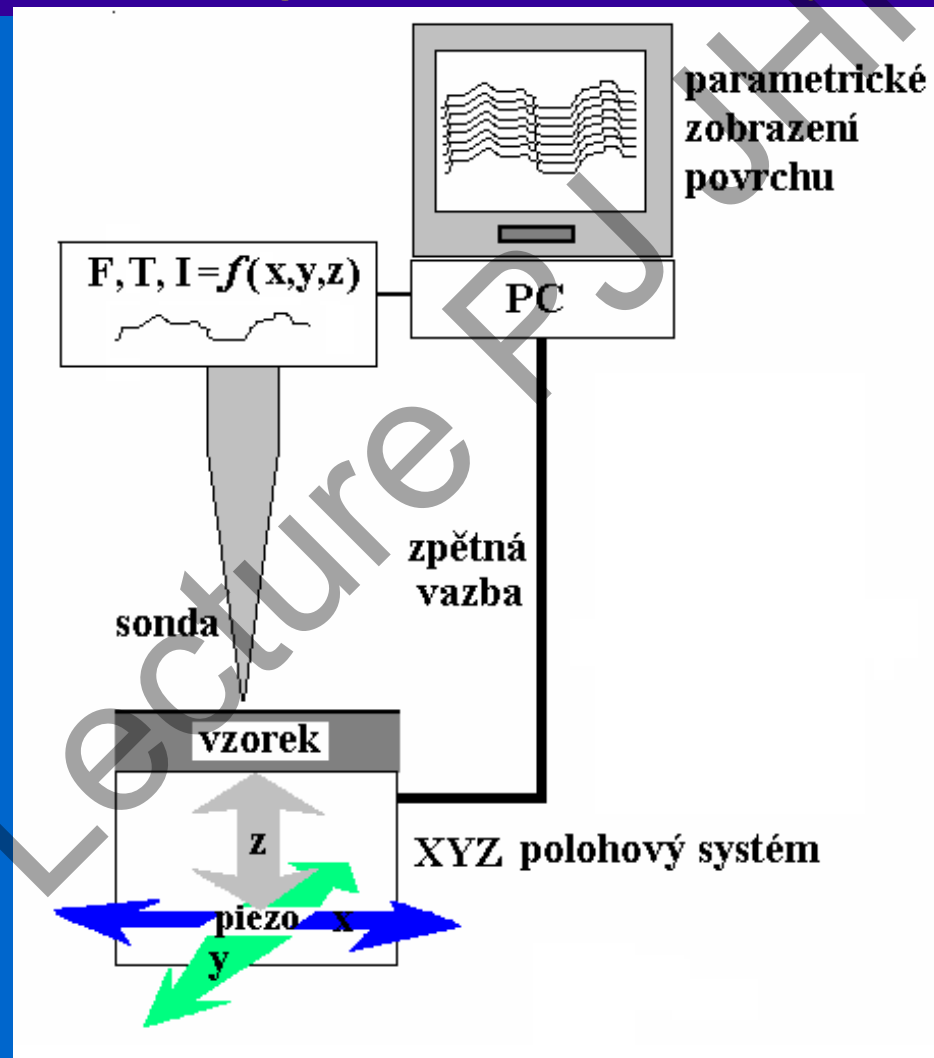
<http://www.jh-inst.cas.cz/>

<http://www.jh-inst.cas.cz/~janda>

pavel.janda@jh-inst.cas.cz

Mikroskopie rastrovací sondou

Scanning Probe Microscopy



Rozdělení SPM podle druhu přenášené informace

Přenos náboje

Elektrony - tunelová mikroskopie **STM**

Ionty - elektrochemická mikroskopie **ECM**

Silové interakce - mikroskopie atomárních sil **AFM**

Dlouhého dosahu: magnetické, kulombické

Středního dosahu: van der Waals (dipol-dipol, indukce dipol-nepolar., kapilární síly: kapalina-sonda...)

Krátkého dosahu: vazebné interakce (atraktivní)
repulzivní (deformační)

Přenos elektromagnetického záření

-UV/Vis/IČ - optická mikroskopie/spektr. blízkého pole **SNOM**

-IČ - Termální mikroskopie **ThM**

- Hrotem zesílená optická mikroskopie/spektr. **TERS/TEFS**

Rozdělení mikroskopických metod podle rozlišení

OPT: optická mikroskopie
vzdáleného pole

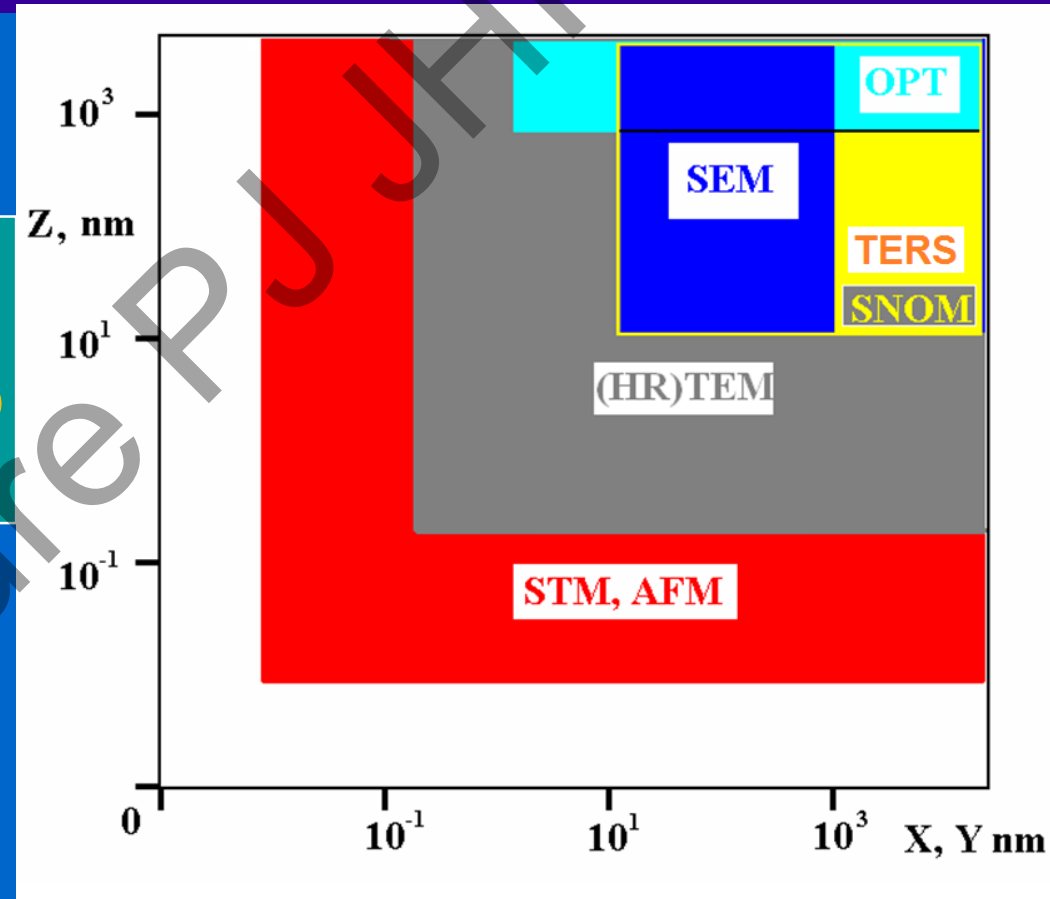
SNOM: mikroskopie blízkeho pole

TERS: Hrotem zesílená (Ramanova)
spektroskopie/mikroskopie

SEM: elektron. rastrovací
mikroskopie

HRTEM: elektron. transmisní
mikroskopie

STM, AFM: Tunelová mikroskopie,
mikroskopie atomárních sil



•
•
•

**Optická mikroskopie a spektroskopie
v mikroskopii rastrovací sondou**

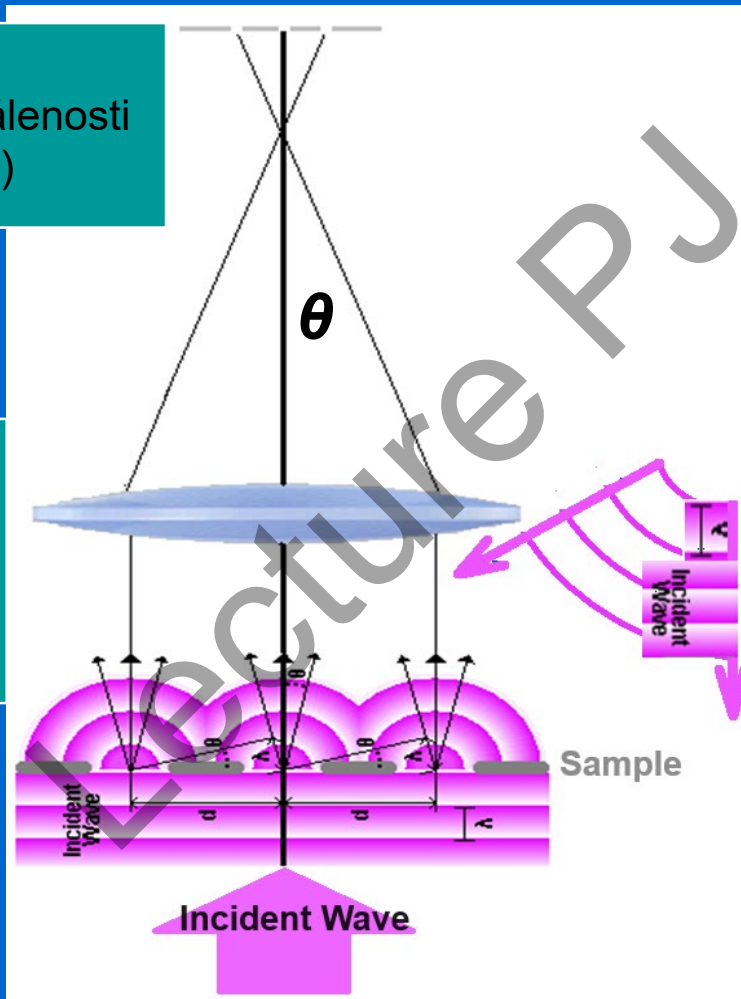
Lecture 11

•
•
•
•
•
•
•
•

Mikroskopie vzdáleného pole

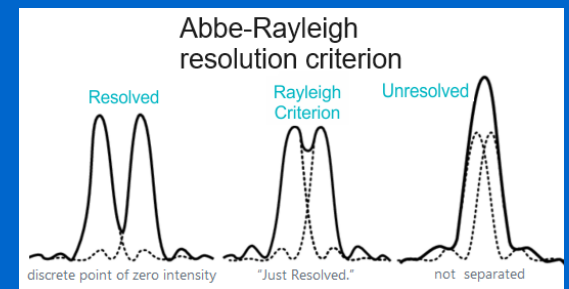
Far field –
snímací prvek ve vzdálenosti
 $z \gg \lambda$ (typicky $z \gg k\lambda$)

Rozlišení \Rightarrow
Kriterium *Abbe*,
Rayleigh index lomu,
vstupní úhel,
difrakční limit



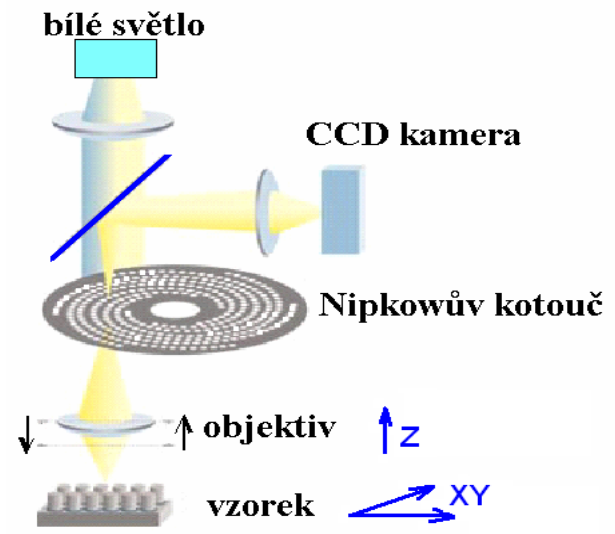
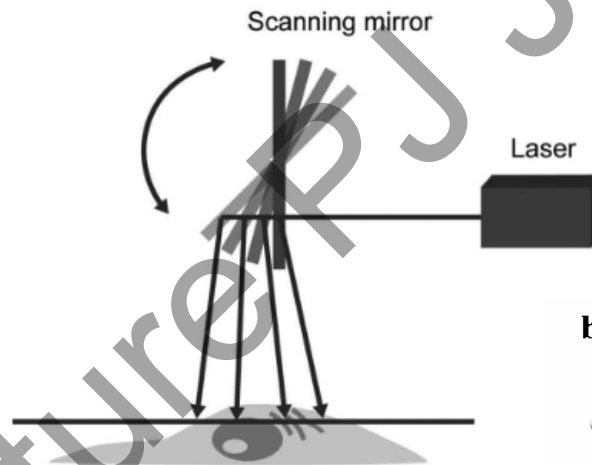
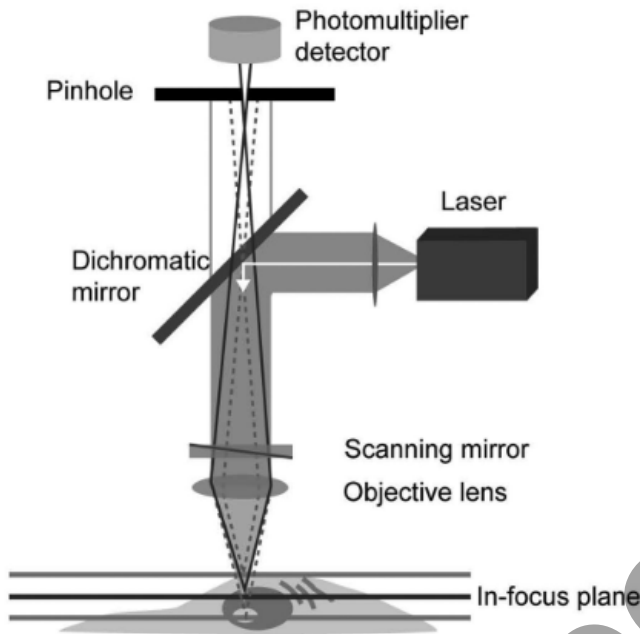
λ ... vlnová délka
 N_a ... numer. apertura
 $N_a = n \sin \Theta$
 n ... index lomu (vzduch 1)
 Θ ... 1/2 max. úhlu paprsku k ose
nejmenší rozlišená vzdálenost
 $d = 0.61\lambda/N_a$

Pro $\lambda = 500 \text{ nm}$ (vis)
 $N_a = 0.9$
 $\Rightarrow d \geq \sim 340 \text{ nm}$



Rastrovací princip v mikroskopii vzdáleného pole

3D konfokální rastrovací mikroskop Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM)

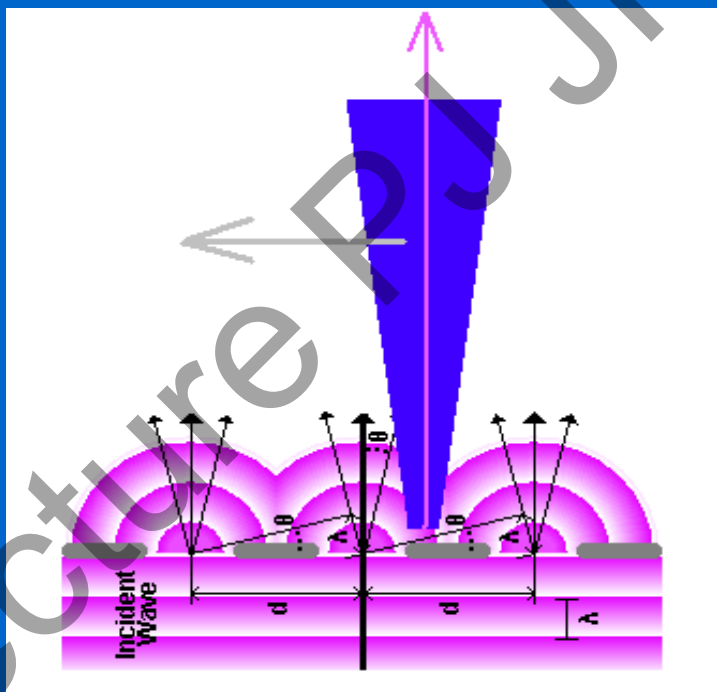


- 1) Snímá obraz povrchu fokusací bod po bodu v úzkém rozmezí hloubky fokusace.
 - 2) Úzká apertura (clona) zabraňuje, aby se nefokusevané (parazitické) světelné paprsky účastnily tvorby obrazu
 - 3) Snímá více 2D obrazů v různé hloubce vzorku pro rekonstrukci 3D struktur (*optical sectioning*)
- => **Dosahuje vyššího rozlišení a kontrastu**

Mikroskopie a spektroskopie blízkého pole

(Scanning) Nearfield Optical Microscopy

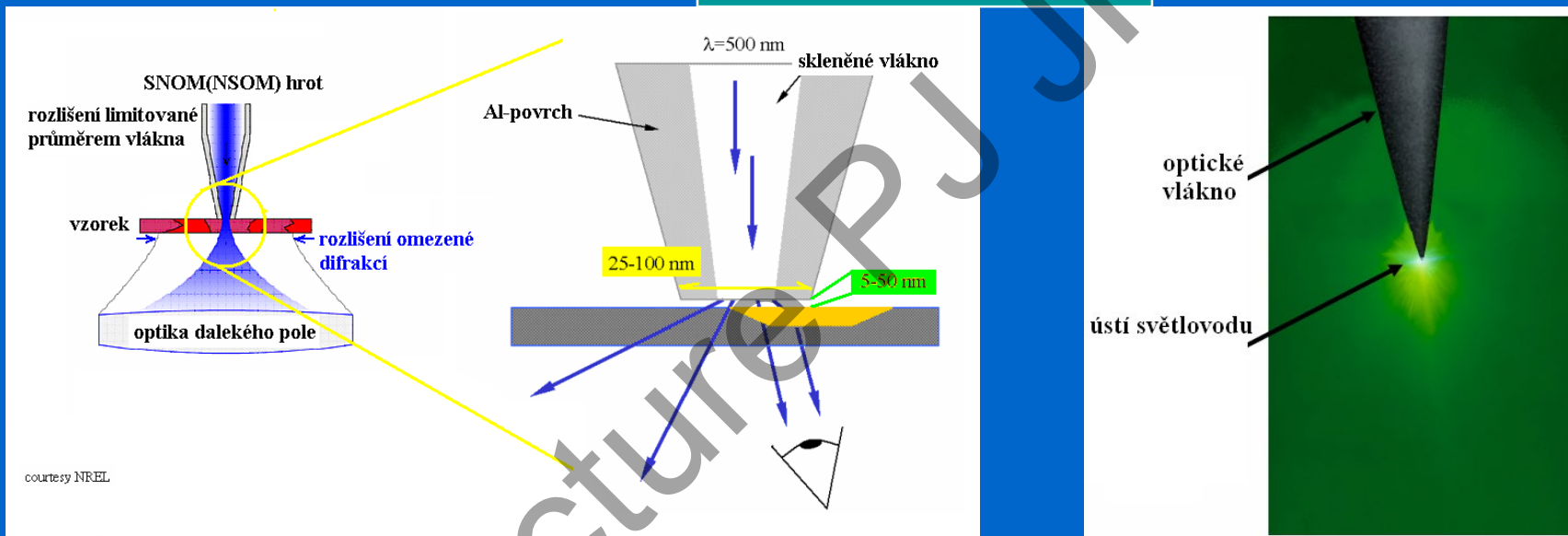
Near field –
snímací prvek ve vzdálenosti
 $z < \lambda$



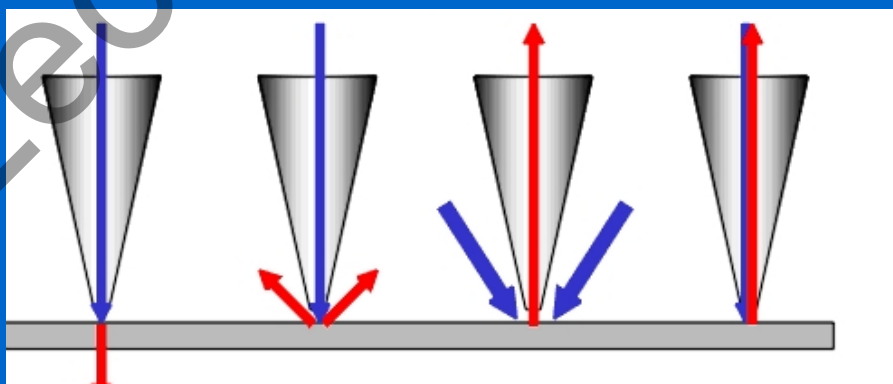
Rekonstrukce obrazu snímaného bod po bodu
z malého fragmentu vlnoplochy
Nejmenší rozlišená vzdálenost $d \sim$
=> **apertura sondy N_a** ,
=> vzdálenost od povrchu vzorku z

Mikroskopie a spektroskopie blízkého pole

SNOM s aperturou

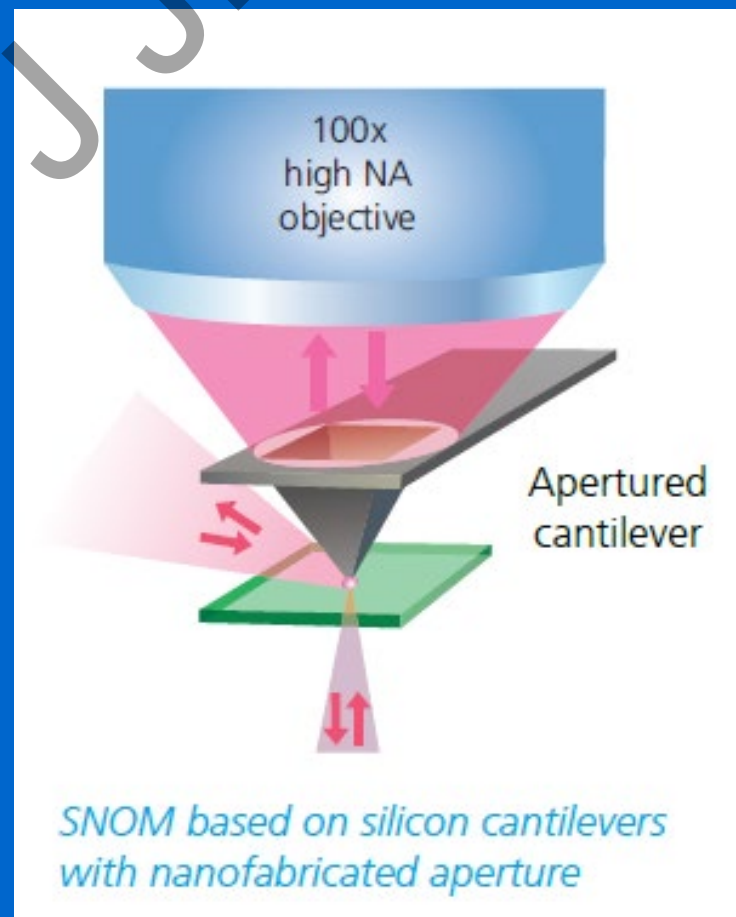
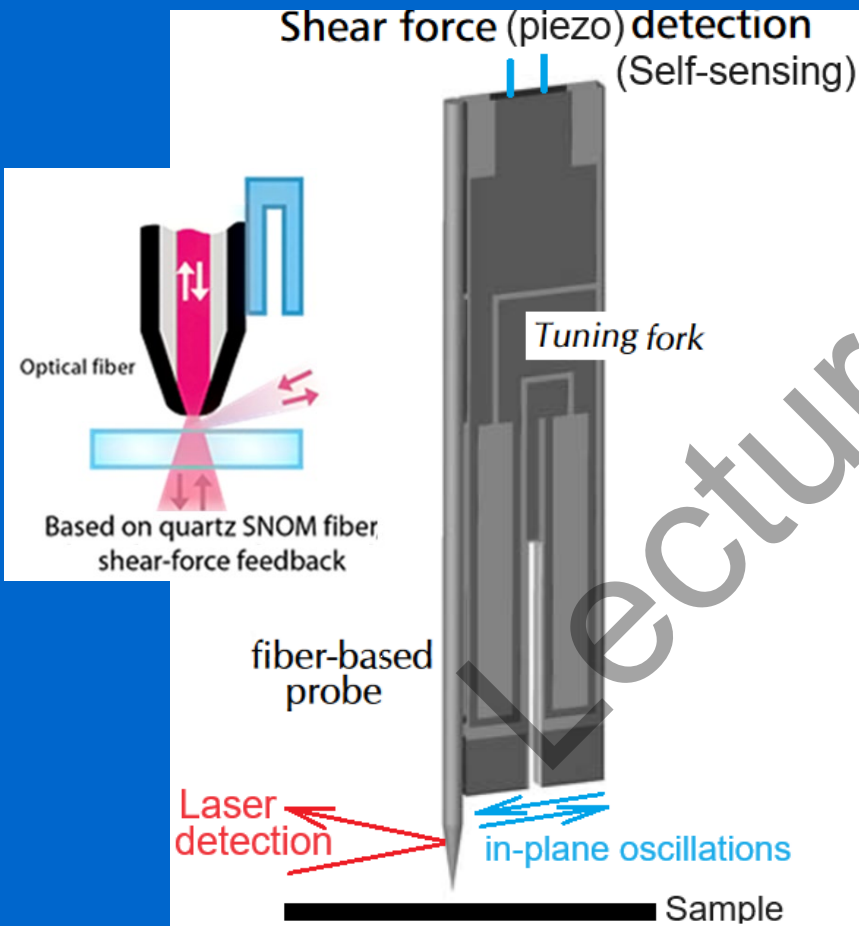


courtesy NREL

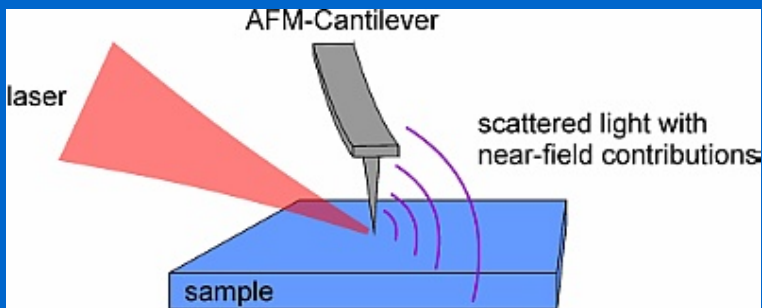


Mikroskopie a spektroskopie blízkeho pole

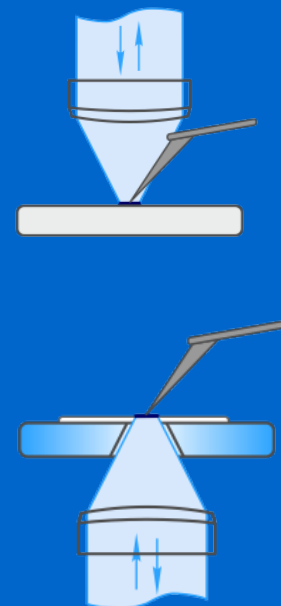
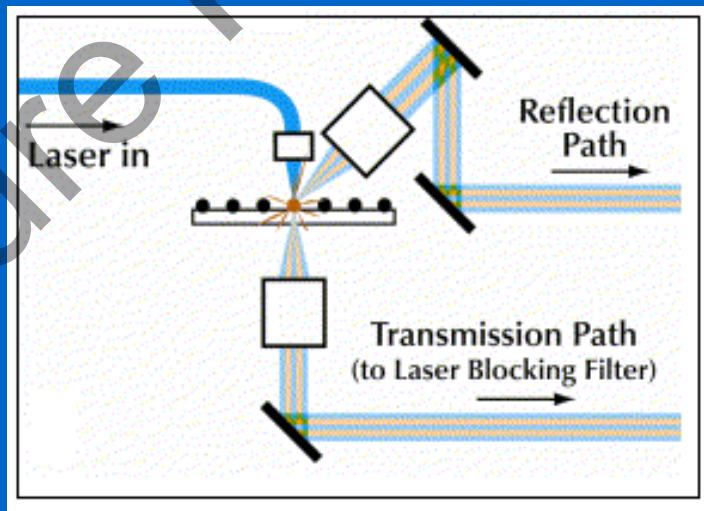
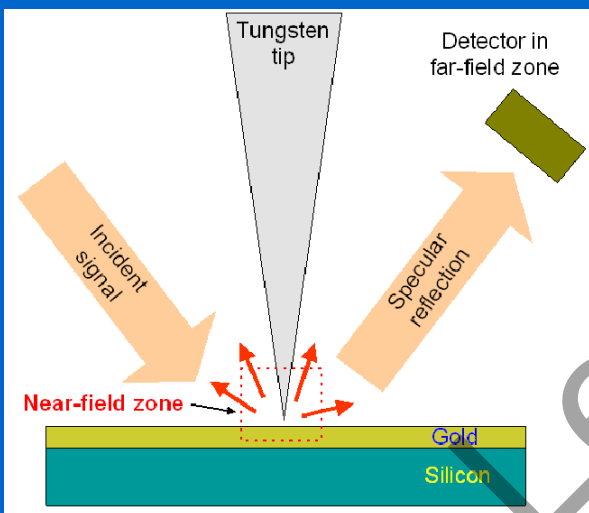
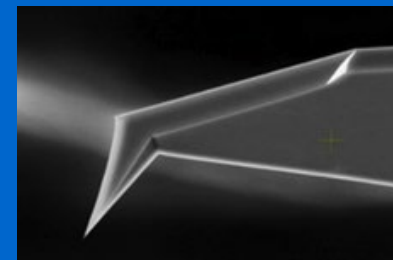
SNOM s aperturou



Mikroskopie a spektroskopie blízkého pole

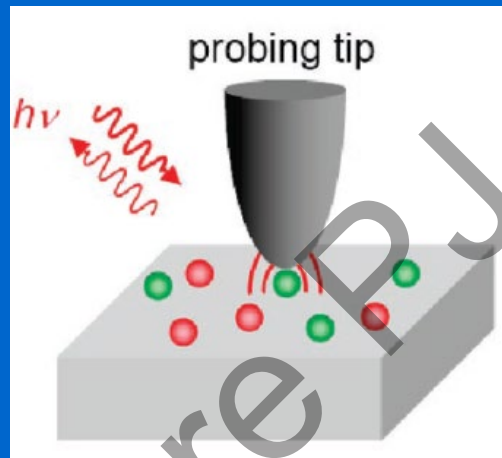
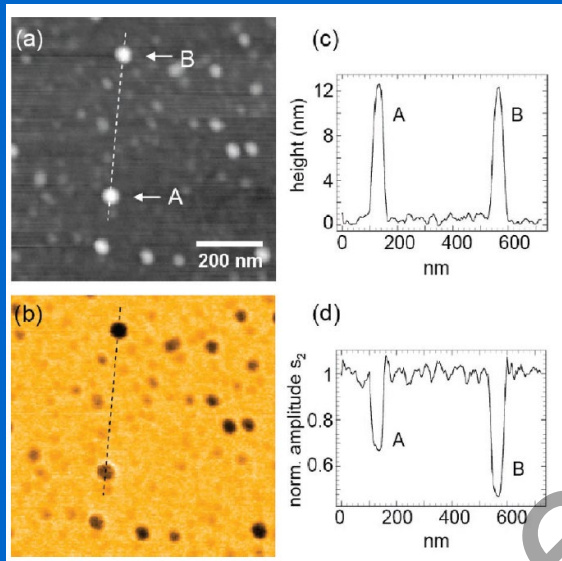


SNOM bez apertury -
Scattering SNOM (s-SNOM)

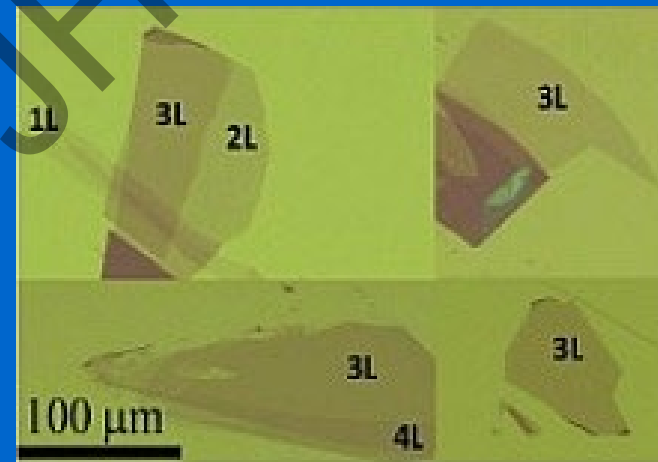


Mirror-like reflection - reflection of single incident direction into a single outgoing direction

SNOM – materiálový kontrast



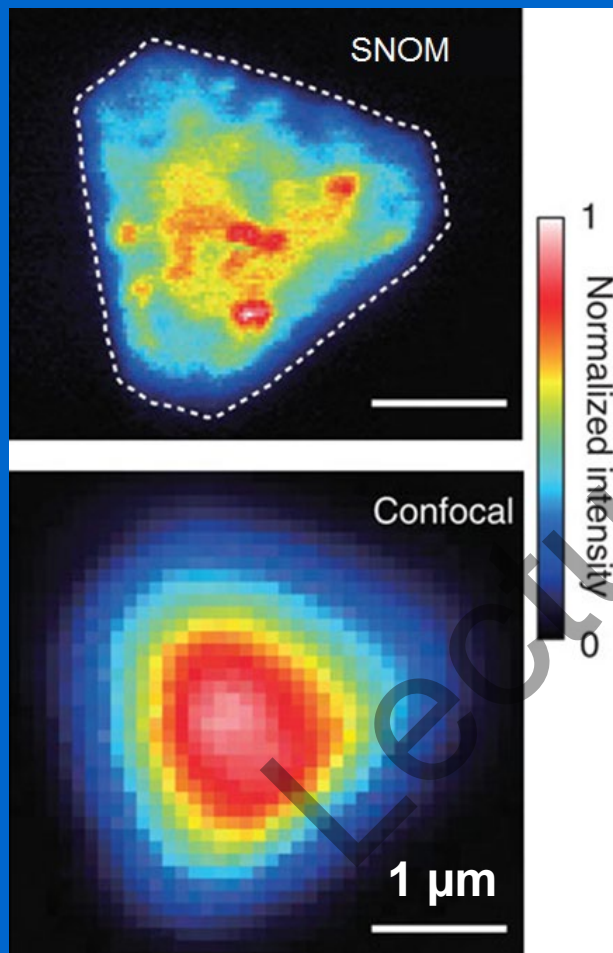
Reflexní (s-)SNOM
bez apertury



Materiálový kontrast dovoluje optické odlišení 1, 2, 3, 4 grafénových vrstev (na SiO_2) s rozdíly v tloušťce ~ 0.6 nm

s-SNOM zobrazení binární směsi Au + PS
 ~ 10 nm nanočástic immobilizovaných na Si substrátu. $\lambda = 10.6$ μm

Luminiscenční SNOM

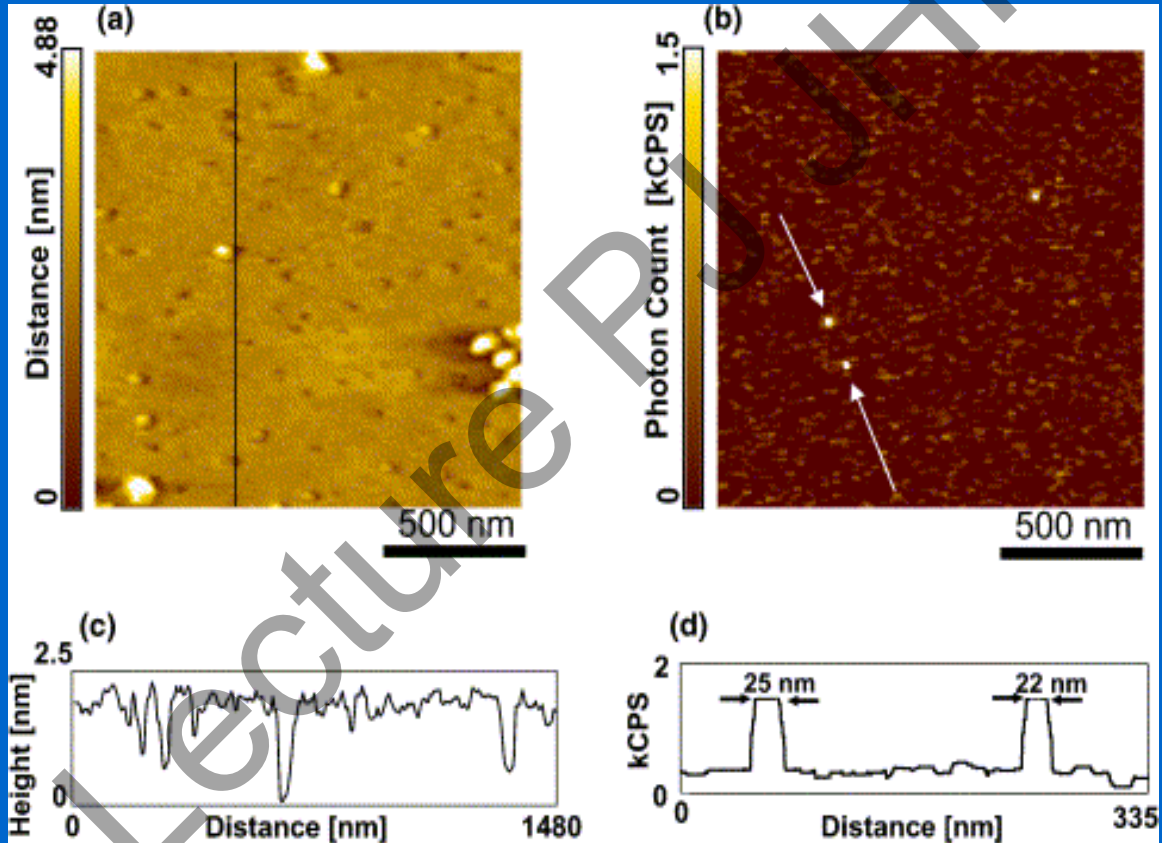


Fotoluminiscenční mapa MoS₂

Fluorescenční SNOM

Zobrazení jednotlivých molekul

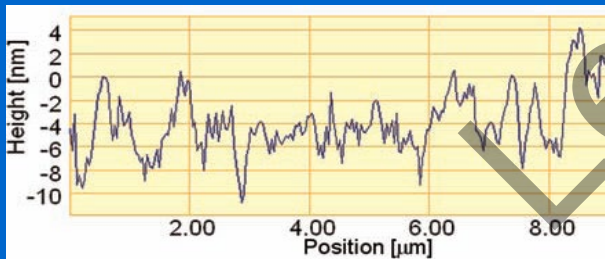
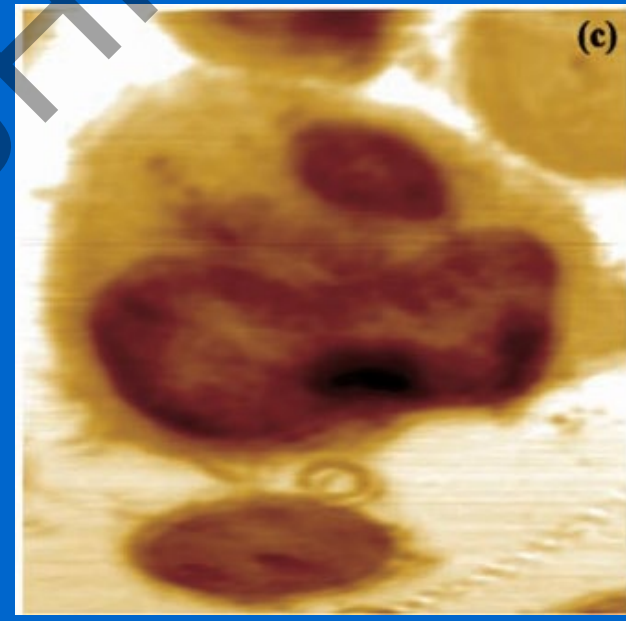
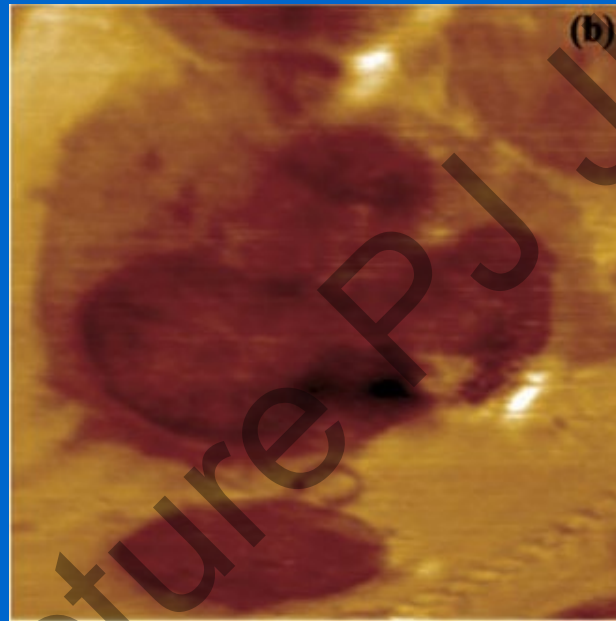
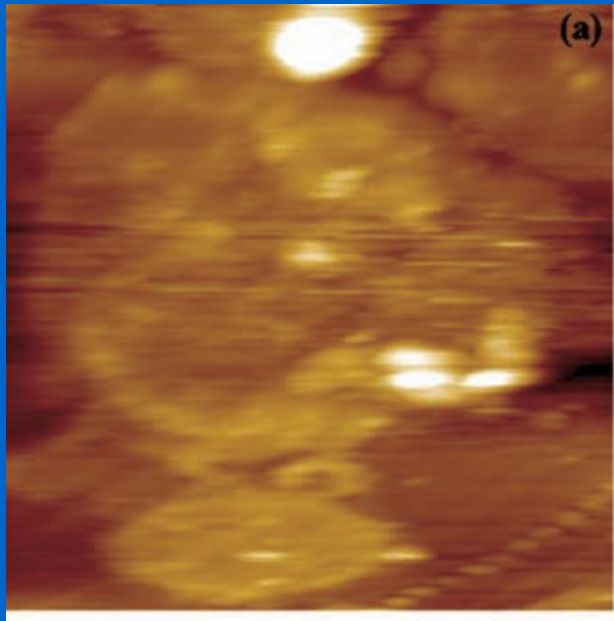
AFM
Topografie



SNOM

Alexa 532 (Exmax 532 nm/Emmax 554 nm, Molecular Probe Inc) v PMMA

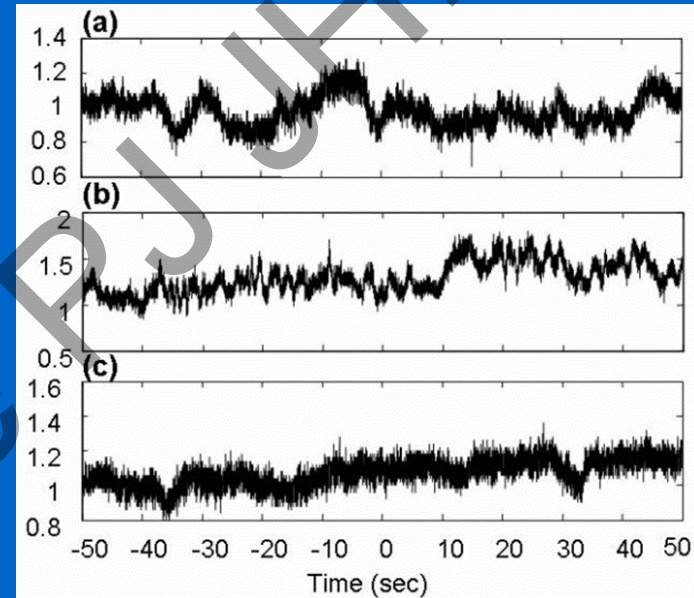
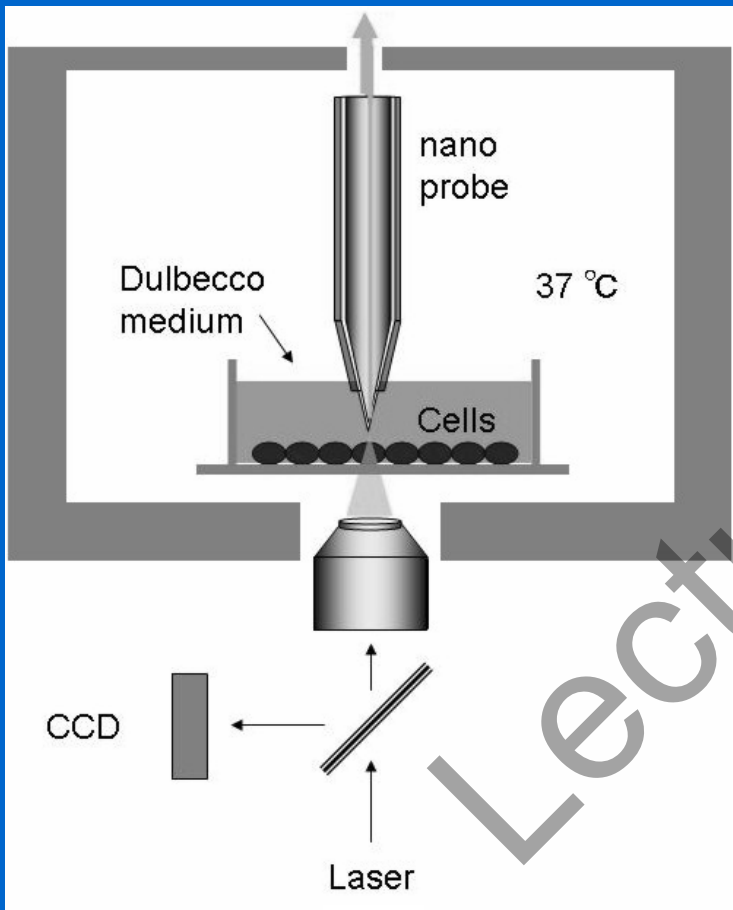
Zobrazení technikou SNOM



AFM topography (a), SNOM (b,c) images on ultrathin sections of apoptotic Jurkat cells embedded in araldite resin; SNOM optical reflection (b) transmission (c). Scan area $25 \times 25 \mu\text{m}$.

AFM/SNOM

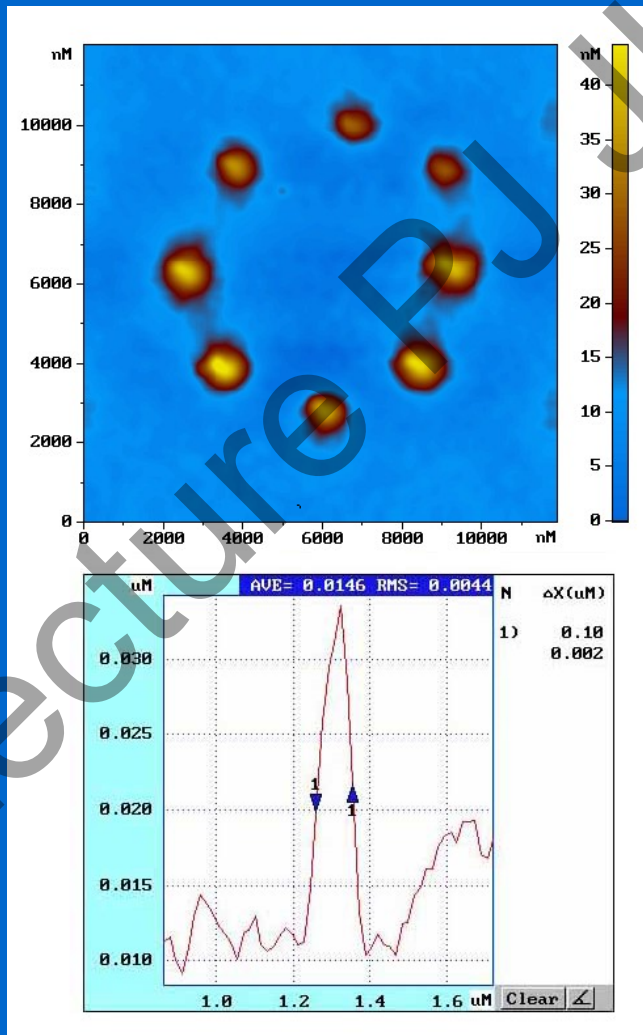
bezkontaktní snímání vibrací buněčných membrán



Time profile of neuroendocrine tumor cell recordings:
Normal conditions - control (a)
With Nerve Growth Factor 24h (b)
Necrosis - 4h H₂O₂ (c)
Time frame 100 sec for each recording,

Membrane movements indicate cell physiological conditions

SNOM litografie



Nanočásticový zesilovač světla

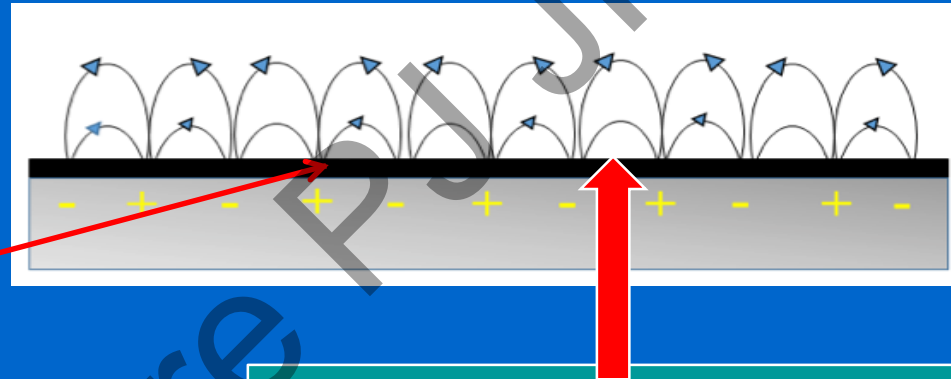
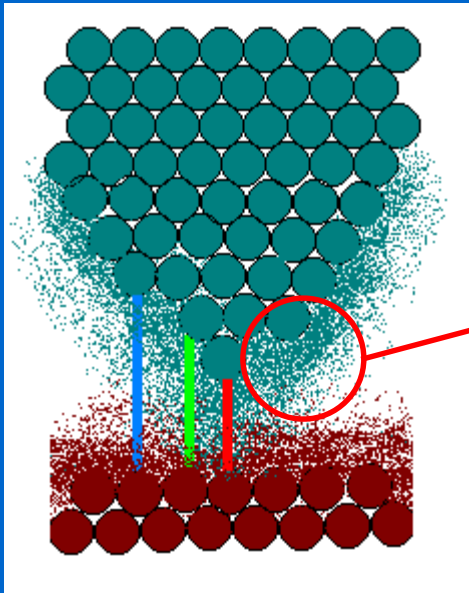
Plasmonové rezonanční zesílení

Povrchově zesílená Ramanova spektroskopie
Surface **E**nhanced **R**aman **S**pectroscopy
SERS



Hrotem zesílená Ramanova spektroskopie
Tip **E**nhanced **R**aman **S**pectroscopy/Microscopy
TERS

Elektronová hustota na mezifází vodič/dielektrikum

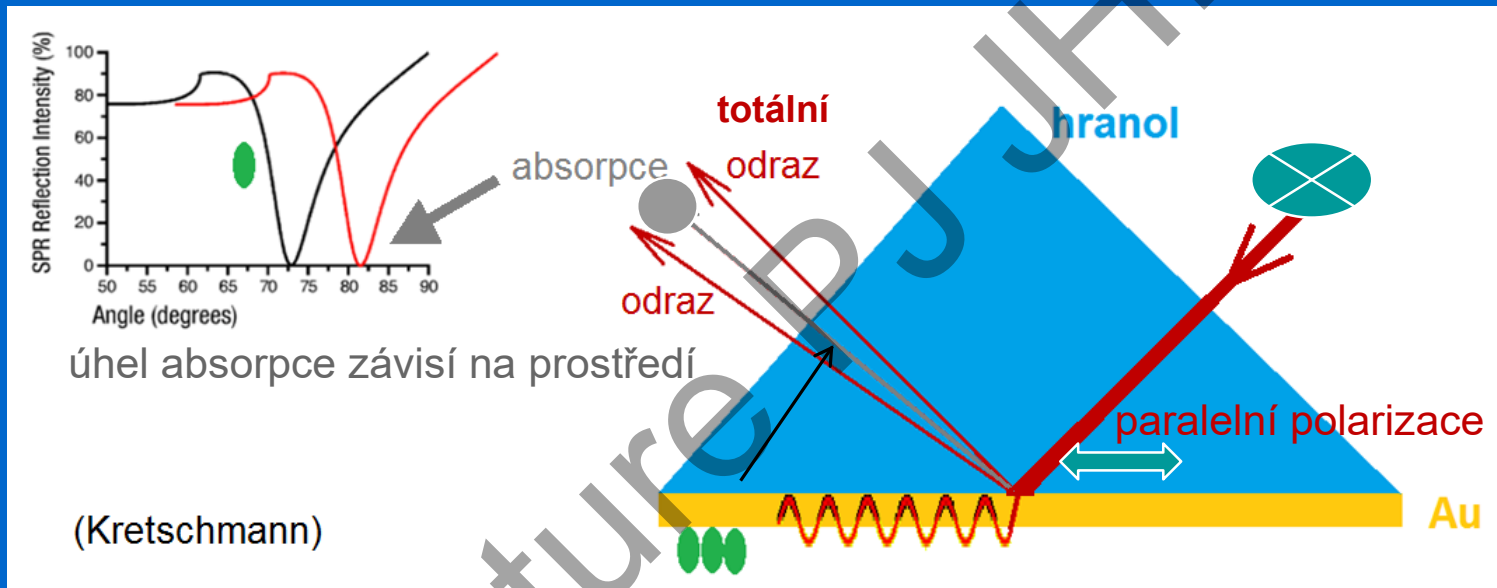


$I_T \sim V_B f_{mTS}(V_B) \exp[-2z\sqrt{(2m\Phi_{ST}/\hbar^2)}]$
 $\hbar = h/2\pi$, $f_{mTS}(V_B)$...redukovaná Planck.
konst.
 z ...vzdálenost hrot-vzorek ($\sim 10^{-1}$ nm)

Vlna elektronové hustoty postupující
podél mezifází kov–dielektrikum
(elektronová „kapalina/plasma“
[Maxwell]).

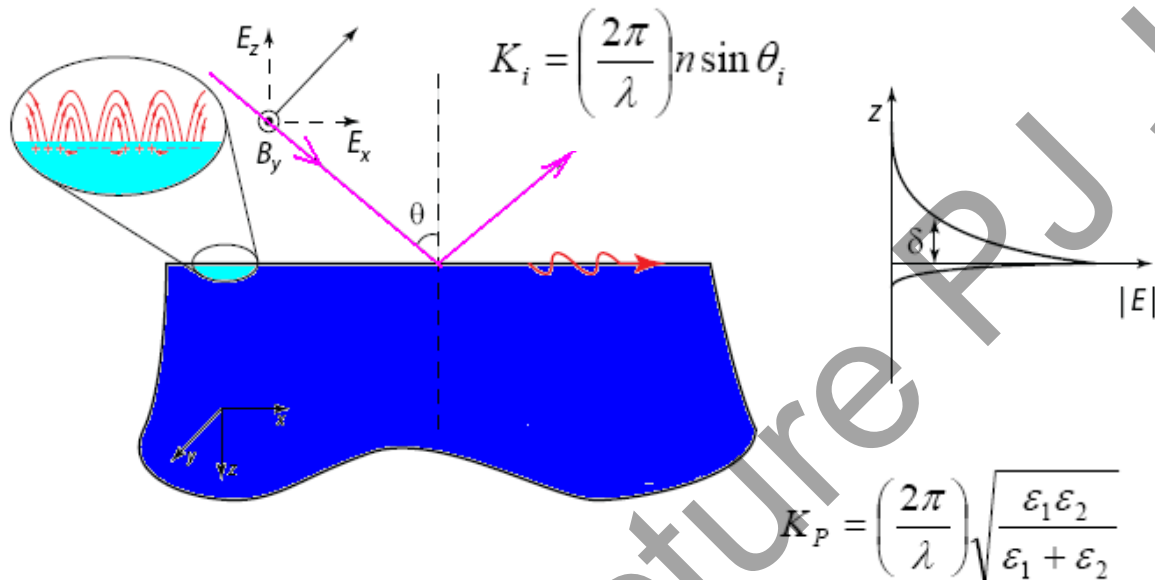
Oscilace nábojové hustoty a elmag. pole
= povrchová vlna
=> **Plasmon (polariton)**.

Povrchový plasmon neradiační – povrchová vlna



Povrchový plasmon (polariton): Neradiační (nevyzařující) elektromagnetická povrchová vlna, šíří se podél mezifází materiálů s negativní permitivitou (vodič)/dielektrikum (prostředí - plyn, kapalina, vakuum) => její parametry jsou citlivé na změny mezifází – např. adsorpce, vazebné interakce na vodiv. povrchu

Povrchový plasmon a povrchová plasmonová resonance (SPR) neradiační – povrchová vlna



Teor. modely:

R. Ritchie 1957

Drude-Lorentz-Sommerfeld,

Novotny,

kvant. teorie...

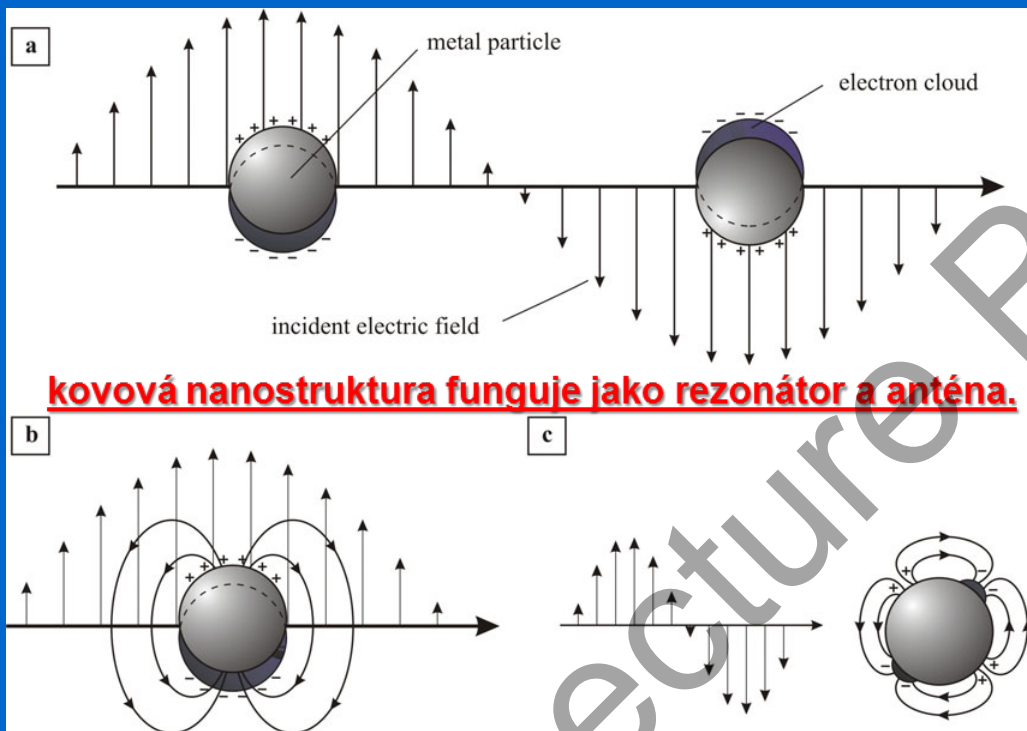
E_p elmg. pole: el. složka polarizovaná paralelně s mezifázím,

K_i, K_p vlnové vektory dopadajícího elmg. pole a plasmonu,
v resonanci $K_i = K_p$

$\epsilon_{1,2}$ dielektr. konstanty kovu a prostředí,

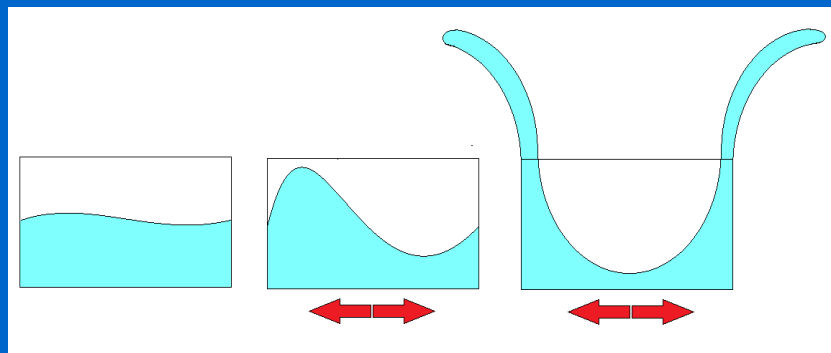
θ_i úhel dopadu elmg. záření (paralelní polarizace) a max. absorpce

Kovová nanočástice = plasmonový rezonátor radiální vlna (vyzařující) - zesilovač světla



kovová nanostruktura funguje jako rezonátor a anténa.

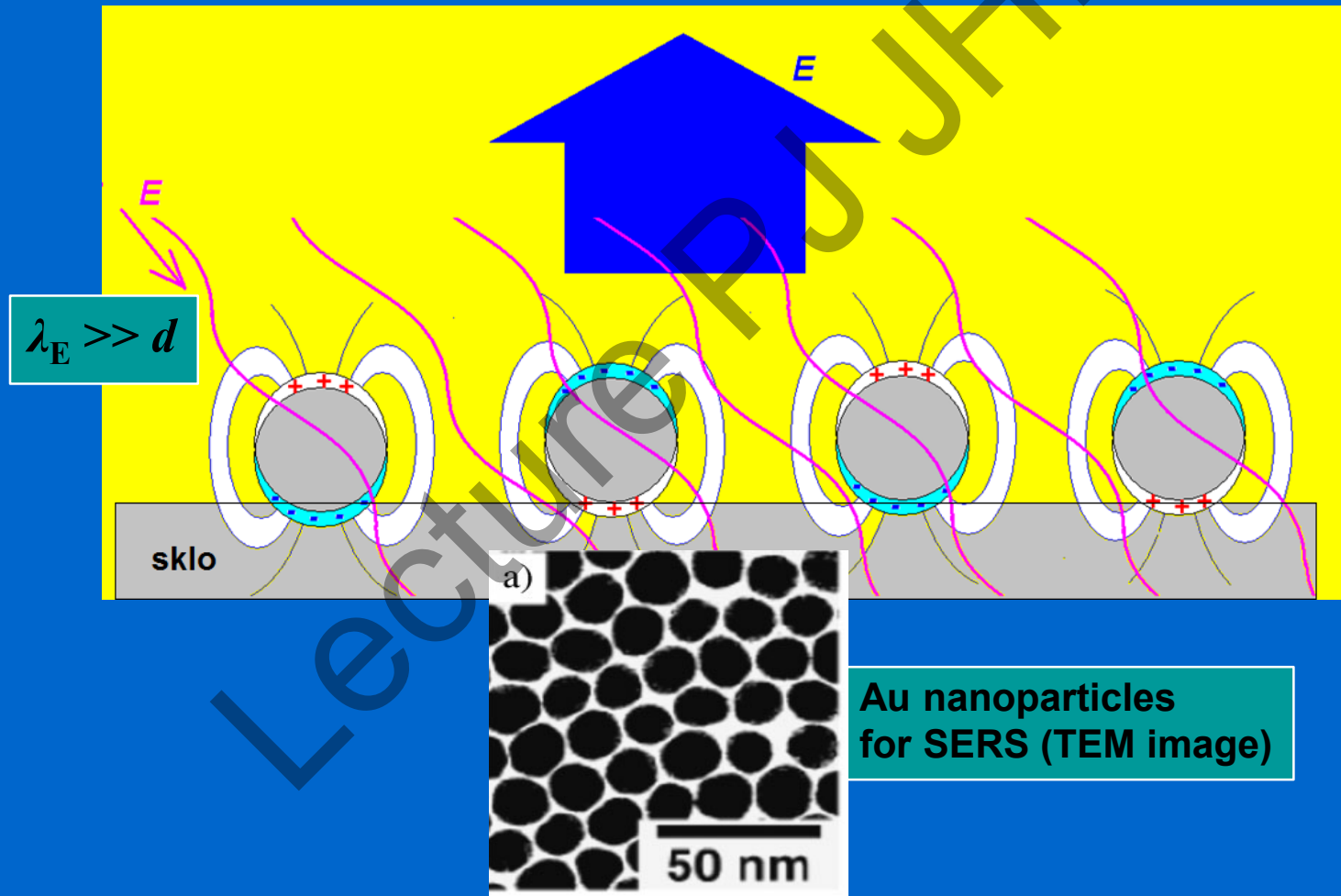
Nanočásticový plasmon:
Min. rozměr částic: > 2 nm
=> **neexistují lokalizované energetické hladiny**
(pás/oblak)



Interakce se světlem => excitace oscilací e⁻ oblaku
Malé částice: dipólová radiace (a, b) => emise dipólu
Velké částice: kvadru-/n-pólová radiace => povrchová vlna
=> potlačená emise (c)

$\omega_p \sim \sqrt{(ne^2/\epsilon_0 m^*)}$
 ω_p plasmon. frekvence
 m^* eff.hmot. vodiv. e⁻
 ϵ_0 permitivita prostředí

Realizace povrchové plasmonové resonance na nanostrukturovaném povrchu



Využití povrchové plasmonové resonance

Zvětšení citlivosti spektroskopických technik

- fluorescence,
- povrchové zesílení spektroskopie (SERS) $\sim 10^{14} - 10^{15} \times$
umožňuje identifikaci jediné molekuly

Posun plasmonové resonance adsorpcí molekul na mezifázi (posun ϵ)
=> měření tloušťky adsorbovaných vrstev, vazebné konstanty ligandů...

Biosensory založené na barevných změnách

Senzory typu „lab-on-a-chip“

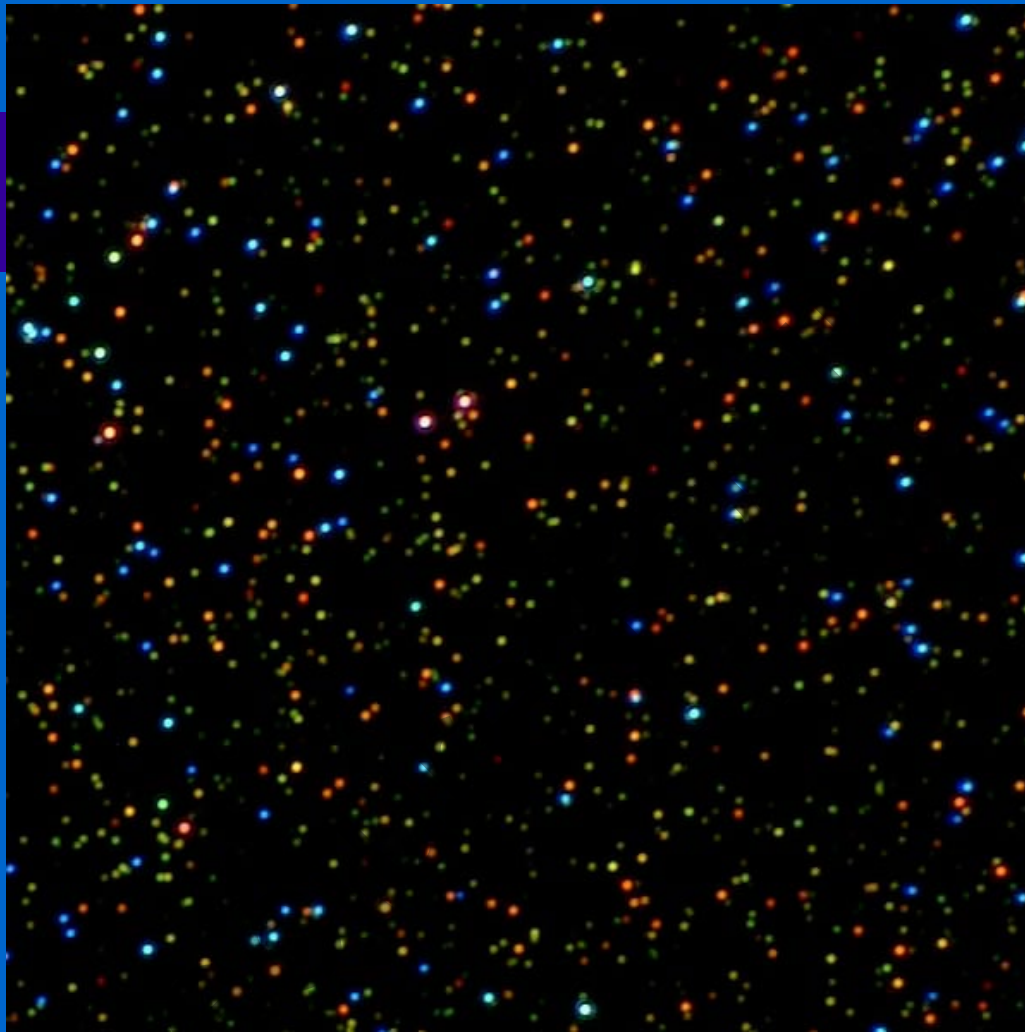
Label-free senzory, nanoplasmonika

Aplikace: Povrchově zesílená Ramanova spektroskopie Surface Enhanced Raman Spectroscopy

Maximální zesílení – pro dopadající i rozptýlené světlo jen pro frekvence s minimálním posunem (Raman)
(velmi posunutě - nemohou být obě v rezonanci => menší zesílení)

Kombinace výhod - Ramanova spektroskopie =>
vysoký světelný zisk
+
strukturní informace

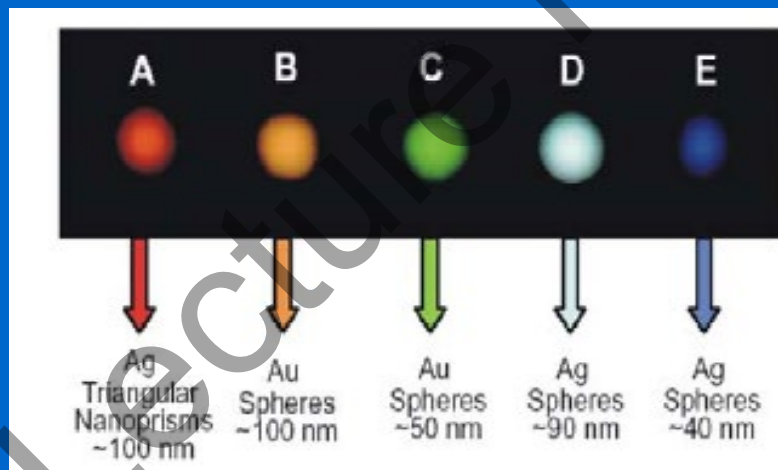
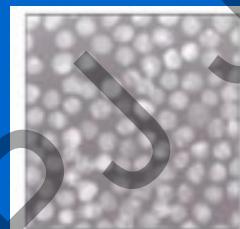
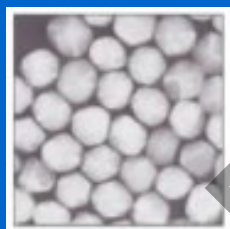
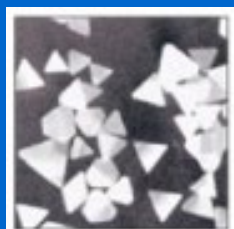
Zesílení na kovových nanostrukturách - nanočástice, nanodráty..
Vis: Au, Ag (elektrochemicky zdrsňelé Ag: (Fleischman M., 1974)
NIR: Cu
Nevýhody: Nutnost vytvoření nanostrukturovaného povrchu
Nehomogenity v pokrytí nanostrukturami, agregace nanočástic,
„Hot-Spots“ (signál není reprezentativní vzhledem k povrchu)



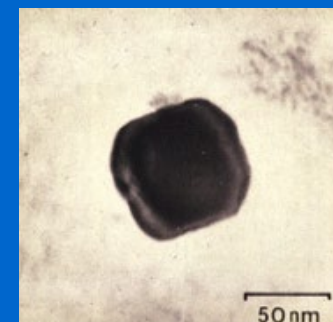
Optický mikroskopický snímek (temné pole) světla rozptýleného nanočásticemi

Ag (nanosféry) Au (nanosféry) nanotyčky

Historie využití plasmonové rezonance



Ag, Au nanočástice



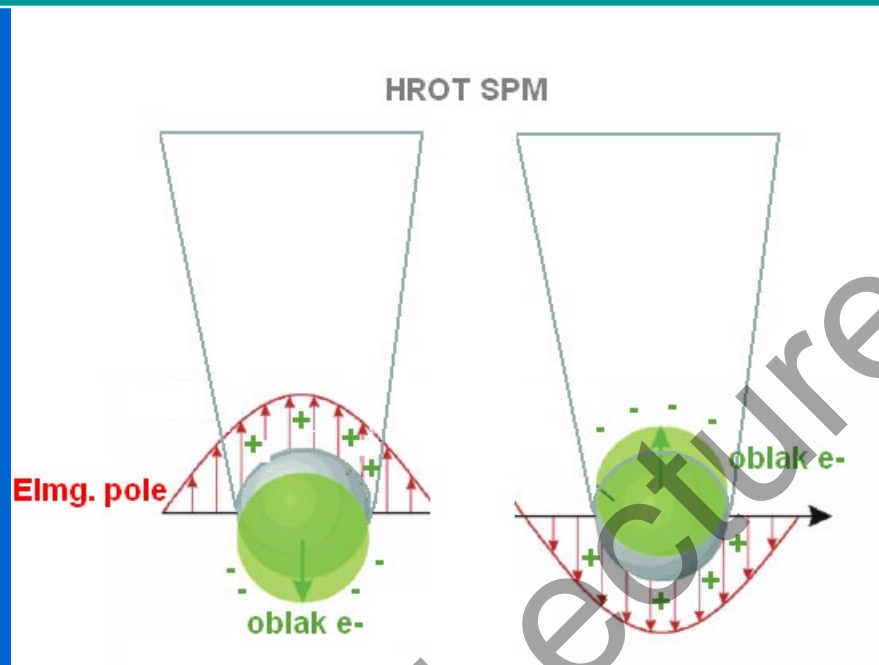
70% Ag + 30% Au

The Lycurgus Cup, Roman (4th century AD), British Museum (www.thebritishmuseum.ac.uk)
R. Jin, Y. Cao, C. A. Mirkin, K. L. Kelly, G. C. Schatz and J. G. Zheng, Science 294, 1901 (2001).

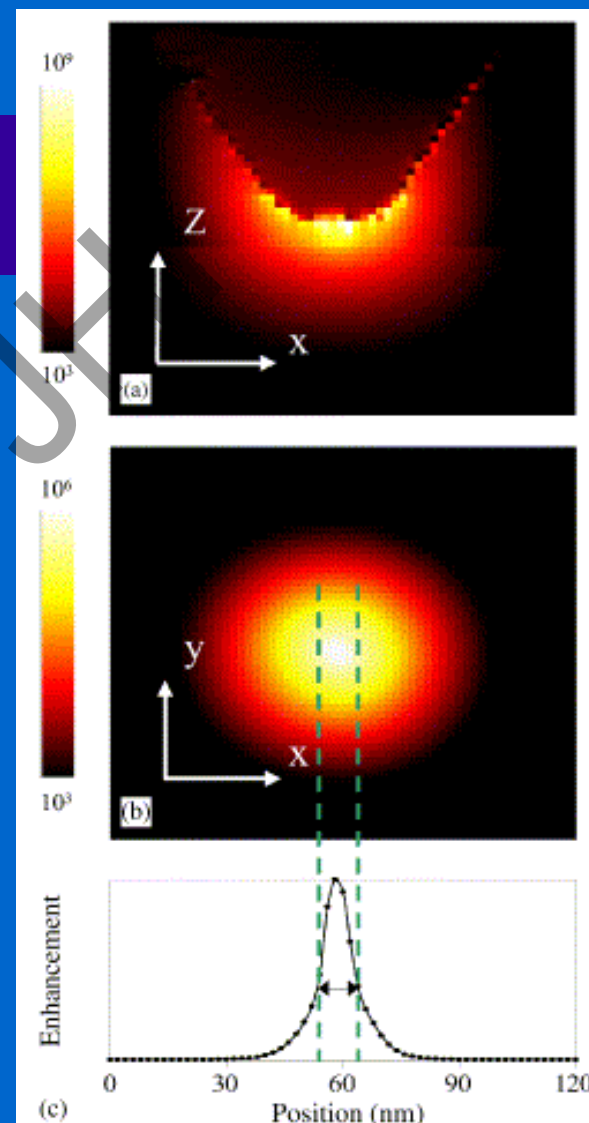


Hrotem zesílená Ramanova spektroskopie (TERS)

Tip Enhanced Raman Spectroscopy

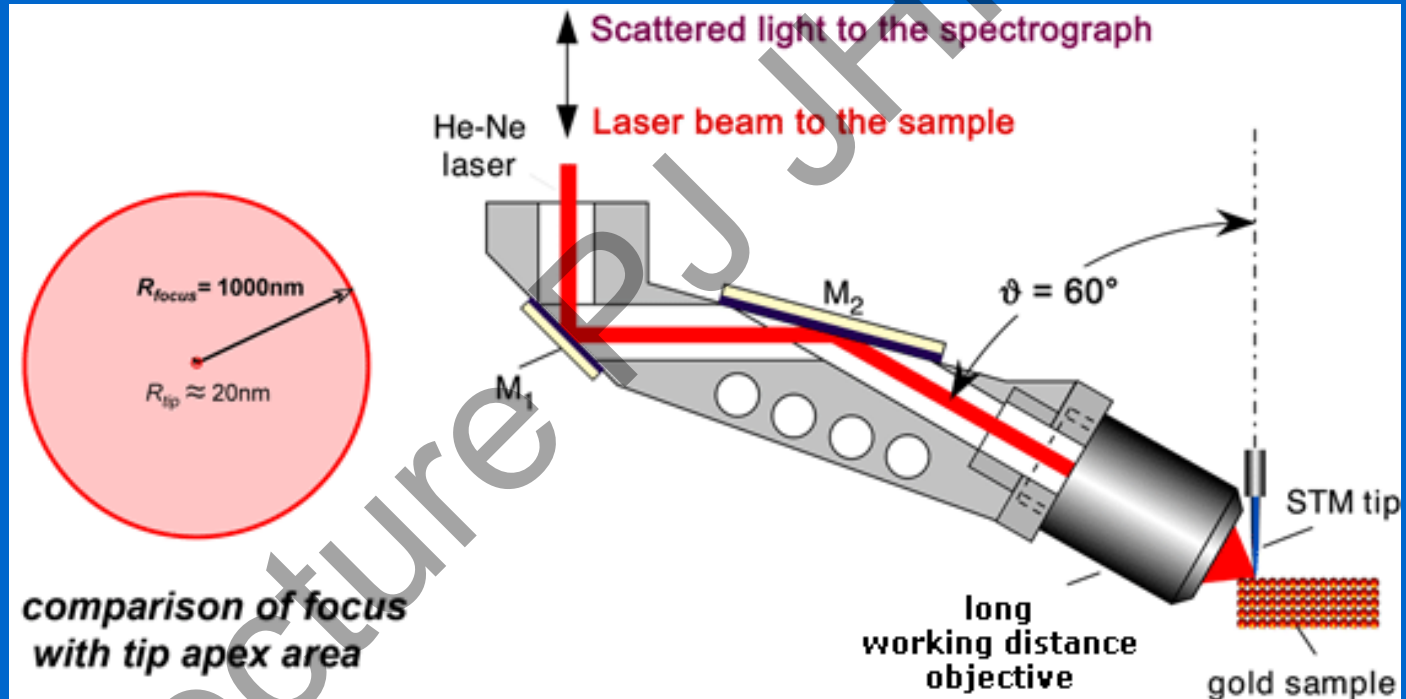
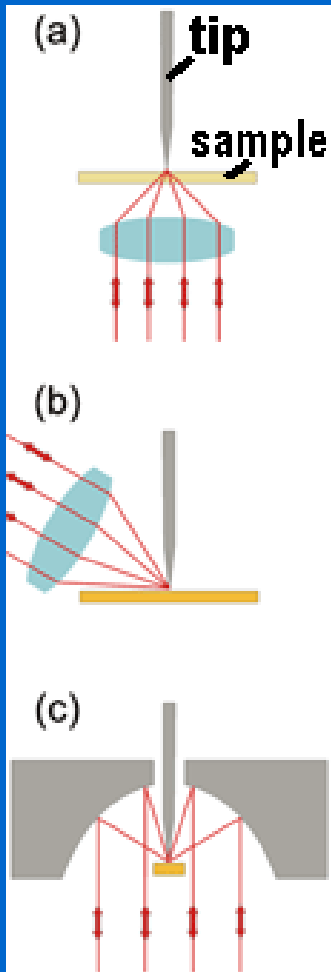


Od nanočásticové plasmonové resonance (SE) k hrotovému zesílení (TE)



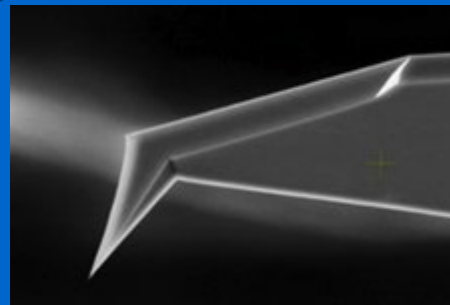
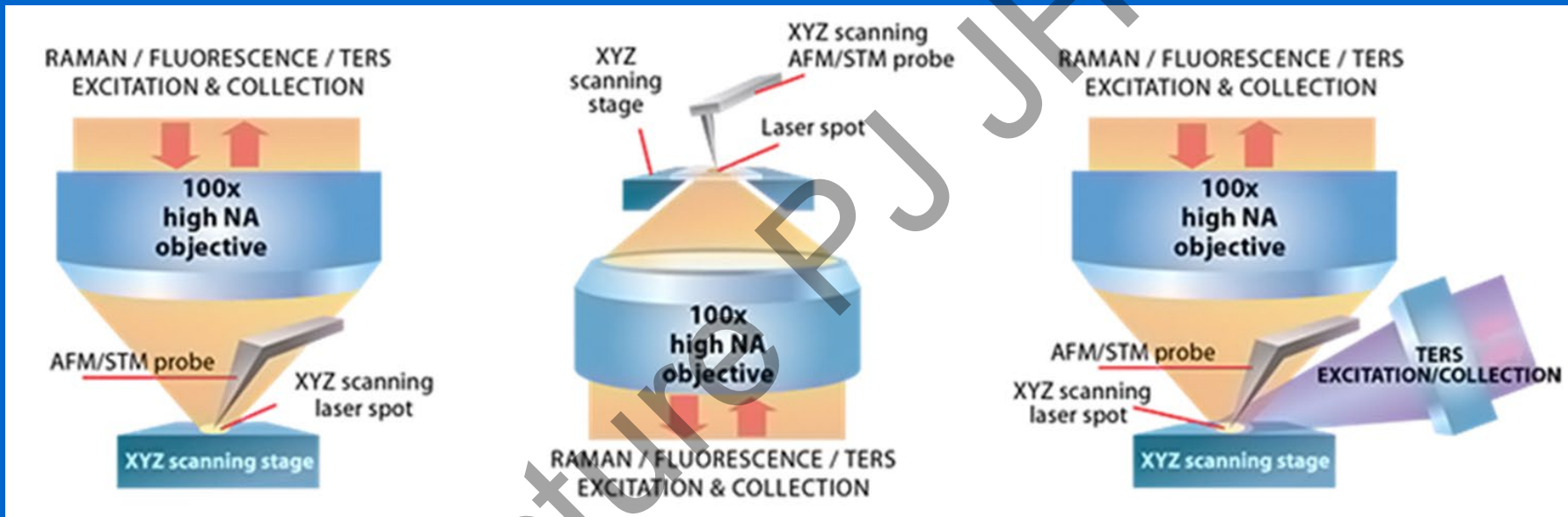
Intensity profiles of TER(S) location
 $(A = I_{RT}/I_{R0}) \lambda = 541 \text{ nm}, d_{T-S} = 4 \text{ nm}$

TERS instrumentace

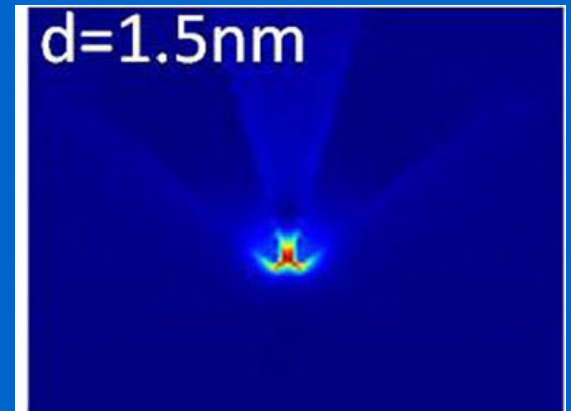
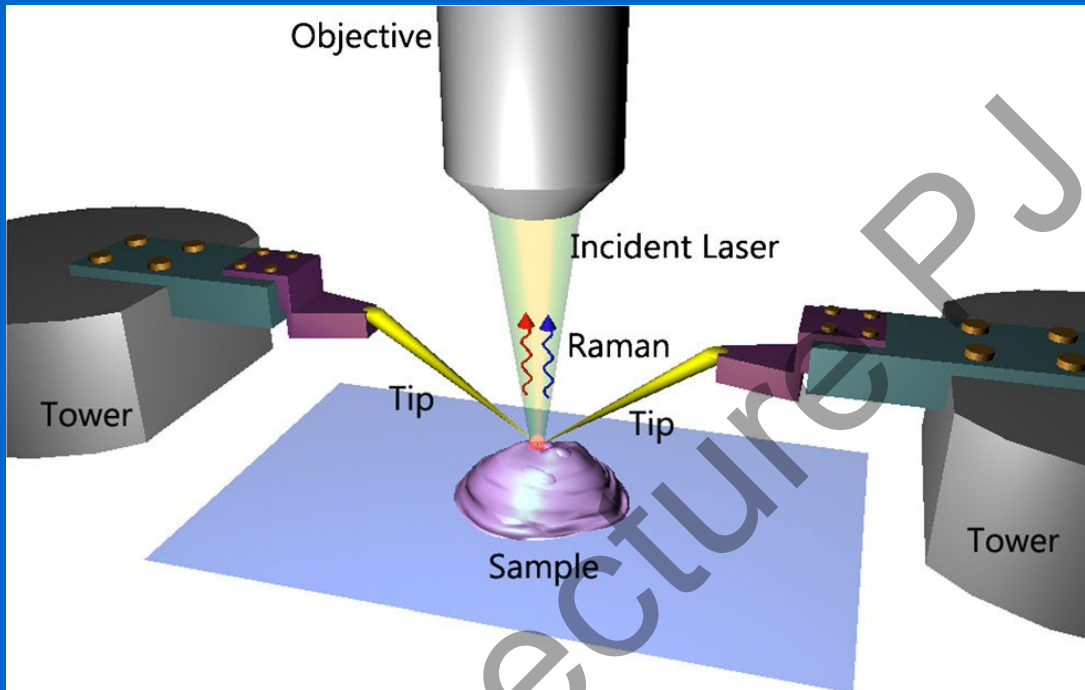


Zdroj: He-Ne laser (632.8 nm) ~0.3 mW na vzorku

Instrumentace: Variabilita uspořádání TERS



CS TERS – SNOM (MultiView)



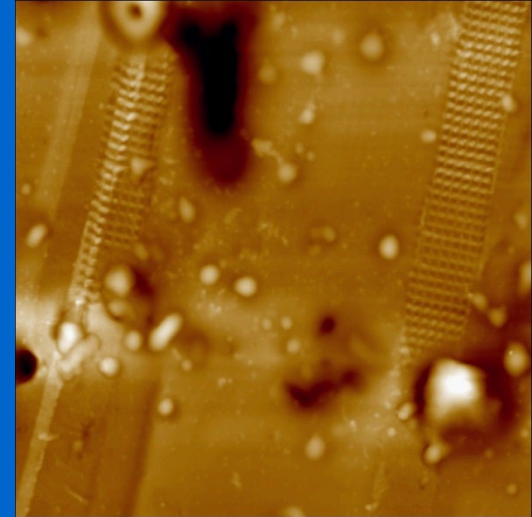
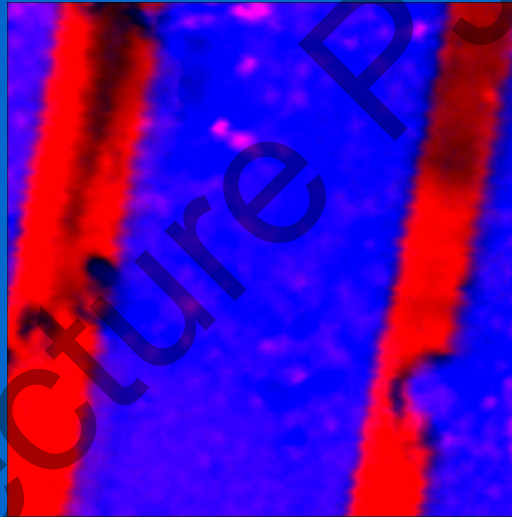
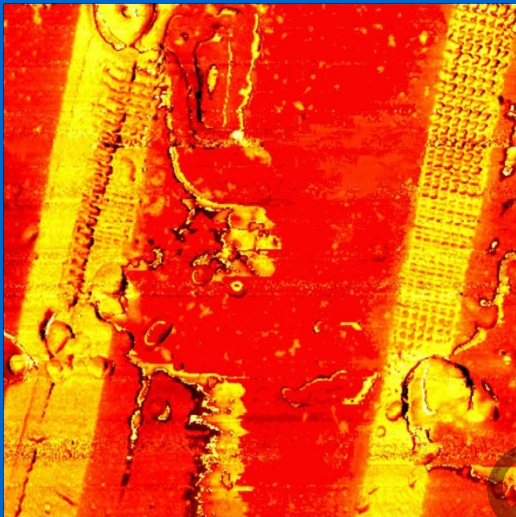
System for **C**oncurrent **S**canning + SNOM coupling - illumination/light collection/Tip-Enhanced SNOM

Kombinace technik: Zobrazení PFQNM/AFM-TERS-SNOM/AFM

AFM/stiffness

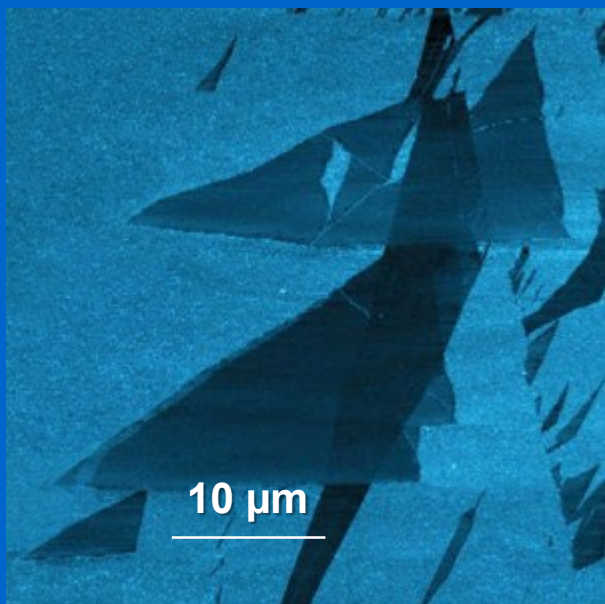
Raman/TERS

AFM Topography



HDPE/LDPE polymer

Kombinace technik: Zobrazení LFM/AFM-TERS/EFM

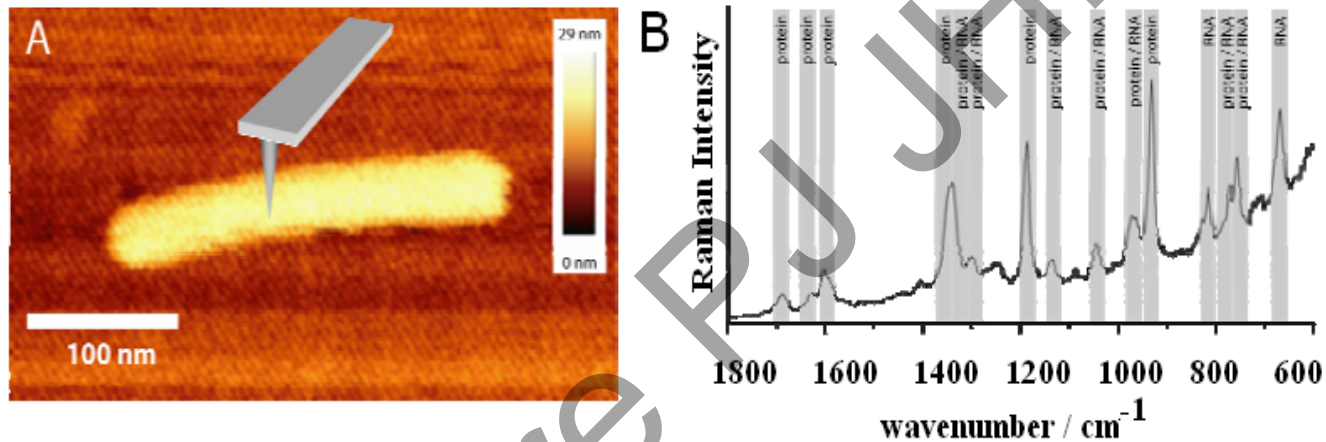


LFM

Raman G-mode

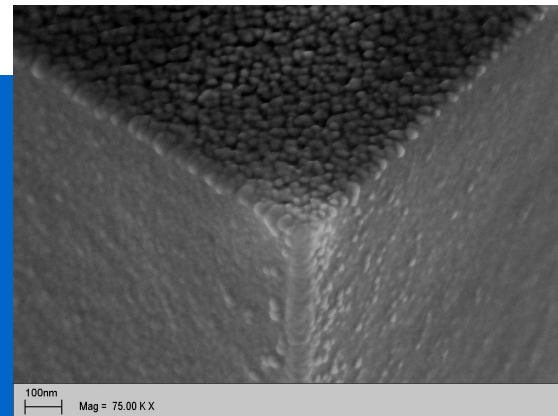
EFM

AFM/TERS: zobrazení + analýza

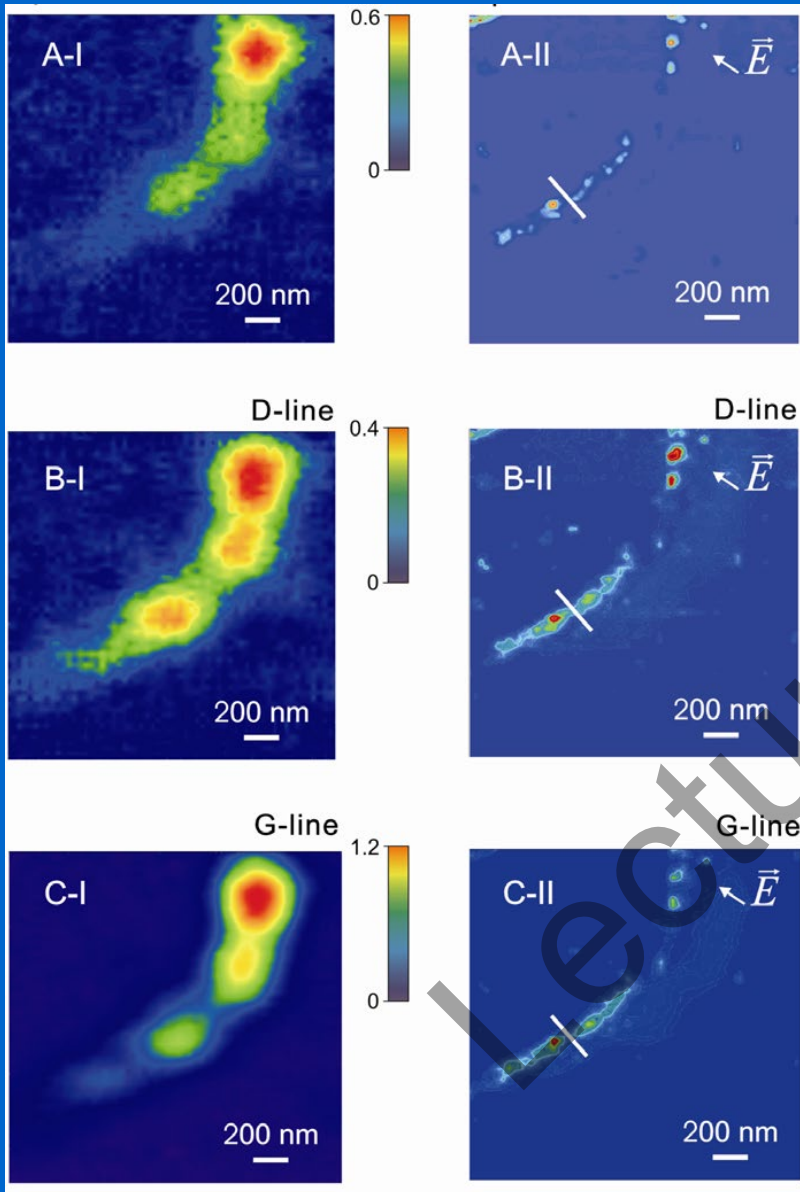


TERS spectroscopic examination of a single tobacco mosaic virus. (A) Before each TERS measurement, an AFM scan with the silver coated AFM tip is performed in order to position the AFM tip directly on a virus. (B) The TERS spectroscopic fingerprint of a tobacco mosaic virus shows that all TERS bands can be assigned protein and RNA contributions.

Metalized (Au) AFM tip for TERS/AFM

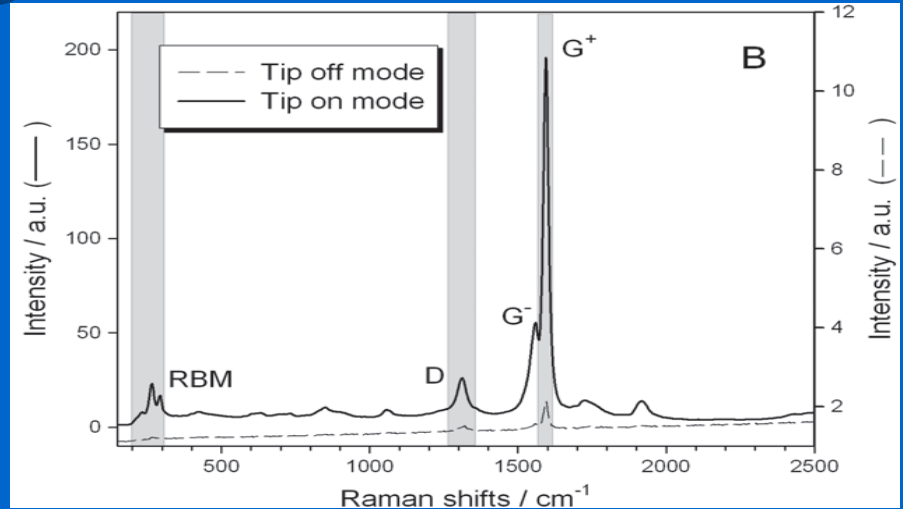


Zobrazení a analýza v režimu TERS



SWCNTs in vibration modes
 Radial „Breathing“ Mode 290 cm^{-1}
 D („disorder“) 1300 cm^{-1}
 G+ tangential C-C stretching
 1594 cm^{-1}

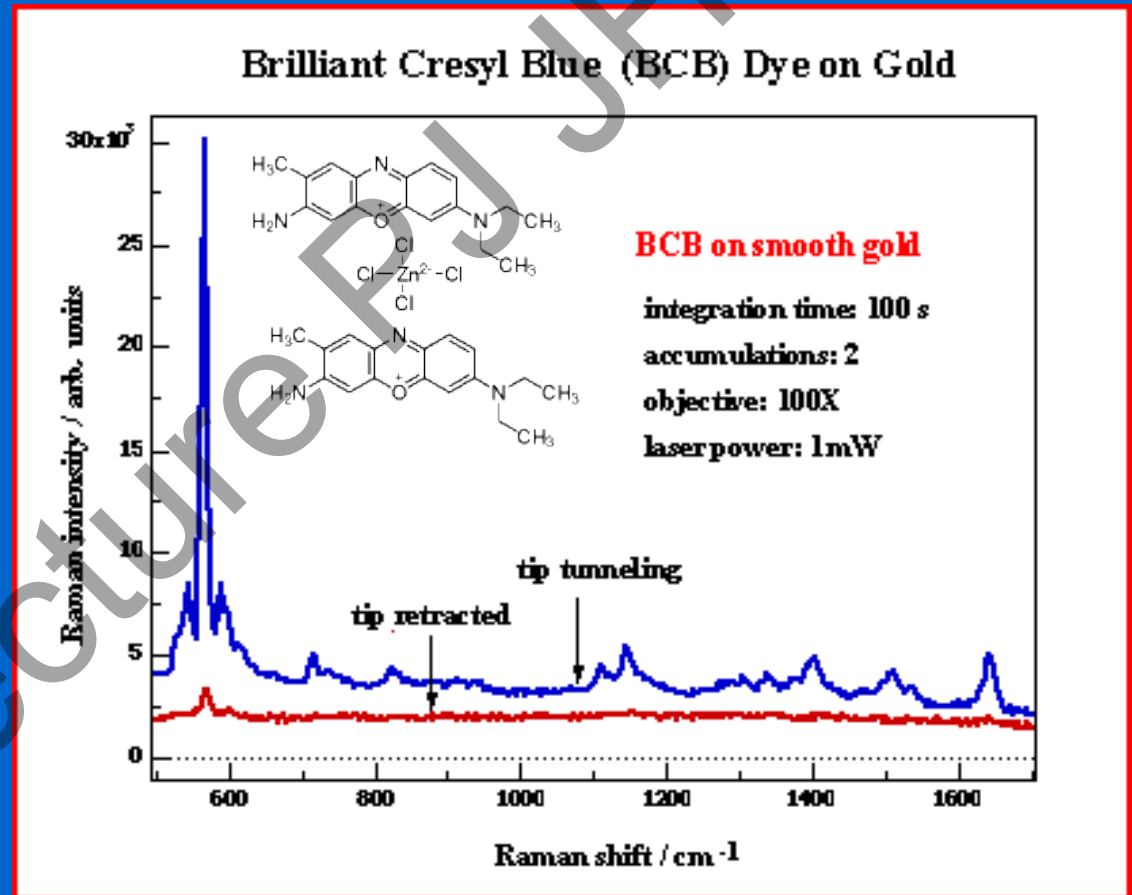
I... „tip off“ („far-field“ confocal)
 II... „tip on“ (TERS)



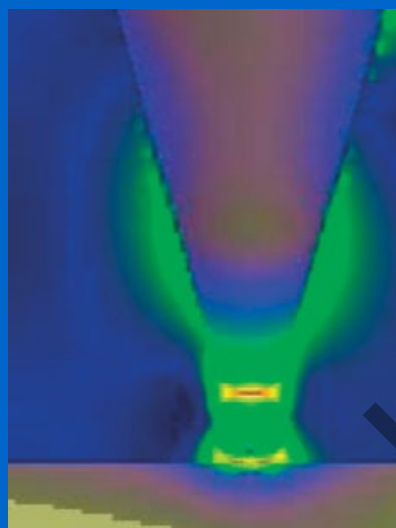
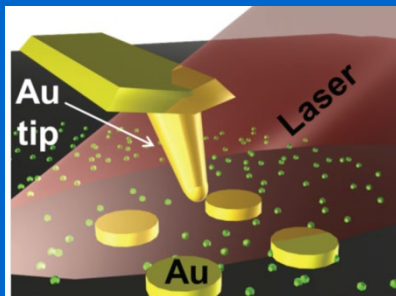
TERS v analýze povrchu

Monovrstva barviva
adsorbovaného na Au filmu,
STM Ag-hrot

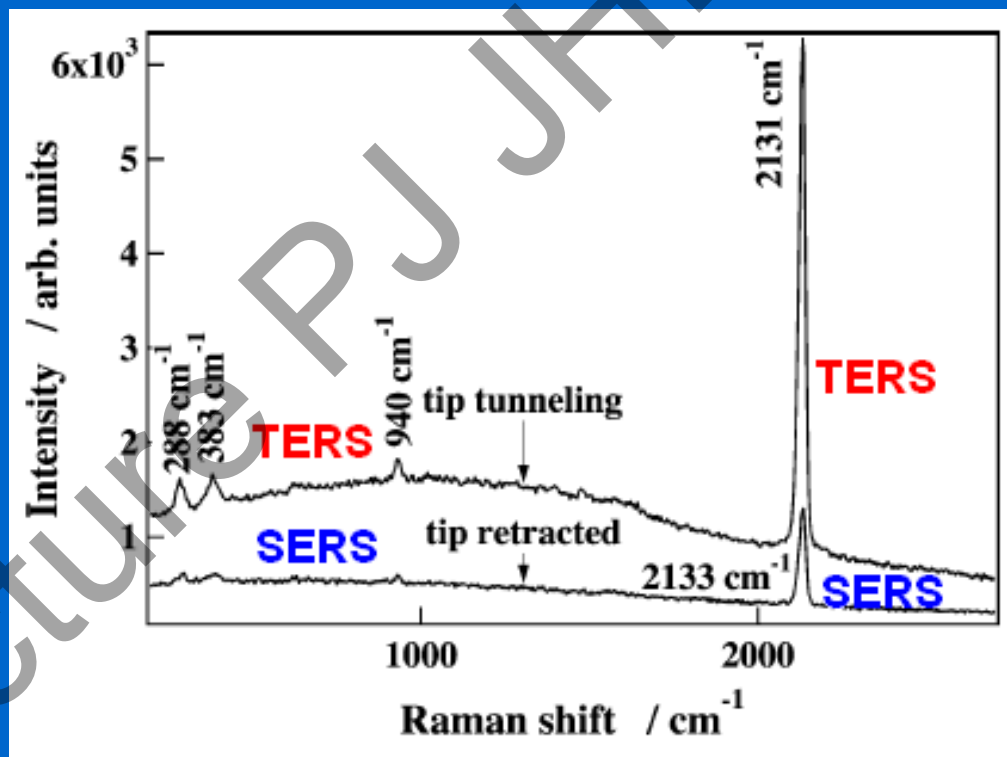
celkové zesílení
 $\eta = (E_{NF}/E_{FF})^4$



Kombinace SERS a TERS



E-field Au nanosphere 50 nm
Tip $r = 20$ nm, dist. 2 nm



SERS (roughed Au surface)
TERS (dttto + Au-tip)/adsorbed CN-
Integration time 1 sec, laser 5 mW

význam TERS

- + Plasmonová resonance lokalizovaná na povrchu kovového hrotu (vyzařující anténa, max.intenzita el.pole na hrotu) => hrot funguje jako téměř ideální bodový zdroj světla
- + Mobilní „hot spot“ – snímání reprezentativního signálu z celého povrchu vzorku
- + Proces může být laděn (z/do resonance) vkládáním napětí na hrot
- + umožňuje práci *in situ*
- + zesílení $\sim 10^7$
- Problém nastavení definovaných podmínek:
vliv: tvaru hrotu, složení hrotu, tvorba oxidu (hrot), složení elektrolytu, adsorpce..., přehřívání povrchu vzorku ve spotu



Mikroskopie rastrovací sondou

AFM/STM Nanoscope IIIa Multimode (Bruker)

Pro práci v kapalinách a plynech, uzavřená nádobka
Rozlišení ~ 0,1 nm

AFM/STM TopoMetrix TMX 2010

Pro práci v kapalinách a plynech
Rozlišení ~ 0,1 nm

AFM Dimension Icon (Bruker)

pro práci v kapalinách a plynech

AFM-TERS Labram/Combiscope (Horiba)

pro práci v kapalinách a plynech



-
-
-

Lecture PJ JHI