



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

Mikroskopie rastrovací sondou II optické metody

Pavel Janda

Laboratoř mikroskopie rastrovací sondou

Odd. elektrochemických materiálů

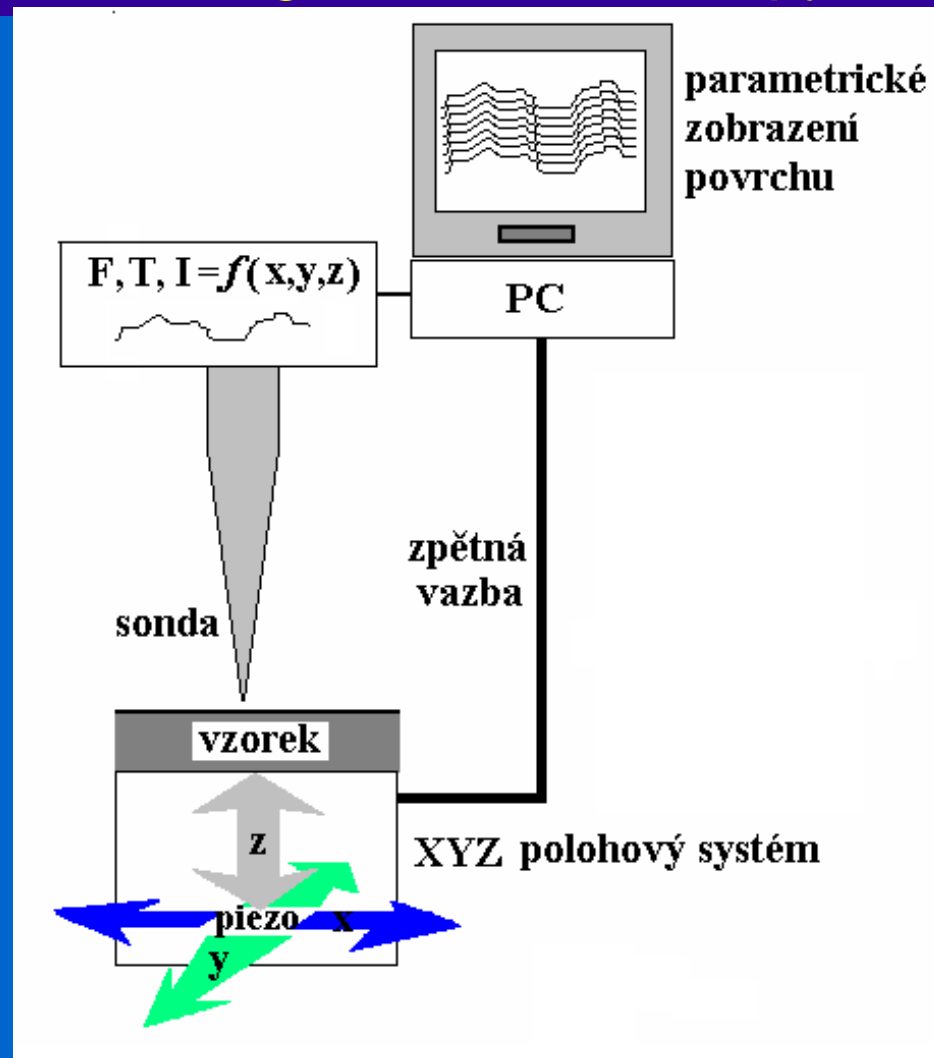
<http://www.jh-inst.cas.cz/>

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

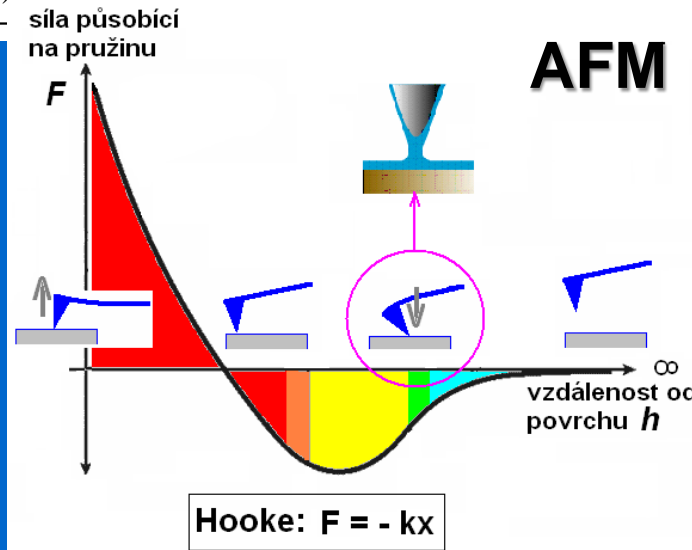
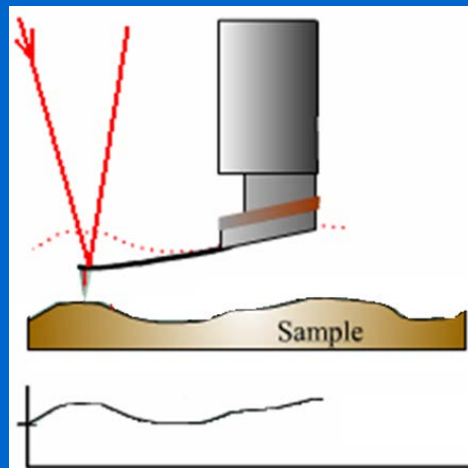
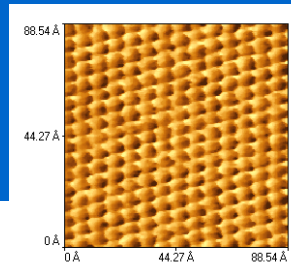
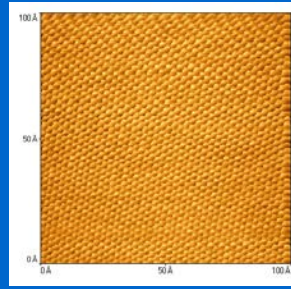
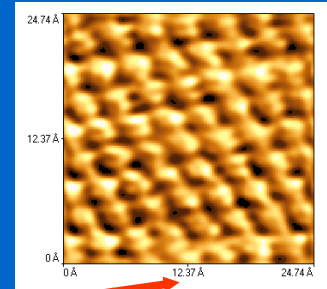
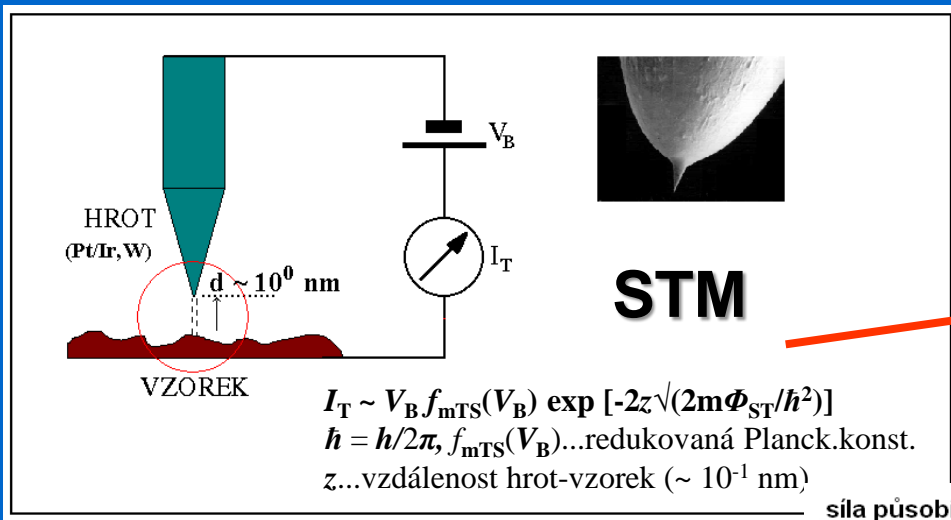
pavel.janda@jh-inst.cas.cz

Mikroskopie rastrovací sondou

Scanning Probe Microscopy



Mikroskopie rastrovací sondou STM-AFM



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

-IČ - Termální mikroskopie **ThM**

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

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

Rozdělení mikroskopických metod podle rozlišení

OPT: optická mikroskopie
vzdáleného pole

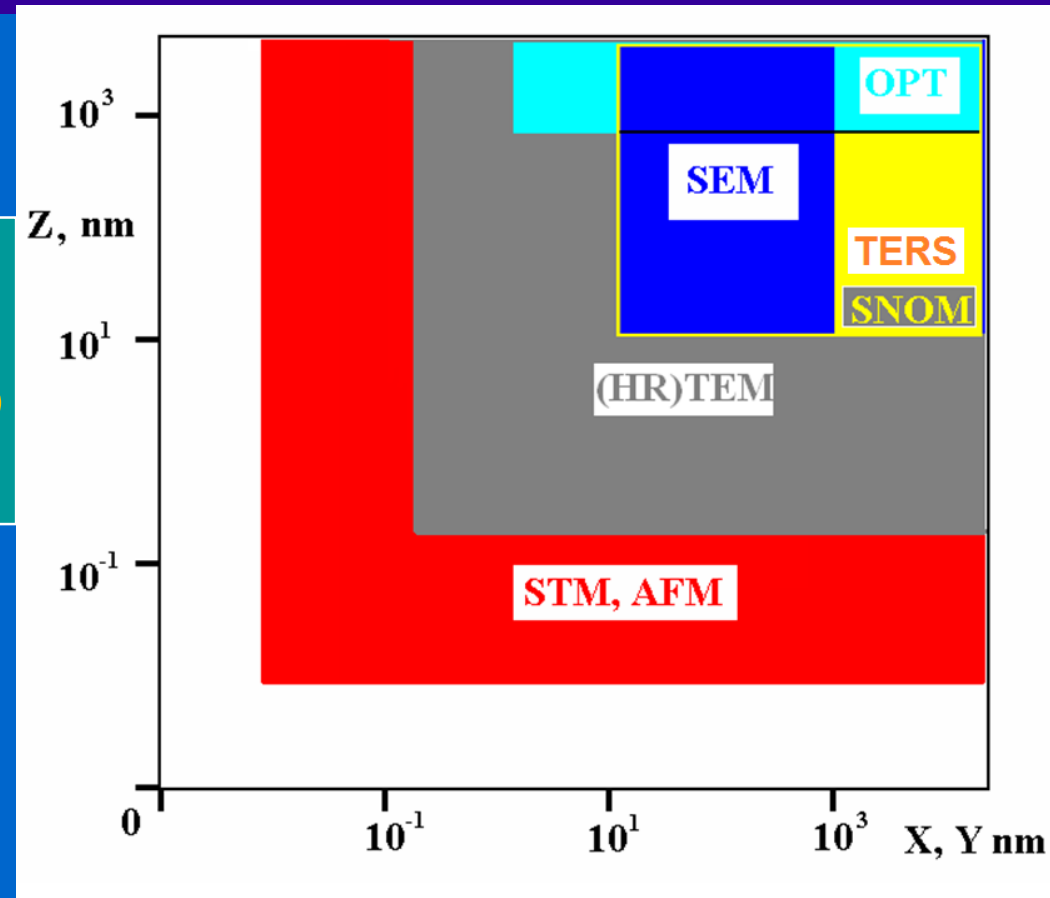
SNOM: mikroskopie blízkeho pole

TERS: Hrotem zesílená (Ramanova)
spektroskopie/mikroskopie

SEM: elektron. rastrovací
mikroskopie

HRTEM: elektron. transmisní
mikroskopie

STM, AFM: Tunelová mikroskopie,
mikroskopie atomárních sil

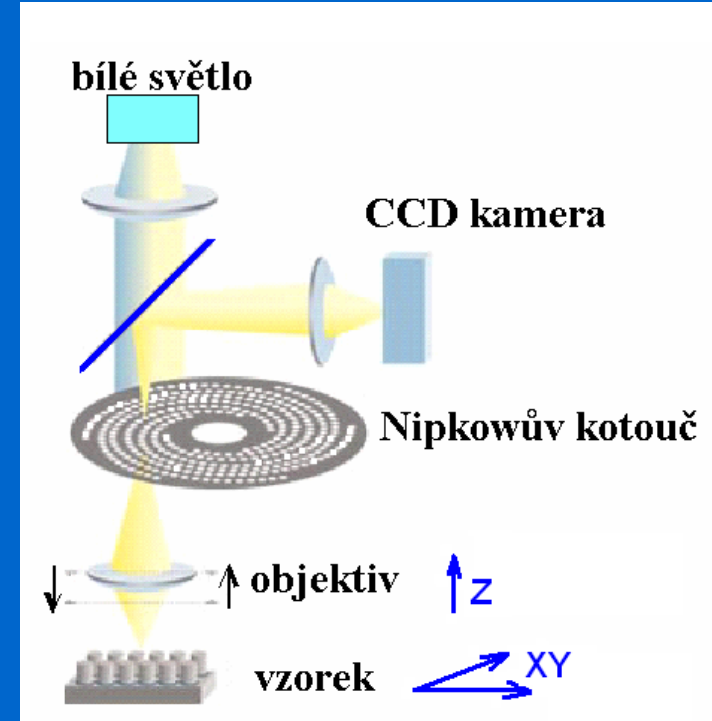
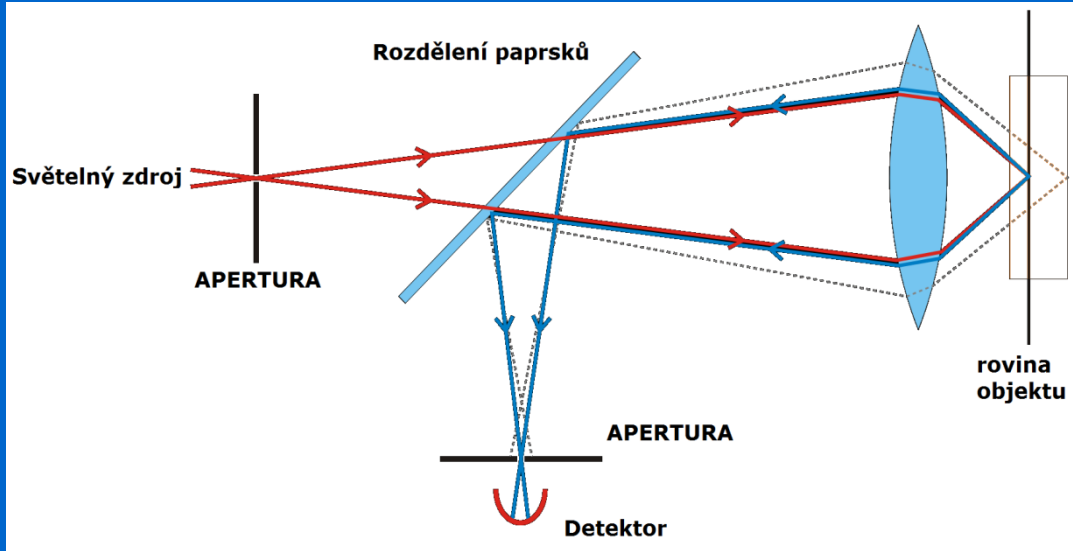


-
-
-

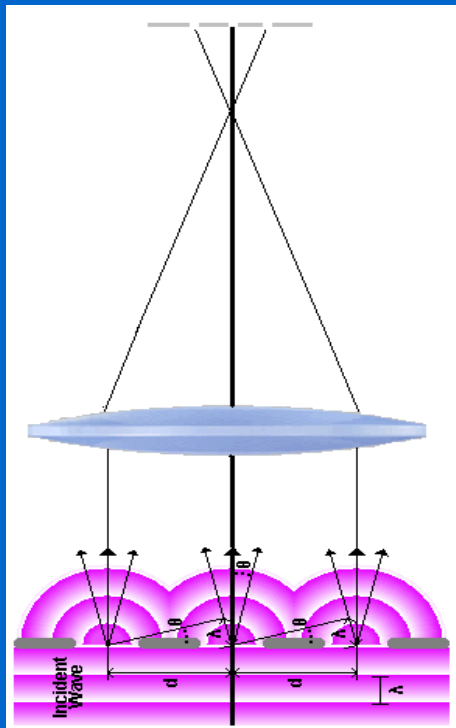
Optická mikroskopie a spektroskopie v mikroskopii rastrovací sondou

3D konfokální rastrovací mikroskop

Mikroskopie vzdáleného pole



Mikroskopie vzdáleného pole



$d = 0.61\lambda/N_a$
 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 rozliš. vzdál.

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

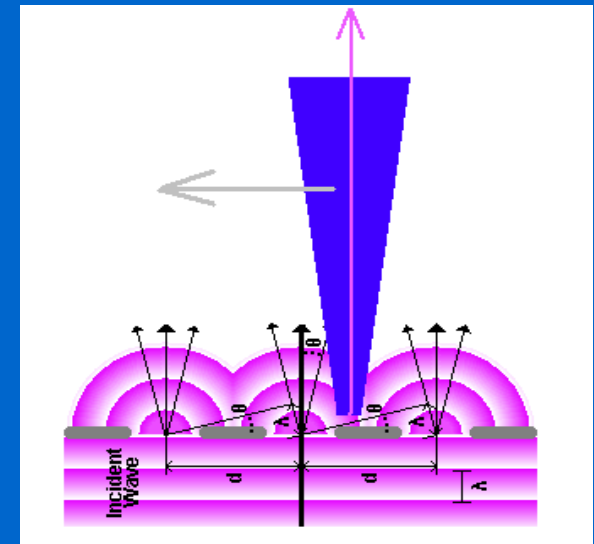
Rozlišení \Rightarrow
 Abbeho, Rayleighovo kritérium
 index lomu, vstupní úhel,
 difrakční limit

$$r = \{\lambda, 2\lambda\}$$

$$r \gg 2\lambda$$

$$r \ll \lambda$$

Mikroskopie blízkého pole

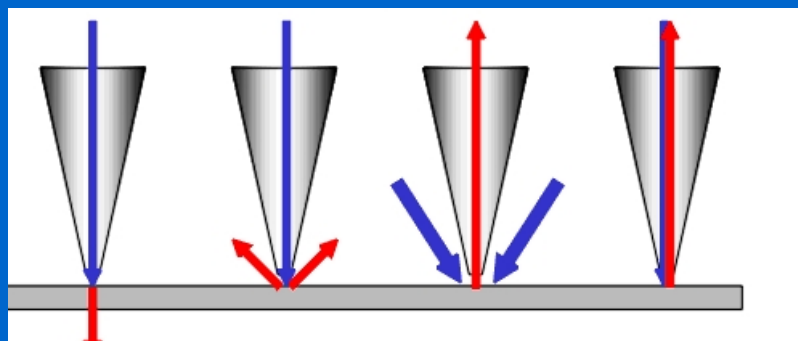
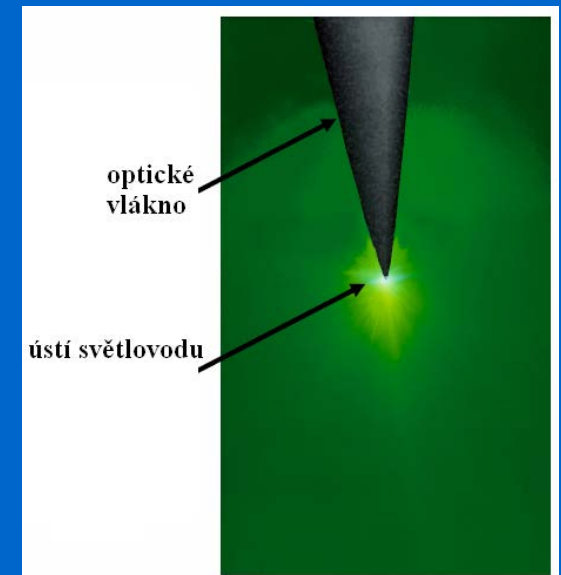
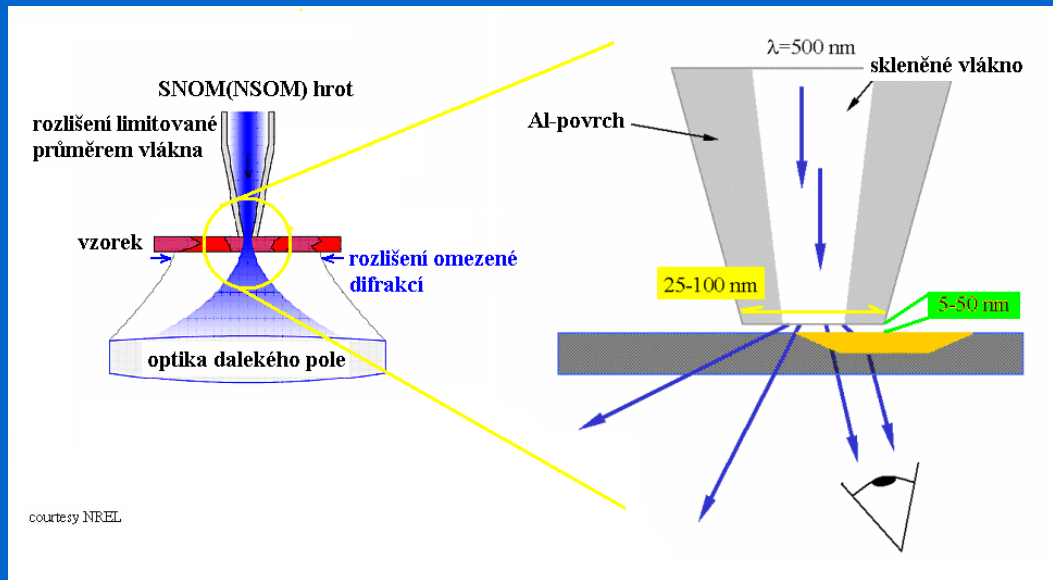


konstrukce obrazu bod po bodu
 z fragmentu vlnoplochy
Rozlišení \Rightarrow apertura sondy N_a ,
 vzdálenost od povrchu vzorku z

$d \sim N_a, z$
 z ... dolnoproprustný filtr

Scanning Near-field Optical Microscopy/Spectroscopy SNOM

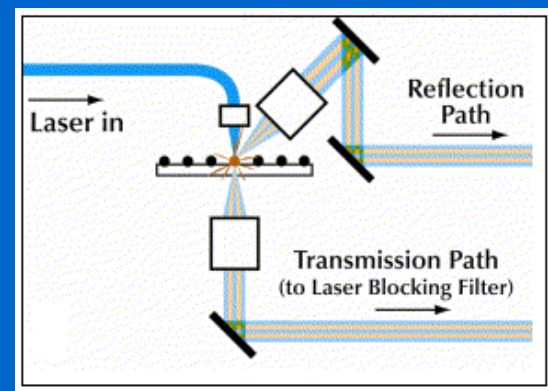
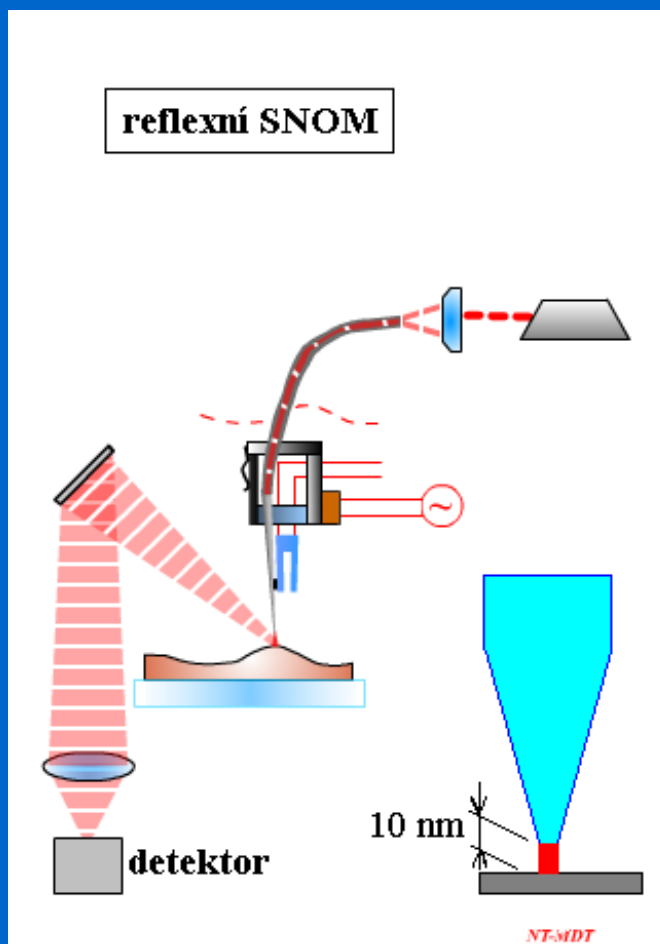
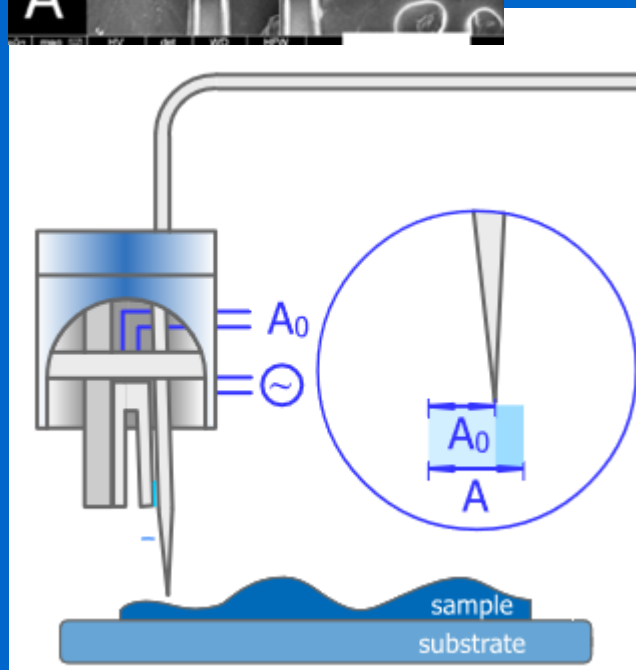
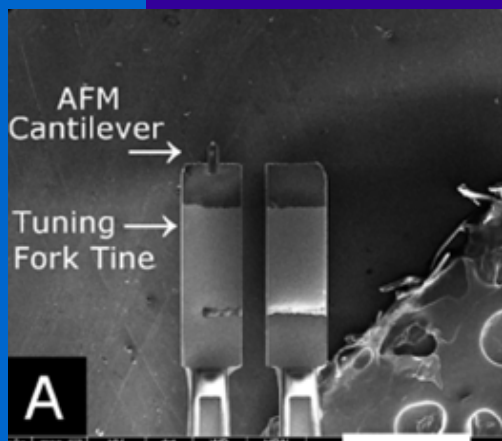
Mikroskopie a spektroskopie blízkého pole



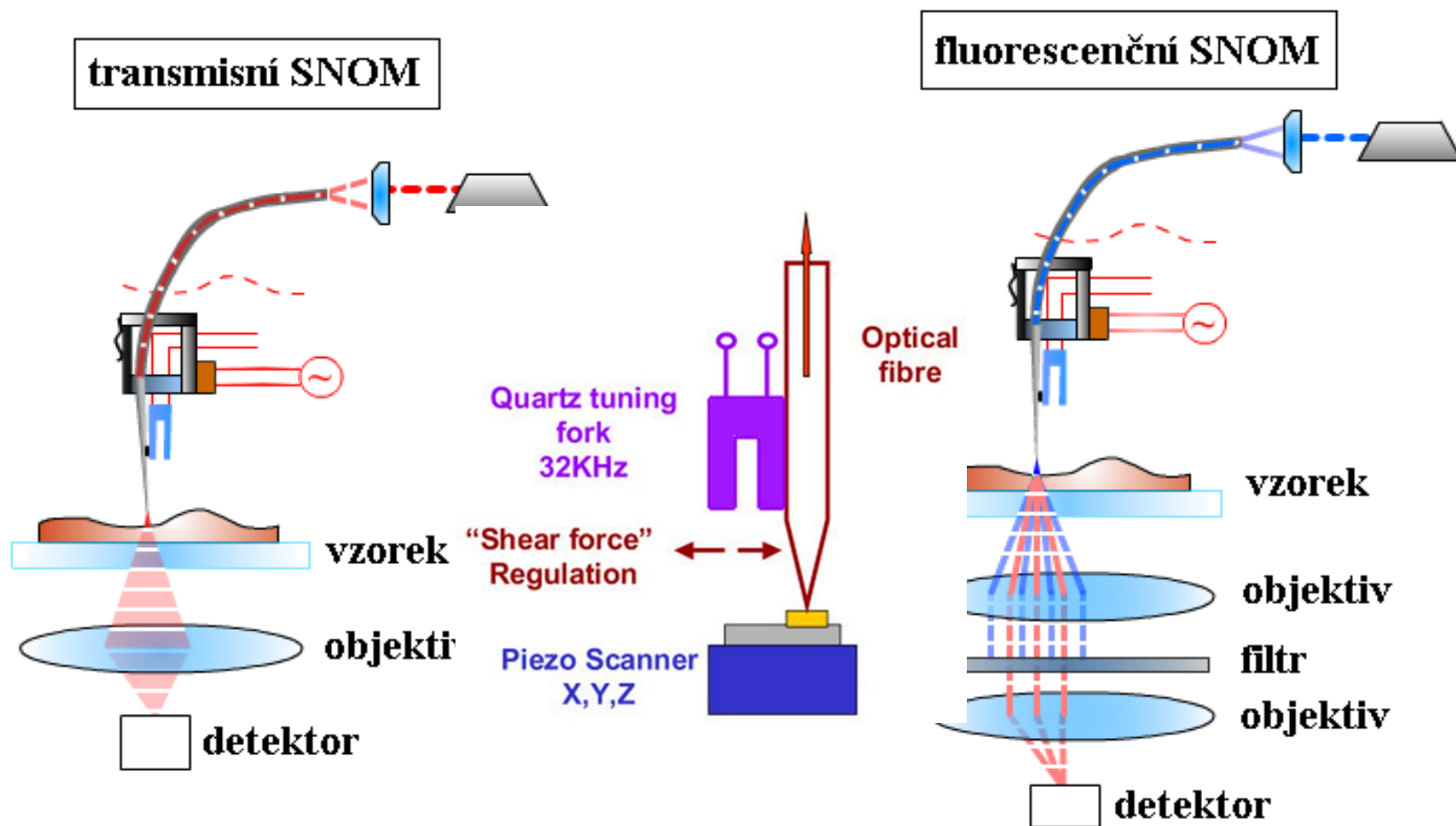
SNOM s aperturou

Alpan Bek, Ralf Vogelgesang, Klaus Kernb: *Apertureless scanning near field optical microscope with sub-10nm Resolution*, REVIEW OF SCIENTIFIC INSTRUMENTS 77, 043703 (2006)

Reflexní SNOM - Shear Force Microscopy (mikroskopie stříhových/smykových sil)



Transmisní a fluorescenční SNOM



Luminiscenční SNOM

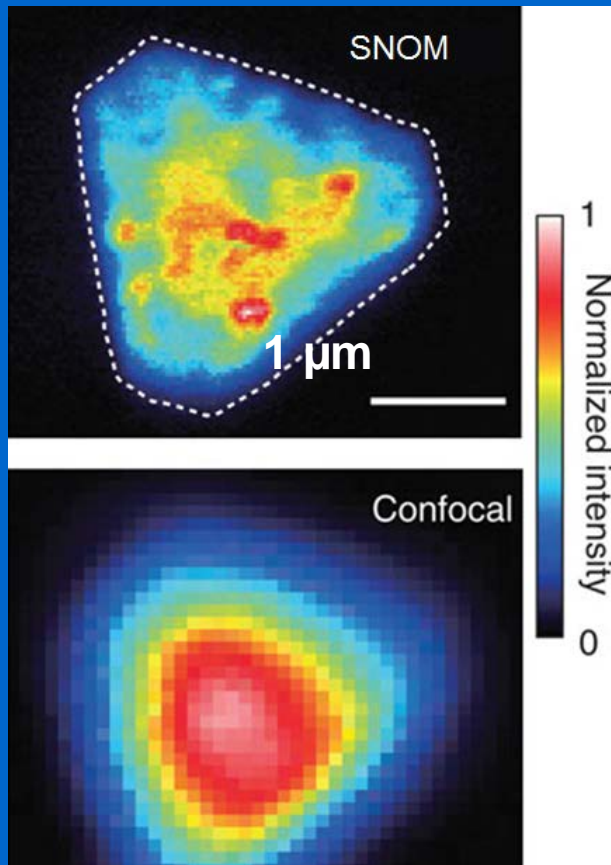
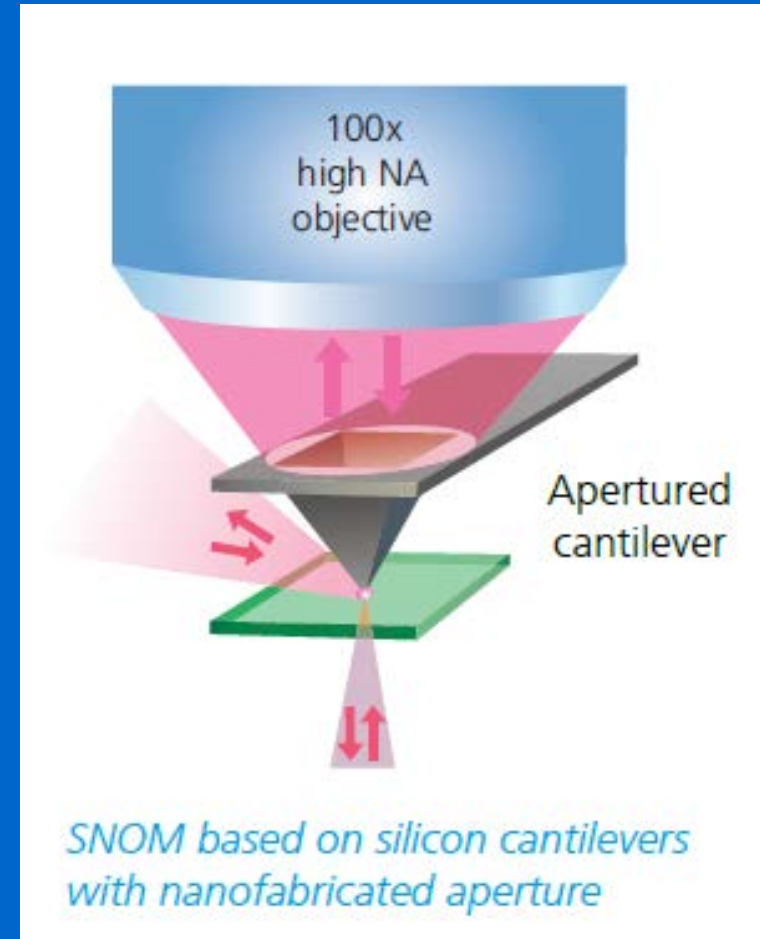


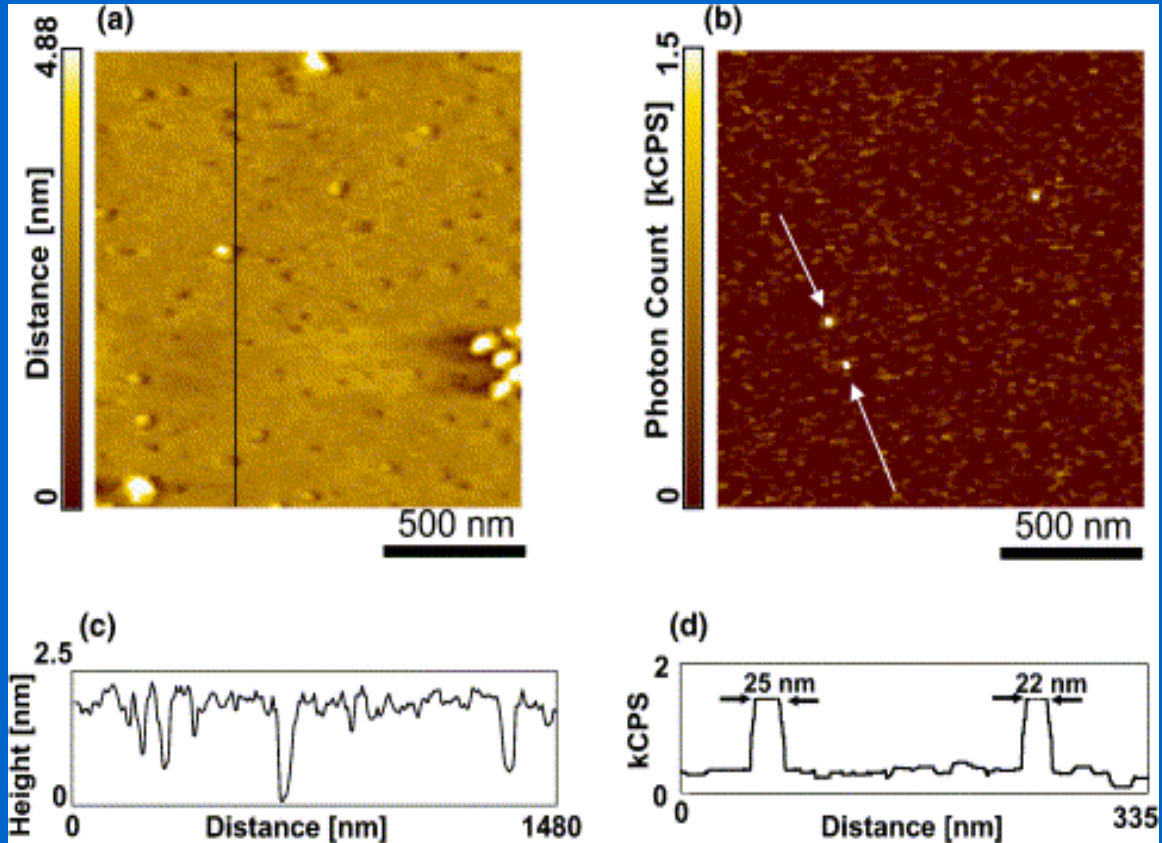
Foto luminiscenční mapa MoS₂



Fluorescenční SNOM

Zobrazení jednotlivých molekul

AFM
Topografie

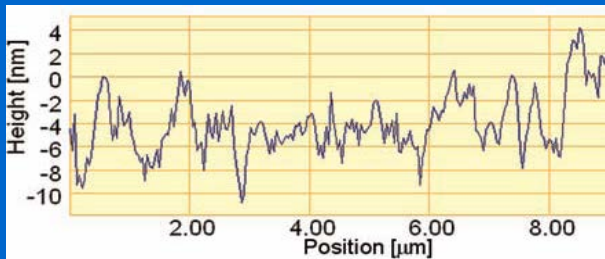
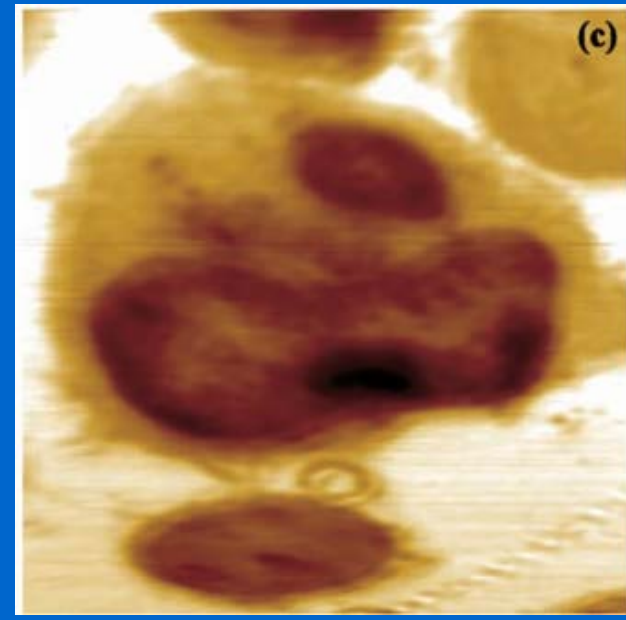
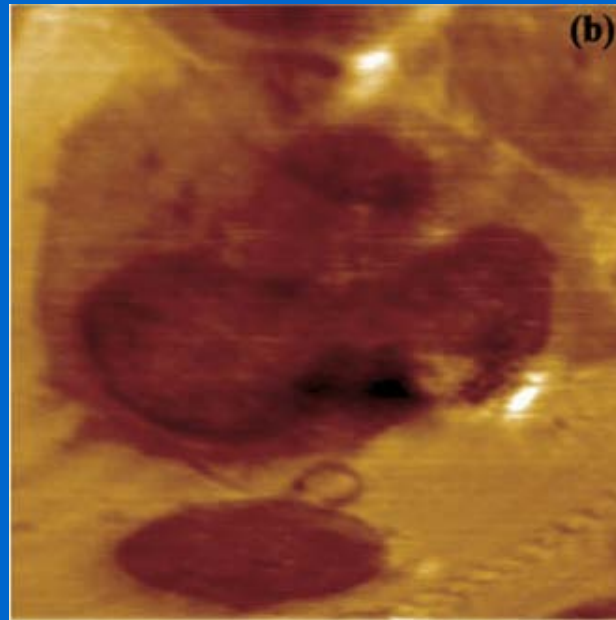
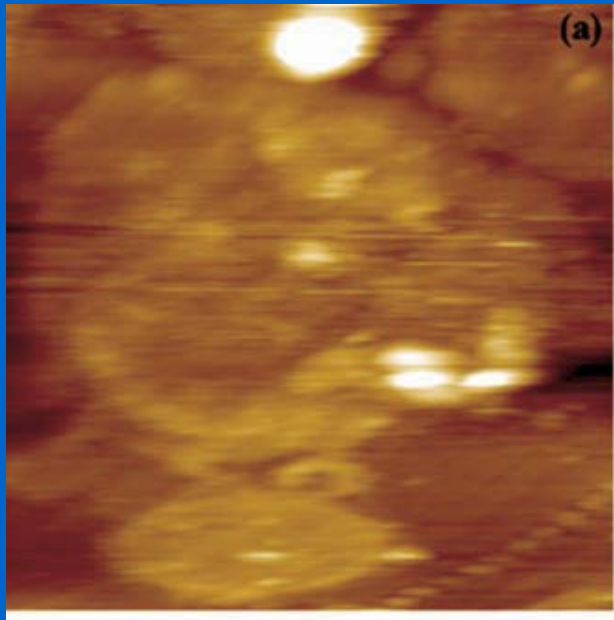


SNOM

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

H. Muramatsu: Surface Science, Vol. 549, 273, 2004

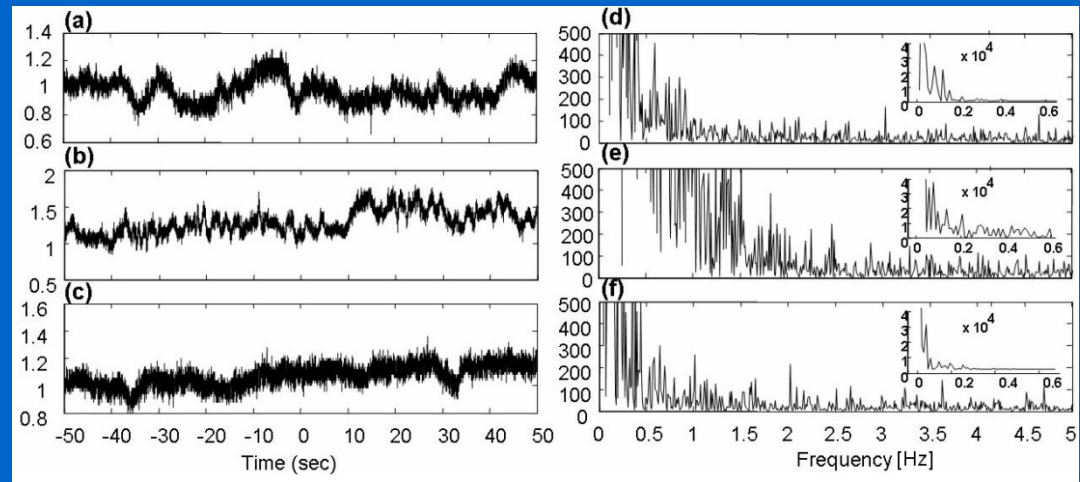
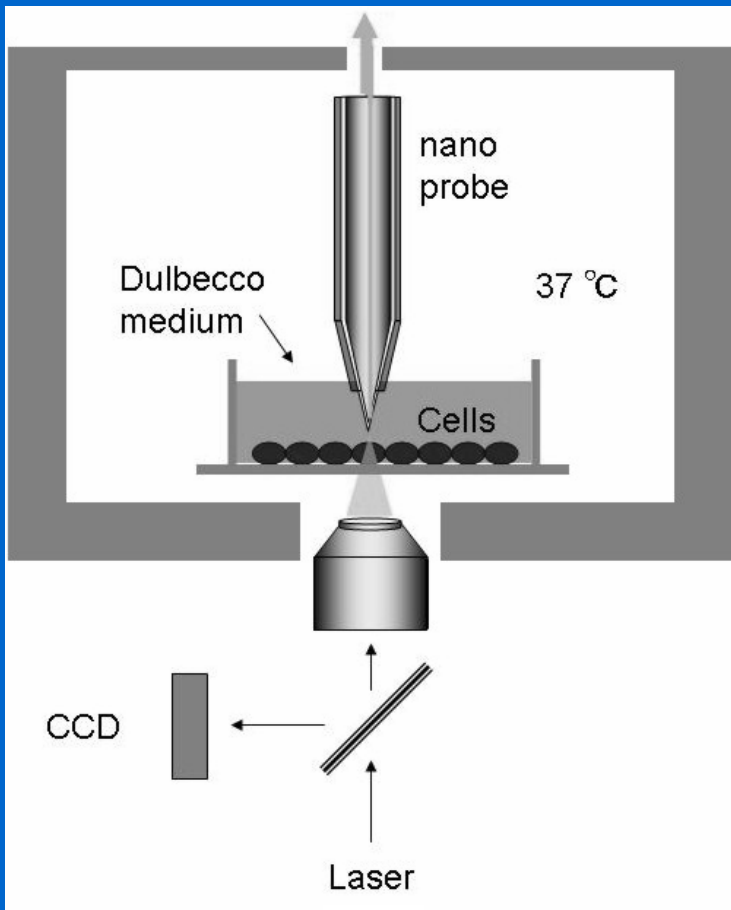
Zobrazení technikou SNOM



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

AFM/SNOM

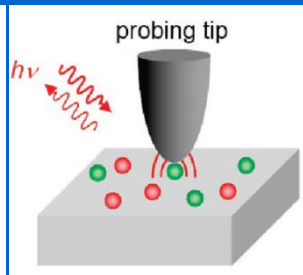
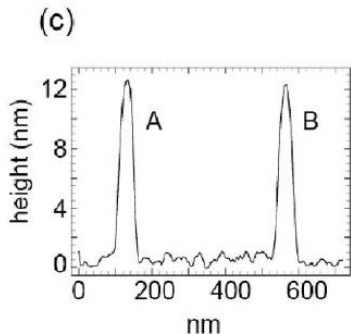
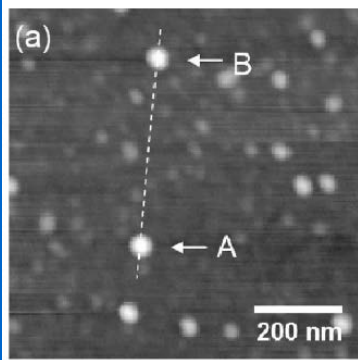
bezkontaktní snímání vibrací buněčných membrán



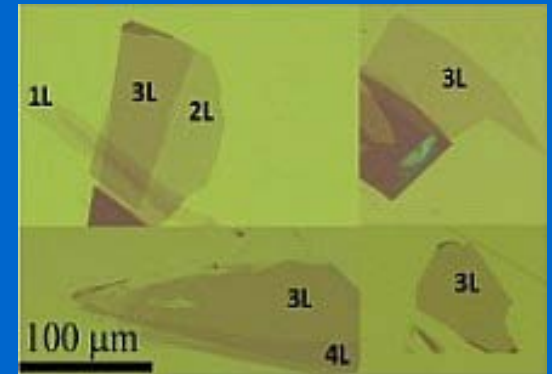
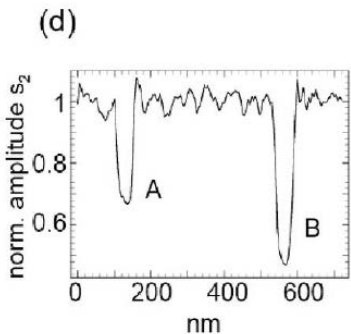
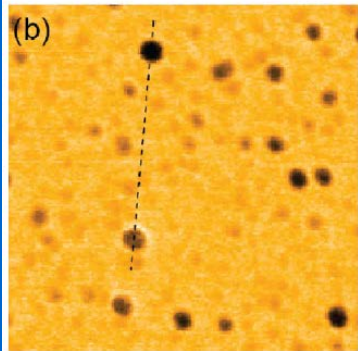
Time profile of PC12 (neuroendocrine tumor of the medulla) cell recordings for three different cell conditions: normal, Nerve Growth Factor and necrosis. (a) control; (b) 24 hours NGF; (c) 4 hours H₂O₂ (necrosis). Time frame is of 100 seconds total for each recording, Fourier spectrum: (d) control; (e) 24 hours NGF; (f) 4 hours H₂O₂. Lower frequencies are plotted in the smaller insets for clarity.. Vertical scale Volts for the time profiles and Volts/Frequency (Hz) for the Fourier plots.

Membrane movements associated with the cell physiological condition

SNOM – materiálový kontrast

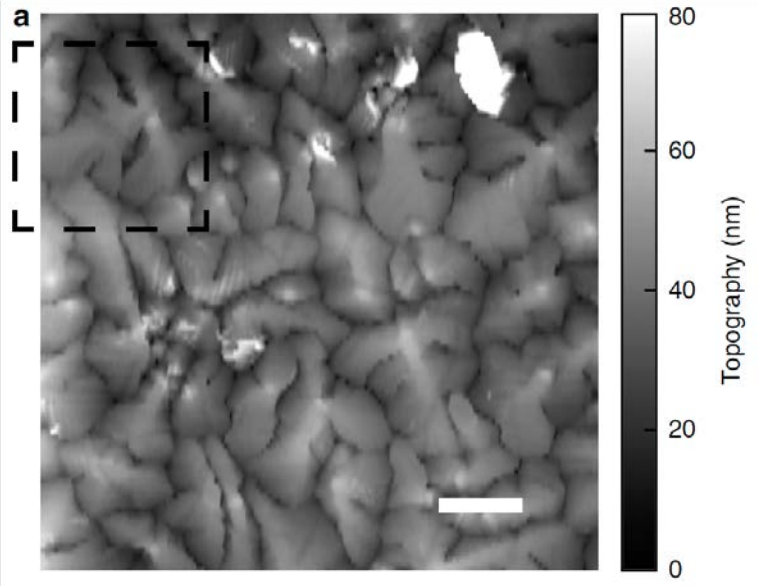


**reflexní (s-)SNOM
bez apertury**

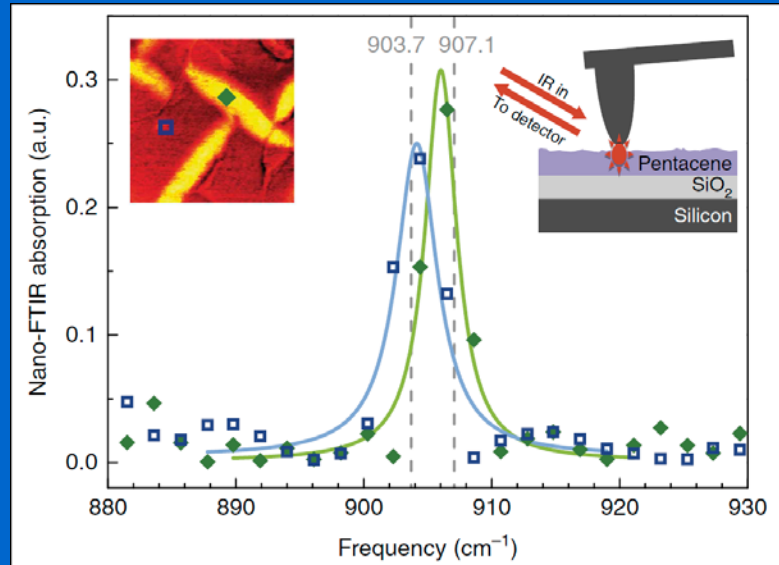
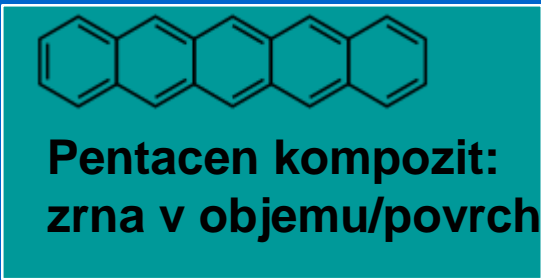
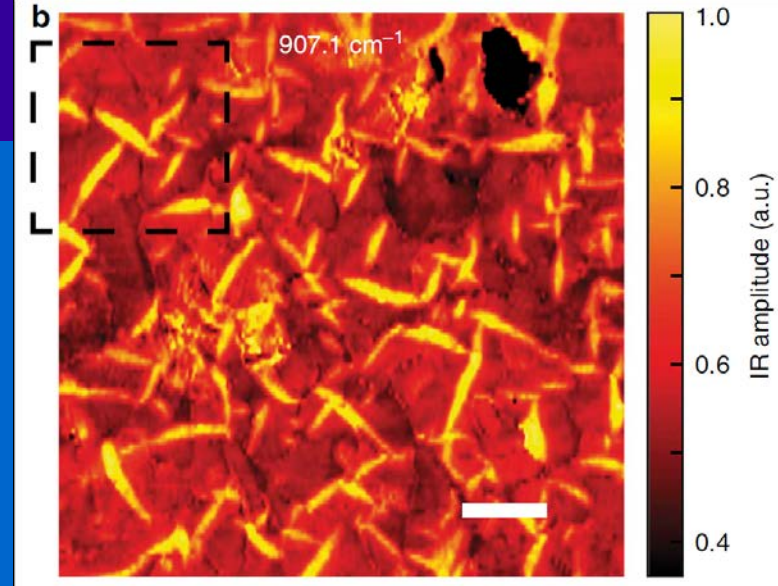


**Materiálový kontrast dovoluje
optické zobrazení 1, 2, 3, 4
grafénových vrstev na SiO₂ s
rozdíly v tloušťce 0.6 nm**

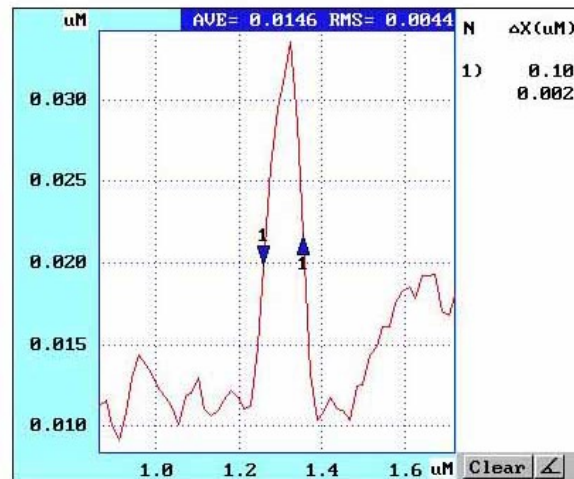
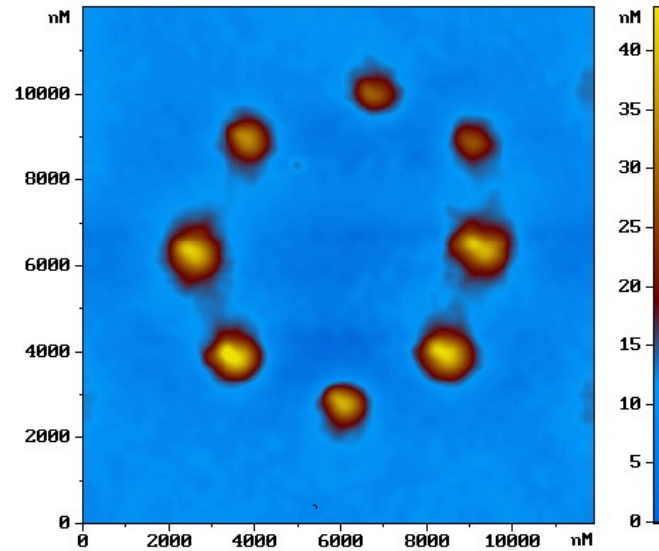
**s-SNOM zobrazení binární směsi Au + PS
~10 nm nanočástic immobilizovaných na
Si substrátu. $\lambda = 10.6 \mu\text{m}$**



IR SNOM



SNOM litografie



-
-
-

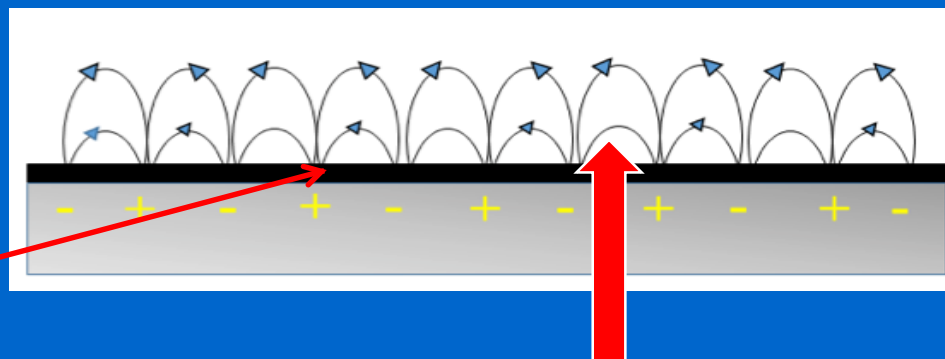
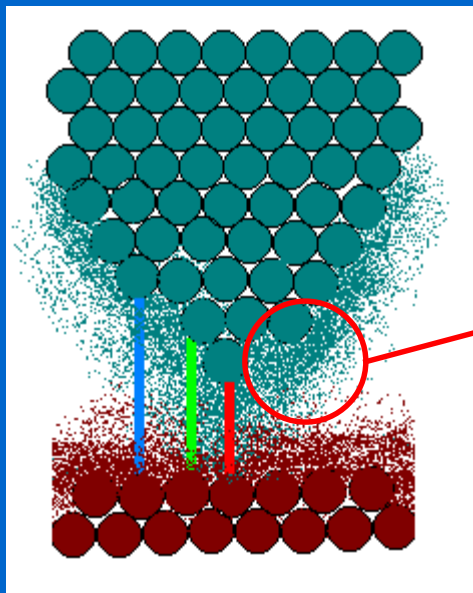
Nanočásticový zesilovač světla

Plasmonové rezonanční zesílení

Povrchově zesílená Ramanova spektroskopie
Surface Enhanced Raman Spectroscopy
SERS

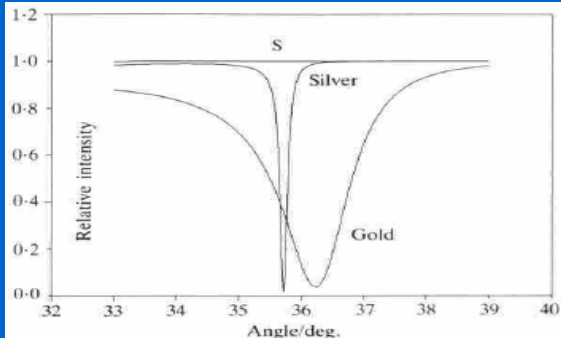
Hrotem zesílená Ramanova spektroskopie
Tip Enhanced Raman Spectroscopy/Microscopy
TERS

Elektronová hustota na mezifázi vodič/dielektrikum

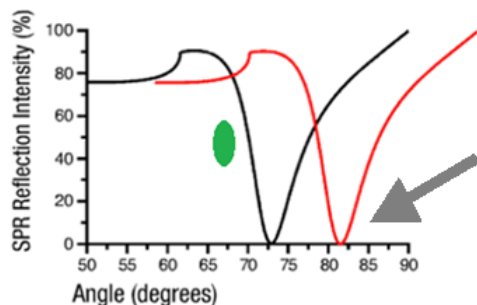


$I_T \sim V_B f_{mTS}(V_B) \exp[-2z\sqrt{(2m\Phi_{ST}/\hbar^2)}]$
 $\hbar = h/2\pi$, $f_{mTS}(V_B)$...redukovaná
Planck.konst.
 z ...vzdálenost hrot-vzorek ($\sim 10^{-1}$ nm)

Vlna elektronové hustoty postupující podél mezifázi kov–dielektrikum (elektronová „kapalina/plasma“ [Maxwell]).
Oscilace nábojové hustoty a elmag. pole = povrchové vlny **Plasmonu (polaritonu)**.

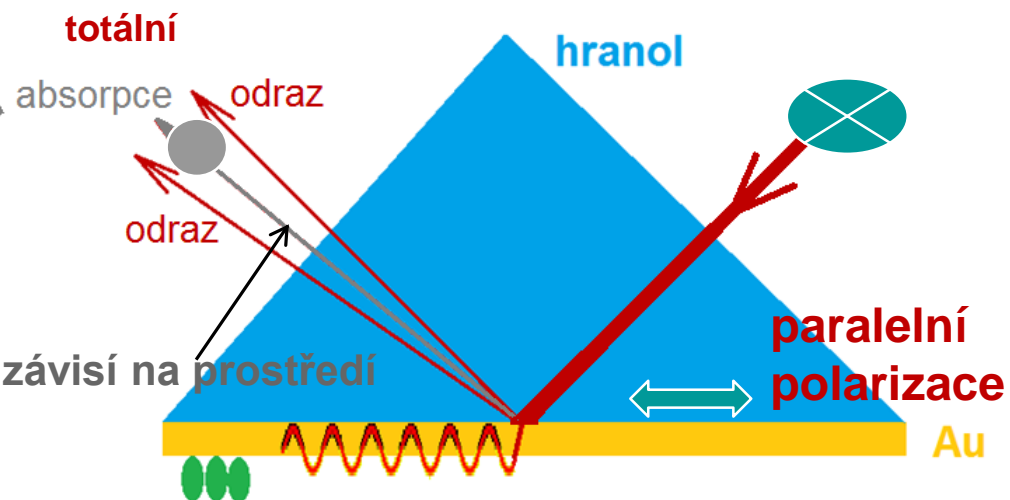


Povrchový plasmon neradiační – povrchová vlna



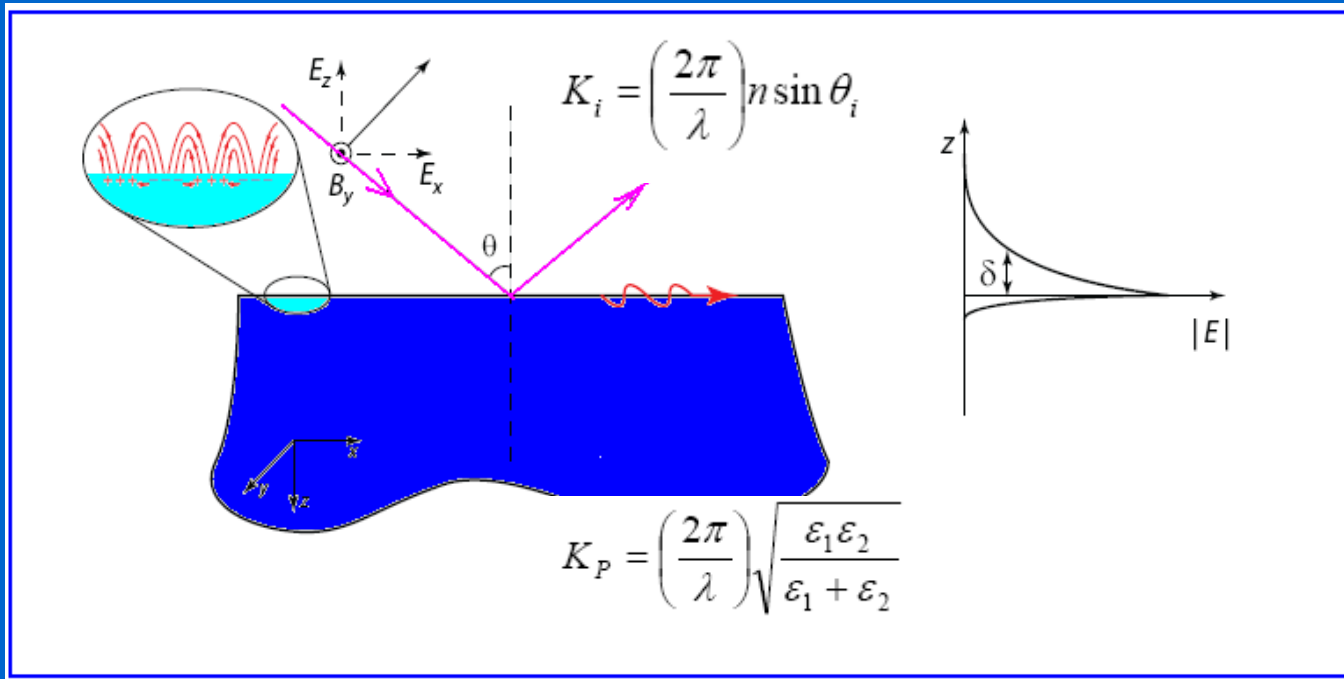
úhel absorpce závisí na prostředí

(Kretschmann)



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 plasmonová rezonance



Teor. modely:
 R. Ritchie 1957
 Drude-
 -Lorentz,
 -Sommerfeld,
 Novotny,
 kvant. teorie...

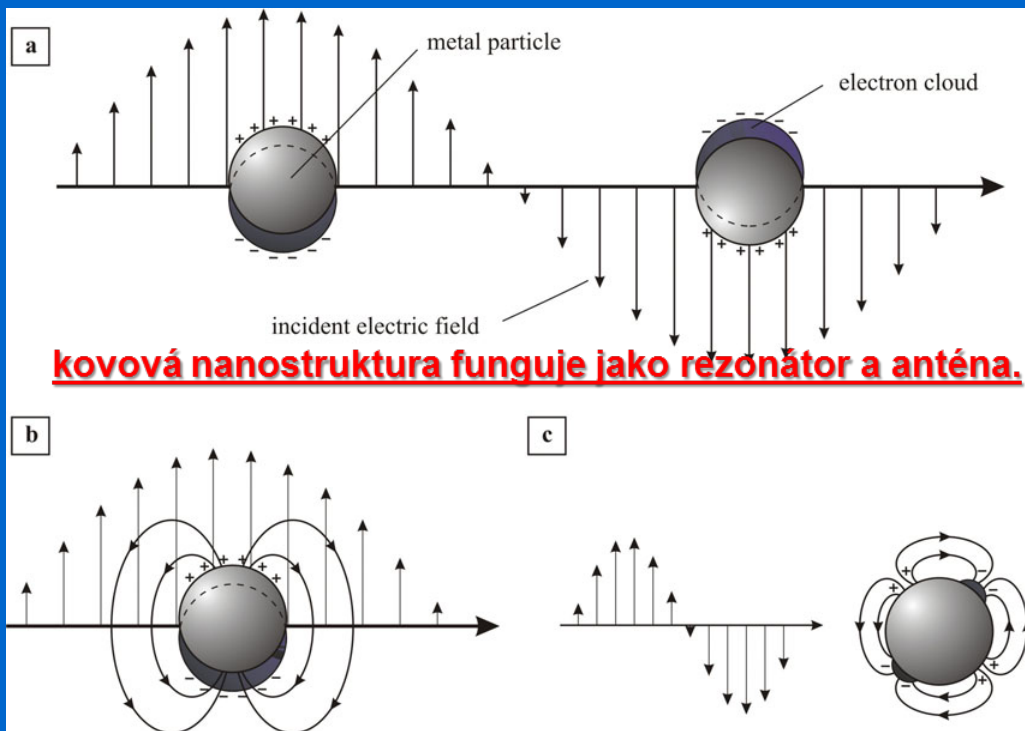
E_p elmg. pole: el. složka polarizovaná paralelně s mezifázím,

K_i, K_p vlnové vektory dopadajícího pole a plasmonu,
 v rezonanci $K_i = K_p$

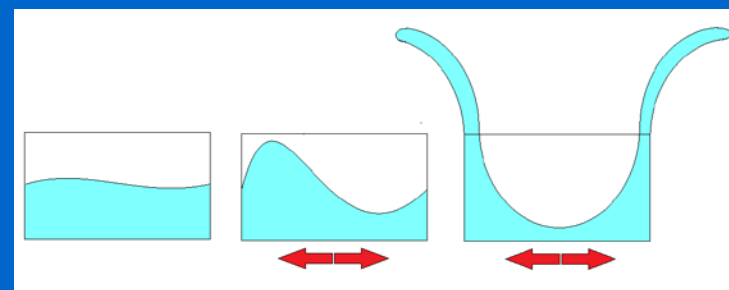
$\epsilon_{1,2}$ dielektr. konstanty kovu a prostředí,

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

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



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



Interakce se světlem => excitace oscilací e-oblaku

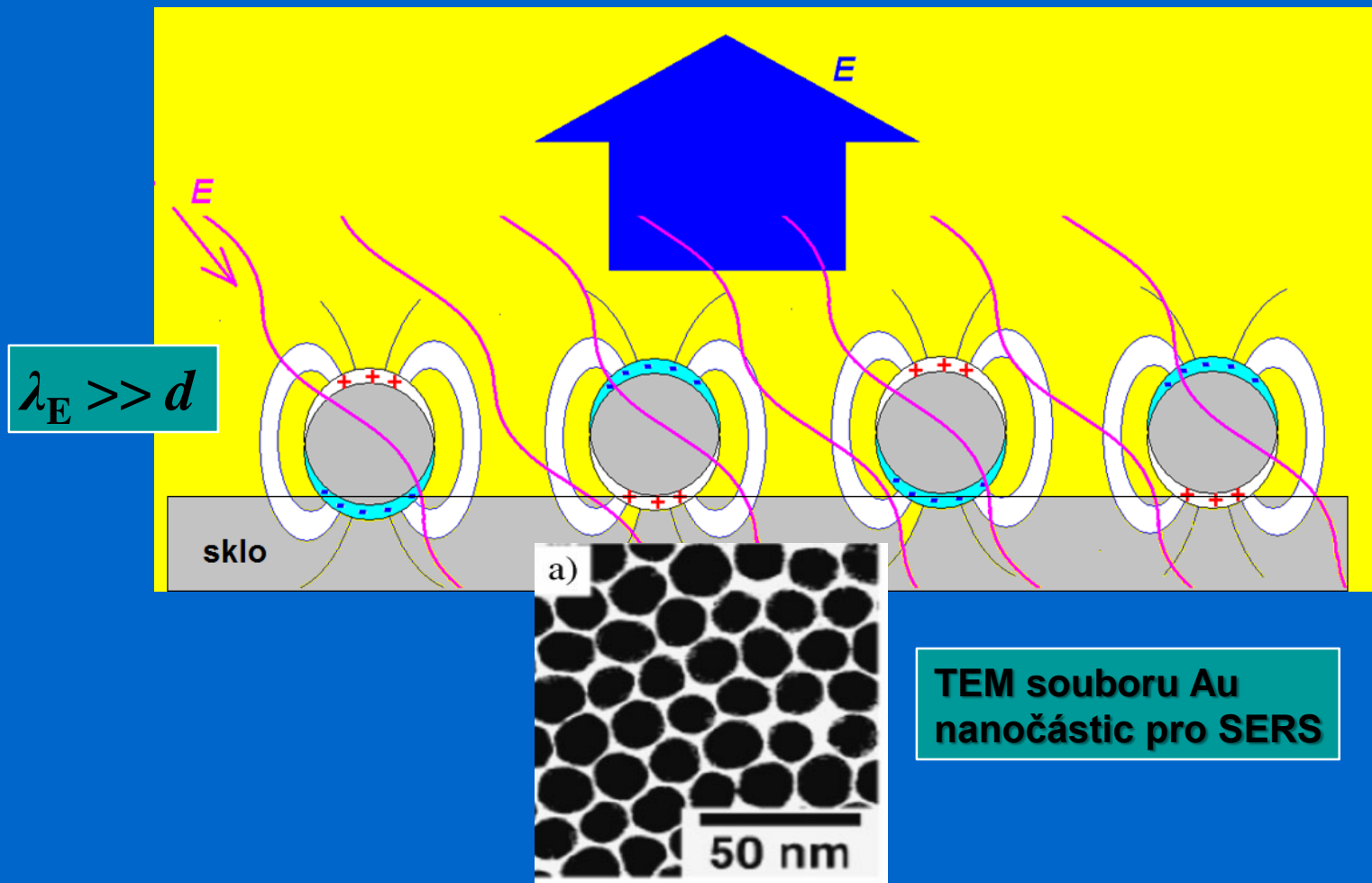
Malé částice: dipólová radiace (a, b) => **emise**

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



-
-
-

Využití povrchové plasmonové resonance: Povrchově zesílená Ramanova spektroskopie

Surface Enhanced Raman Spectroscopy

Zvětšení citlivosti spektroskopických technik

fluorescence, **SERS** - povrchově zesílená Ramanova spektroskopie
~ $10^{14} - 10^{15} \times$ 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

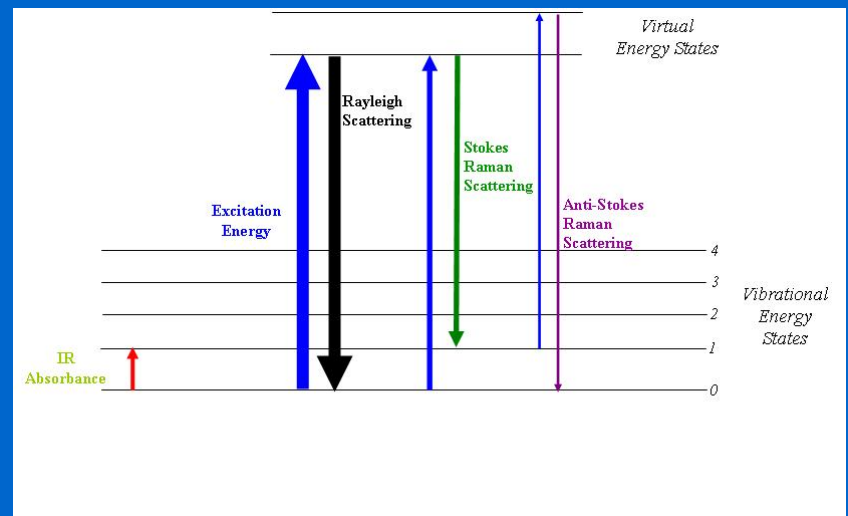
Ramanova spektroskopie

Elastický rozptyl světla na molekulárních/atomárních strukturách: $\lambda_{\text{rozptyl}} = \lambda_{\text{dopad}}$
Neelastický rozptyl (malá část $\sim 1/10^6$) \Rightarrow posun λ : $\lambda_{\text{rozptyl}} \neq \lambda_{\text{dopad}}$
 \Rightarrow excituje vibrační a rotační a elektronické stavy

Vibrační/rotační excitace (posun λ) & změna polarizovatelnosti (intenzita)
(deformace e-oblaku vzhledem k vibračním koordinátám) \Rightarrow Ramanův posun
molekula absorbuje energii – rozptyl (scattering) **Stokesův** – „red shift“: $\lambda_{\text{rozptyl}} > \lambda_{\text{dopad}}$
molekula (na vyšší hladině) ztratí energii – rozptyl **anti-Stokesův** – „blue shift“: $\lambda_{\text{rozptyl}} < \lambda_{\text{dopad}}$

Resonanční Raman:

$\lambda_{\text{dopad}} = \lambda_{\text{excit.e}}$
 \Rightarrow zesílení intenzity vibrač. módu
odpovídajícího excit. e-hladiny

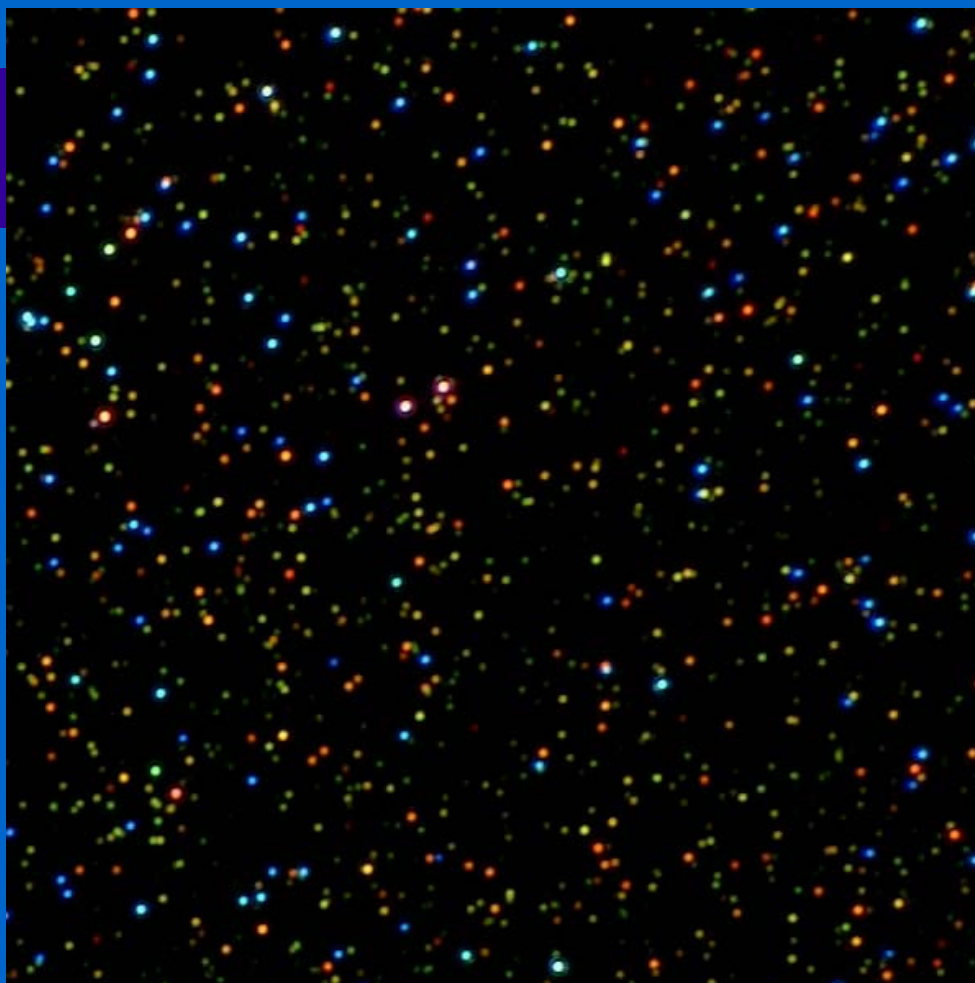


Povrchově zesílená Ramanova spektroskopie **SERS**

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

Kombinuje výhody Fluorescence a Ramanovy spektroskopie
=> vysoký světelný zisk + strukturní informace

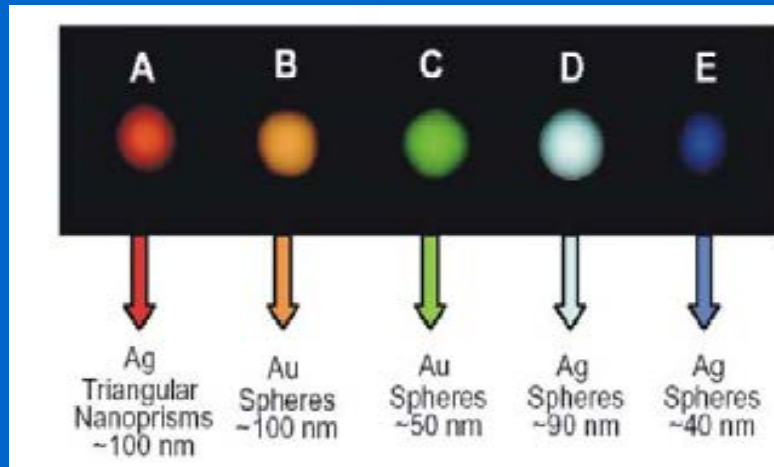
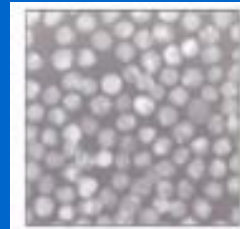
Zesílení na kovových nanostrukturách - nanočástice, nanodráty.
Vis: Au, Ag (elektrochemicky zdrsňelé Ag: Fleischman M., 1974)
NIR: Cu
Nevýhody: Nutnost vytvoření nanostrukturovaného povrchu
Nehomogenity v pokrytí nanostrukturami, agregace nanočástic,
„Hot-Spots“ (signál není reprezentativní vzhledem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



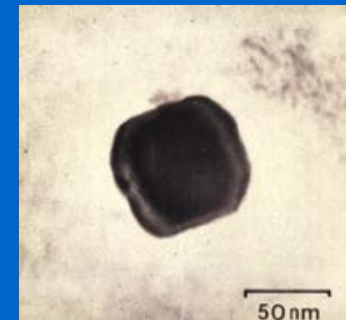
Optický mikroskopický snímek (temné pole) světla rozptýleného nanočásticemi

Ag (nanosféry) Au (nanosféry) nanotyčky

Historie využití plasmonové resonance



Ag, Au nanočástice

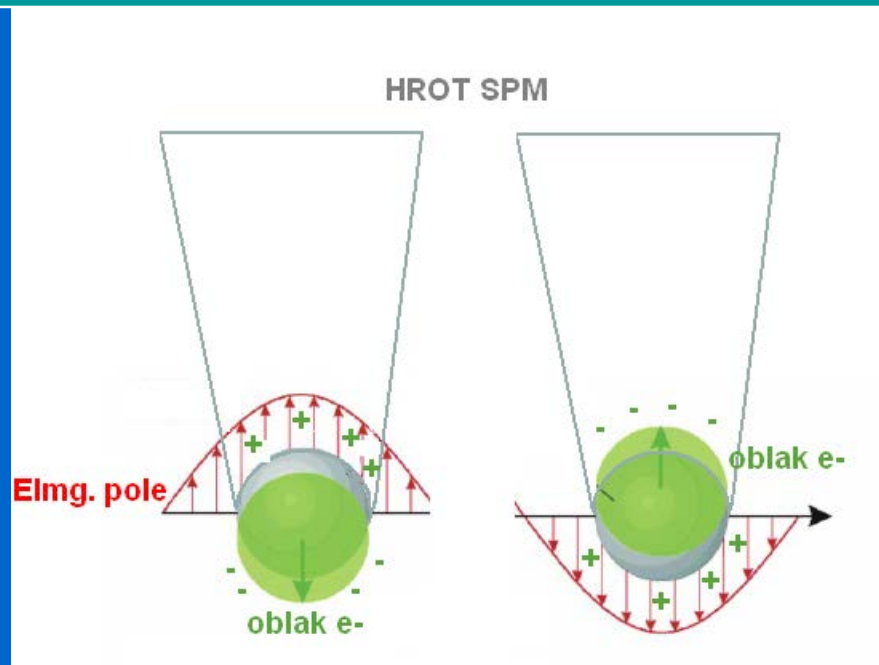


70% Ag + 30% Au

*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).*

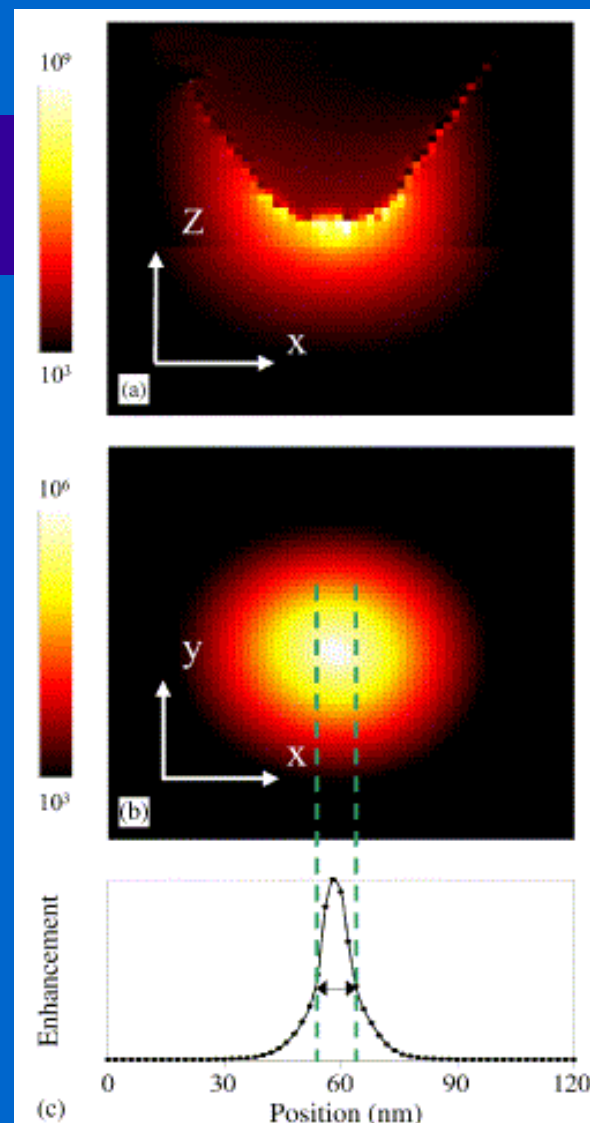
Hrotem zesílená Ramanova spektroskopie (TERS)

Tip Enhanced Raman Spectroscopy



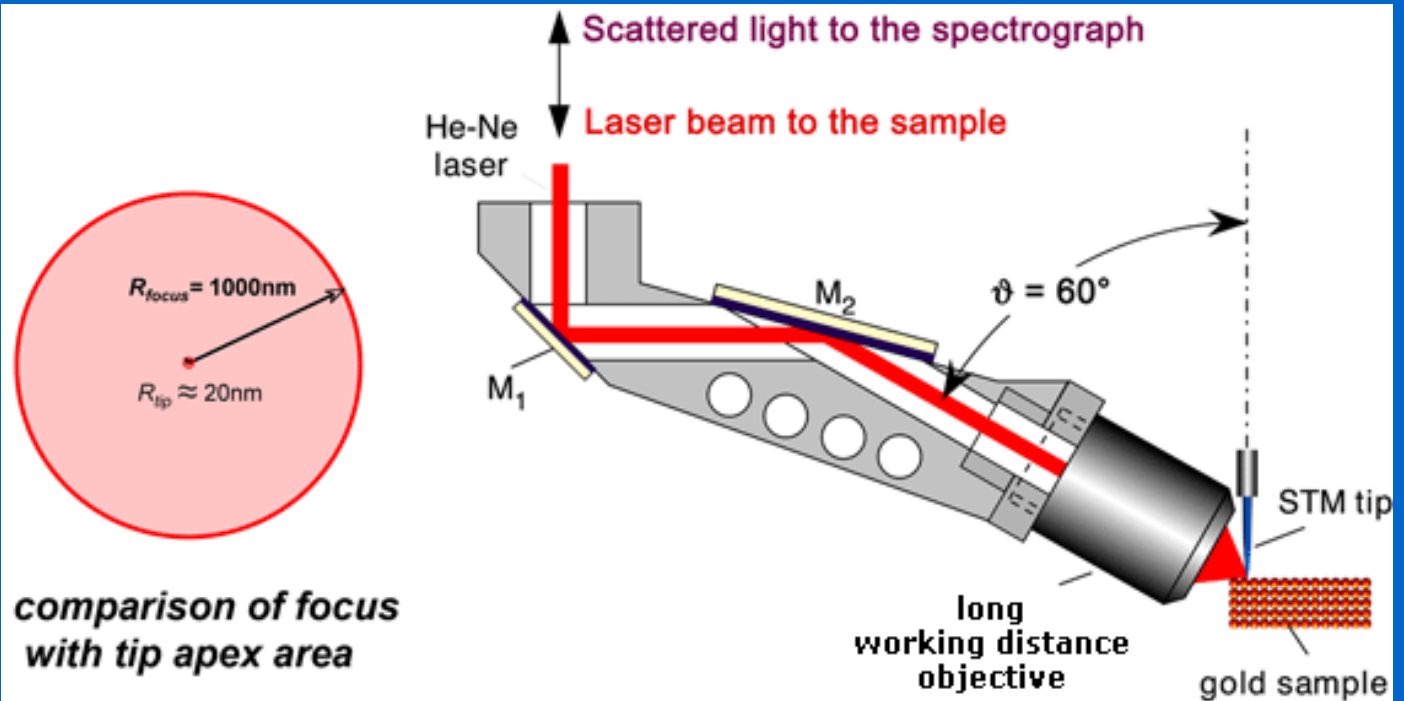
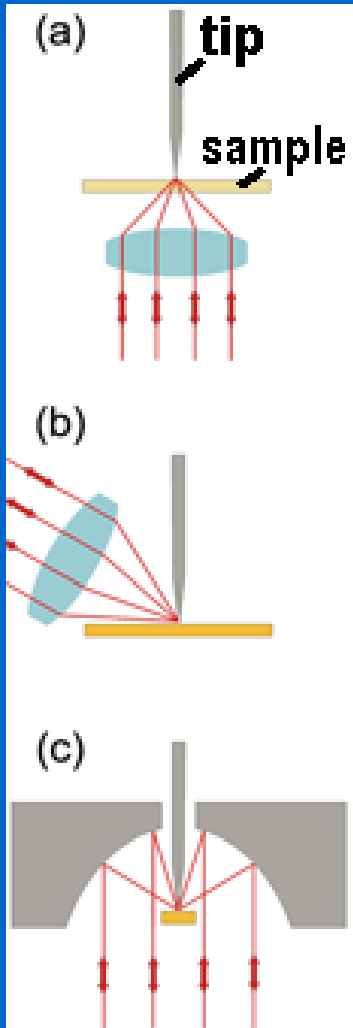
Od nanočásticové plasmonové resonance (SE) k hrotovému zesílení (TE)

P. Hewageegana, M. I. Stockman: Plasmonics enhancing nanoantennas
Infrared Physics & Technology 50 (2007) 177–181



Řez oblastí TER(S) ($A = I_{RT}/I_{R0}$)
 $\lambda = 541 \text{ nm}$, $d_{T-S} = 4 \text{ nm}$

TERS instrumentace



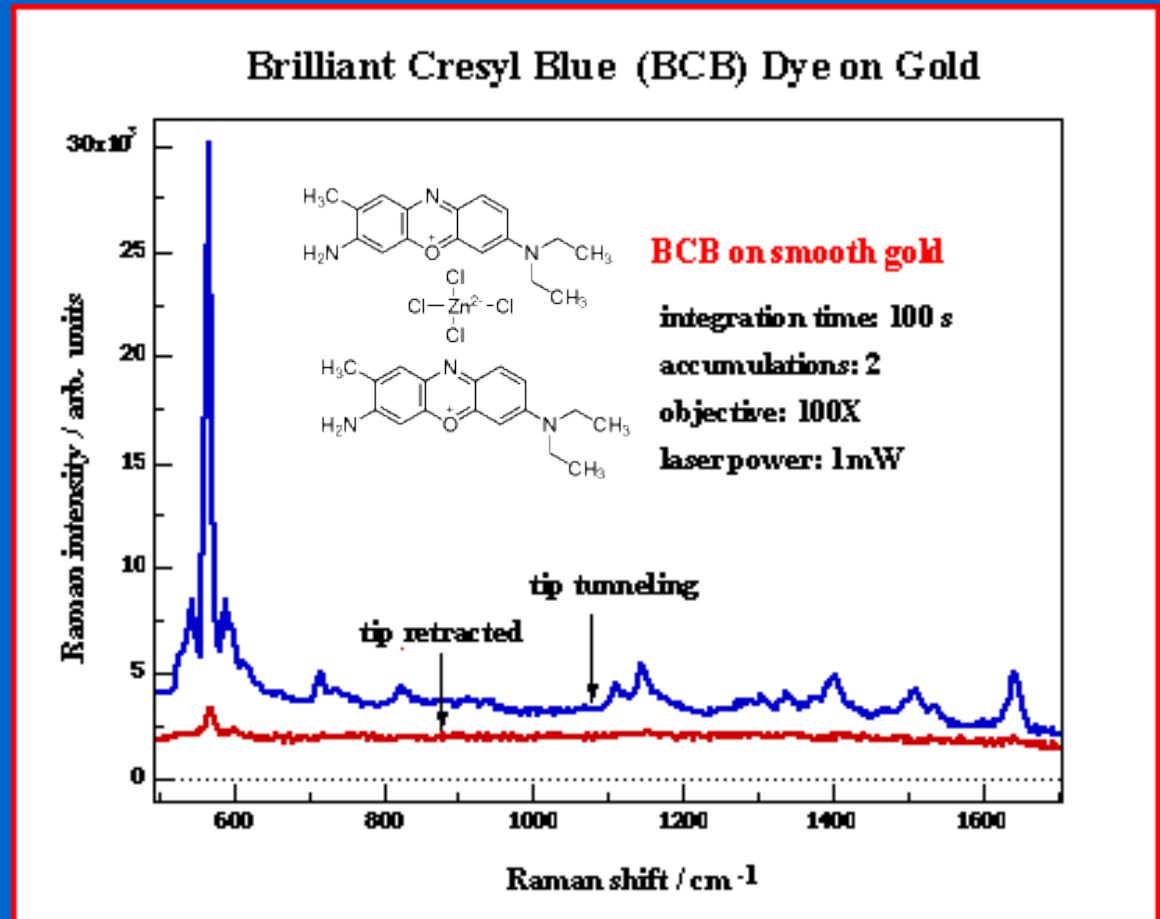
Zdroj: He-Ne laser (632.8 nm) ~0.3 mW na vzorku

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

Příklady použití TERS

Monovrstva barviva
adsorbovaného na Au filmu,
STM Ag-hrot

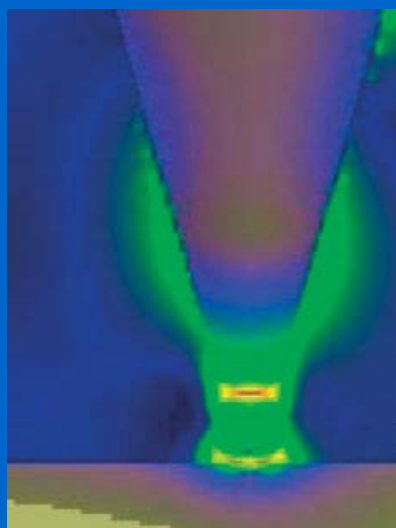
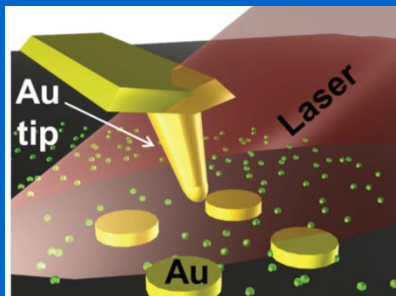
celkové zesílení
 $\eta = (E_{NF}/E_{FF})^4$



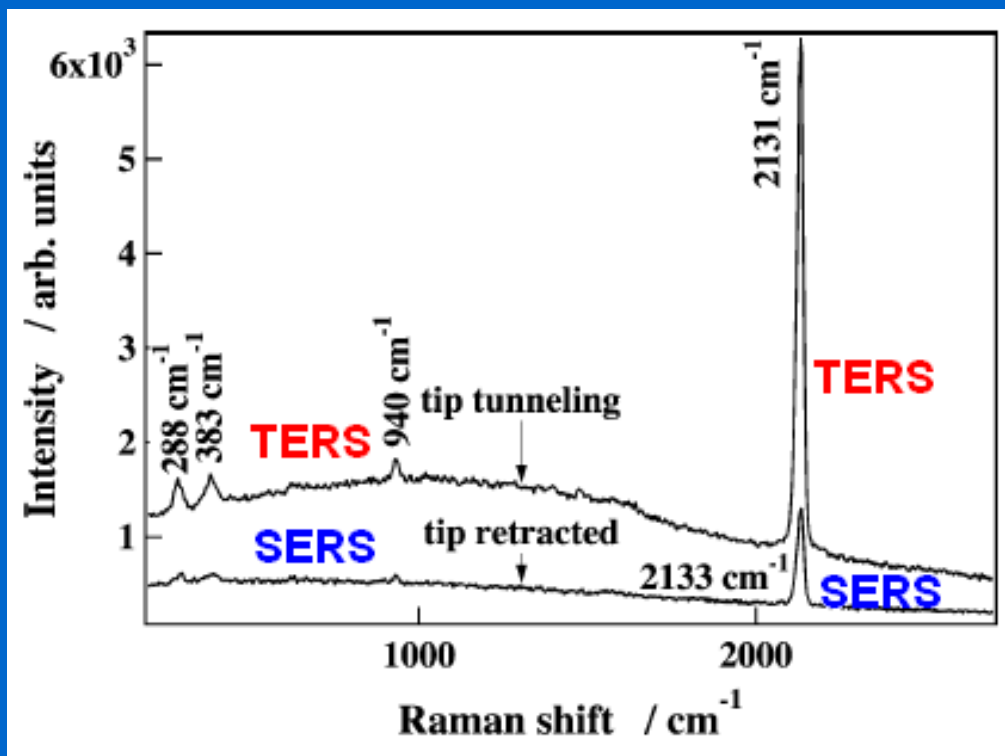
G. Picardi, K. Domke, D. Zhang, B. Ren, J. Steidtner

B. Pettinger [Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft](#)

Kombinace SERS a TERS

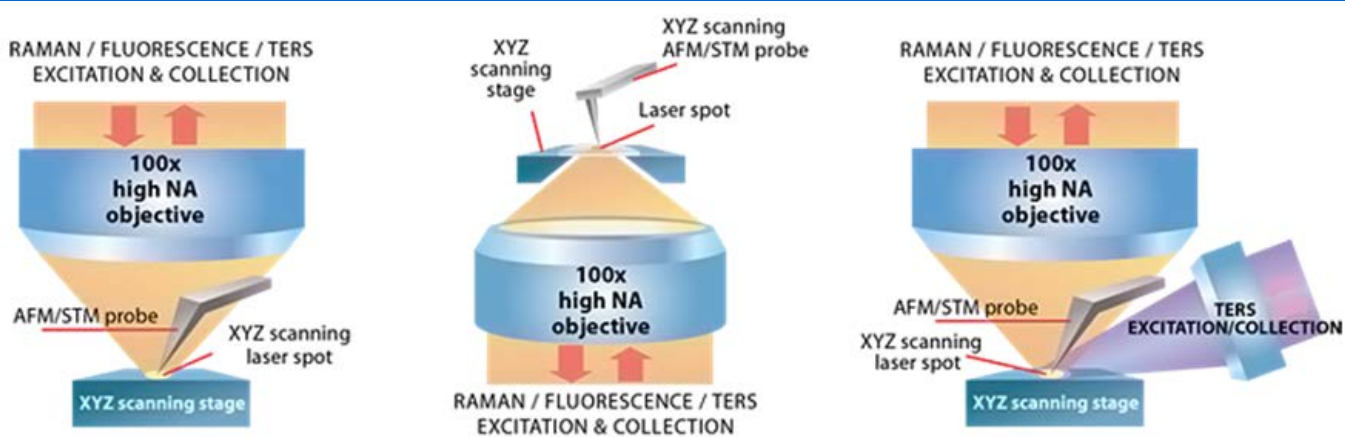


E-field Au nanosféra 50 nm
Hrot $r = 20$ nm, dist. 2 nm

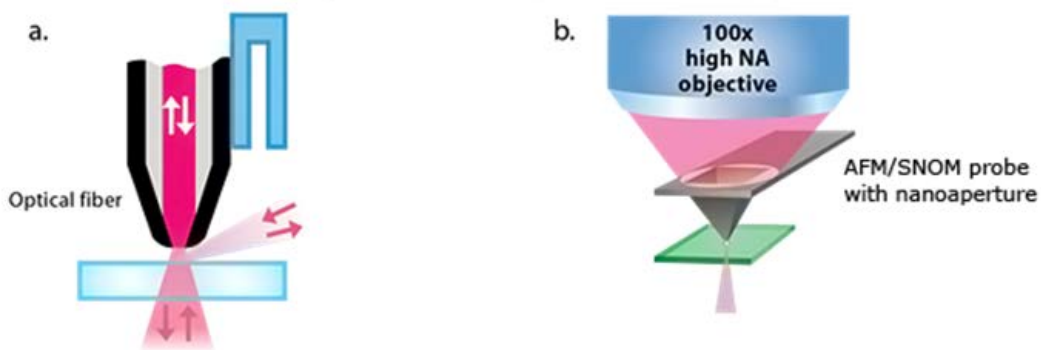


SERS (zdrsnělý povrch Au)
TERS (totéž + Au-hrot)/ads. CN^-
integrace 1 sec, laser 5 mW

AFM-TERS/AFM SNOM - srovnání

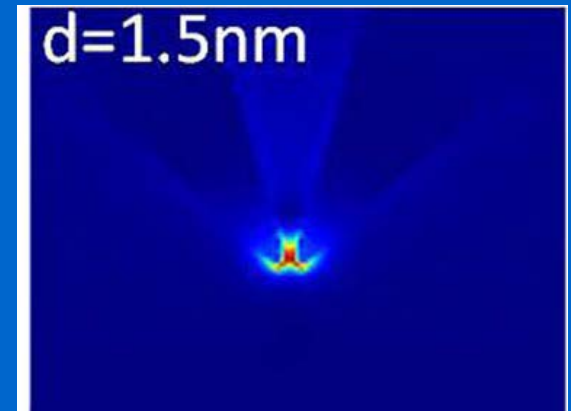
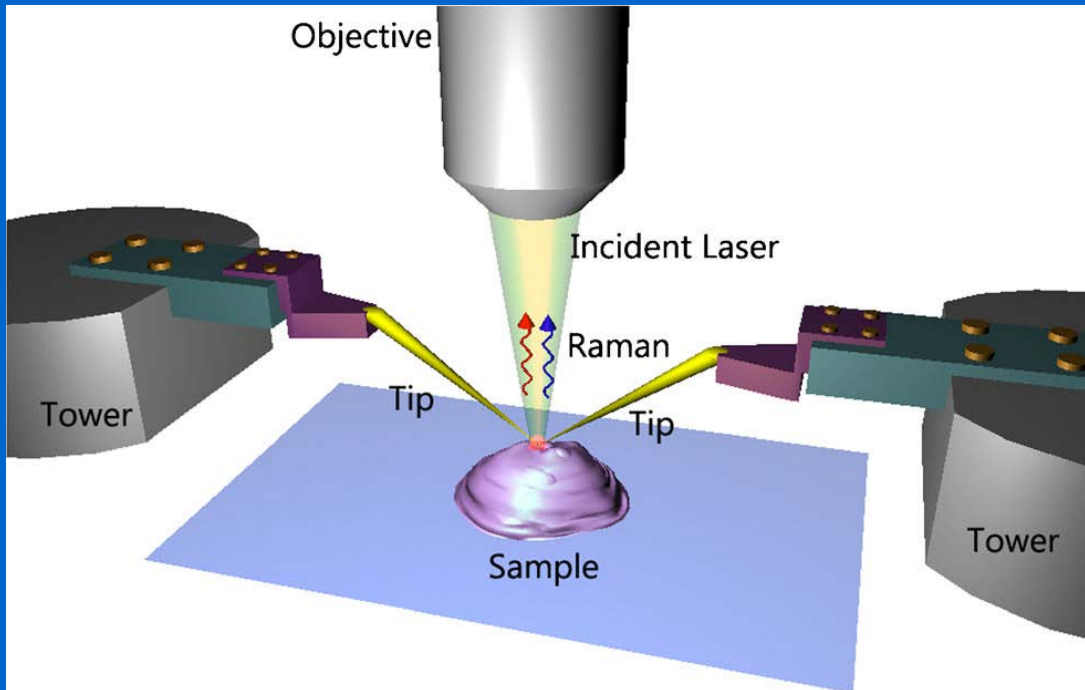


Scanning Near-Field Optical Microscopy



- a) Based on quartz SNOM fiber, shear-force feedback
b) Based on silicon cantilevers with nanofabricated aperture

CS TERS – SNOM (MultiView)



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

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 $\sim 10^7$**
- **Vývojové stadium, neúplně definované podmínky: vliv tvaru hrotu, složení hrotu, vliv elektrolytu...**

Surface-enhanced and STM-tip-enhanced Raman Spectroscopy at Metal Surfaces

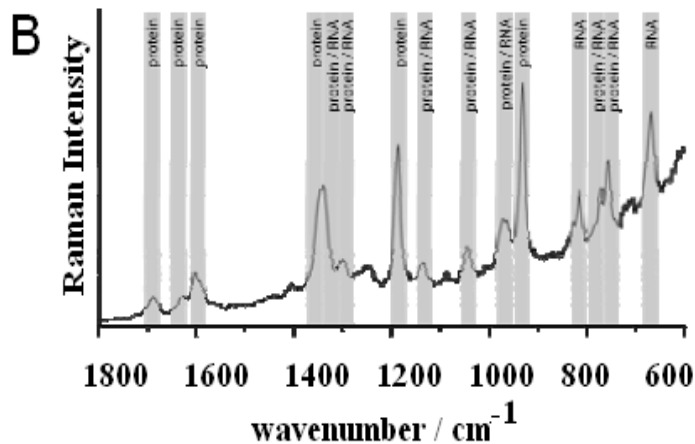
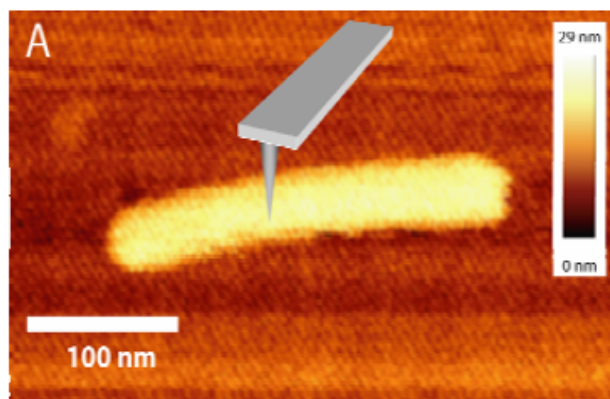
Bruno Pettinger, Gennaro Picardi, Rolf Schuster, Gerhard Ertl

Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft,
Faradayweg 4-6, 14195 Berlin, Germany

[Single Molecules](#), [Volume 3, Issue 5-6](#) , Pages 285 - 294

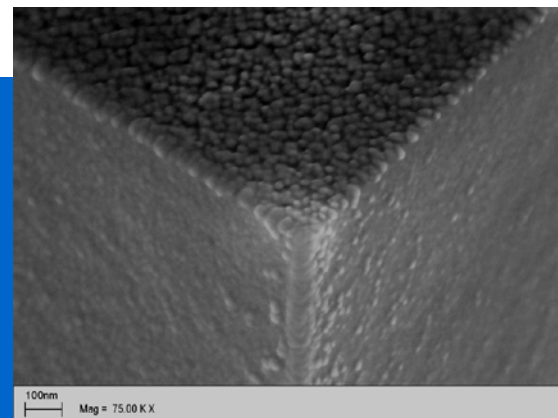
S. Kuwata: *Near Field Optics and Surface Plasmon Polariton*
Springer Verlag, 2001

AFM-TERS: zobrazení + analýza



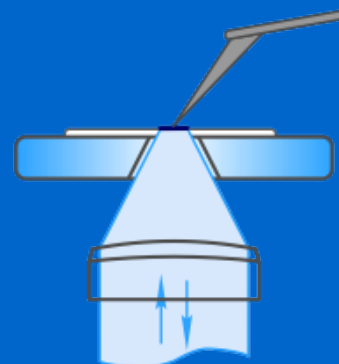
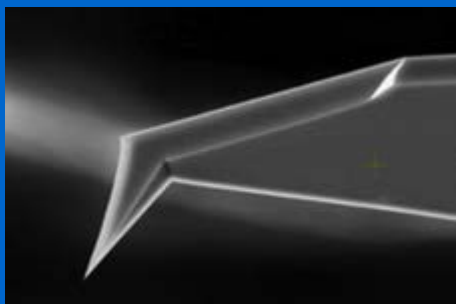
TERS spectroscopic examination of a single tobacco mosaic virus. (A) Before each TERS measurement, an AFM scan with the silver coated AFM tip is performed in order to position the AFM tip directly on a virus. (B) The TERS spectroscopic fingerprint of a tobacco mosaic virus shows that all TERS bands can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

Metalizovaný (Au) AFM hrot pro TERS/AFM



D. Ciala et al

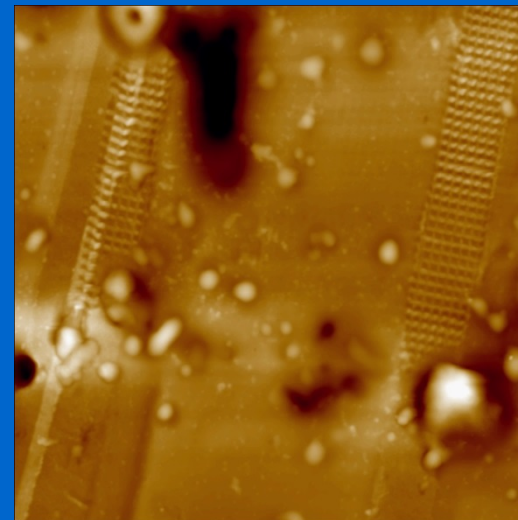
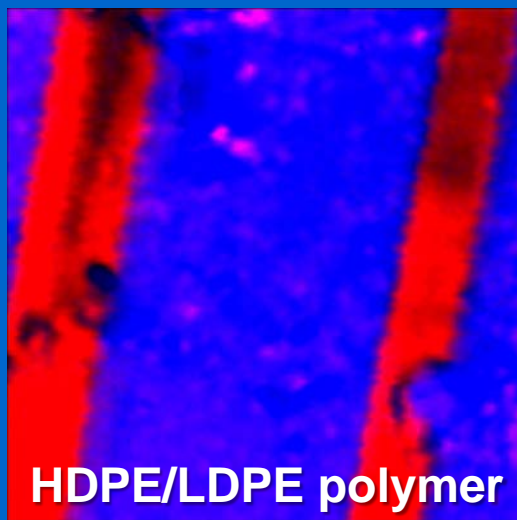
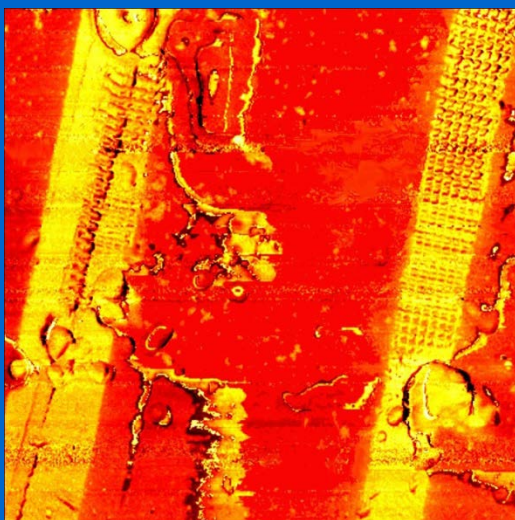
AFM-TERS/SNOM: zobrazení + analýza



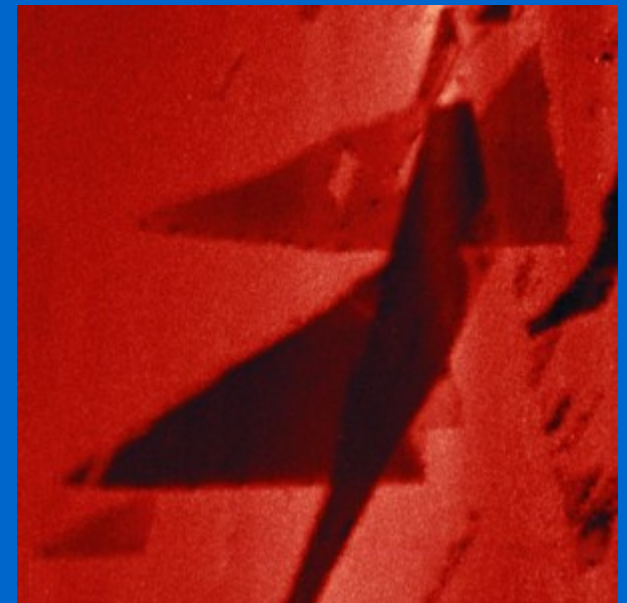
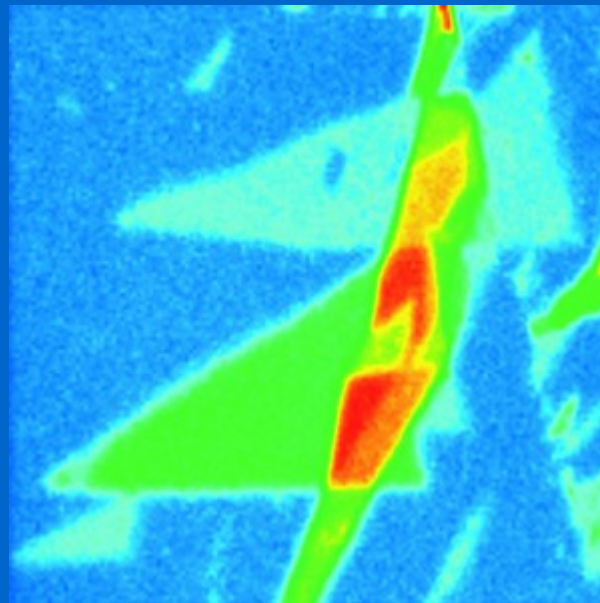
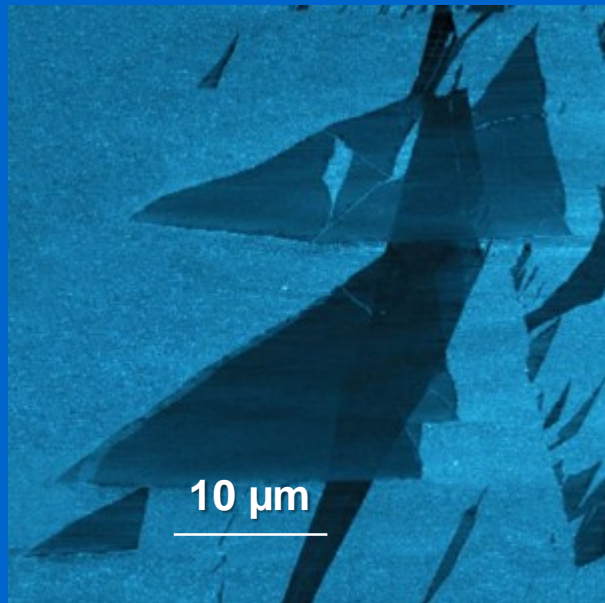
AFM/tuhost

Raman/TERS

AFM topografie



AFM-TERS/SNOM: zobrazení + analýza



LFM

Raman G-mode

EFM



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

Laboratoř mikroskopie rastrovací sondou

AFM/STM Nanoscope IIIa Multimode (Bruker)

Pro práci v kapalinách a plynech

Rozlišení ~ 0,1 nm

AFM/STM TopoMetrix TMX 2010

Pro práci v kapalinách a plynech

Rozlišení ~ 0,1 nm

AFM Dimension (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

