



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

Mikroskopie rastrovací sondou II optické/analytické metody

Pavel Janda

Laboratoř mikroskopie rastrovací sondou

Odd. elektrochemických materiálů

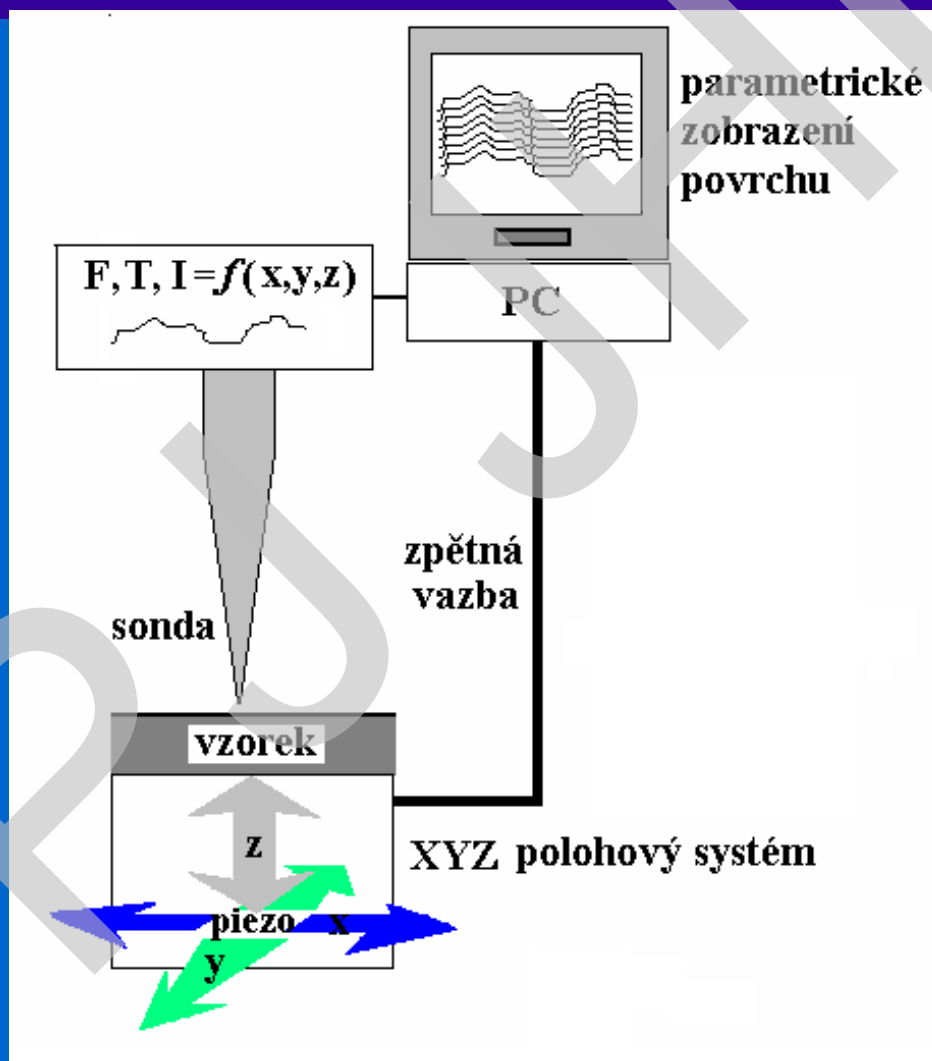
<http://www.jh-inst.cas.cz/>

<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 (TE) optická mikroskopie/spektr. **(TERS/TEFS)**

Rozdělení mikroskopických metod podle rozlišení

OPT: optická mikroskopie
vzdáleného pole

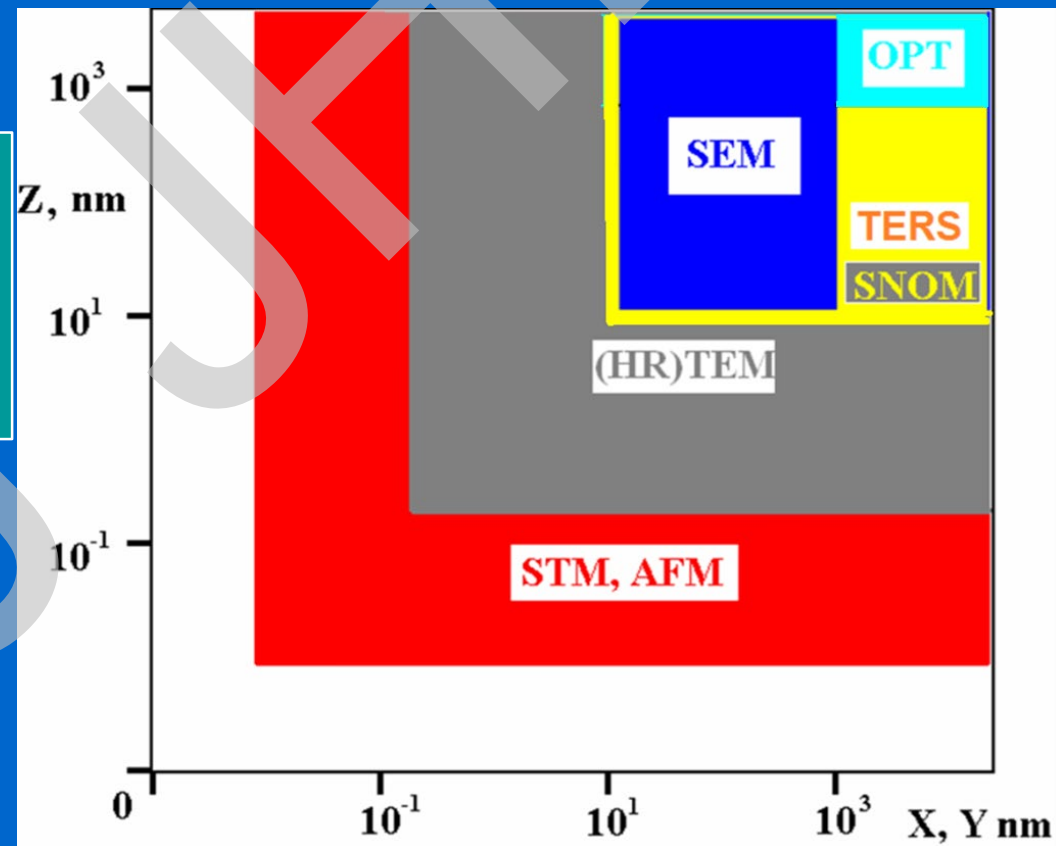
SNOM: mikroskopie blízkeho pole

TERS: Hrotem zesílená (Ramanova)
spektroskopie/mikroskopie

SEM: elektron. rastrovací
mikroskopie

HRTEM: elektron. transmisní
mikroskopie

STM, AFM: Tunelová mikroskopie,
mikroskopie atomárních sil



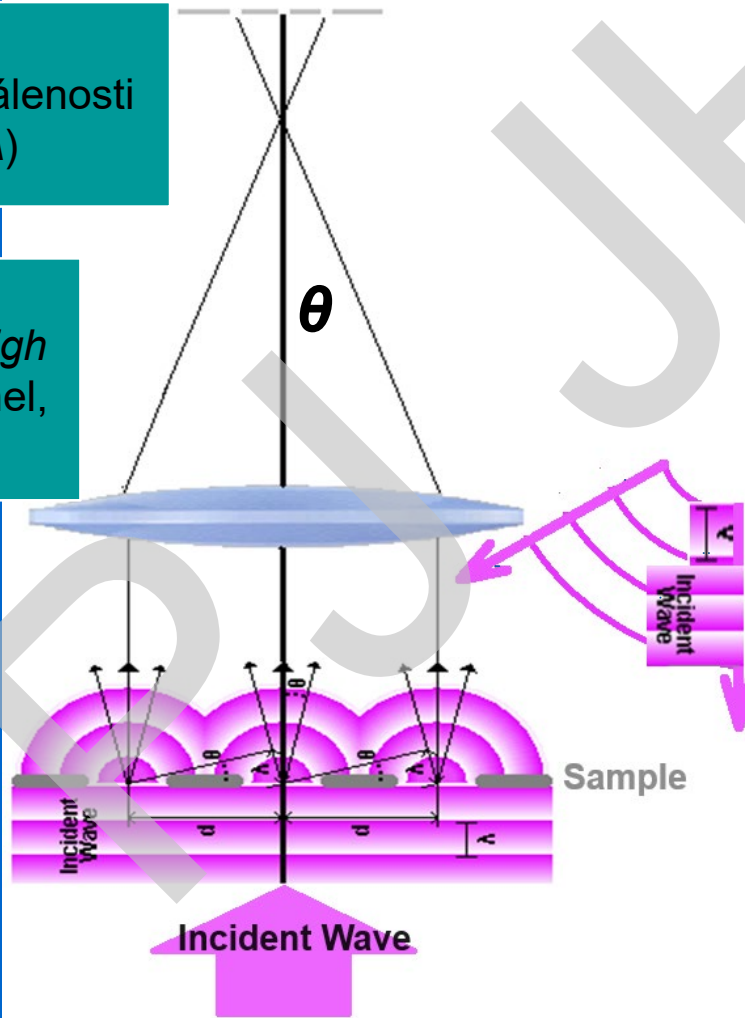
-
-
-

Optická mikroskopie a spektroskopie v mikroskopii rastrovací sondou

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

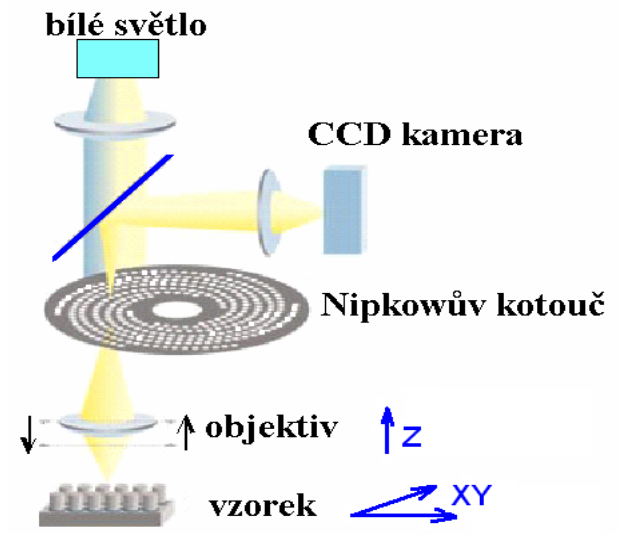
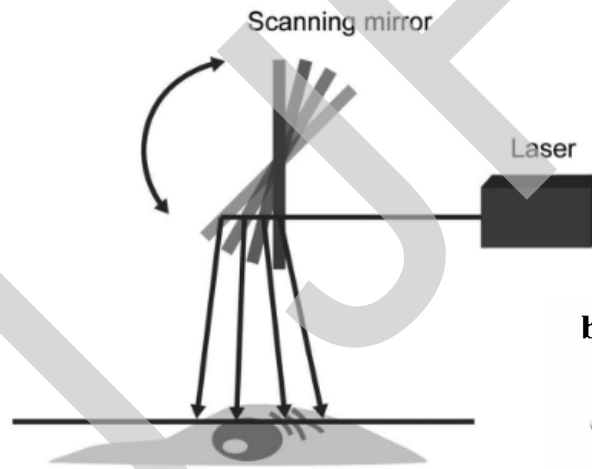
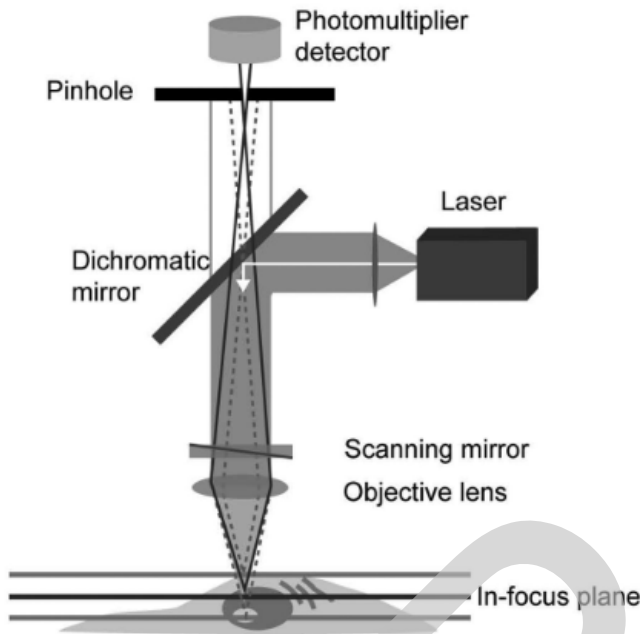


λ ... vlnová délka
 N_a ... numer. apertura
 $N_a = n \sin \Theta$
 n ... index lomu (vzduch 1)
 Θ ... 1/2 max. úhlu paprsku k ose
d... nejmenší rozlišená vzdálenost
 $d = 0.61\lambda/N_a$

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)

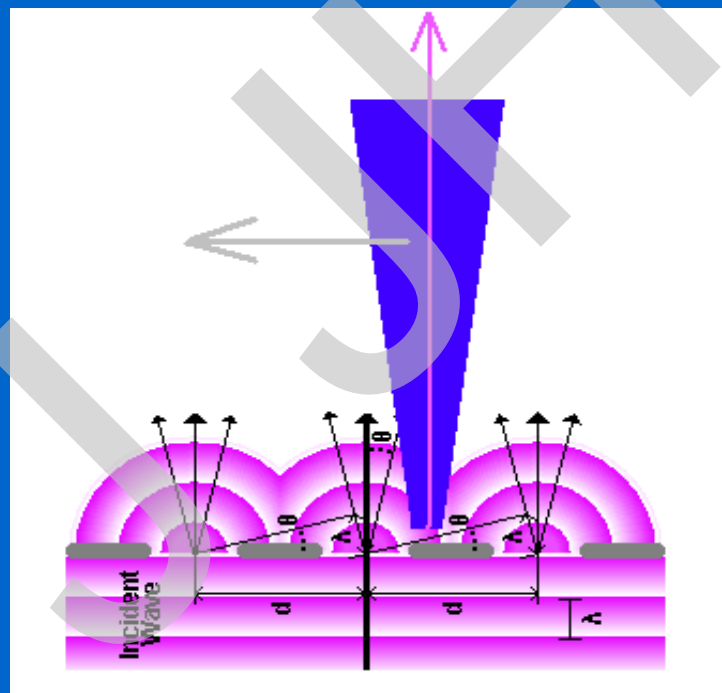


- 1) Snímá obraz povrchu fokusací bod po bodu v úzkém rozmezí hloubky fokusace.
- 2) Úzká apertura (clona) zabraňuje, aby se nefokusované (parazitické) světelné paprsky účastnily tvorby obrazu
- 3) Snímá více 2D obrazů v různé hloubce vzorku pro rekonstrukci 3D struktur (*optical sectioning*)
=> **Dosahuje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

Mikroskopie a spektroskopie blízkého pole

(Scanning) Nearfield Optical Microscopy

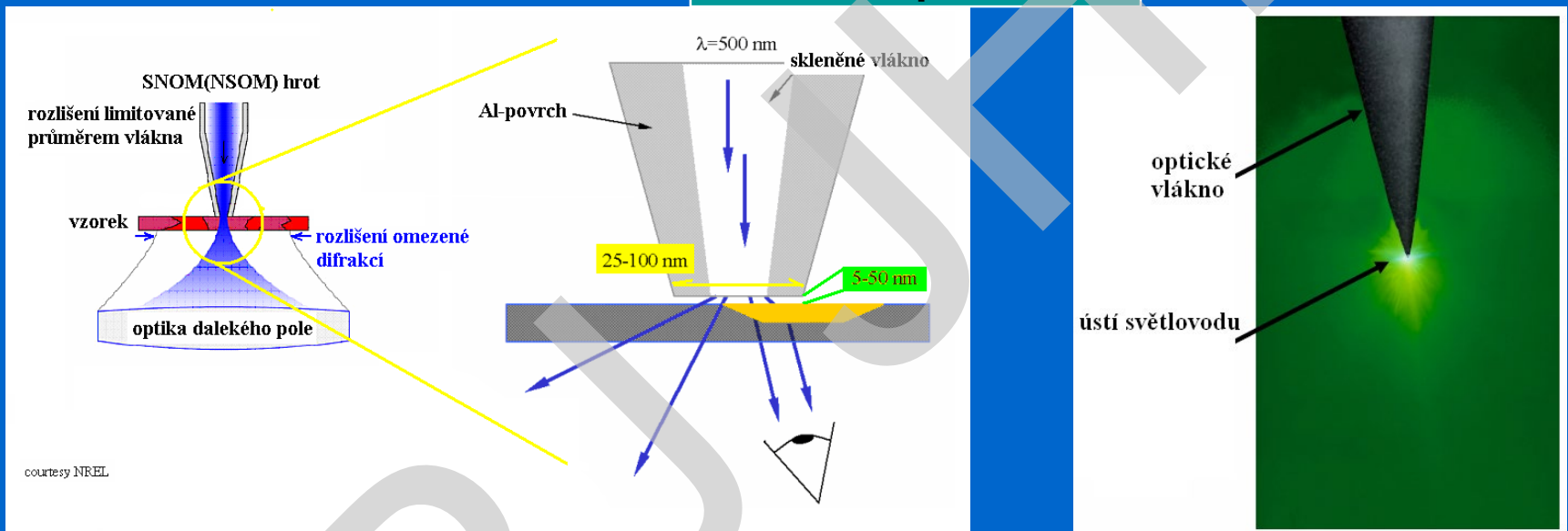
Near field –
snímací prvek ve vzdálenosti
 $z < \lambda$



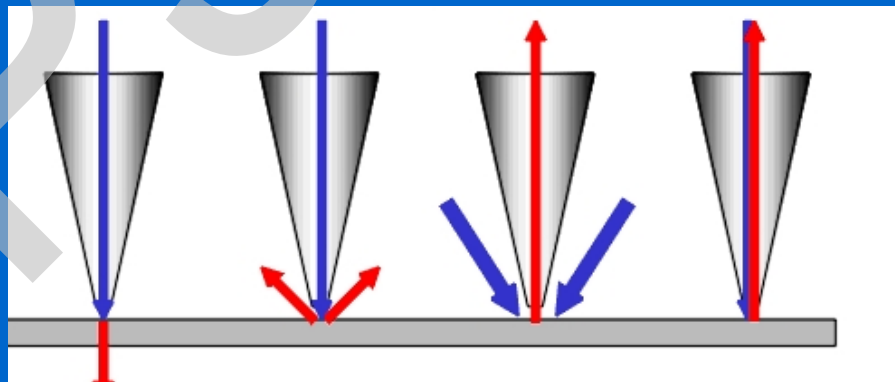
Rekonstrukce obrazu snímaného bod po bodu
z malého fragmentu vlnoplochy
Nejmenší rozlišená vzdálenost $d \sim$
 \Rightarrow **apertura sondy N_a** ,
 \Rightarrow vzdálenost od povrchu vzorku z

Mikroskopie a spektroskopie blízkého pole

SNOM s aperturou



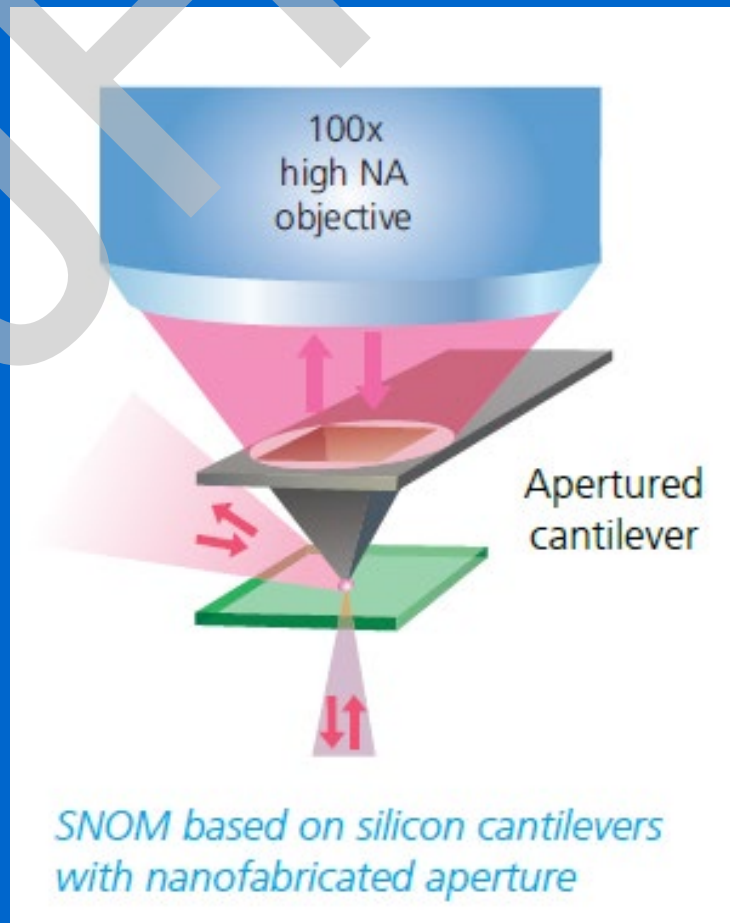
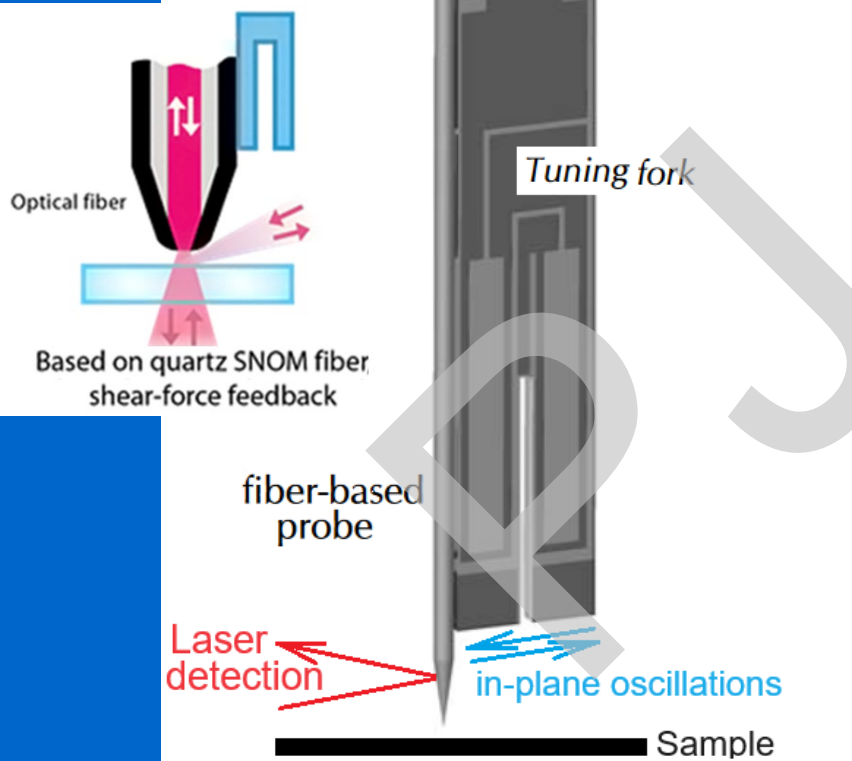
courtesy NREL



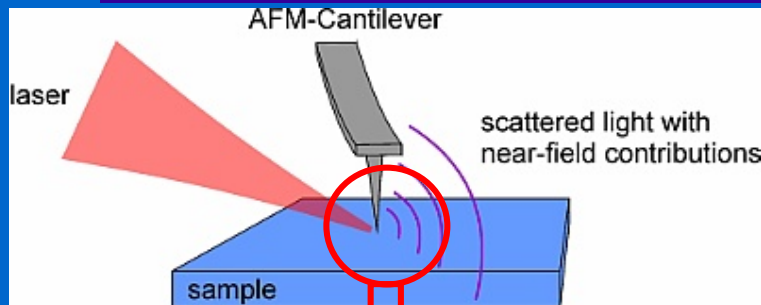
Mikroskopie a spektroskopie blízkého pole

SNOM s aperturou

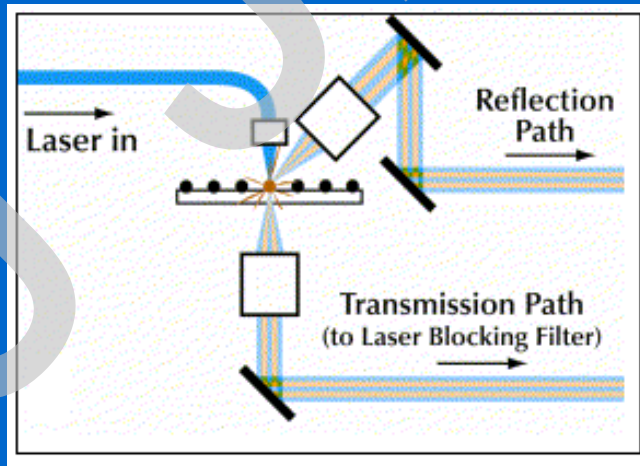
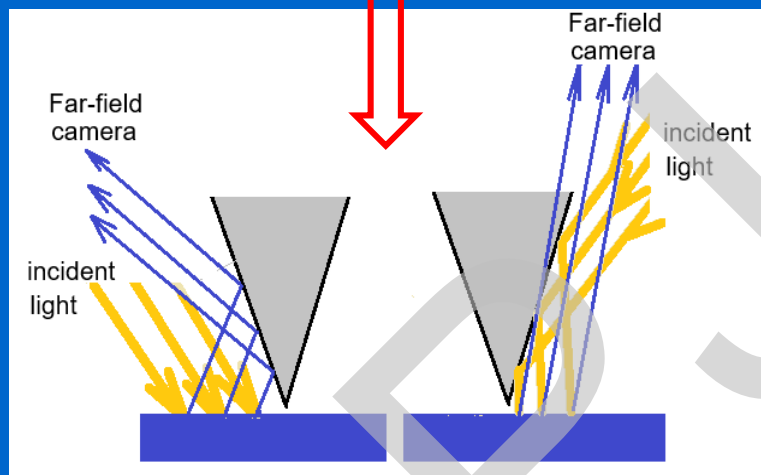
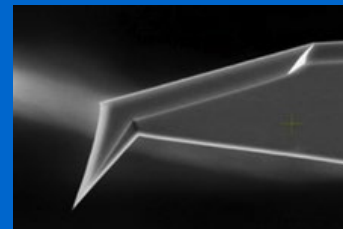
Shear force (piezo) detection
(Self-sensing)



Mikroskopie a spektroskopie blízkého pole



SNOM bez apertury -
Scattering SNOM (s-SNOM)

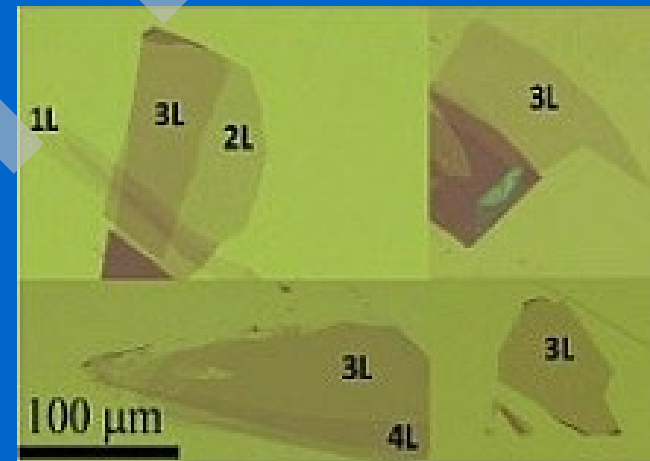
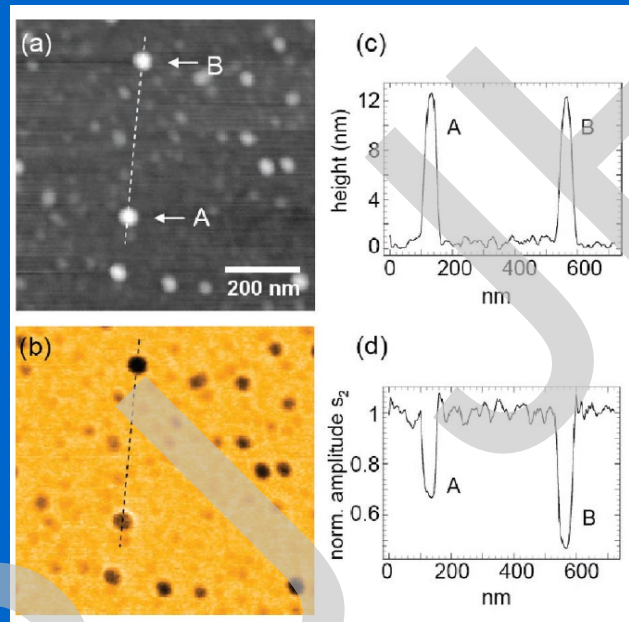
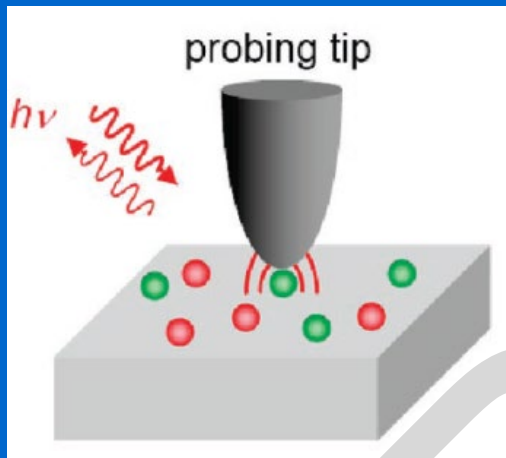


Pracuje se světlem odraženým
(dispergovaným) zrcadlovým povrchem
u vrchlíku hrotu SPM

A. Bek, R. Vogelgesang, K. Kernb: Apertureless scanning near field optical microscope with sub-10nm Resolution, REVIEW OF SCIENTIFIC INSTRUMENTS 77, 043703 (2006)

SNOM – materiálový kontrast

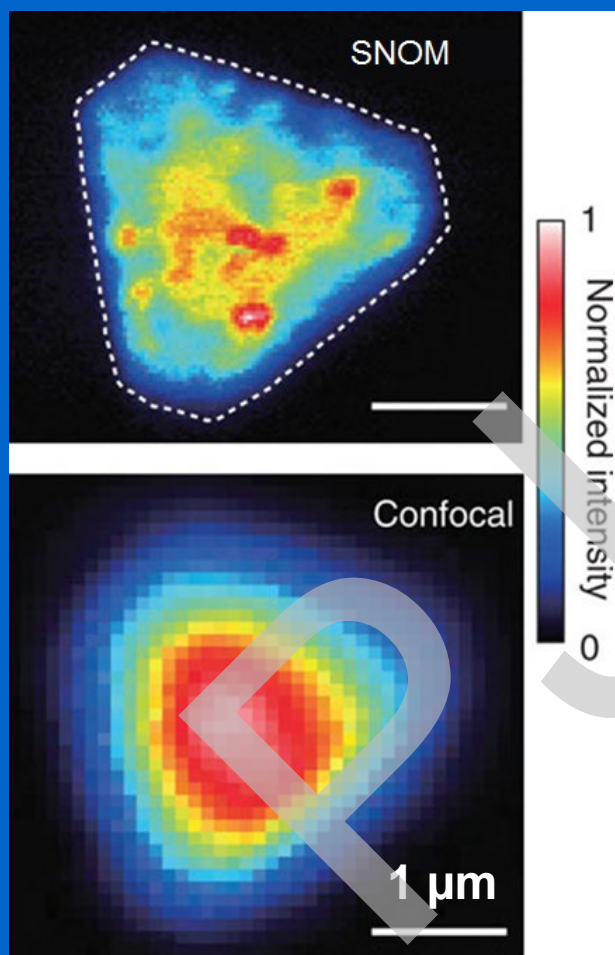
Reflexní (s-)SNOM bez apertury



s-SNOM
rozlišení ~10 nm Au, PS
nanočástic v binární směsi
immobilizované na Si substrátu.
($\lambda = 10.6 \mu\text{m}$)

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

Luminiscenční SNOM

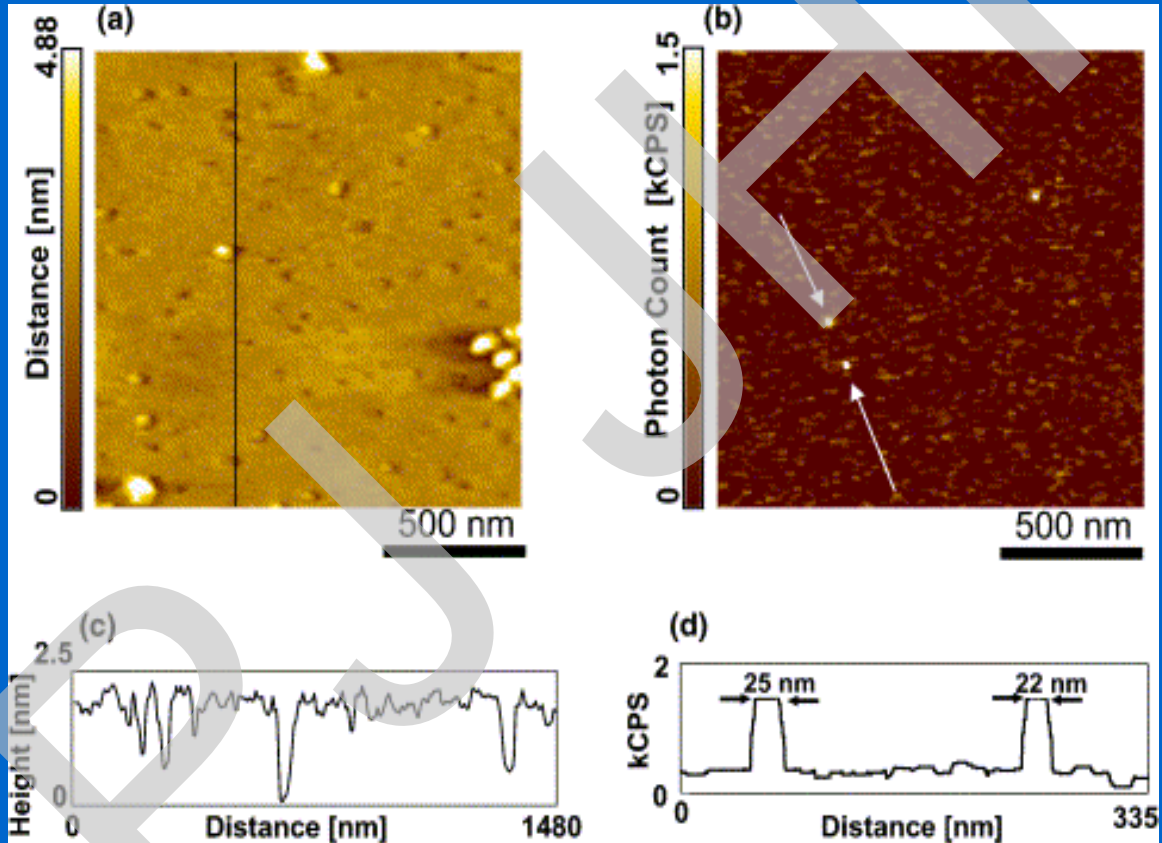


Fotoluminiscenční mapa MoS₂

Fluorescenční SNOM

Zobrazení jednotlivých molekul

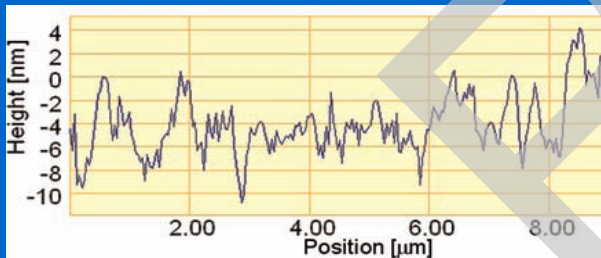
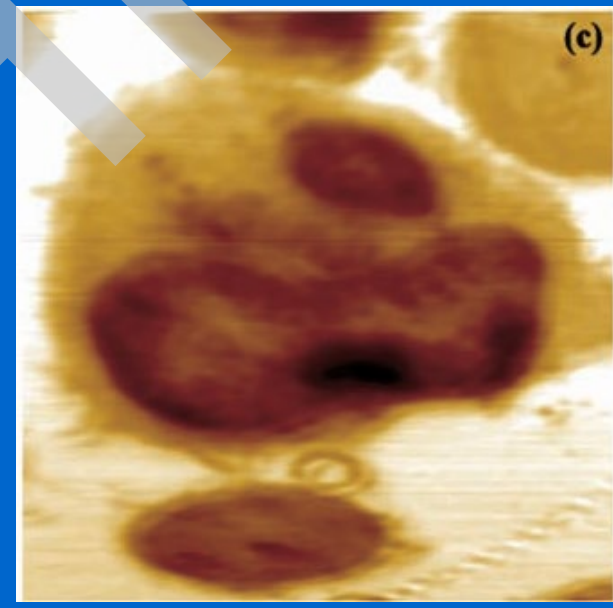
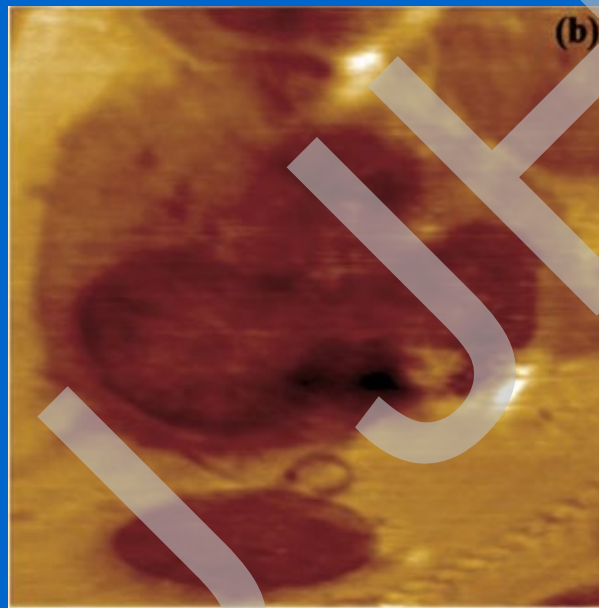
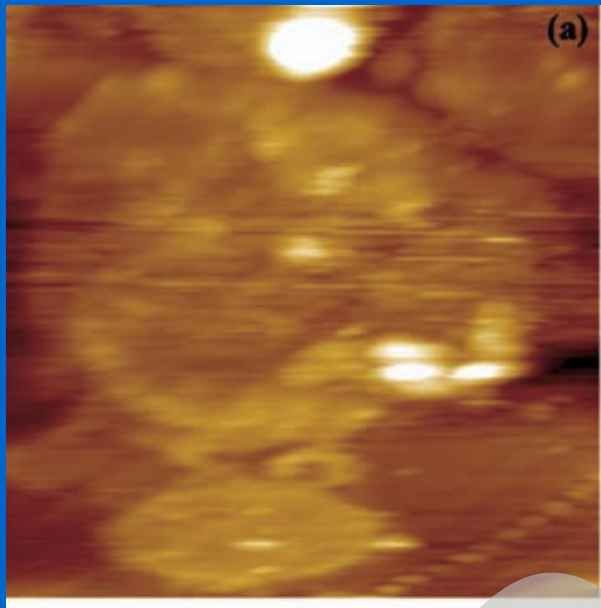
AFM
Topografie



SNOM

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

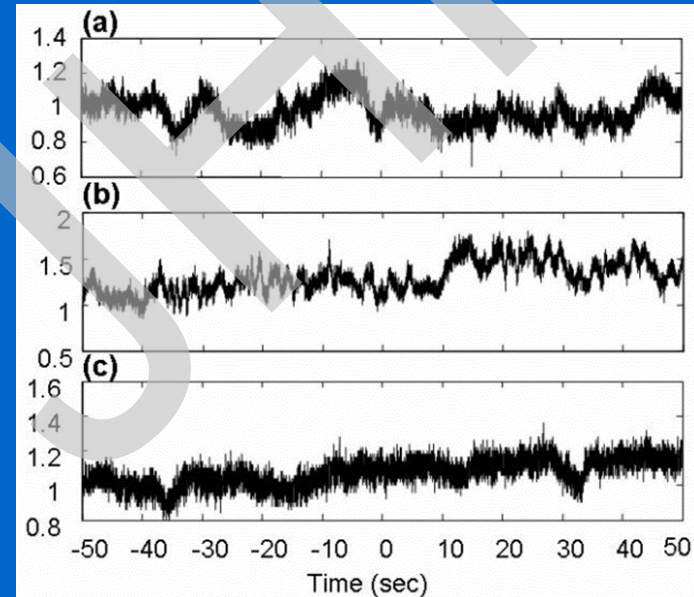
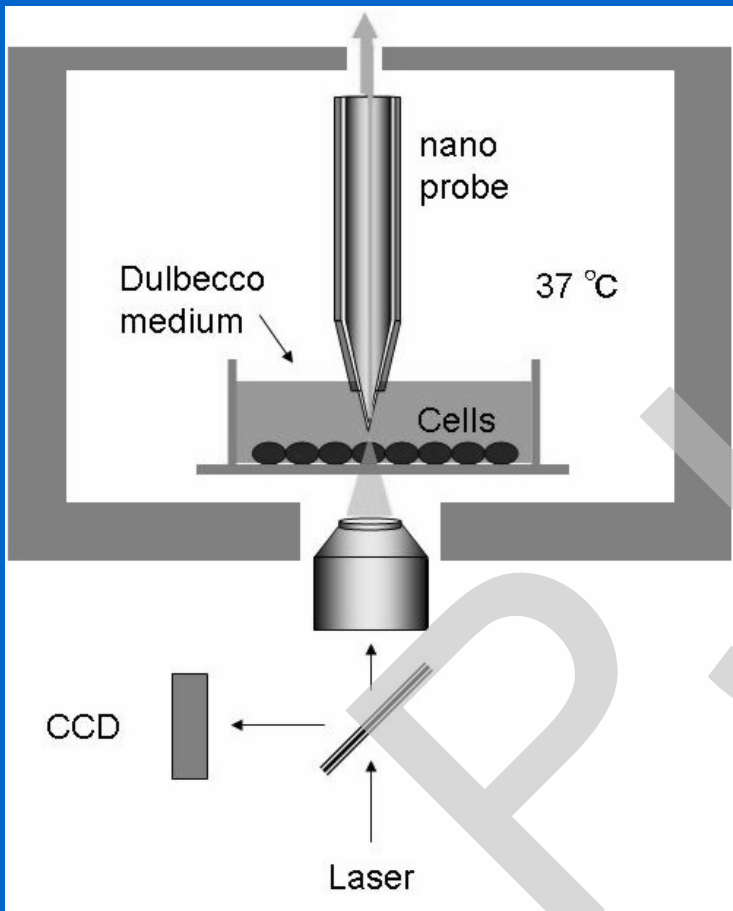
Zobrazení technikou SNOM



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

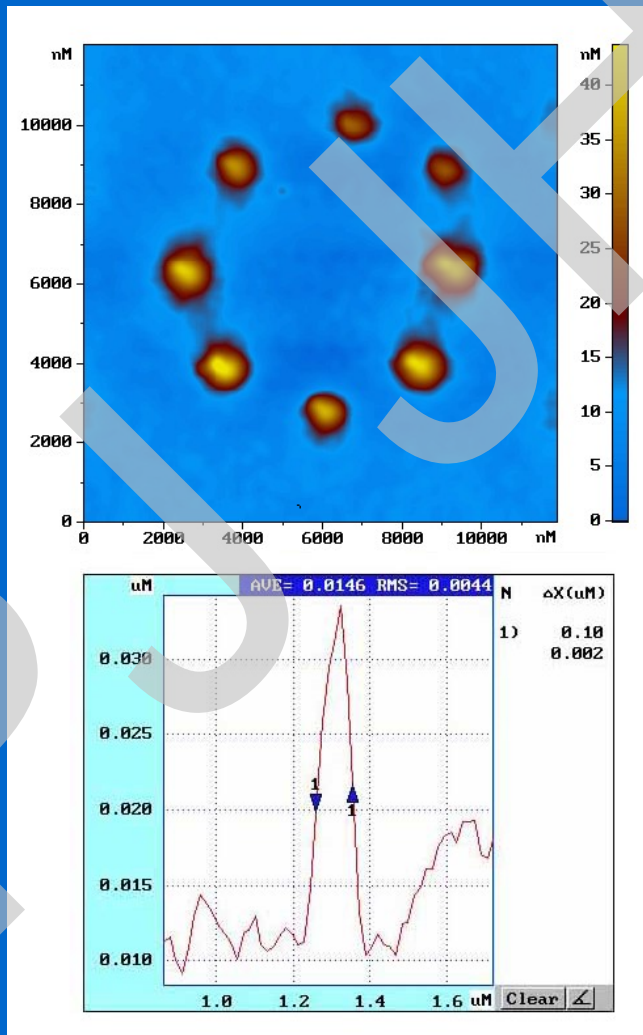
bezkontaktní snímání vibrací buněčných membrán



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

Pohyby buněčné membrány indikují fyziologický stav buňky

SNOM litografie



Nanočásticový zesilovač světla

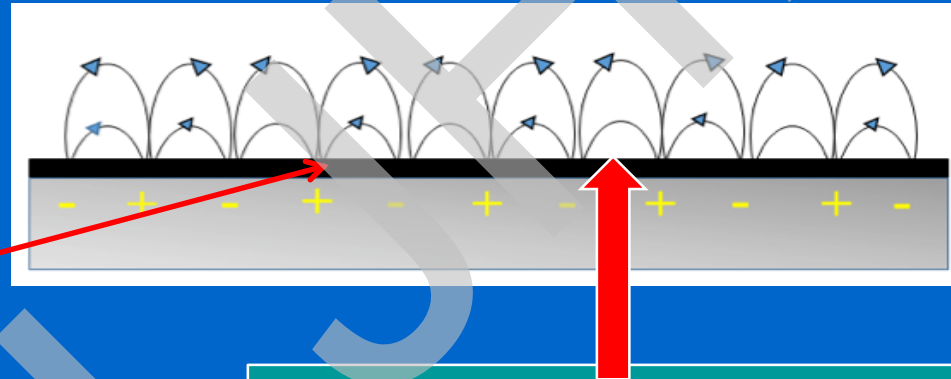
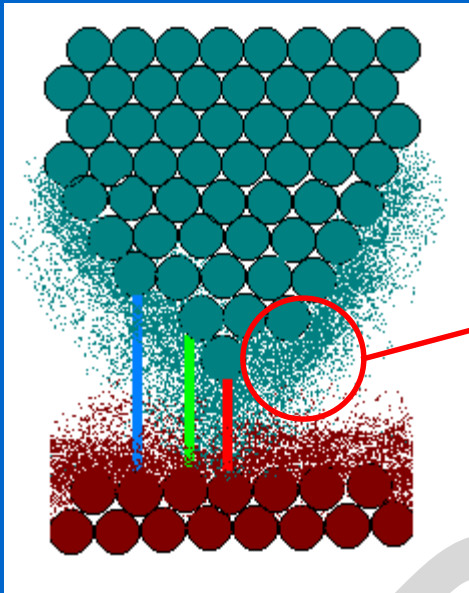
Plasmonové rezonanční zesílení světla

Povrchové zesílení (SE)
Surface Enhanced (Raman Spectroscopy)
SERS



Zesílení hrotem (TE)
Tip Enhanced (Raman Spectroscopy/Microscopy)
TERS

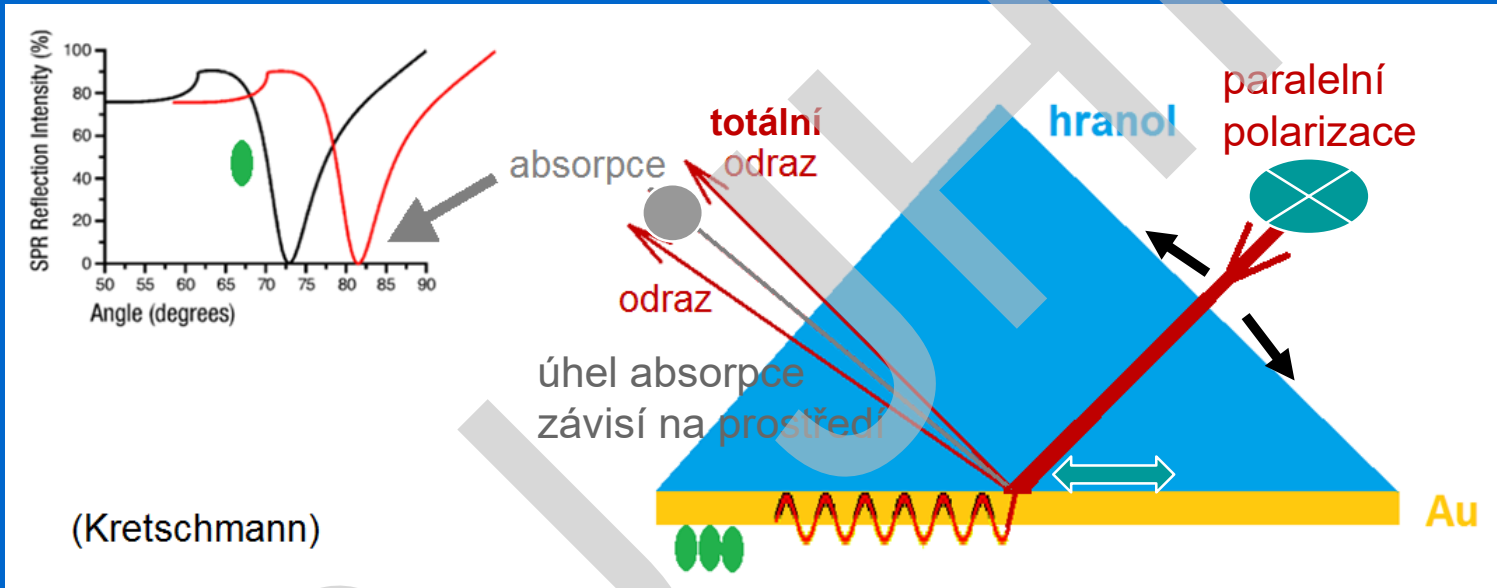
Elektronová hustota na mezifází vodič/dielektrikum



Vlna elektronové hustoty postupující podél mezifází kov–dielektrikum (elektronová „kapalina/plasma“ [Maxwell]).
Oscilace nábojové hustoty a elmag. pole = povrchová vlna
=> **Plasmon (polariton)**.

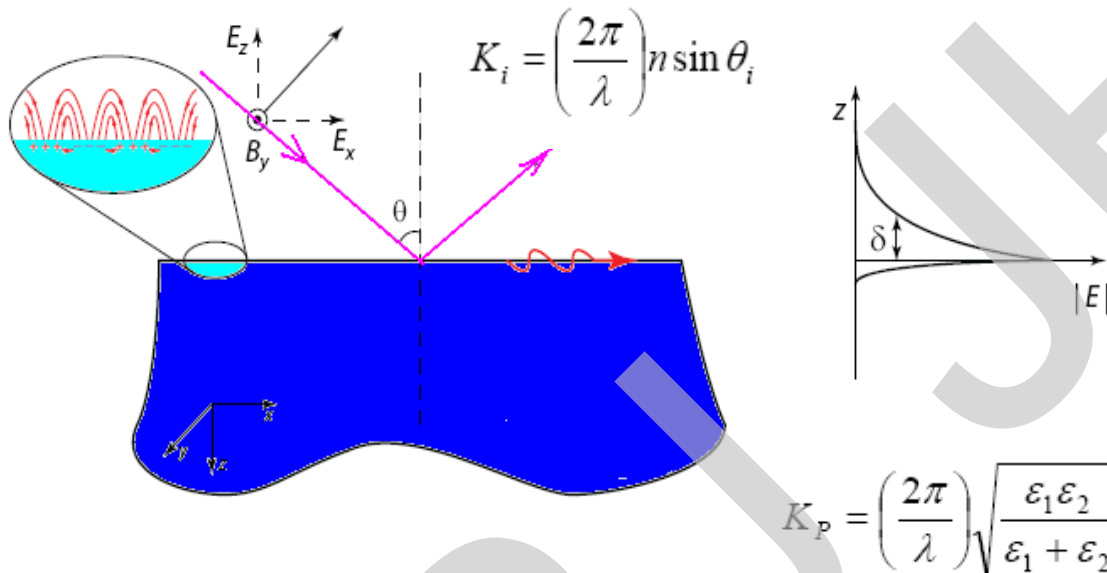
$I_T \sim V_B f_{mTS}(V_B) \exp[-2z\sqrt{(2m\Phi_{ST}/\hbar^2)}]$
 $\hbar = h/2\pi$, $f_{mTS}(V_B)$...redukovaná Planck.
konst.
 z ...vzdálenost hrot-vzorek ($\sim 10^{-1}$ nm)

Povrchový plasmon neradiační – povrchová vlna



Povrchový plasmon (*polariton*): Neradiační (nevyzařující) elektromagnetická povrchová vlna, šíří se podél mezifází materiálů s negativní permitivitou (vodič) a dielektrikem (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...

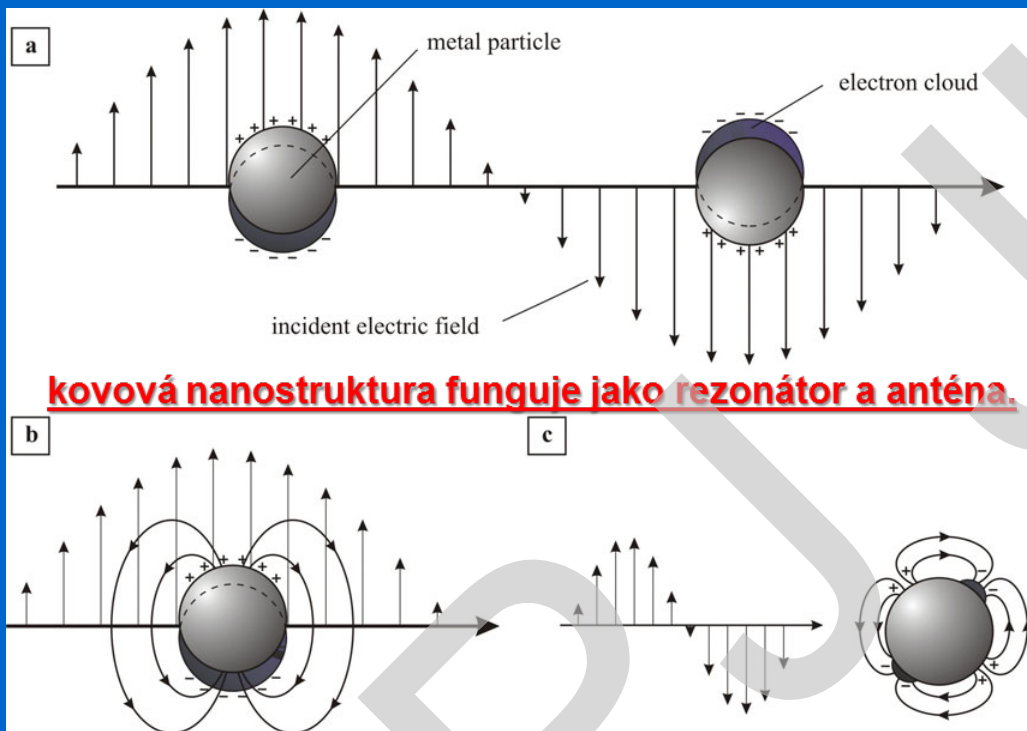
E_p elmg. pole: el. složka polarizovaná paralelně s mezifázím,

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 ,

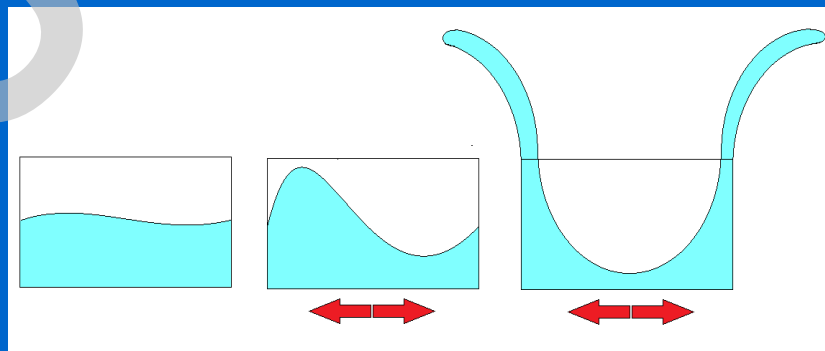
θ_i úhel dopadu elmg. záření (paralelní polarizace) a max. absorpce

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)

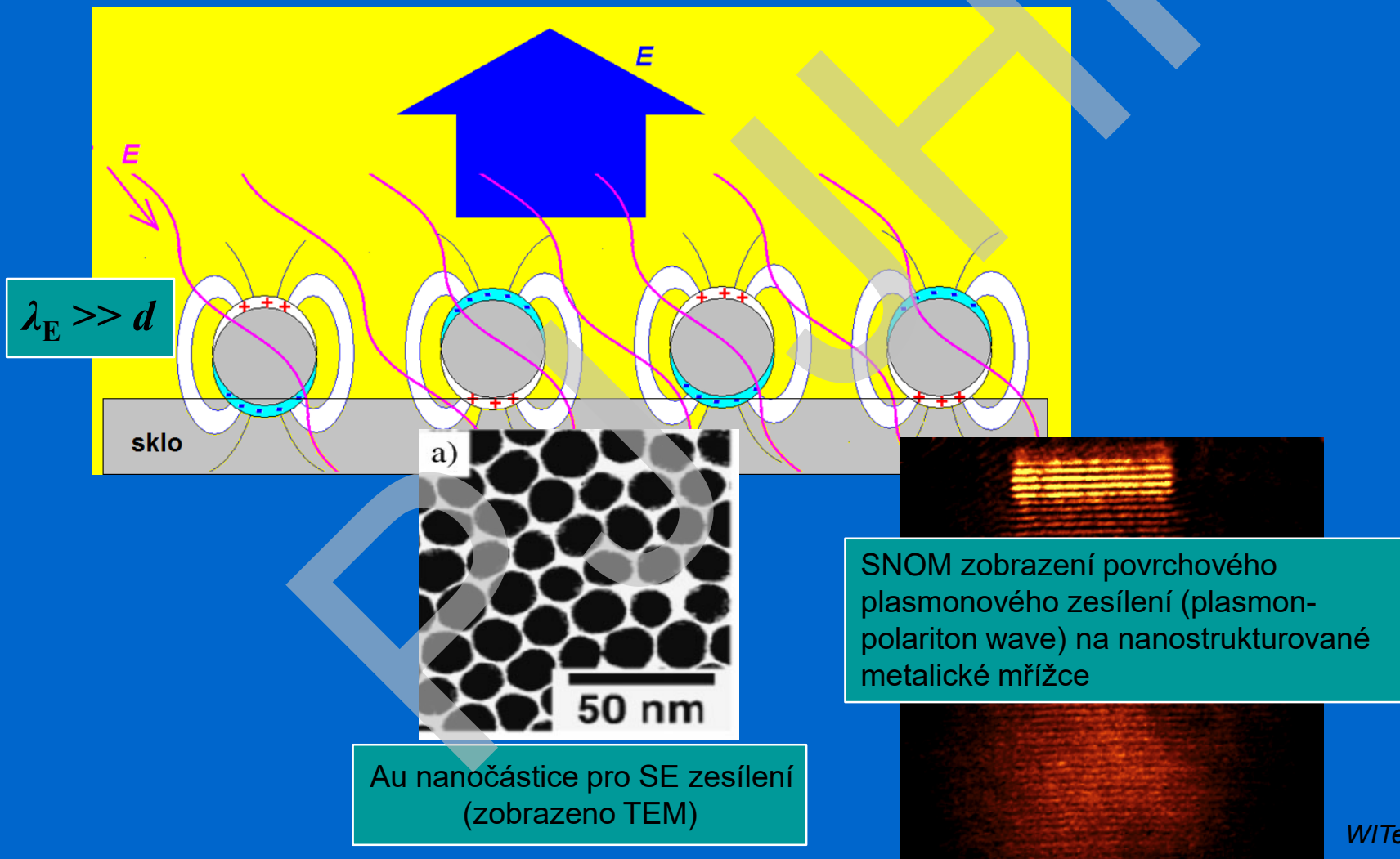


Interakce se světlem => excitace oscilací e⁻ oblaku
Malé částice: dipólová radiace (a, b) => emise dipólu
Velké částice: kvadru-/n-pólová radiace => povrchová vlna => potlačená emise (c)

$$\omega_p \sim \sqrt{(ne^2/\epsilon_0 m^*)}$$

ω_p plasmon. frekvence
 m^* eff.hmot. vodiv. e⁻
 ϵ_0 permitivita prostředí

Realizace povrchové plasmonové rezonance pro povrchové zesílení elmg. energie (SE)



Využití povrchové plasmonové resonance pro SERS

Zvětšení citlivosti spektroskopických technik

fluorescence, Ramanovy spektroskopie (SERS)

- povrchové zesílení Ramanovy spektroskopie $\sim 10^{14} - 10^{15} \times$

=> 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 povrchového zesílení: Ramanova spektroskopie

Surface Enhanced Raman Spectroscopy

Výhody

- Vysoký světelný zisk
Max. zesílení – pro dopadající a/nebo rozptýlené světlo
(ale jen pro frekvence s minimálním posunem – Raman,
velmi posunutá nemohou být obě v rezonanci => menší zesílení)
- **Strukturní informace**

Nevýhody

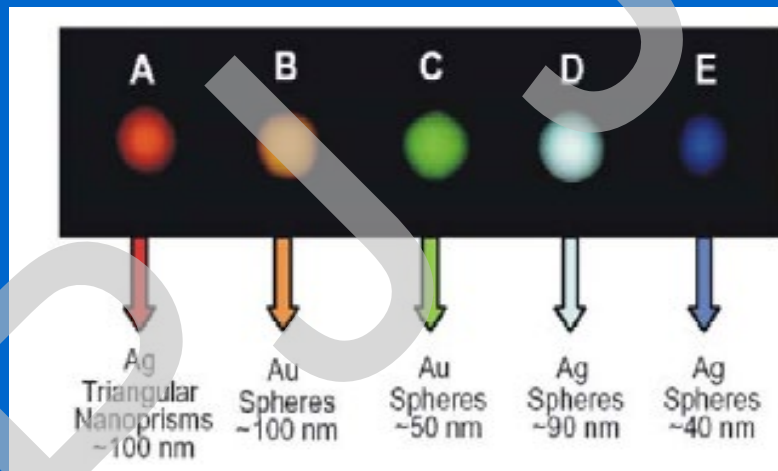
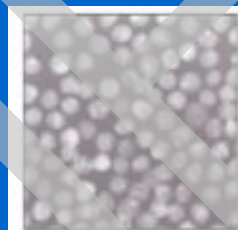
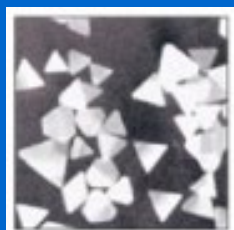
- **Nutnost vytvoření nanostrukturovaného metalického povrchu**
Zesílení jen na kovových nanostrukturách - nanočástice, nanodráty..
Vis: Au, Ag (elektrochemicky zdrsňelá Ag: (*Fleischman M.*, 1974)
NIR: Cu =>
- **Nehomogenní pokrytí nanostrukturami** - agregace nanočástic,
vznik „**Hot-Spots**“ (signál není reprezentativní na celém povrchu)



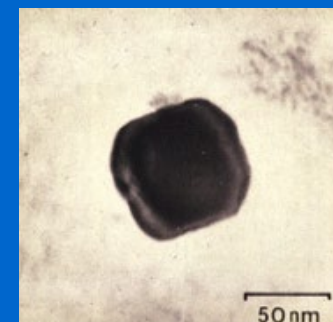
Optický mikroskopický snímek (temné pole) světla rozptýleného nanočásticemi

Ag (nanosféry) Au (nanosféry) nanotyčky

Historie využití plasmonové rezonance



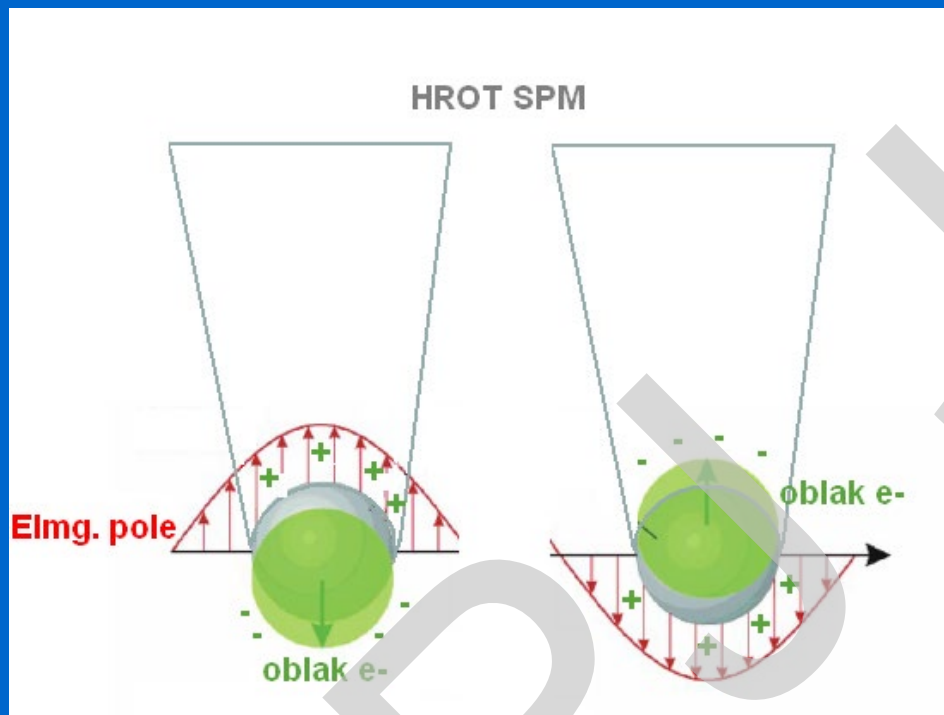
Ag, Au nanočástice



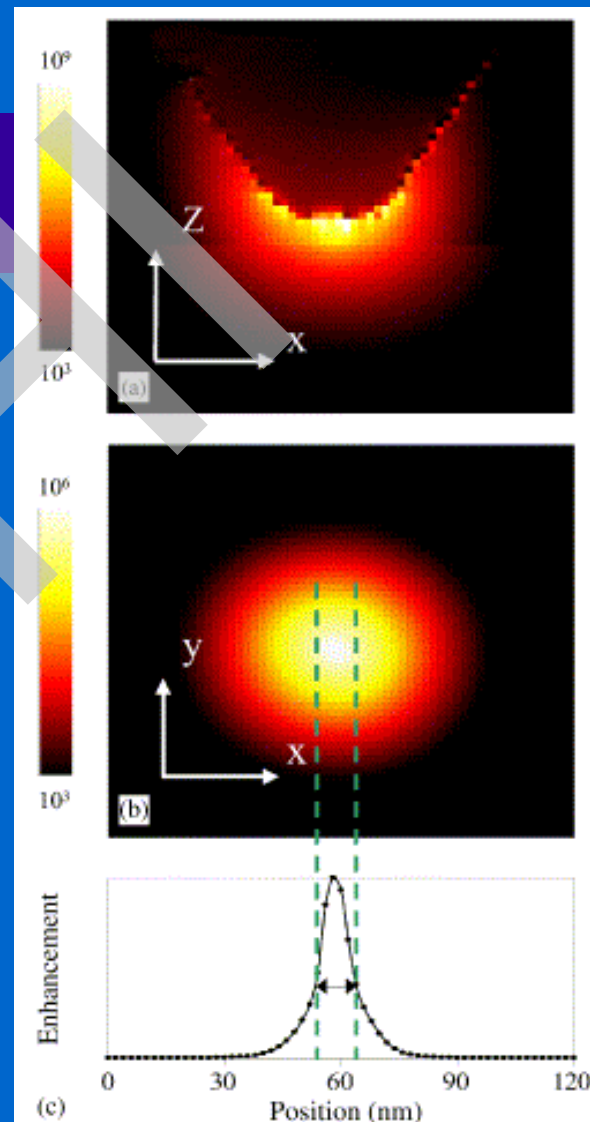
70% Ag + 30% Au

*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)*

Plasmonová rezonance hrotem zesílená (TE)

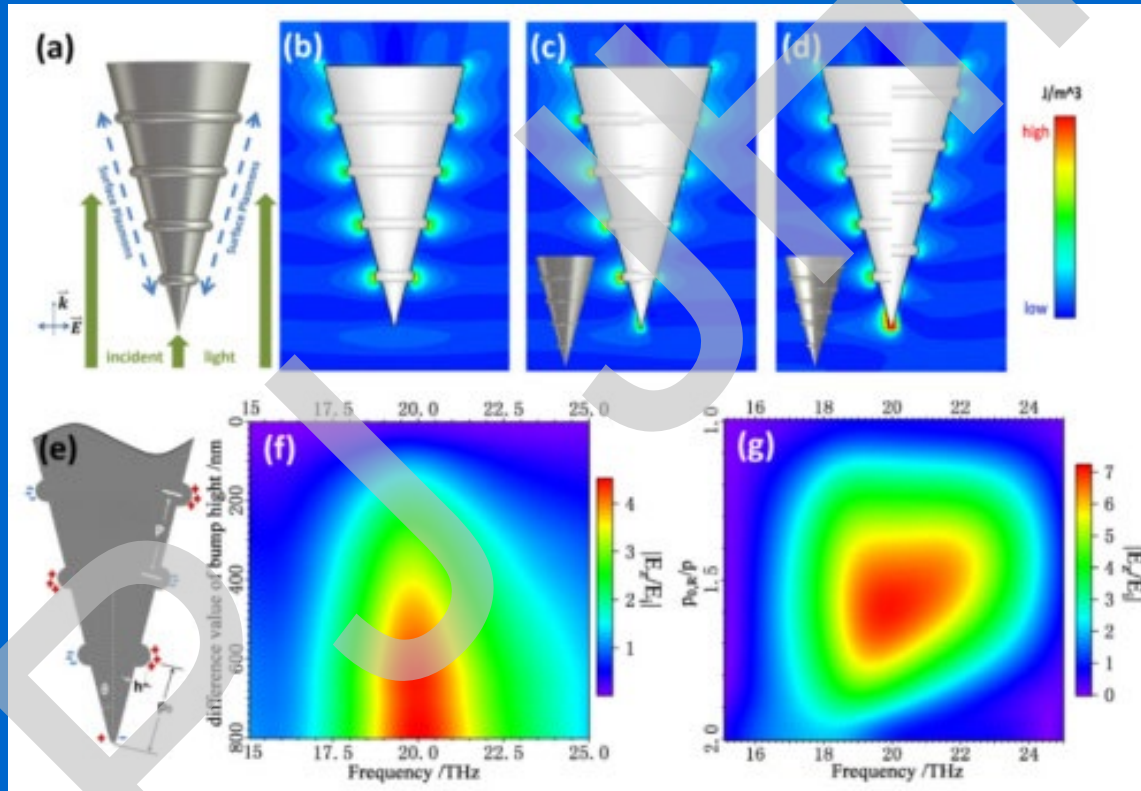


Od plasmonové rezonance na povrchově
imobilizovaných nanočástic (zesílení SE)
k hrotovému zesílení (TE)



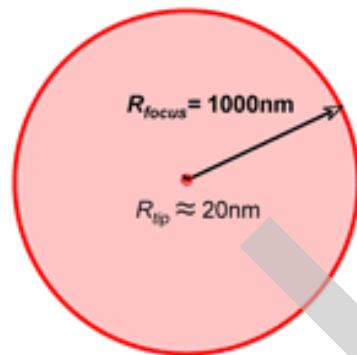
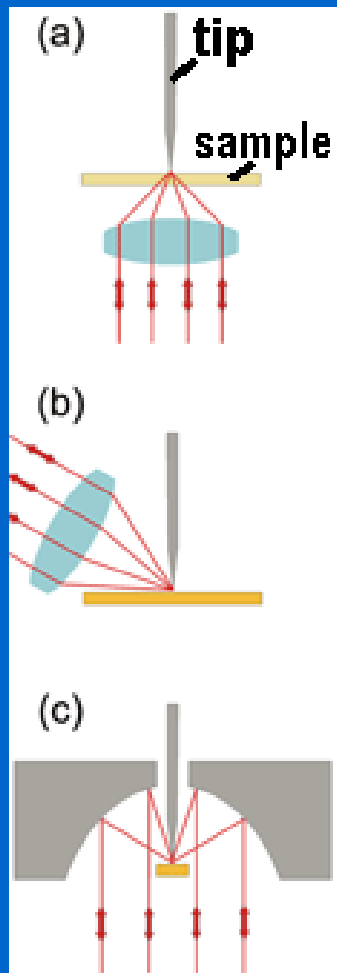
Intenzitní profily lokality hrotu
($A = I_{RT}/I_{R0}$) $\lambda = 541$ nm, $d_{T-S} = 4$ nm

Plasmonová rezonance hrotem zesílená (TE)

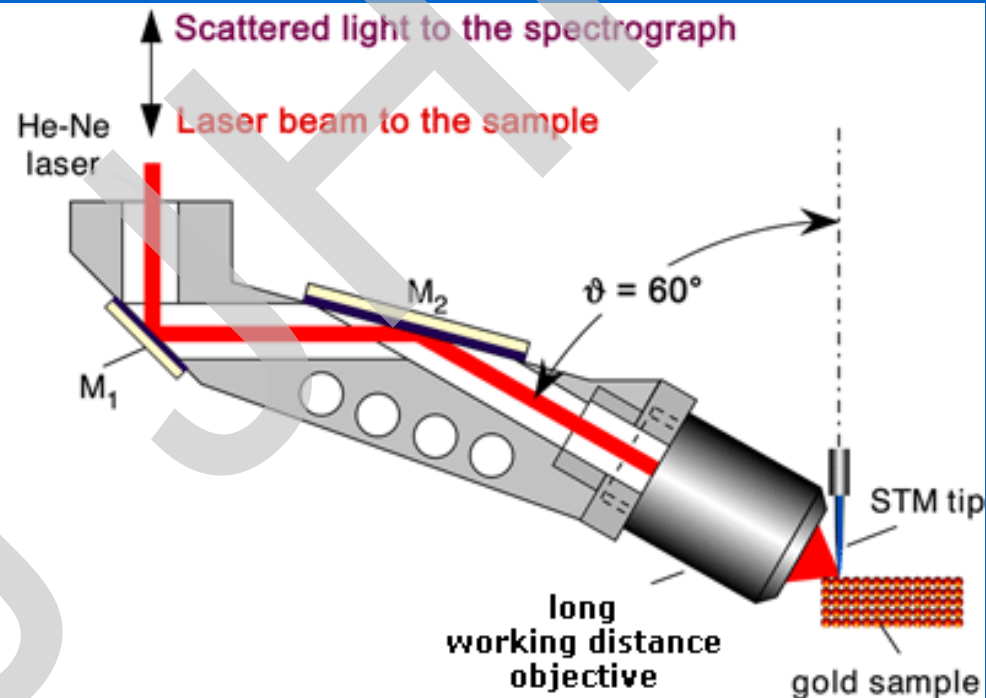


Plasmonic of SNOM tip patterned with asymmetric nanostructures

Tip Enhanced Raman Spectroscopy (TERS) Instrumentace



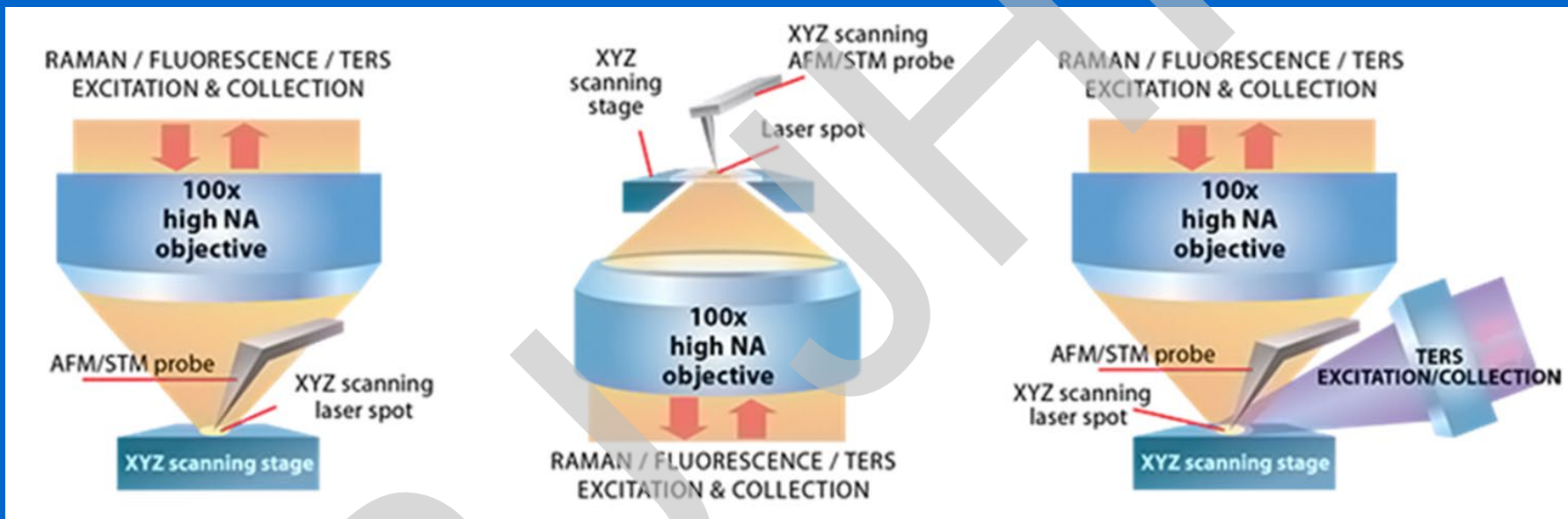
comparison of focus
with tip apex area



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

Naresh Kumar, Sandro Mignuzzi, Weitao Su, Debdulal Roy: Tip-enhanced Raman spectroscopy: principles and applications, EPJ Techniques and Instrumentation (2015) 2:9

TE(RS) Instrumentace: Variabilita uspořádání

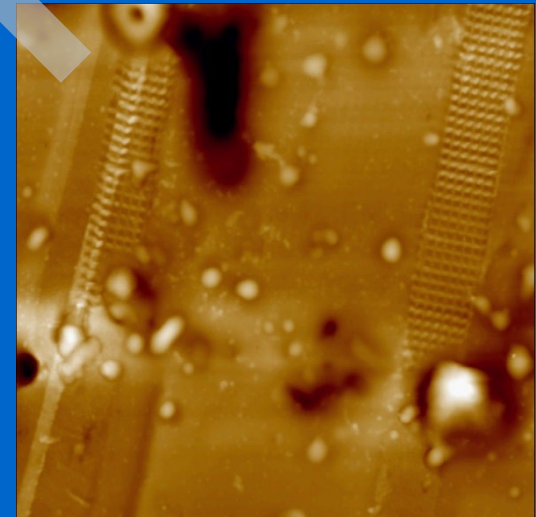
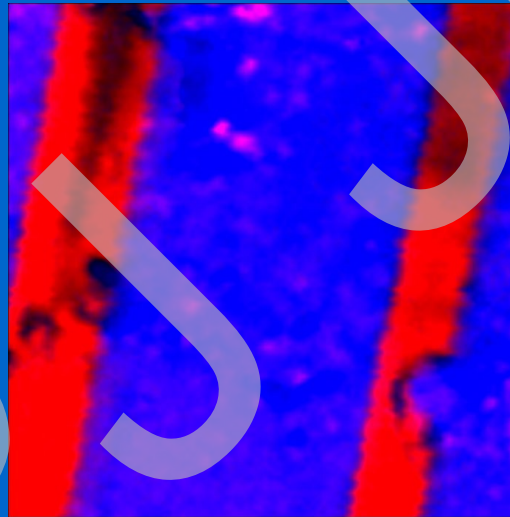
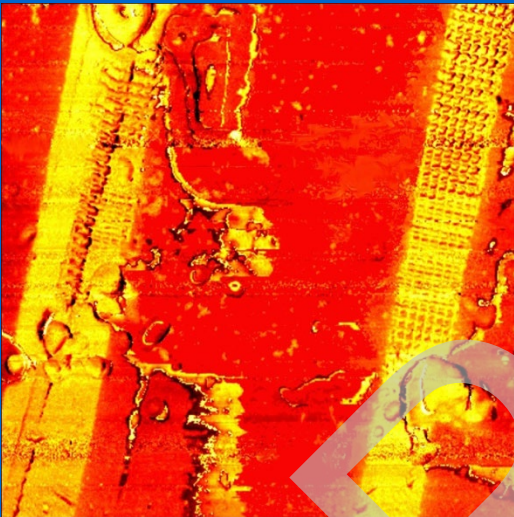


AFM-TERS/SNOM = zobrazení + analýza

AFM - tuhost

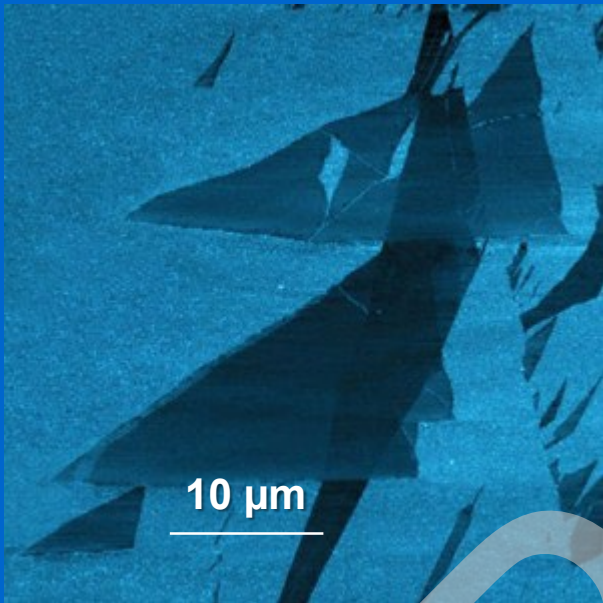
Raman-TERS

AFM Topografie

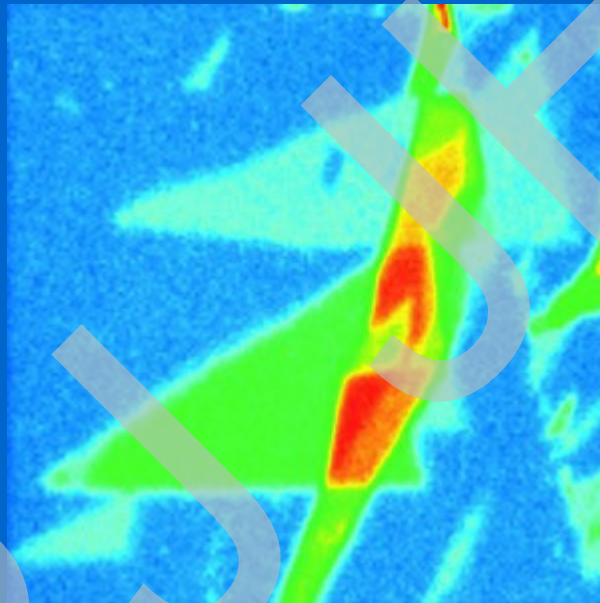


HDPE/LDPE polymer

AFM-TERS/SNOM: zobrazení + analýza



LFM

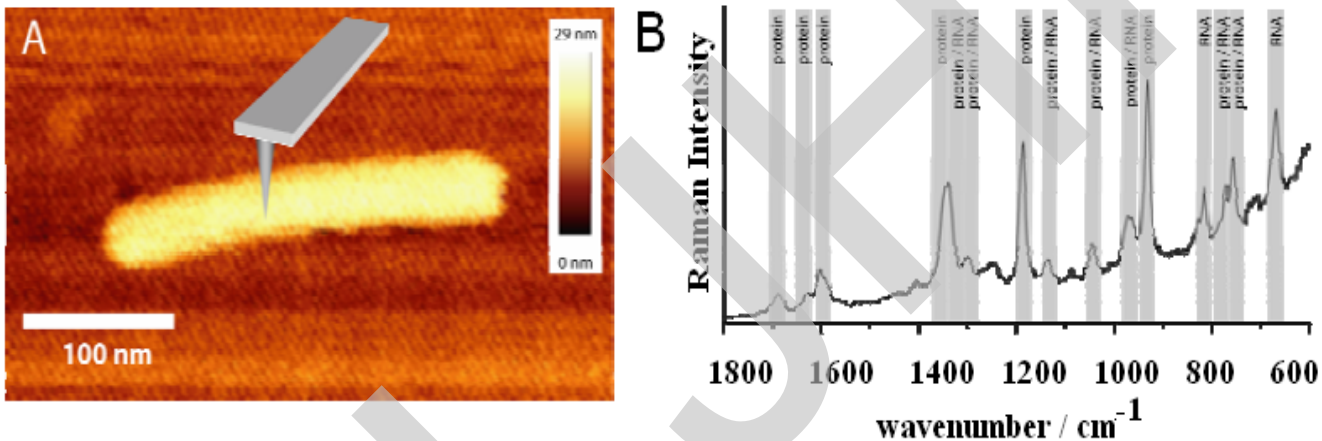


Raman G-mode



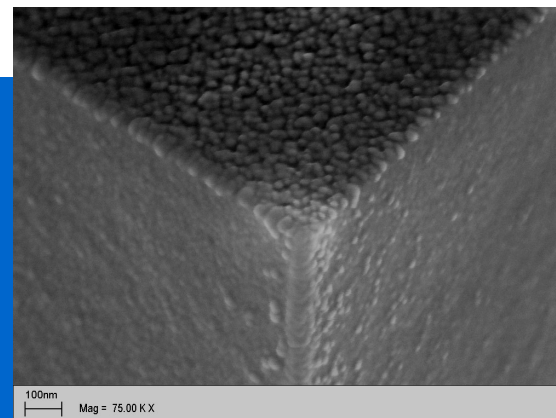
EFM

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.

Metalizovaný (Au) AFM tip pro TERS/AFM

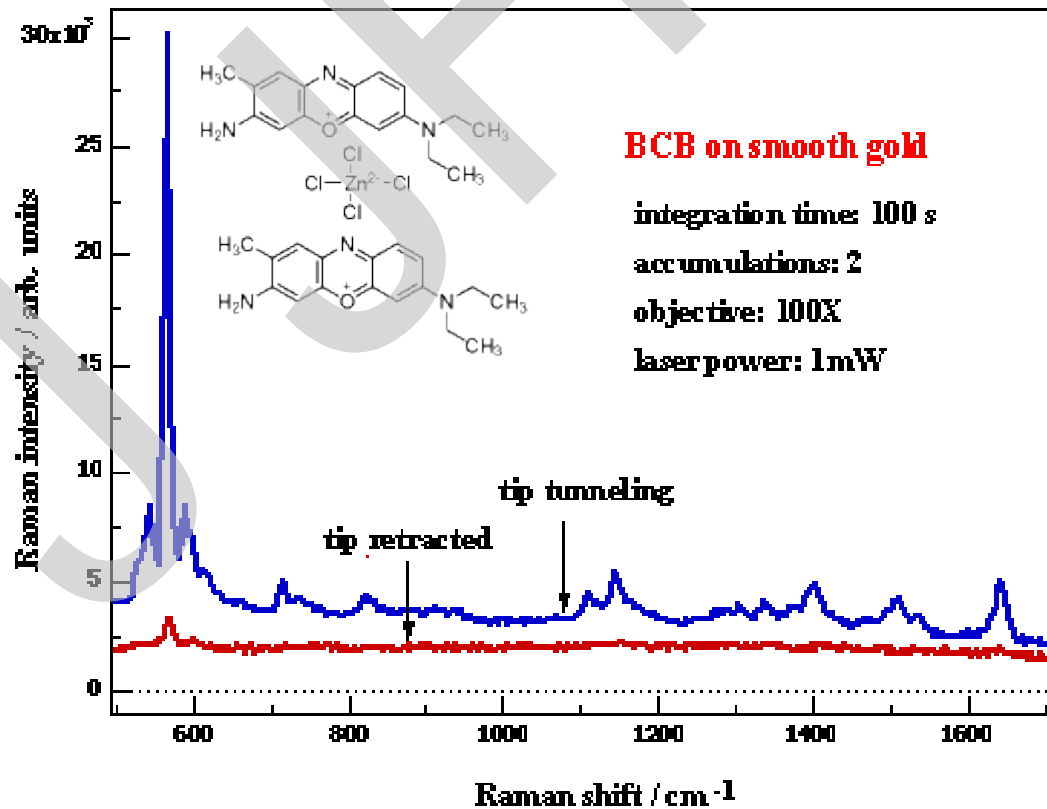


TERS v analýze povrchu

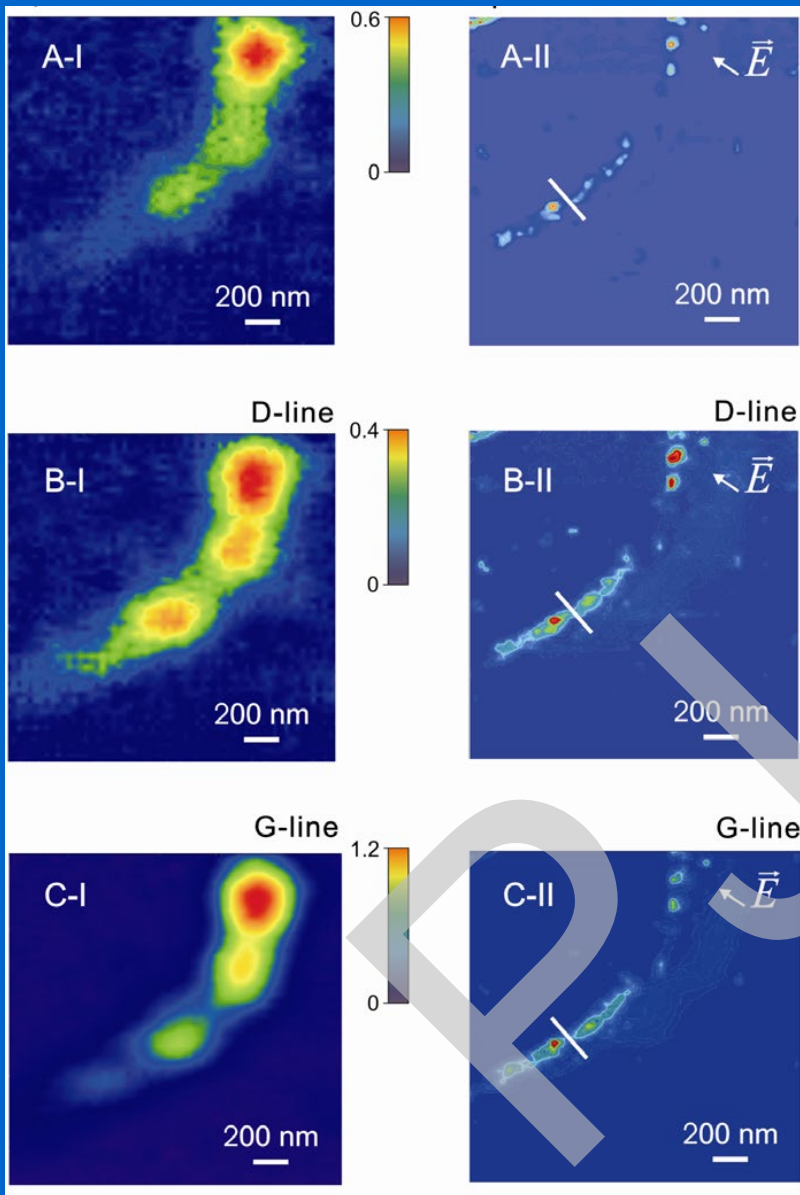
Monovrstva BCB barviva
adsorbovaného na Au filmu
STM Ag-hrot

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

Brilliant Cresyl Blue (BCB) Dye on Gold

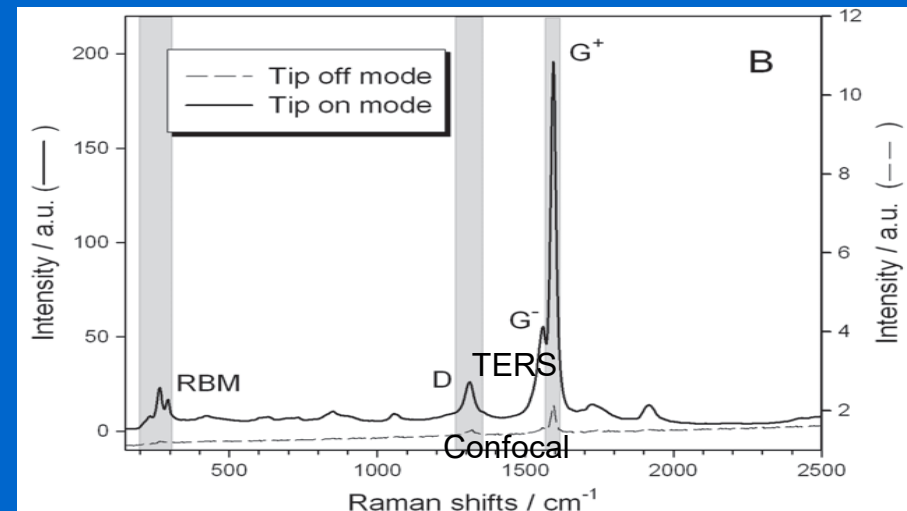


G. Picardi, K. Domke, D. Zhang, B. Ren, J. Steidtner
B. Pettinger *Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft*

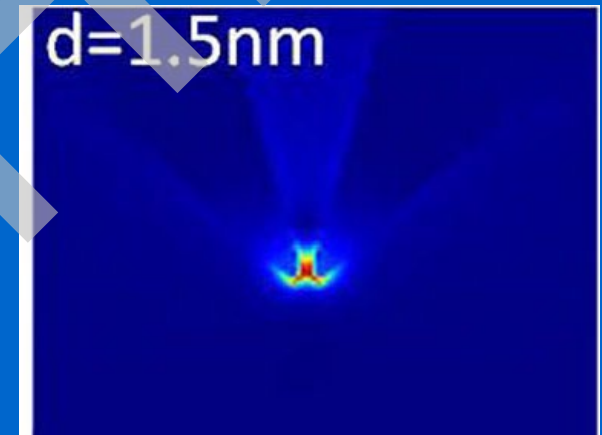
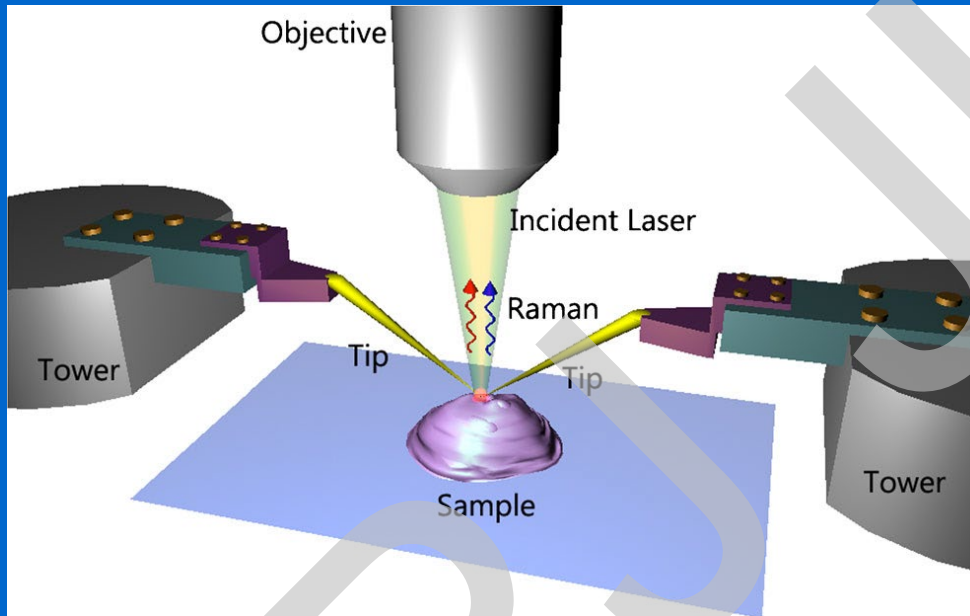


Rozlišení zobrazení a analýzy v režimu vzdáleného (I) a blízkého pole/TERS (II)

SWCNTs ve vibračních módech
 Radial „Breathing“ Mode 290 cm^{-1}
 D („disorder“) 1300 cm^{-1}
 G+ tangenciální C-C stretching 1594 cm^{-1}
 I... „tip off“ („far-field“ confocal)
 II... „tip on“ („near-field“ TERS)

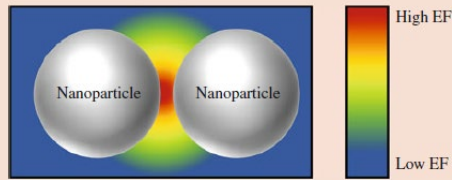
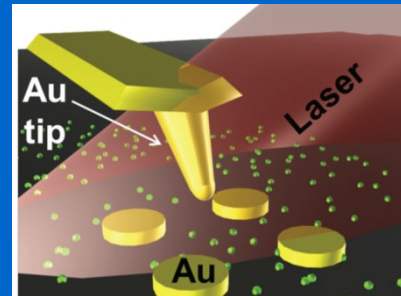


Concurrent Scanning TERS – SNOM/Tip-Enhanced-SNOM (MultiView)

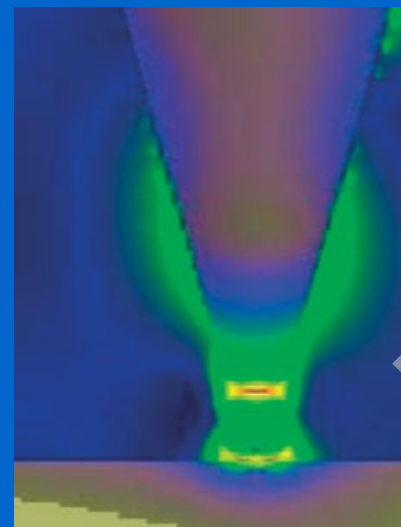


System pro „Concurrent Scanning“ + „SNOM coupling“ - illumination/light collection. **Hrotem zesílený SNOM (TE-SNOM)**

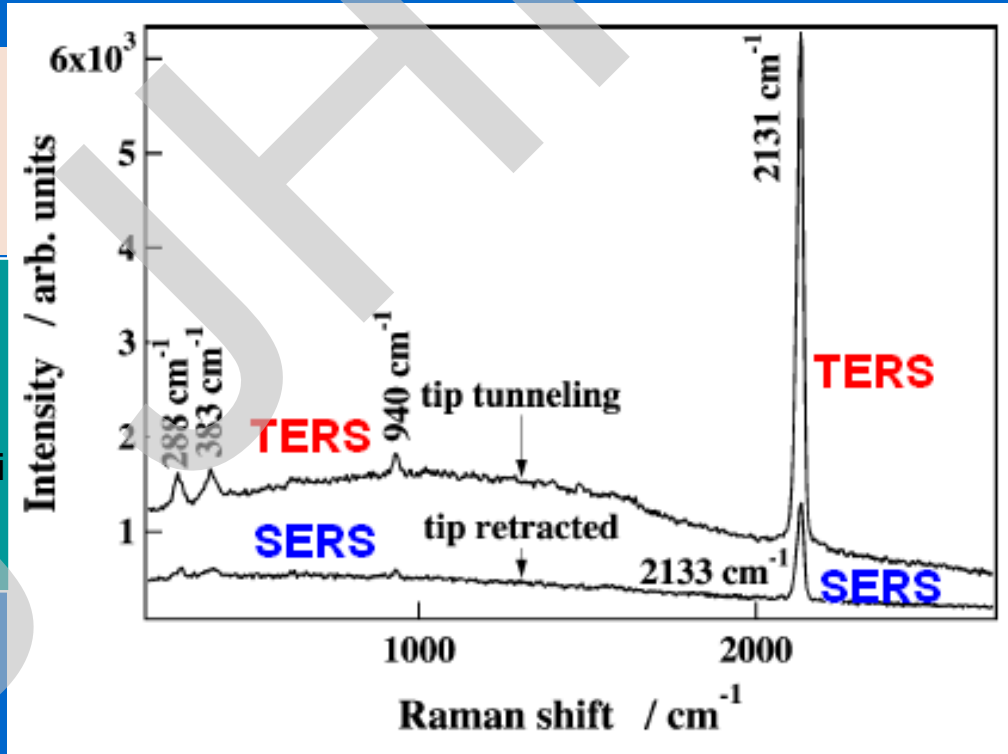
Kombinace SERS a TERS



Povrchové elmag. pole dosahuje maxima mezi 2 blízkými nanočásticemi s překrývajícími plasmonovými resonancemi (= podobné rezonanční podmínky)



E-field: Au nanosféra 50 nm
Hrot r = 20 nm, dist. 2 nm



SERS (zdrsnělý povrch Au)
TERS (dtto + Au-tip)/adsorbce CN-
Integrační čas 1 sec, laser 5 mW

význam TERS

Výhody (+)

- + 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 $\sim 10^7$

Nevýhody (-)

- nastavení definovaných podmínek
- vliv tvaru hrotu (deformace), - složení povrchu hrotu/tvorba oxidu,
- složení elektrolytu, adsorpce z roztoku,
- přehřívání povrchu vzorku ve spotu (!)



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

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



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

-
-
-



PUJH



-
-
-
-
-
-
-
-