

09.1

## Высокоэффективные воспроизводимые зонды для спектроскопии комбинационного рассеяния с усилением на острие (TERS)

© К.Е. Мочалов<sup>1</sup>, Д.О. Соловьева<sup>1,2</sup>, А.Е. Ефимов<sup>3,4</sup>, Д.В. Клинов<sup>5</sup>, В.А. Олейников<sup>1,2,¶</sup>

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

<sup>2</sup> Национальный исследовательский ядерный университет „МИФИ“, Москва, Россия

<sup>3</sup> Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова Минздрава России, Москва, Россия

<sup>4</sup> ООО „СНОТРА“, Москва, Россия

<sup>5</sup> Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА, Москва, Россия

¶ E-mail: voleinik@mail.ru

Поступило в Редакцию 12 мая 2020 г.

В окончательной редакции 28 июля 2020 г.

Принято к публикации 28 июля 2020 г.

Основное ограничение применения микроспектроскопии комбинационного рассеяния с усилением на острие (tip-enhanced Raman scattering, TERS) связано с отсутствием надежных сканирующих зондов. Представлена простая методика формирования TERS-зондов с высоковоспроизводимыми характеристиками, надежными и дающими достаточное усиление. Методика основана на модификации стандартных кантилеверов сканирующих зондовых микроскопов плазменным травлением с последующим формированием TERS-усиливающей области на вершине путем осаждения коллоидных наночастиц методом диэлектрофореза.

**Ключевые слова:** микроспектроскопия комбинационного рассеяния с усилением на острие, TERS, сканирующая зондовая микроскопия, сканирующий зондовый микроскоп (СЗМ), зонды СЗМ,

DOI: 10.21883/PJTF.2020.21.50195.18374

Методика микроспектроскопии комбинационного рассеяния с усилением на острие (tip-enhanced Raman scattering, TERS) находит все более широкое применение в различных областях современной науки [1]. Однако широкому внедрению данной методики препятствует ряд нерешенных технических проблем, связанных, в частности, с отсутствием доступной и воспроизводимой методики изготовления TERS-зондов.

Задача остается актуальной, хотя в настоящее время имеются коммерчески доступные TERS-зонды. Однако, несмотря на чрезвычайно высокую цену, нет гарантии не только достаточного усиления, но и их работоспособности. С этим обстоятельством связано большое количество исследований по разработке методик создания TERS-зондов [2–4]. Основная цель настоящей работы состоит в разработке относительно простой, но эффективной методики изготовления TERS-зондов, которая могла бы быть воспроизведена в большинстве заинтересованных в этом лабораторий без существенного их переоборудования.

На данный момент предложен ряд различных методик изготовления TERS-зондов, включающий в себя существенно различающиеся по идеологии подходы [3–5]. Наиболее часто предлагаемыми методами изготовления зондов являются магнетронное и литографическое нанесение усиливающих плазмонных структур, травление металлических (серебро или золото) игл, прикрепление металлических наностержней к стандартным кантилеверам сканирующих зондовых микроскопов (СЗМ), создание плазмонных усиливающих структур путем осажде-

ния металлических наночастиц в области острия стандартных СЗМ-кантилеверов. Последний из указанных методов видится наиболее перспективным, поскольку технологии изготовления металлических коллоидов в настоящее время хорошо отработаны, а нанесение наночастиц из таких растворов не требует специального и сложного оборудования.

В целом модификация коммерчески доступных СЗМ-кантилеверов является наиболее перспективной методикой, поскольку они значительно удобнее в обращении, чем иглы, приклеиваемые на кварцевые резонаторы. Известны две основные стратегии нанесения металлических наночастиц из коллоидных растворов: химическое присоединение наночастиц к кремниевой поверхности [6] и осаждение методом диэлектрофореза [7] за счет перемещения электрически нейтральных наночастиц в неоднородном электрическом поле [8]. Однако, как следует из многочисленных экспериментов, этим подходам присущ серьезный недостаток, связанный с малым радиусом кривизны стандартных кантилеверов (около 10 nm). Малость радиуса, с одной стороны, обеспечивает получение хороших СЗМ-изображений, но с другой — препятствует уверенному осаждению плазмонных наноструктур. Характерный размер коллоидных наночастиц, например серебра, варьируется в диапазоне 20–70 nm, и такие наночастицы сложно надежно закрепить непосредственно на острие зонда. Это обстоятельство как существенно снижает воспроизводимость методики нанесения (непосредственно кремниевое острие остается непокрытым), так и значительно ухудшает три-

биологические свойства изготавливаемых TERS-зондов: наночастицы часто отрываются от острия. Отметим, что этот недостаток характерен для обеих методик (как с присоединением коллоидных наночастиц, так и при магнетронном напылении).

Предлагаемый подход основан на предварительном изменении геометрических характеристик острий СЗМ-кантилеверов травлением в Ag-плазме и последующем формировании слоя плазмонных наночастиц на острие зонда, наносимого из коллоидного раствора. Данный подход позволяет существенно увеличить площадь соприкосновения наночастиц в области острия зонда и значительно повысить их адгезию.

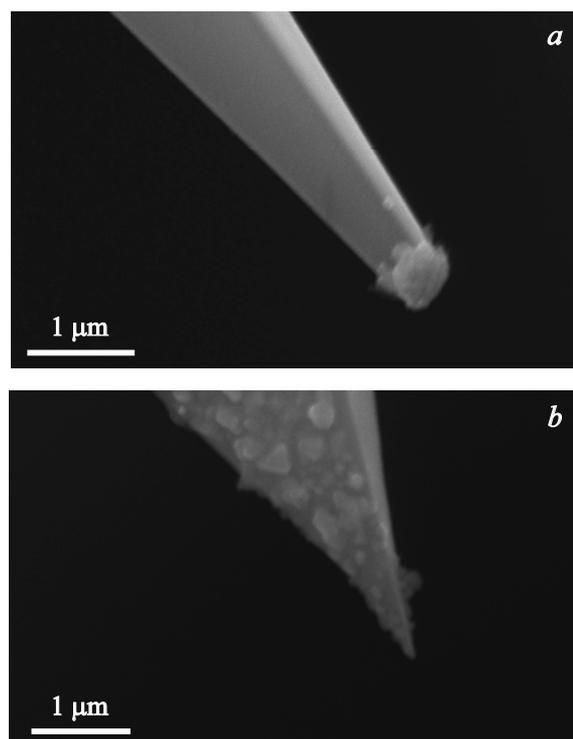
Разработанная нами методика изготовления TERS-зондов включает два этапа: 1) травление стандартных СЗМ-кантилеверов с последующим нанесением серебряного покрытия; 2) осаждение коллоидных наночастиц серебра методом диэлектрофореза.

В качестве исходных были выбраны полуконтактные кремниевые СЗМ-кантилеверы серии VIT\_P/IR (<http://tipsnano.ru/catalog/afm-special/top-visual/vit-p-ir/>) с оптическим доступом сверху. Типичные значения резонансной частоты и силовой константы составляют 300 kHz и 50 N/m соответственно. Выбор таких зондов обусловлен тем, что оптический доступ сверху позволяет работать не только в режиме TERS „на просвет“, т. е. с использованием инвертированной схемы, но и в режиме прямого микроскопа с непрозрачными и толстыми образцами. Кроме того, эти зонды имеют золотое отражающее покрытие на внешней стороне балки кантилевера, что дает возможность использования СЗМ-головок с ИК-лазером в системе дефлектометра. Последнее важно для проведения спектральных измерений в видимом диапазоне, поскольку излучение ИК-лазера дефлектометра хорошо отсекается оптическим высокочастотным фильтром.

Плазменная обработка зонда проводилась в атмосфере аргона при давлении около  $10^{-2}$  Па. Параметры разряда: напряжение 750 V, ток 70–100 mA, расстояние между электродами 200 mm. Время травления 20 min.

Данная процедура позволяет увеличить радиус кривизны исходного зонда до 200 nm. Для лучшей адгезии наночастиц и более эффективного процесса их осаждения на обработанные таким образом зонды наносился слой серебра толщиной около 50 nm.

Коллоидные наночастицы серебра были приготовлены по методике, описанной в [9]. Капля гидрозоля объемом 20  $\mu$ l наносилась на проводящую (золото) подложку, а предварительно обработанный кантилевер закреплялся в СЗМ-головке [7,8]. Обработанный кантилевер подводился к золотой подложке до контакта в режиме обратной связи. Затем отводился на высоту 0.5 mm. Капля гидрозоля наносилась на золотую подложку в непосредственной близости от зонда, и процесс погружения кантилевера контролировался с помощью оптического микроскопа. Процесс нанесения оптимизировался путем варьирования параметров диэлектрофореза: величины приклады-

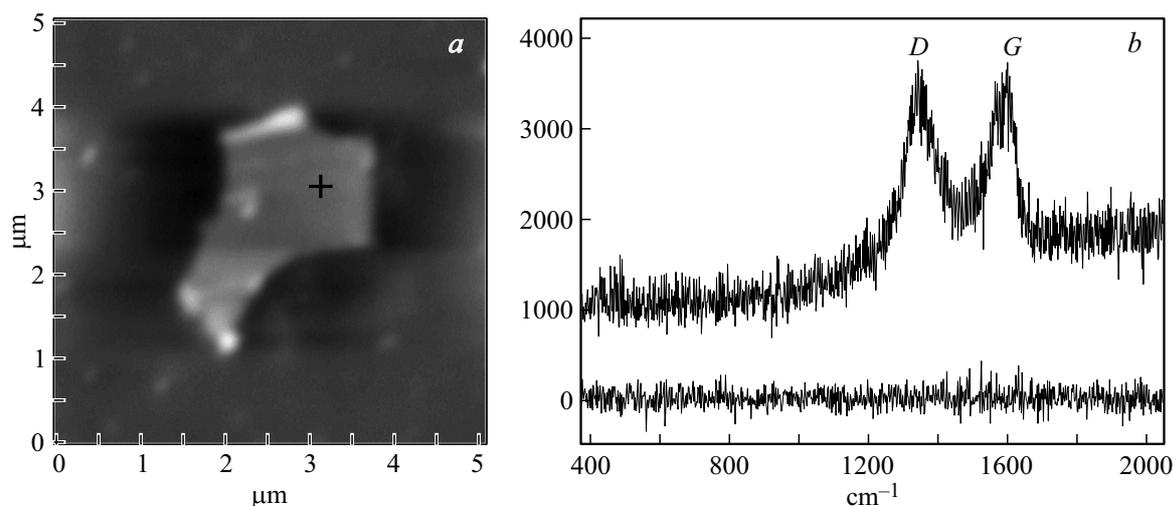


**Рис. 1.** СЭМ-изображения острий СЗМ-кантилеверов. *a* — кантилевер с Ag-наночастицами на вершине, сформированный с использованием плазменного травления и оптимальными условиями диэлектрофореза: величина прикладываемого между кантилевером и подложкой переменного напряжения составляет 8.64 V, его частота 150 kHz, время выдержки острия зонда в коллоидном растворе 1 min. *b* — стандартный СЗМ-кантилевер с осажденными на него Ag-наночастицами.

ваемого между кантилевером и подложкой переменного напряжения (4.4–17.5 V), его частоты (50–1000 kHz) и времени осаждения (0.5–5 min). Контроль полученного результата осуществлялся с помощью метода сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на приборе TESCAN VEGA3. В качестве оптимизируемого параметра осаждения использовалось количество плазмонных наночастиц, локализованных непосредственно на острие зонда.

На рис. 1, *a* представлено СЭМ-изображение острия СЗМ-кантилевера после его модификации травлением в плазме и осаждения коллоидных наночастиц серебра. Для сравнения на рис. 1, *b* приведено изображение СЗМ-кантилевера с нанесенными наночастицами, но без стадии травления. Видно, что, несмотря на присутствие большого количества наночастиц на боковой поверхности зонда, острие зонда остается непокрытым. Выход высокоэффективных TERS-зондов составляет не менее 90%.

Для оценки аналитических возможностей новых зондов в режиме атомно-силового микроскопа (АСМ), а также для получения сигнала TERS в качестве модельных объектов были использованы фрагменты пленок



**Рис. 2.** *a* — атомно-силовое изображение фрагмента пленки оксида графена, выложенного на покровном стекле, полученное с помощью TERS-кантилевера. Крестиком отмечена область получения TERS-спектра. *b* — TERS-спектр оксида графена, полученный с использованием TERS-кантилевера (сверху). Линии при  $1350$  и  $1590\text{ cm}^{-1}$  соответствуют *D*- и *G*-колебательным модам оксида графена. Нижний спектр — то же, но при удалении TERS-кантилевера от образца.

оксида графена. Фрагменты наносились на поверхность покровных стекол Menzel размером  $18 \times 18\text{ mm}$ , тип 1, из водного раствора, который получался добавлением  $1\text{ mg}$  порошка оксида графена (SKU-GO-1G, Graphene Supermarket) к  $1\text{ ml}$  бидистиллированной воды с последующим „озвучиванием“ в ультразвуковой ванне в течение часа. После осаждения  $20\text{ }\mu\text{l}$  раствора оксида графена на поверхность покровного стекла образец высушивался в вакуумном эксикаторе в течение суток.

Критерием оценки качества зондов было сравнение усиления при записи TERS-спектров при использовании разных TERS-кантилеверов. Исследования проводились на системе объединенного СЗМ-микроскопа и конфокального микроспектрметра, являющегося частью уникальной научной установки (УНУ „Система зондово-оптической 3D корреляционной микроскопии“, <http://ckp-rf.ru/usu/486825/>) [10,11].

Модельный образец помещался на предметный столик конфокального микроспектрметра с установленной на нем СЗМ-головкой (SMENA, NT-MDT). Ввод возбуждающего излучения лазера ( $\text{Ar}^+$ , ЛГН-519М, ОАО „Плазма“) и сбор излучения, рассеянного от образца, осуществлялись в инвертированном режиме через объектив  $100\times/0.80\text{ MPLAPON}$  (Olympus). Подлежащее спектральному анализу излучение с помощью оптической системы, включающей конфокальный модуль, передавалось на монохроматор (Shamrock 750, Andor), оборудованный CCD (DU971P-BV, Andor).

На первом шаге проводилось сканирование модельного образца в режиме АСМ с целью выбора фрагмента пленки оксида графена для дальнейшего получения TERS-спектров (рис. 2, *a*). Видно, что TERS-зонды позволяют довольно уверенно идентифицировать искомый объект. Процедура совмещения полей зрения

СЗМ-микроскопа и конфокального микроспектрметра, доступная в УНУ „Система зондово-оптической 3D корреляционной микроскопии“ [10,11], позволяет легко сменить TERS-зонд на стандартный СЗМ-кантилевер, сохраняя геометрическое положение исследуемого образца, и, следовательно, вернуться в ту же точку для получения более качественного АСМ-изображения. Пример TERS-спектра приведен на рис. 2, *b* (верхний спектр). Приведенный спектр хорошо согласуется с ранее опубликованными данными по комбинационному рассеянию и TERS-спектроскопии слоев оксида графена. Хорошо выраженные линии (отношение сигнал/шум не менее 3) при  $1350$  и  $1590\text{ cm}^{-1}$  соответствуют *D*- и *G*-колебательным модам оксида графена [12,13].

Оценка воспроизводимости метода выполнялась путем сопоставления результатов ряда TERS-зондов (в данном исследовании мы сравнивали семь зондов) по значению отношения сигнал/шум. При этом для всего ряда были получены АСМ-изображения одного и того же фрагмента пленки оксида графена. TERS-спектры были также записаны от одной и той же области пленки (рис. 2, *a*). Показано, что разброс значений отношения сигнал/шум для всех TERS-зондов из изготовленной партии не превышал 20%.

Таким образом, разработанная нами воспроизводимая методика изготовления TERS-зондов позволяет избежать главного недостатка при их производстве — невысокой воспроизводимости начальных характеристик с высокой вероятностью разрушения в процессе сканирования. Использование двухстадийного процесса, включающего этап плазменной обработки, позволяет формировать воспроизводимые зонды с высокой эффективностью получения сигнала TERS. Выбор для модификации стандартных СЗМ-кантилеверов серии VIT\_P/IR с оптиче-

ским доступом сверху или их аналогов обеспечивает возможность их одинаково эффективного использования во всех возможных режимах TERS-микроспектроскопии: „на просвет“, в режиме прямого микроскопа и при боковой засветке.

### Финансирование работы

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 19-14-00171).

### Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### Список литературы

- [1] *Shao F., Zenobi R.* // *Anal. Bioanal. Chem.* 2019. V. 411. N 1. P. 37–61. DOI: 10.1007/s00216-018-1392-0
- [2] *Deckert-Gaudig T., Taguchi A., Kawata S., Deckert V.* // *Chem. Soc. Rev.* 2017. V. 46. N 13. P. 4077–4110. DOI: 10.1039/c7cs00209b
- [3] *Yuan C.C., Zhang D., Gan Y.* // *Rev. Sci. Instrum.* 2017. V. 88. N 3. P. 031101. DOI: 10.1063/1.4978929
- [4] *Fujita Y., Walke P., De Feyter S., Uji-i H.* // *Jpn. J. Appl. Phys.* 2016. V. 55. N 8S1. P. 08NA02. DOI: 10.7567/jjap.55.08na02
- [5] *Walke P., Fujita Y., Peeters W., Toyouchi S., Frederickx W., De Feyter S., Uji-i H.* // *Nanoscale.* 2018. V. 10. N 16. P. 7556–7565. DOI: 10.1039/c8nr02225a
- [6] *Taguchi A., Yu J., Verma P., Kawata S.* // *Nanoscale.* 2015. V. 7. N 41. P. 17424–17433. DOI: 10.1039/c5nr05022g
- [7] *Sweetenham C.S., Woolley R.A.J., Notinghe I.* // *J. Nanophoton.* 2016. V. 10. N 3. P. 030502. DOI: 10.1117/1.jnp.10.030502
- [8] *Leiterer C., Wünsche E., Singh P., Albert J., Köhler J.M., Deckert V., Fritzsche W.* // *Anal. Bioanal. Chem.* 2016. V. 408. N 13. P. 3625–3631. DOI: 10.1007/s00216-016-9447-6
- [9] *Gakiya-Teruya M., Palomino-Marcelo L., Rodriguez-Reyes J.* // *J. Meth. Protocols.* 2018. V. 2. N 1. P. 3. doi.org/10.3390/mps2010003
- [10] *Mochalov K.E., Chistyakov A.A., Solovyeva D.O., Mezin A.V., Oleinikov V.A., Vaskan I.S., Molinari M., Agapov I.I., Nabiev I., Efimov F.E.* // *Ultramicroscopy.* 2017. V. 182. P. 118–123. DOI: 10.1016/j.ultramic.2017.06.022
- [11] *Efimov A.E., Agapov I.I., Agapova O.I., Oleinikov V.A., Mezin A.V., Michael M., Nabiev I., Mochalov K.E.* // *Rev. Sci. Instrum.* 2017. V. 88. N 2. P. 023701. DOI: 10.1063/1.4975202
- [12] *Kaniyoor A., Ramaprabhu S.* // *AIP Adv.* 2012. V. 2. N 3. P. 032183. DOI: 10.1063/1.4756995
- [13] *Smolsky J.M., Krasnoslobodtsev A.V.* // *Nano Res.* 2018. V. 11. N 12. P. 6346–6359. DOI: 10.1007/s12274-018-2158-x