

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ ИМ. АКАДЕМИКОВ М.М.
ШЕМЯКИНА И Ю.А. ОВЧИННИКОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Залыгин Антон Владленович

**СИСТЕМА ЗОНДОВО-ОПТИЧЕСКОЙ 3D КОРРЕЛЯЦИОННОЙ
МИКРОСКОПИИ И ЕЁ ПРИМЕНЕНИЕ В ИССЛЕДОВАНИИ
СВОЙСТВ НАНОМАТЕРИАЛОВ**

Специальность: 01.04.01 «Приборы и методы экспериментальной физики»

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Москва - 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки
Институте биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук (ИБХ РАН)

Научный руководитель:

Олейников Владимир Александрович
Доктор физико-математических наук,
Зав. лабораторией молекулярной
биофизики, зав. отделом биоматериалов и
бионанотехнологий, ученый секретарь ИБХ
РАН

Научный консультант:

Разумовская Ирина Васильевна
Доктор химических наук,
научный руководитель УНЦ
функциональных и наноматериалов МПГУ,
профессор

Официальные оппоненты:

1. Бункин Николай Федорович,
Доктор физико-математических наук,
профессор по кафедре физики (ФН-4)
ФГБОУ ВО «МГТУ им. Н.Э. Баумана»

2. Харинцев Сергей Сергеевич
Доктор физико-математических наук,
доцент, кафедра оптики и нанофотоники,
отделение физики, институт физики КФУ

Ведущая организация: федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет
информационных технологий, механики и оптики» (Университет ИТМО)

Защита состоится «__» _____ 2019 года в __ час. __ мин. на заседании диссертационного
совета Д 002.135.01 на базе ФГБУН «Научно-технологический центр Уникального
приборостроения» РАН по адресу 117342, Москва, ул. Бутлерова, 15, в конференц. зале.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Научно-технологического центра
уникального приборостроения РАН и на сайте
<http://ntcup.ru/zashhita-dissertacij/>

Автореферат разослан «__» _____ 20__ года.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 002.135.01,
к.ф.-м.н.

Д.Ю. Великовский

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Темп и качество развития современной нанотехнологичной продукции, а также грамотная корректировка и усовершенствование технологий её производства напрямую зависят от технических возможностей оборудования, используемого для исследования наноматериалов. Кроме того, важными факторами являются доступность необходимого для исследований оборудования и его многофункциональность.

Сегодня одними из приоритетных направлений исследований являются исследования новых материалов на основе жидких кристаллов со свойствами, управляемыми оптическим (лазерным) излучением. В основу таких систем положены жидкокристаллические матрицы, содержащие молекулы, изомеризующиеся под действием лазерного излучения. Примерами применения таких систем являются оптические устройства с селективным отражением/пропусканием света (оптические фильтры, устройства для записи/хранения информации, материалы для криптографии), а в случаях допирования ЖК матрицы флуорофорами, устройства с селективной и управляемой оптическим излучением флуоресценцией. Другим важным свойством ЖК матриц с изомеризующимися молекулами является способность изменять свою геометрическую форму при воздействии лазерного излучения. То есть, это системы, способные к прямому преобразованию энергии лазерного излучения в энергию механического перемещения. В настоящее это свойство используется для разработки так называемых актуаторов, предназначенных для применения, например, в микрофлюидных устройствах: клапаны, переключатели, микронасосы, не требующие подвода электрической энергии и способные работать в изолированных системах, что очень важно для медицинских применений. Оба направления представляются чрезвычайно важными в создании новых устройств для фотоники и медицины. На пути этих разработок необходимо понимание процессов взаимодействия лазерного излучения как с ЖК матрицами. Исследование этих процессов представляет собой сложную задачу, поскольку воздействие лазерного излучения в общем случае ограничено локальной областью, определяемой областью фокусировки луча и глубиной проникновения излучения в ЖК матрицу, прозрачность матрицы зависит от длины волны падающего излучения, ЖК матрица анизотропна, а лазерное излучение поляризовано, что индуцирует неоднородность распределения энергии. В целом, процессы и результаты воздействия существенно различны в разных точках исследуемого материала. Это обуславливает необходимость развития новых инструментальных методов, позволяющих получать информацию о пространственном распределении физико-химических параметров исследуемого материала с пространственным разрешением на уровне нанометрового диапазона.

К настоящему времени, в решении задач определения 3-D структуры и 3-D распределений свойств и состава объектов с высоким пространственным разрешением, хорошо зарекомендовала себя корреляционная микроскопия. Её главным достоинством является возможность получения качественно разных комплементарных данных в одной и той же области образца за счёт объединения

различных микроскопических и спектроскопических методов. Посредством такого подхода возможно определить наномасштабную трёхмерную морфологию, химический состав, физические параметры образца, а также произвести оценку корреляции между этими характеристиками. Чаще всего используют схему, представляющую собой совокупность электронной микроскопии (ЭМ) и оптической микроспектроскопии (ОМ). И, хотя, данная комбинация способна обеспечить высокое пространственное разрешение в сочетании с возможностью анализа флуоресценции образца и проведения КР- или ИК-спектроскопии, минусами схемы являются низкая контрастность и повреждающий эффект электронного луча. Более того, необходимость использования двумерных проекций трёхмерного образца ограничивает применимость многих методов ЭМ. Другим распространённым вариантом, является соединение ОМ со сканирующим зондовым микроскопом (СЗМ). В отличие от электронного микроскопа СЗМ не оказывает разрушающего воздействия на образцы, не требует вакуумных условий измерений, не дает затенений одного объекта другим при высокой плотности непрозрачных для электронного пучка объектов.

Недостатки вышеупомянутых схем можно обойти с помощью подхода, основанного на комбинации методов сканирующей зондовой микроскопии (СЗМ) и ультрамикротомии (УМТ) – сканирующей зондовой нанотомографией (СЗНТ). При этом, с образца последовательно срезаются ультратонкие (до 20 нм) слои и на каждом шаге проводится сканирование поверхности методом СЗМ. Это позволяет восстанавливать 3D-морфологию исследуемых объектов. Кроме того, данный метод можно использовать для оценки трёхмерных распределений физических параметров исследуемого образца (модуля упругости, вязкости, магнитных свойств, электропроводности), а работу с исследуемым материалом возможно проводить как при комнатной температуре, так и в криокамере микротомы, что является существенным плюсом при исследовании инструментов современной иммунодиагностики. Ограничением данного подхода является невозможность одновременного проведения ещё и наномасштабного анализа химического состава образца.

Для преодоления этого ограничения в рамках настоящей диссертации разработана единая экспериментальная установка, в которой осуществлена корреляционная связь СЗНТ с ОМ. Создание такого универсального устройства позволяет быстро и в едином формате получать корреляционные данные от применения различных методов СЗМ и различных спектральных методик. Таким образом, будет возможно производить трёхмерное многопараметрическое исследование интересующих материалов. Подход достаточно универсален: кроме систем на основе ЖК, в том числе с включенными в ЖК матрицы флуоресцентными нанокристаллами, разработанный инструмент позволяет получать 3-D распределения физико-химических параметров биологических образцов. При использовании специальных флуорофоров, инструмент легко модифицируется для проведения практически всех методов оптической микроскопии сверхвысокого разрешения: стохастическая оптическая реконструктивная микроскопия (STORM), фотоактивируемая локализационная микроскопия (PALM)

и стимулированная эмиссионная микроскопия (STED). Также важно отметить, что принцип использования эффектов перераспределения и экстремальной локализации электромагнитного (э/м) поля в окрестностях наконечников сканирующих зондов, используемый для осуществления корреляционной связи СЗНТ с ОМ, подойдёт и для разработки 3D – версий почти всех ближнепольных СЗМ, активно развивающихся в последнее время. Кроме того, разработка устройства, объединяющего СЗНТ с ОМ в одном приборном блоке позволит осуществлять исследования в крайне актуальной на сегодняшний день области нанотехнологий независимо от иностранных технологических разработок, так как данная разработка является уникальным отечественным высокотехнологичным прибором.

Цель работы: осуществление корреляционной связи СЗНТ с ОМ в единой экспериментальной установке таким образом, чтобы с её помощью возможно было быстро и при минимальной модификации получать данные о наномасштабной трёхмерной морфологии, физических параметрах и химическом составе, и изучение посредством неё свойств полимерных инструментов иммунодиагностики, а также нанокompозитных материалов с инкорпорированными в них квантовыми точками.

Исходя из этой цели, были поставлены следующие **задачи:**

1. Разработать специализированную систему сканирования СЗМ для решения проблем, связанных с отсутствием оптического доступа для высокоапертурных линз и с высоким уровнем шума.
2. Разработать технологию отведения головки специализированной системы сканирования СЗМ для уменьшения веса ультрамикротомы (УМТ) в процессе осуществления разреза и для реализации пространственной изоляции держателя кантилевера от ножа УМТ в момент разделения УМТ.
3. Разработать схему комбинации модернизированного блока СЗНТ и оптической части устройства.
4. Исследовать с помощью собранной установки образование кратеров на плёнках жидких кристаллов.
5. Исследовать с помощью собранной установки распределение квантовых точек (КТ) в жидких кристаллах.
6. Исследовать с помощью собранной установки флуоресцентные магнитные микросферы COOH QuantumPlex™ размером 5,5 мкм (Bangs Laboratories, Inc., США), используемые на сегодняшний день в иммунодиагностике.
7. Разработать методики изучения для каждого из перечисленных в пунктах 4-6 материалов.

Научная новизна. В отличие от существующих на сегодняшний день корреляционных схем, используемых для исследования различных нанотехнологичных материалов, представленная в данной работе система позволяет проводить многопараметрический корреляционный анализ объемных наноструктурных композиционных материалов, включающий в себя данные с АСМ, МСМ, а также конфокальной лазерной сканирующей микроскопии. Кроме того, современное состояние разработанной системы корреляции СЗНТ с ОМ позволяет выполнять 3D – версии усиленного острием комбинационного рассеяния и сканирующей ближнепольной оптической микроскопии. Также при

реализации несущественных изменений в системе возбуждения лазера возможно реализовать 3D – версию новой технологии фотоиндуцированной силовой микроскопии. Ещё одним новшеством является возможность одинаково качественно исследовать как твёрдые полупроводниковые наноматериалы, так и мягкие полимерные композиты, содержащие в своём составе различные наночастицы, а также непрозрачные биологические образцы. При этом полимеры и биологические образцы не подвергаются воздействию вакуума и радиационного излучения, что может привести к их разрушению, так как в собранной схеме отсутствует ЭМ. Кроме того, высокая скорость снятия данных позволяет исследовать образцы, характеризующиеся короткоживущими фотоциклами.

Практическая значимость полученных результатов. Разработанное устройство позволяет осуществлять одновременную характеризацию наномасштабных морфологических, а также магнитных и оптических характеристик исследуемых нанотехнологичных образцов, в том числе мягких композитных полимеров и биологических образцов. Были разработаны и продемонстрированы методики исследования плёнок жидких кристаллов, нанокомпозитов жидких кристаллов и КТ, а также флуоресцентных магнитных микросфер, являющихся современным инструментом иммунодиагностики. Это позволяет улучшить контроль качества подобных структур и, тем самым, ускорить темп развития нано- и микроустройств. Кроме того, разработанное в данной работе устройство позволяет занять отечественной отрасли развития и разработки нанотехнологий гораздо более независимое от иностранных разработок положение, а также уменьшит финансовые и временные затраты исследовательских лабораторий на закупку и поиск разнообразного подходящего оборудования.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Сфокусированное лазерное излучение формирует кратеры в плёнках ЖК микронной толщины и не оказывает воздействия на плёнки толщиной до 200 нм. Хиральность плёнок не влияет на это свойство.
2. Разработанная методика и приборный комплекс позволяют оценить, что CdSe/ZnS КТ растворяются в гибридной матрице холестерических ЖК в массовой концентрации $5 - 7,5 \cdot 10^{-4} \%$ не нарушая её структуры, среднее расстояние между КТ составляет 150 нм. Избыточные КТ скапливаются в областях дефектов ЖК-матрицы в виде кластеров диаметром 1,5 мкм и занимают меньшую часть образца.
3. Созданная научная установка, объединяющая СЗМ, ОМ и УМ в едином устройстве, позволяет реализовать специально разработанный метод СЗНТ-ОМ, возможности которого по 3D-анализу гибридных наноматериалов продемонстрированы на флуоресцентных магнитных микросферах. Данное устройство позволяет получать 3D-характеристику морфологии, химического состава, межкомпонентного взаимодействия, механических, электрических, магнитных, а также других свойств объёмных композитных материалов

Личный вклад соискателя. Все этапы работы, включая разработку методик, проведение экспериментов, обработку и анализ полученных результатов были проведены лично автором или при его непосредственном участии.

Степень достоверности и апробация работы. Основные материалы диссертации были доложены и обсуждены на международной конференции «Advances in Functional Materials Conference» (Университет Стони Брук, США, 2015, июнь 29 – июль 3), стендовый доклад и устный доклад, Первой международной научной конференции «Наука будущего» (С.-Петербург, 2014, 17-20 сентября), стендовый доклад, международной конференции «Integrated photonics: materials, devices, and applications II» (Гренобль, Франция, 2013, 24-26 апреля), стендовый доклад, международной конференции International Workshop «Laser Physics» (Прага, Чехия, 2013, 15-19 июля), стендовый доклад, международной конференции «Европейский полимерный конгресс» «EPF-2013» (Пиза, Италия, 2013, 16-21 июня), стендовый доклад и устный доклад, XXII международной молодежной научной школе «Когерентная оптика и оптическая спектроскопия» (Казань, 2018, 9-11 октября), стендовый доклад, Конференции-школе молодых учёных с международным участием «Достижения и перспективы супрамолекулярной и биологической химии в биомедицине и сельском хозяйстве» (Москва, 2017, 4-8 декабря), устный доклад, V Съезде физиологов СНГ, V Съезде Биохимиков (Сочи, 2016, 4-9 октября), стендовый доклад.

Опубликованные результаты. По теме диссертации опубликовано 16 печатных работ: 15 статей (в том числе 13, входящих в базы Scopus и Web of Science; 5 – по материалам конференций) и 1 патент на изобретения.

Структура и объём диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, трёх глав, заключения и списка литературы. Полный объём диссертации составляет 101 страницу текста с 41 рисунком. Список литературы включает 116 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **Введении** обоснована актуальность темы диссертационной работы, сформулированы ее основные задачи, показана научная новизна и практическая значимость результатов, представлена структура диссертации.

Первая глава состоит из трёх разделов. Первый посвящен методам сканирующей зондовой микроскопии, оптической микроскопии и микротомии. Второй раздел описывает современные подходы корреляционной микроскопии, их преимущества и недостатки. В третьем разделе рассмотрены основные материалы, использовавшиеся в работе: жидкие кристаллы, квантовые точки и оптически кодированные микросферы.

В первом разделе **второй главы** описано создание экспериментальной установки, представляющей собой комбинацию системы сканирования СЗМ и ПОМ (рис. 1, слева). Для исследования образцов с помощью такой установки после предварительной подготовки эти образцы помещали в верхнюю часть сканирующей XY-пьезоплатформы (SmartSPM, AIST-NT), присоединённой к XY-спозиционированному столику для инвертированной оптической микроскопии. К этому же столику была присоединена голова АСМ (SmartAFM, AIST-NT), причём таким образом, чтобы наконечник зонда АСМ был расположен всего в нескольких микрометрах от оптической оси.

В качестве источника излучения в установке был использован перестраиваемый Ar лазер, настроенный на длину волны излучения равную 532 нм. (LCM-S-111, LASER-EXPORT Co. Ltd). Положение лазерного пучка было отрегулировано таким образом, чтобы он был направлен в ту же область, где находится наконечник зонда АСМ. Регулировка осуществлялась посредством зеркала на АСМ-голове (рис. 1 пунктирная коробка). Интенсивность излучения в соответствии с измерениями, произведёнными с помощью измерителя интенсивности LaserMate-Q (Coherent), была равна 0.063 мВт. Диаметр лазерного пучка был равен 30 мкм.

Все оптические изображения были получены с помощью вертикального микроскопа Optem Zoom 125C, настроенного на общую оптическую ось, проходящую через ту же точку, в которой находится остриё зонда АСМ. Система кросс-поляризованного освещения была составлена из ACE®Light Source, самодельной системы конденсаторных линз, двух полимерных линейных поляризационных плёнок, одна из которых была помещена напрямую на конденсер под фиксированным углом и выполняла роль поляризатора, а другая помещена во вращающийся соединитель CCD с микроскопом и выполняла роль анализатора.

При помощи этой экспериментальной установки, представляющей собой комбинацию системы сканирования АСМ, вертикального ОМ, столика для инвертированной оптической микроскопии и системы кросс-поляризованного излучения, было проведено сравнительное исследование фотоиндуцированных изменений топографии в нескольких разных типах частично упорядоченных сред, а именно в азобензолсодержащем нематическом полиакрилате PAzo4M и в холестерической

смеси того же полимера с хиральной фотохромной легирующей добавкой Sorb. Было показано, что сфокусированное облучение лазером приводит к образованию кратеров исключительно в толстых плёнках (10-20 мкм), в тонких плёнках (100-200 нм) они не образуются вовсе. А хиральная структура плёнки не оказывает воздействия на кинетику образования и глубину кратеров.

Во втором разделе главы описано исследование трёхмерной структурной организации и оптических характеристик гибридного материала, содержащего холестерические ЖК матрицы с инкорпорированными в них КТ. Гибридный материал, исследованный в данной работе, представляет собой смесь SilBlue (96.3 % по массе), Sorb (3.2 % по массе) и двух типов CdSe/ZnS КТ (одни с $\lambda_{ФЛ}$ =530 нм (0.05 % по массе); другие с $\lambda_{ФЛ}$ =604 нм (0.5 % по массе)). Полученная смесь получилась однородной, а добавление КТ не привело к её замутнению. Для оптических и морфологических исследований были подготовлены плёнки толщиной примерно 20 мкм.

Общую конструкцию разработанной в данном эксперименте установки можно разделить на два основных структурных элемента: первый – СЗНТ; второй – объединение СЗМ с ОМ. С помощью СЗНТ осуществлялись ультрамикротомирование образца и его 3D реконструкция.

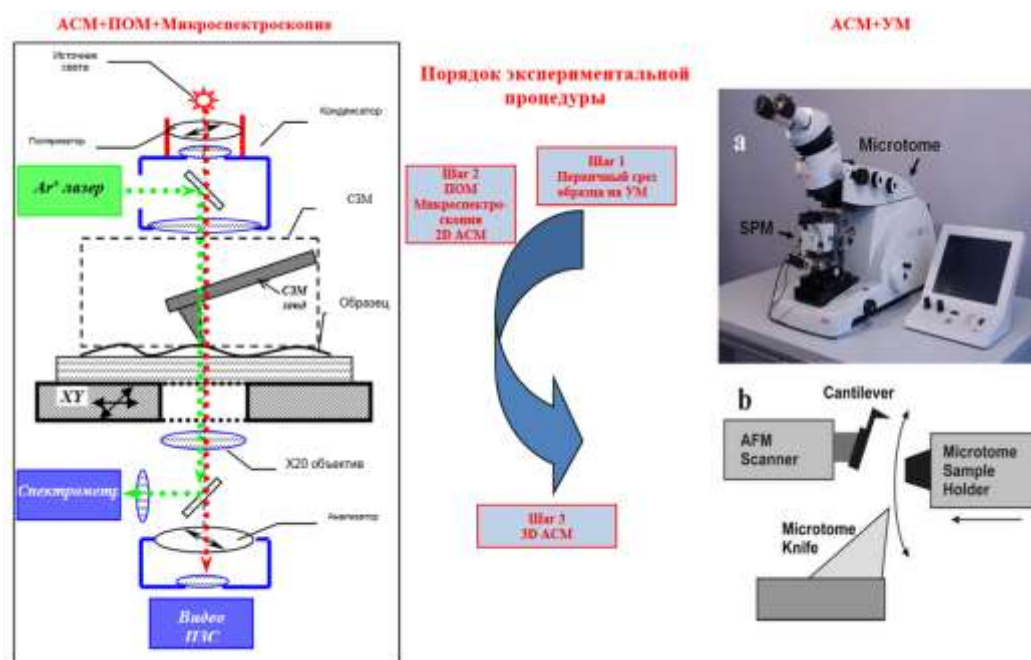


Рис. 1. Справа: (а) Общий вид установки для СЗНТ; (б) принципиальная схема работы СЗНТ.

Слева: схема комбинации СЗМ, ОМ и конфокальной микроскопии.

В качестве элемента, соединяющего СЗМ с ОМ, был использован вертикальный микроскоп, описанный в разделе 2.1. Спектры флуоресценции были записаны при помощи автоматизированного монохроматора/спектрографа M266 SOLAR Laser Systems (Беларусь) с использованием CCD U2C – 16H7317 Ormins (Беларусь) и самодельной светособирающей системы, состоящей из двух длинноволновых фильтров Semrock 488-nm RazorEdge® ultrasteep (США). Для возбуждения флуоресценции был использован упомянутый Ar⁺ лазер, излучающий на длине волны 488 нм. Интенсивность лазерного излучения была равна 0.063 мВт. Для возбуждения флуоресценции луч был

сфокусирован на пятно диаметром примерно 30 мкм. Запись спектра флуоресценции осуществлялась в инвертированном режиме с использованием объектива LCPlanFI 20X/0.40 Olympus (Япония) и самодельного конфокального блока с двумя 100 мм объективами и диаметром выходного зрачка равным 100 мм.

Для начала с помощью УМ, расположенного в СЗНТ части экспериментальной установки, было произведено первичное секционирование ЖК – плёнок (рис. 1, шаг 1). Для этого образец был помещён на специальную стеклянную подложку, обеспечивающую необходимую плоскость поверхности для корреляции данных СЗМ и ОМ. Площадь секционированного блока составила не более 1мм². Следующим шагом стало изучение полученной секции с помощью СЗМ–ОМ элемента экспериментальной установки (рис. 1, шаг 2). Были получены изображения подготовленной секции с ПОМ, сняты спектры её флуоресценции, а также с помощью АСМ получены изображения её поверхностной топографии. Исследуемая секция была помещена на верх столика для инвертированной ОМ с открытой оптической осью. 2D–АСМ изображения были сняты для того, чтобы было возможно найти тот же участок поверхности во время реконструкции 3D объекта на СЗНТ в дальнейшем.

Далее уже исследованная область секционированного образца была расположена соответствующим образом с помощью ОМ и АСМ для определения её 3D структуры посредством СЗНТ (рис. 1, шаг 3). 3D реконструкция была получена по принципу чередования визуализации поверхности с ультрамикротомированием. Минимальная толщина секции, которая была использована в данном подходе, составила 50 нм. В качестве программного обеспечения для 3D реконструкции была использована программа для постобработки ImagePro Plus 6.0 Media Cybernetics Inc. с подключенной опцией 3DConstructor для автоматического выравнивания изображений и их трёхмерной визуализации.

Для 3D реконструкции периодической структуры матрицы из холестерических ЖК с КТ смесь из КТ и холестерических ЖК была нанесена на подложку из РТФТ, а затем залита эпоксидной смолой. Секционирование производилось в плоскости, параллельной оси спирали. Далее была проведено последующее множественное ультрамикротомирование при контролируемой толщине получаемых срезов, которые затем были так же исследованы при помощи АСМ.

В результате анализа методом ПОМ на большей части площади исследуемых плёнок не было выявлено каких–либо признаков агрегации или разделения фаз, т.е. композитные наногибридные плёнки характеризовались однородной структурой. На ПОМ–изображении подготовленной секции наногибридной плёнки (рис. 2(а)) видны как гладкие ЖК–структуры (зелёный круг), так и дефектные области (синий круг). При этом важно отличать типовые дефекты в виде «масляных» полос от дефектов, вызванных агрегацией КТ внутри ЖК–матрицы (синий круг).

Следующим этапом исследования были запись и анализ микрофлуоресцентных спектров лево- и правосторонних циркулярно поляризованных компонент флуоресценции КТ внедренных в холестерическую ЖК–матрицу. Видно, что дефектные области характеризуются спектрами

флуоресценции, представляющими собой композицию спектров флуоресценции инкорпорированных в матрицу КТ. В планарной области наблюдается существенная модуляция левой циркулярно поляризованной компоненты флуоресценции КТ в области пика селективного отражения ЖК-матрицы при 590 нм, характерного для материалов из холестерических ЖК с «идеальной» структурой. В дефектной зоне подобной модуляции не наблюдается (рис. 2 (b)). Эта модуляция характеризуется коэффициентом диссиметрии флуоресценции, который может быть выражен как:

$$g_e = 2(I_L - I_R) / (I_L + I_R), \quad (1)$$

где g_e – коэффициент диссиметрии флуоресценции; I_L и I_R являются, соответственно, лево- и правосторонней циркулярной поляризацией компонентов спектра флуоресценции КТ.

Значительный отрицательный g_e (рис. 2(c)) однозначно указывает на правильную плоскую структуру наногибридной матрицы из холестерических ЖК и КТ в данной области.

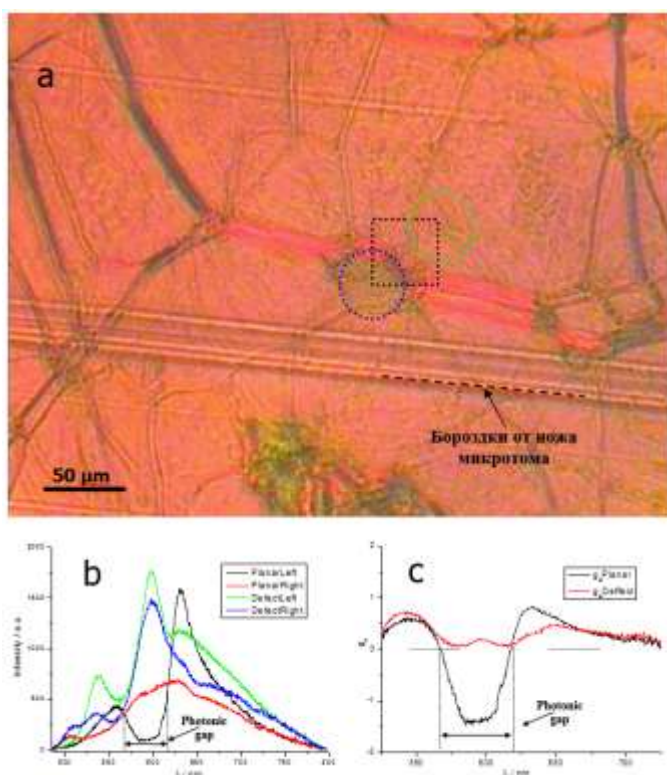


Рис. 2. (a) ПОМ-изображение ультрамикротомированной области поверхности гибридного материала КТ – холестерических ЖК. Зелёный круг – область получения спектров флуоресценции от планарного участка, синий круг – область получения спектров флуоресценции от дефектного участка. Чёрный квадрат – участок, отсканированный с помощью АСМ, на котором находятся как планарные области, так и дефектные.

(b) Право- и левосторонне циркулярно поляризованные компоненты спектра флуоресценции.

(c) Факторы диссиметрии флуоресценции g_e .

По итогам исследования плёнок методом ПОМ можно было чётко охарактеризовать наличие и соотношение областей с гладкой поверхностью с дефектными областями. На следующем этапе исследования уже было необходимо получить данные касательно того, каким конкретно образом располагаются КТ в плоских областях наногибридных плёнок: рассредоточены ли они по поверхности или же формируют микрокластеры. Также необходимо было выяснить степень растворимости инкорпорированных в гибридную ЖК–матрицу КТ. Для этих задач были проведены исследования посредством совмещённого СЗНТ–ОМ модуля (рис. 1, шаг 3). Был проведён структурный 2D- и 3D–анализ распределения КТ в гладких и дефектных областях участка того же среза, что и при исследованиях на ПОМ. АСМ–изображение (рис. 3(a)) соответствует площади, ограниченной чёрным квадратом на рис. 2 (a). На изображении видно, что агрегаты КТ в большей степени располагаются в

дефектных областях матрицы, нежели в гладких и ровных. Также важно отметить, что и в ровных областях наблюдаются агрегаты КТ, однако там они расположены внутри зоны «масляных» полос, представляющих собой естественные дефекты плоской структуры из холестерических ЖК.

Для 3D-реконструкции распределения КТ внутри наногибридной матрицы был использован метод СЗНТ (рис. 3(b), (c)). Плоскость секционирования была расположена перпендикулярно оси спирали холестерических ЖК, что позволило уменьшить объём наблюдаемого фона и получить чёткую 3D-реконструкцию отдельных КТ внутри ЖК – матрицы.

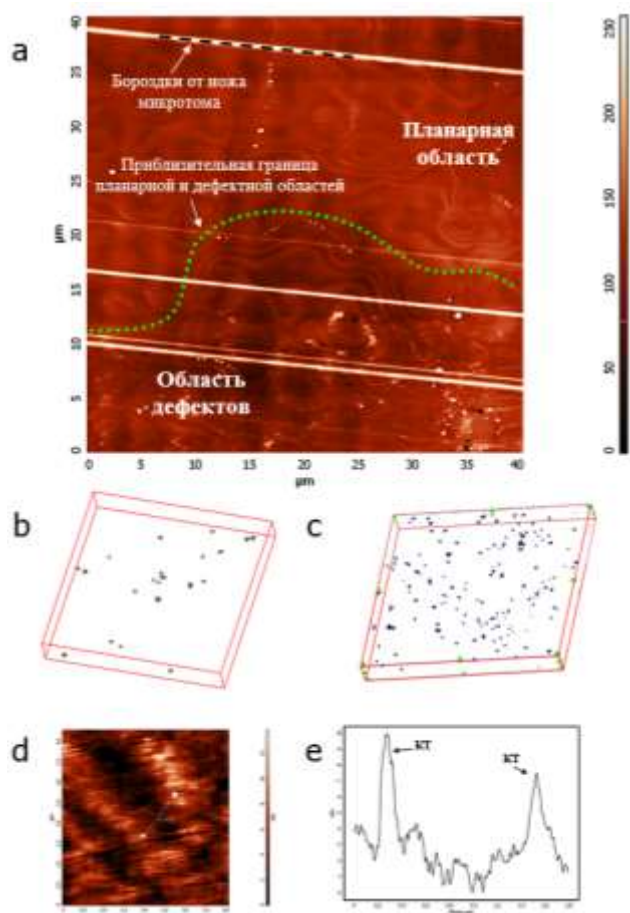


Рис. 3. (a) АСМ-изображение участка (40x40 мкм) гибридного образца КТ - холестерические ЖК, включающего как плоские, так и дефектные области.

(b) СЗНТ 3D-реконструкция распределения КТ на плоской области 5.0×5.0×0.7 мкм исследуемого участка гибридного образца.

(c) СЗНТ 3D-реконструкция распределения КТ на дефектной области 50×50×5.0 мкм исследуемого участка гибридного образца. Ось Z соответствует оси холестерической спирали ЖК-матрицы.

(d) АСМ-изображение плоской области исследуемого участка гибридного образца (одно из множества, используемых для получения 3D-реконструкции).

(e) Профиль поперечного сечения участка АСМ-изображения (рис. 3(d) вдоль пунктирной линии).

На рис. 3(d) и (e) отчётливо видны две расположенные отдельно друг от друга КТ. В дефектных зонах КТ агрегированы в мини кластеры со средним диаметром около 1,5 мкм (рис. 3(c)). Примечательно, что несмотря на то, что размеры кластеров значительно меньше общей толщины гибридной матрицы холестерических ЖК, они всё же оказались достаточно большими для того, чтобы разрушить плоскую структуру образца в той области, в которой они находятся (рис. 2).

Для оценки количества и концентрации однородно распределённых в гибридной ЖК – матрице КТ, а также для оценки соответствующего значения их растворимости в этой матрице была использована следующая процедура, основанная на данных, представленных на рис. 3:

$$W_{\text{homo}} = (\rho/\rho_0) \cdot N \cdot v_{\text{QD}}, \quad (2)$$

где $\rho = 5,8 \text{ г/см}^3$ – плотность ядра CdSe/ZnS КТ со структурой ядро/оболочка; $\rho_0 \approx 1 \text{ г/см}^3$ – плотность матрицы холестерических ЖК; $v_{\text{QD}} = 1,715 \cdot 10^{-25} \text{ м}^3$ – средний объём КТ без оболочки из

триоктилфосфиноксида; N – объёмная концентрация однородно растворённых КТ в исследуемом образце, причём она была рассчитана из

$$N = (N_{\text{obs}}/V) \cdot (h/d_{\text{QD}}), \quad (3)$$

где N_{obs} – подсчитанное количество КТ в анализируемом 3D – реконструированном объеме (в соответствии с Рис. 3(b), $N_{\text{obs}} = 22$); $h = 50$ нм – толщина ультрамикротомированной секции; $V = 17,5$ мкм³ – объем образца (Рис. 3b)); $d_{\text{QD}} \approx 10$ нм – средний диаметр КТ с оболочкой из триоктилфосфиноксида.

Получается, что объёмная концентрация однородно растворённых в исследуемом образце КТ $N = (6,28 \pm 1,33) \cdot 10^{18}$ м⁻³. А согласно уравнению (2) процент по массе однородно растворённых КТ в матрице холестерических ЖК W_{homo} был равен $(6,25 \pm 1,32) \cdot 10^{-4}\%$ по массе. Сравнив этот показатель с массовой долей изначально внедрённых в матрицу КТ, было получено, что только один из 40 добавленных в матрицу кристаллов КТ был действительно однородно в ней растворён.

При всём вышесказанном необходимо отметить, что анализ ПОМ–изображений и записанных спектров флуоресценции с большей площади исследуемого гибридного образца показал, что его большая часть характеризуется гладкой и плоской структурой без каких–либо дефектов (диаметр возбуждающего лазерного пучка 2 мм). Такое состояние объясняется тем, что дефектные области, содержащие кластеры, занимали меньшую часть общего объёма образца, а, следовательно, они не могли существенно повлиять на макроскопические оптические свойства исследуемого наногибридного материала.

Последним вопросом, касающимся характеристики наногибридного материала на основе холестерических ЖК и КТ, является вопрос о максимальной допустимой концентрации КТ в этом материале. Несмотря на то, что, как было показано выше, общая плоская и гладкая структура гибридной ЖК–матрицы не была нарушена в зонах однородного распределения КТ, все же возможно, что гибридная матрица подвержена локальному воздействию КТ, проявляющемуся максимально сильно в непосредственной близости от каждой КТ и теряющему свою силу по мере увеличения расстояния от каждой конкретной КТ. Для того, чтобы разобраться с этим моментом, была проделана 3D–реконструкция гладкой области гибридного образца методом СЗНТ (рис. 4). Плоскость сечения при этом была подобрана параллельно оси спирали исследуемого материала. На рис. 4 (а) показано восстановленное 3D–изображение структуры гибридной матрицы на основе холестерических ЖК и КТ в области однородного распределения КТ. Видно, что на изображении отсутствуют какие–либо агрегаты КТ или неровности поверхностной структуры. Также стоит отметить, что никаких дефектов поверхности не наблюдается и на АСМ–изображениях этого же участка поверхности образца, причём даже в окрестностях отдельных КТ (рис. 4 (b), (c)). Таким образом, исходя из всего вышесказанного, был сделан вывод о том, что при использовании подходящих поверхностно – активных веществ объёмная концентрация однородно распределённых КТ может быть существенно увеличена без

значительного искажения плоской структуры матрицы холестерических ЖК. Причём для исследуемого образца объёмная концентрация КТ, инкорпорированных в гибридную ЖК–матрицу, может быть увеличена без потери качества гибридного материала на целый порядок.

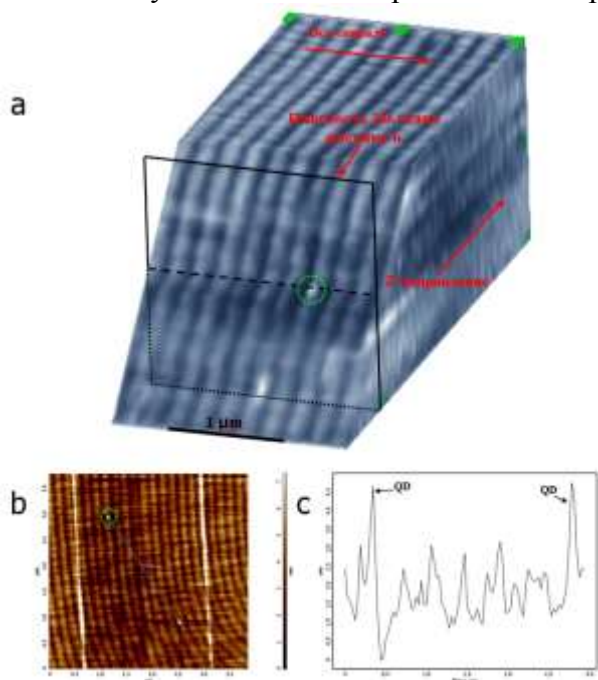


Рис. 4. (а) СЗНТ 3D–реконструкция периодической структуры матрицы холестерических ЖК с инкорпорированными в неё КТ на плоской области образца. Зелёный круг – отдельная инкорпорированная в матрицу КТ.

(б) одно из АСМ–изображений, использованных для 3D–реконструкции. Зелёный круг – та же отдельная КТ, что и на рис. (а).

(с) профиль поперечного сечения АСМ–изображения, показанного на рис. (б) вдоль пунктирной линии.

Результатами данного исследования стала разработка установки с объединёнными СЗМ и ОМ, создание уникальной экспериментальной процедуры структурной характеристики, позволяющей на одном и том же участке образца проводить измерения методами АСМ, ПОМ и флуоресцентной микроспектроскопии, а также восстанавливать 3D–структуру образца посредством СЗНТ. Был разработан метод оценки гомогенной растворимости единичных КТ в холестерической ЖК–матрице, основанный на анализе их 3D распределения и вычислении объёмного процента единичных КТ в анализируемом объеме. С помощью установки и этих подходов были определены следующие характерные черты и свойства исследованных наногибридных полимерных плёнок на основе холестерических ЖК и КТ:

- 1) Максимальная массовая доля однородно растворённых в гибридной ЖК–матрице КТ составила $7,5 \cdot 10^{-4}\%$, т. е. только одна из 40 инкорпорированных в матрицу КТ действительно была в ней однородно растворена.
- 2) В связи с низкой аффинностью поверхности КТ к поверхности ЖК–матрицы более 97% инкорпорированных в гибридную ЖК–матрицу КТ агрегировали в кластеры со средним диаметром около 1,5 мкм.
- 3) Кластеры КТ расположены только в дефектных областях гибридной ЖК–матрицы и занимают меньшую часть общей поверхности образца.
- 4) Большая часть гибридной матрицы из холестерических ЖК и КТ характеризуется гладкой и ровной структурой, а также высоко отрицательным коэффициентом диссиметрии флуоресценции ($g_e \approx 1.5$), свидетельствующем о высоком качестве материала.

5) Особого влияния отдельных КТ на структуры гибридной ЖК-матрицы обнаружено не было. Среднее расстояние между отдельными КТ на плоских и гладких участках составило около 150 нм, что в теории позволяет увеличить объёмную концентрацию КТ в гибридной матрице как минимум на порядок, не разрушая при этом структуру самой матрицы.

Разработанная для исследования наногибридных плёнок холестерических ЖК с инкорпорированными в них КТ установка обладала одним существенным недостатком – она не позволяла осуществлять изначальное позиционирование, которое могло бы существенно упростить процедуру исследования, а также сократить время исследования за счёт исключения временных издержек, связанных с поиском площадки, на которой были получены АСМ–ОМ данные для выполнения серии срезов той же области и последующей 3D–реконструкции. В **третьей главе** описывается создание итогового варианта уникальной установки СЗНТ–ОМ, лишенной этого недостатка, и исследование с её помощью коммерческих полимерных флуоресцентных микросфер, используемых в иммунодиагностике. Данная часть работы проводилась под руководством Мочалова Константина Евгеньевича (с.н.с. Лаборатории молекулярной биофизики ИБХ РАН).

Основой СЗНТ в разработанной корреляционной схеме является адаптированный под специально разработанную СЗМ–голову УМ Reichert–Jung Ultracut E компании Leica Microsystems (Австрия). Стоит отметить, что подобной адаптации может быть подвергнут почти что любой коммерчески доступный УМ.

Основными препятствиями на пути создания единой установки, совмещающей в себе СЗНТ и ОМ, стали отсутствие оптического доступа для высокоапертурных объективов, а также высокий уровень шума. Они были преодолены посредством разработки специальной сканирующей СЗМ–системы, включающей в себя сканирующее устройство и СЗМ–голову, представляющую собой устройство подвода с дефлектометром.

Сканирующее устройство представляет собой быстродействующий плоскопараллельный XYZ–пьезосканер, жёстко закреплённый на подвижной консоли УМ, осуществляющей его перемещение. Диапазон сканирования пьезосканером составляет 50x50x5 мкм, а скорость сканирования может достигать 5 Гц. Пьезосканер также оснащён специальным оптическим сенсором, призванным осуществлять контроль и удержание его перемещения в режиме линеаризации. Для исключения смещения образца в процессе его микротомирования в центре пьезосканера расположена система для жёсткого закрепления исследуемого образца. При выполнении среза образец, закреплённый на пьезосканере, посредством работы подвижной консоли перемещается из верхней точки, в которой происходит фиксация подвижной консоли для проведения СЗМ–ОМ–измерений, в нижнюю точку. Таким образом осуществляется срез образца. В данной установке в качестве ножа УМ был использован алмазный нож Ultra AFM 35 Diatome (Швейцария), т.к. он обеспечивает максимально аккуратное секционирование и подходит для любого типа секционируемого материала. После среза Z–

координата XY–плоскости образца определяется исключительно положением ножа УМ. А так как она же является и фокальной плоскостью объектива ОМ, и плоскостью сканирования СЗМ, был разработан специальный держатель, осуществляющий регулировку XY–плоскости образца.

СЗМ–голова состоит из дефлектометра и съёмного держателя СЗМ–зонда. Дефлектометр включает в себя полупроводниковый лазер и четырёхсекционный фотодиод, отведённые друг от друга таким образом, чтобы было возможно сфокусировать и приблизить на образце объектив. В данной установке был использован объектив 50X Mitutoyo Plan Apo Infinity Corrected Long WD Objective Mitutoyo (Япония). Рабочее расстояние объектива – 13 мм. Таким образом в представленной в данной работе уникальной установке был решён вопрос отсутствия оптического доступа для высокоапертурных объективов. Проблема же, связанная с высоким уровнем шума, была решена посредством закрепления на период всех измерений головы СЗМ в верхней «рабочей» точке непосредственно на подвижной консоли УМ. Для произведения любого последующего среза исследуемого образца в представленной установке производится отвод и отсоединение головы СЗМ от консоли УМ. При этом консоль УМ, продолжая своё движение вниз, реализует очередное секционирование соответствующего образца. Главными достоинствами такого механизма повторного микромирования являются наличие достаточной пространственной развязки между ножом УМ и держателем кантилевера, а также существенное облегчение общего веса механизма УМ во время реализации срезов. Кроме того, примечательным является так же и то, что описанная выше система позволяет осуществлять позиционирование головы СЗМ по осям X и Y с крайне высокой точностью (1 мкм и менее между парой циклов срезов УМ). Следующим этапом сборки уникальной установки, представленной в данной работе, является инструментальное объединение описанной выше усовершенствованной СЗМ–системы с оптической частью корреляционного микроскопа. Общая схема объединения представлена на рис. 5.

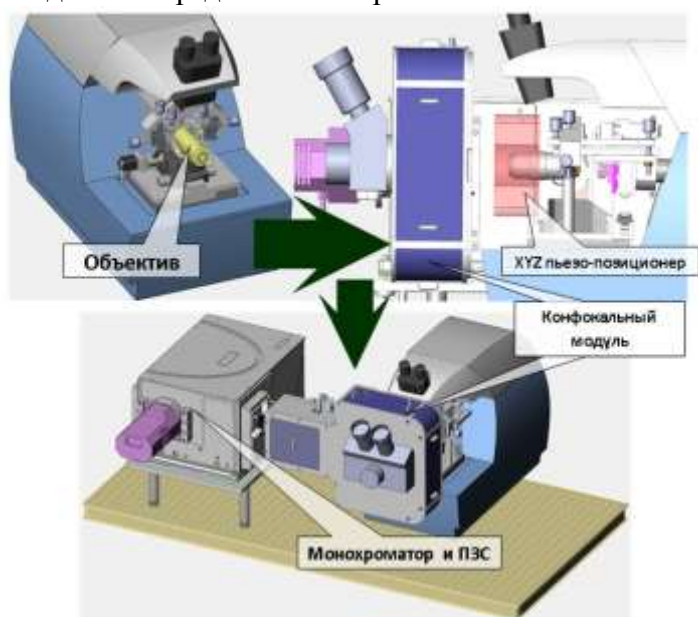


Рис. 5. Схема корреляционной установки СЗМ–ОМ. Слева идейный эскиз установки СЗМ–ОМ; справа – комбинация конфокального устройства, объектива и СЗМ; внизу – общий вид СЗМ–ОМ.

Суть выполненного объединения заключается в добавлении к модифицированной СЗМ–системе высокоапертурного объектива. Объектив был установлен на плоскопараллельный XYZ–пьезосканер, в центре которого было проделано специальное отверстие под переходник, позволяющий осуществлять горизонтальное крепление пьезосканера. Такой метод крепления сделал возможным расположение центра масс объектива в верхней плоскости сканера. Сканер был оснащён датчиками, призванными удерживать и осуществлять контроль его перемещения. Диапазон сканирования используемого в данной схеме сканера составляет 100x100x50 мкм. Сам же XYZ–пьезосканер установлен на моторизованный 1D линейный ретранслятор 8MT177–100 Standa (Литва). Таким образом, была получена возможность позиционирования центра поля зрения объектива и острия СЗМ–зонда вплоть до 0,1 нм внутри области 100x100 мкм. Регуляция объектива по оси Z происходит в диапазоне 50 мкм так же с шагом в 0,1 нм. Диапазон движения использованного линейного ретранслятора составляет 100 мм при разрешении 1 мкм/шаг. Такие параметры ретранслятора позволяют осуществлять его автоматическое отведение/подведение таким образом, чтобы он не выходил за пределы области фокусировки объектива. В конфокальный модуль, с которым совмещён объектив, входят также флуоресцентная и рамановская системы. К конфокальной части также были присоединены монохроматор (Andor Shamrock 750, Andor Technology), CCD–камера (Andor DU971P–BV, Andor Technology), Ar лазер, излучающий на длине волны 488 нм (GN–519M Ar*, Plazma, Россия) и краевой фильтр на 488 нм (Semrock 488–nm RazorEdge, Rochester, США). Собранный вышеописанным путём уникальная установка позволяет производить исследования топографии СЗМ при скорости сканирования 1 Гц и площади 512x512 точек. Флуоресцентные конфокальные измерения могут быть произведены при времени накопления 0,3 с на точку на площади, соответствующей 50x50 точкам.

Представленная в данной работе уникальная установка, совмещающая в одном устройстве СЗМТ и конфокальный микроскоп, позволяет производить исследования как посредством контактной, так и полуконтактной АСМ, латеральной силовой микроскопии, СМС, фазовой визуализацией, МСМ, а также многими другими методами СЗМ. Кроме того, данная система позволяет производить объёмную 3D реконструкцию морфологии исследуемых образцов, и в состоянии реализовать 3D версии TERS и s-SNOM. Отдельно необходимо выделить тот факт, что уже при внесении весьма незначительных изменений в систему лазерного возбуждения, на представленной в данной работе установке возможно получить 3D версию PiFM (фотоиндуцированной силовой микроскопии).

Наилучшим образом действие разработанной и собранной по результатам всех вышеперечисленных исследований уникальной установки можно продемонстрировать на примере анализа с её помощью мягкого композитного материала, имеющего в своём составе твёрдые нано- и микрочастицы. Таким материалом стали флуоресцентные магнитные микросферы COOH QuantumPlex™ размером 5,5 мкм Bangs Laboratories, Inc. (США). Такого рода микросферы являются замечательным тестовым материалом, поскольку они одновременно сочетают в себе мягкую полимерную структуру с

твёрдыми п/п наночастицами и твёрдыми микрометровыми магнитными, кроме того, микросферы за счёт своей формы обладают свойством центральной симметричности, поэтому для их исследования достаточно сделать только один разрез в их центральной части. Одновременно с этим исследование и разработка общей методики исследования такого рода материалов несёт высокую практическую и коммерческую значимость, т.к. такие микросферы на сегодняшний день активно используются в качестве инструментов для иммунодиагностики.

Исследование подготовленных микросфер происходило в два этапа: СЗМ–ОМ и СЗНТ–ОМ. На СЗМ–ОМ этапе был исследован срез подготовленных микросфер в области размером 14x14 мкм. Были использованы методы АСМ–топографии, МСМ и конфокальной флуоресцентной микроскопии. Размер сканирования при СЗМ–измерениях составлял 512x512 пикселей при скорости 0,8 Гц. Для конфокальных флуоресцентных измерений область сканирования составляла 100x100 пикселей, время интегрирования - 0,2 с/пиксель. Флуоресцентный сигнал был интегрирован в диапазоне 670–690 нм при длине волны излучения возбуждающего лазера 632,8 нм и мощности 200 мкВт.

СЗНТ–ОМ этап исследований был необходим для грамотной оценки корреляции между морфологическими характеристиками микросфер, пространственным распределением магнитных свойств и флуоресцентного красителя в них. Для произведения СЗНТ–ОМ исследований образец встроенных микросфер был зафиксирован на пьезосканере таким образом, что головка СЗМ была отведена на 70 мм от рабочей плоскости (плоскости разреза УМ) и отсоединена (рис. 6). При этом весь СЗНТ–ОМ этап исследования можно разделить на несколько отдельных шагов:

- 1) Вместе с отсоединением головки СЗМ и объектива был произведён первый разрез УМ, цель которого состояла в формировании чёткой плоской поверхности образца микросфер. Затем головка СЗМ была установлена на своё место, а объектив продвинут и сфокусирован на поверхности образца.
- 2) Было осуществлено приземление головки СЗМ, а за счёт получения конфокального изображения кончика кантилевера с использованием лазерного конфокального режима было выполнено точное выравнивание СЗМ и конфокального сканирования. Фокус объектива был отрегулирован до максимума отражённого сигнала лазерного излучения возбуждения, а сканирование было выполнено в области 10x10 мкм (512x512 пикселей) при частоте 2 Гц. После вышеперечисленных процедур полученное изображение консольного наконечника уже представляло собой круглое пятно со средним диаметром около 200 нм.
- 3) Кантилевер был помещён в центр пятна и удержан в этом положении на время последующих измерений в замкнутом контуре. Это обеспечило согласование между СЗМ и конфокальными областями сканирования с точностью до нескольких десятков нанометров. Следующий шаг заключил в себе одновременные измерения с использованием СЗМ–методов (АСМ и МСМ) и метода ОМ.
- 4) Головка СЗМ была убрана, а рычаг УМ перемещён из рабочего положения вниз, благодаря чему головка СЗМ была отсоединена от рычага УМ, а сам рычаг был зафиксирован на специальных опорах.

Следующий шаг состоял в дальнейшем перемещении рычага УМ вниз, что привело к следующему разрезу исследуемого образца. При этом толщина образца регулировалась вытягивающим устройством плеча УМ с минимальным шагом около 20 нм.

5) Благодаря восходящему движению рычага УМ головка СЗМ была зафиксирована в том же положении, в котором она находилась раньше, а система сканирования с фиксированным на ней образцом была приведена в верхнюю рабочую точку.

Таким образом вышеописанная процедура получения срезов исследуемого образца была продолжена до тех пор, пока накопленный массив данных 2D–СЗМ и ОМ не стал достаточным для получения информативного трёхмерного рисунка.



Рис. 6. Схема СЗМ–ОМ этапа исследования подготовленных флуоресцентных микросфер.

На рис. 7 показаны корреляционные изображения поперечных сечений исследуемых микросфер, полученные методами АСМ, МСМ и конфокальной флуоресцентной микроскопии, а также соответствующий спектр флуоресценции.

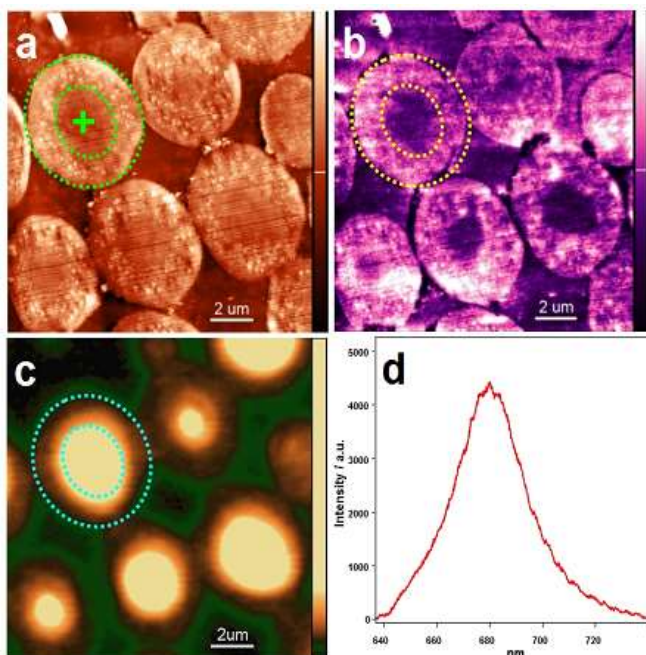


Рис. 7. (a) АСМ-изображение поверхности секционированных микросфер. Диапазон изменения высоты – 40 нм.

(b) Фазовое МСМ-изображение той же области. Диапазон изменения фазы – 0,8 °.

(c) Флуоресцентное конфокальное изображение той же области. Время интегрирования - 0,2 сек. Интенсивность в относительных единицах, диапазон изменения – 300 отн. ед.

(d) Флуоресцентный спектр, полученный из точки, обозначенной зеленым крестом на рис. (a). Время интегрирования - 3 сек.

Область сканирования для рис. (a – c) 14×14 мкм.

Исходя из полученных данных можно сказать, что наночастицы размером от 10 до 100 нм в основном распределены во внешнем слое микросфер по ширине, соответствующей примерно половине радиуса микросфер (~1,2 мкм). Такой вывод согласуется с данными, полученными посредством МСМ–исследования, и говорит о том, что эти наночастицы являются магнитными и учитывают магнитные свойства микросфер. На рис. 7 также видно, что центральная область микросфер характеризуется высокой интенсивностью флуоресценции, что говорит об отсутствии в ней магнитных частиц и присутствии высоких концентраций флуоресцентного красителя.

Данная уникальная научная установка «Система зондово-оптической 3D корреляционной микроскопии» (<http://www.ckp-rf.ru/usu/486825/>) была создана в рамках проекта Минобрнауки России по Соглашению № 14.616.21.0042 и получила патент на изобретение № 2672792 «Спектрометр комбинационного рассеяния с совмещением микро- и макрорежимов для химического и структурного анализа веществ».

Продемонстрированные результаты показали, что эта система может применяться для корреляционных измерений морфологических, магнитных и оптических характеристик нано- и микроматериалов. Представленные в данной работе результаты показали, что корреляционная установка СЗНТ–ОМ способна обеспечить высококачественные АСМ–изображения с поверхности образцов, нарезанных УМ. Шум сигнала по Z–оси не превышал 0,05 нм, а боковые направления (плоскость XY) полностью определялись диаметром консольного наконечника (в приведённом в работе исследовании не более 10 нм). Средняя ошибка фиксации головки СЗМ на плече УМ во время СЗНТ–ОМ исследования составила 0,6 мкм. Оценка конфокальных параметров показала, что при возбуждении лазером на длине волны 632,8 нм глубина фокусировки составляет около 710 нм, а объем лазерного фокуса составляет около 0,16 мкм³. На длине волны, где регистрировалась флуоресценция микросфер (680 нм), поперечное разрешение составило около 340 нм, а осевое разрешение (толщина оптического сечения) было близко к 1,8 мкм. Современное состояние полученной в данной работе системы СЗНТ–ОМ позволяет выполнять 3D–варианты таких оптико–зондовых методов, как комбинационное рассеяние, усиленное острием зонда (TERS) и сканирующая ближнеполюсная оптическая микроскопия (SNOM).

В заключении приведены следующие основные результаты работы:

1. В ходе данной работы была создана экспериментальная установка, представляющая собой комбинацию СЗМ и ПОМ, состоящая из системы сканирования АСМ, вертикального ОМ, столика для инвертированной оптической микроскопии и системы кросс-поляризованного излучения, а также методика, позволяющая оценивать влияние сфокусированного лазерного пучка на тонкие плёнки жидких кристаллов.
2. Посредством данной методики было установлено, что сфокусированное облучение лазером приводит к образованию кратеров только в плёнках толщиной 5-10 мкм, в тонких плёнках (100-200 нм) кратеры не образуются. Хиральная структура плёнки не оказывает никакого воздействия на кинетику образования кратеров и их глубину.
3. Была разработана уникальная трёхэтапная экспериментальная процедура структурной характеристики, позволяющей на одном и том же участке образца проводить измерения методами АСМ, ПОМ и флуоресцентной микроспектроскопии, а также восстанавливать 3D-структуру образца посредством СЗНТ. Был разработан метод оценки гомогенной растворимости единичных КТ в

холестерической ЖК-матрице, основанный на анализе их 3D распределения и вычислении объемного процента единичных КТ в анализируемом объеме.

4. Было посчитано, что максимальная массовая доля однородно растворённых CdSe/ZnS КТ в гибридной матрице холестерических ЖК составляет $5 \cdot 10^{-4} - 7,5 \cdot 10^{-4} \%$, среднее расстояние между отдельными КТ составляет около 150 нм, и они не оказывают особого влияния на структуру матрицы. Только одна из 40 инкорпорированных в матрицу КТ действительно была в ней однородно растворена, а более 97% КТ агрегировали в кластеры со средним диаметром около 1,5 мкм, расположенные только в дефектных областях гибридной ЖК-матрицы и занимающие меньшую часть общей поверхности образца. Это объясняется низкой аффинностью поверхности КТ к поверхности ЖК-матрицы. Отдельные КТ особого влияния на матрицу не оказывают, что позволяет увеличить объёмную концентрацию КТ как минимум на порядок.

5. Был разработан и протестирован аппарат для проведения исследований методом СЗНТ-ОМ, объединенный единый комплекс. Также была разработана общая методика исследования таким аппаратом флуоресцентных магнитных композитных микросфер, сочетающая в себе технологии СЗМ, ОМ и УМ. Данные были объединены в единый массив, позволяющий получать 3D-характеристику морфологии, химического состава, межкомпонентного взаимодействия, механических, электрических, магнитных, а также других свойств объёмных композитных материалов. Проведённые в данном исследовании испытания продемонстрировали, что при комбинации методов СЗМ, ОМ и УМ в едином аппаратном комплексе не возникает каких бы то ни было компромиссных ситуаций, ограничивающих работоспособность техники.

Список работ, опубликованных автором по теме диссертации

Статьи, индексируемые в базах Web of Science и Scopus:

- 1) Mochalov, K., Efimov, A., Bobrovsky, A., Agapov, I., Chistyakov, A., Oleinikov, V., Sukhanova, A., Nabiev, I. (2013) Combined scanning probe nanotomography and optical microspectroscopy: a correlative technique for 3D characterization of nanomaterials. ACS NANO, 7(10), 8953-8962.
- 2) Mochalov, K.E., Efimov, A.E., Bobrovsky, A.Yu., Agapov, I.I., Chistyakov, A.A., Oleinikov, V.A., Nabiev, I. (2013) High-resolution 3D structural and optical analyses of hybrid or composite materials by means of scanning probe microscopy combined with the ultramicrotome technique: An example of application to engineering of liquid crystals doped with fluorescent quantum dots. In: J.-M. Fedeli, L. Vivien, and M. K. Smit, eds. Integrated Photonics: Materials, Devices, and Applications II. Proceedings of SPIE, 8767, 876708.
- 3) Oleinikov, V., Bouchonville, N., Molinari, M., Sizova, S., Mochalov, K., Chistyakov, A., Sukhanova, A., Schapov, A., Artemyev, M., Lukashev, E., Nabiev, I. (2012) Extension of the spectral range of bacteriorhodopsin functional activity by energy transfer from quantum dots. In: N. Kobayashi, F. Ouchen, and I. Rau, eds. Nanobiosystems: Processing, Characterization, and Applications V. Proceedings of SPIE, 8464, 84640Z.

- 4) Bobrovsky, A., Mochalov, K., Chistyakov, A., Oleinikov, V., Shibaev, V. (2014) AFM study of laser-induced crater formation in films of azobenzene-containing photochromic nematic polymer and cholesteric mixture. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 275, 30-36.
- 5) Mochalov, K., Solovyeva, D., Chistyakov, A., Zimka, B., Lukashev, E., Nabiev, I., Oleinikov, V. (2016) Silver Nanoparticles Strongly Affect the Properties of Bacteriorhodopsin, a Photosensitive Protein of Halobacterium Salinarium Purple Membranes. *Materials Today: Proceedings*, 3(2), 502-506.
- 6) Mochalov, K., Solvyeva, D., Chistyakov, A., Zimka, B., Lukashev, E., Nabiev, I., Oleinikov, V. (2016) Raman and SERS spectroscopy of D96N mutant bacteriorhodopsin. *Materials Today: Proceedings*, 3, 497–501.
- 7) Mochalov, K.E., Chistyakov, A.A., Solvyeva, D.O., Mezin, A.V., Oleinikov, V.A., Molinari, M., Agapov, I.I., Nabiev, I., Efimov, A.E. (2017) An instrumental approach to combining confocal microspectroscopy and 3D scanning probe nanotomography. *Ultramicroscopy*, 182, 118-123.
- 8) Volova, T., Kiselev, E., Vinogradova, O., Nikolaeva, E., Chistyakov, A., Sukovatiy, A., Shishatskaya, E. (2014) A glucose-utilizing strain, cupriavidus eutrophus B-10646: Growth kinetics, characterization and synthesis of multicomponent PHAs. *PLoS ONE*, 9(2), e87551.
- 9) Oleinikov, V. A., Sukhanova, A., Generalova, A. N., Sizova, S. V., Mochalov, K. E., Chistyakov, A. A., Artemyev, M. V., Nabiev, I. (2013) Nanoprobes on the basis of fluorescent semiconductor nanocrystals for bioassays and biosensing. *FEBS J.* 280 (Suppl. 1), 275.
- 10) Bobrovsky, A., Mochalov, K., Chistyakov, A., Oleinikov, V., Shibaev, V. (2012) Features of Double-Spiral “Valley-Hills” Surface Topography Formation in Photochromic Cholesteric Oligomer-Based Films and Their Changes Under Polarized Light Action. - *Macromol. Chem. Phys.* 213, 2639–2646.
- 11) Олейников, В.А., Мочалов, К.Е., Соловьева, Д.О., Чистяков, А.А., Лукашев, Е.П., Набиев, И.Р. (2016) Влияние серебряных наночастиц на фотоцикл бактериородопсина пурпурных мембран Halobacterium salinarum. *Оптика и спектроскопия*, 121, № 2, 227–237.
- 12) Олейников, В.А., Лукашев, Е.П., Зайцев, С.Ю., Чистяков, А.А., Соловьева, Д.О., Мочалов, К.Е., Набиев, И.Р. (2017) Влияние плазмонных серебряных и полупроводниковых экситонных наночастиц на фотоцикл бактериородопсина в мембранах Halobacterium salinarum. *Оптика и спектроскопия*, 122, № 1, 36–41.
- 13) Олейников, В.А., Мочалов, К.Е., Соловьева, Д.О., Чистяков, А.А., Лукашев, Е.П., Набиев, И.Р. (2016) Влияние серебряных наночастиц на фотоцикл бактериородопсина. *Acta Naturae* (англоязычная версия). — Т. 2. — С. 95.

Другие статьи в журналах из списка рекомендованных ВАК РФ:

- 14) К. Мочалов, А. Чистяков, Д. Соловьева, А. Мезин, В. Олейников, И. Набиев, И. Агапов, А. Ефимов (2016). Инструментальное объединение конфокальной микроспектроскопии и 3D сканирующей зондовой нанотомографии. *Наноиндустрия*, 7 (69), 60-71.

Другие статьи:

- 15) Кожина, Е.П., Бедин, С.А., Разумовская, И.В., Залыгин, А.В. (2018) Создание SERS-активных подложек. *Когерентная оптика и оптическая спектроскопия: сборник статей*. - Казань: Казанский университет. - Вып. 22. - С. 75-78.

Патенты:

16) Мочалов К.Е., Олейников В.А., Зальгин А.В., Соловьева Д.О. (2018) Спектрометр комбинационного рассеяния с совмещением микро- и макрорежимов для химического и структурного анализа веществ // Патент России № 2672792.

Тезисы конференций

1) Mochalov, K., Solvyeva, D., Chistyakov, A., Zimka, B., Lukashev, E., Nabiev, I., Oleinikov, V. Raman and SERS spectroscopy of D96N mutant bacteriorhodopsin. Advances in Functional Materials Conference 2015. Stony Brook University, USA, 2015, AFM15-0616020-S5_82Q9-P.

2) Mochalov, K., Solvyeva, D., Chistyakov, A., Zimka, B., Lukashev, E., Nabiev, I., Oleinikov, V. Silver nanoparticles strongly affect the properties of bacteriorhodopsin, a photosensitive protein of Halobacterium salinarum purple membranes. Advances in Functional Materials Conference 2015. Stony Brook University, USA, 2015, AFM15-0615019-S5_D4AJ-O.

3) Solovyeva, D., Chistyakov, A., Lukashev, E., Mochalov, K., Oleinikov, V., Nabiev, I. Silver nanoparticles strongly affect the properties of Halobacterium salinarum photosensitive purple membranes containing the membrane protein bacteriorhodopsin. "Наука будущего", Первая международная научная конференция. Санкт-Петербург, 2014 г.

4) Mochalov, K.E., Efimov, A.E., Bobrovsky, A.Yu., Agapov, I.I., Chistyakov, A.A., Oleinikov, V.A., Nabiev, I. (2013) High-resolution 3D structural and optical analyses of hybrid or composite materials by means of scanning probe microscopy combined with the ultramicrotome technique: An example of application to engineering of liquid crystals doped with fluorescent quantum dots. Integrated Photonics: Materials, Devices, and Applications II, Conference 8767, Grenoble, France, 2013.

5) Олейников, В.А., Мочалов, К.Е., Соловьева, Д.О., Чистяков, А.А., Лукашев, Е.П., Набиев, И.Р. Влияние серебряных наночастиц на фотоцикл бактериородопсина. V Съезд физиологов СНГ, V Съезд Биохимиков. Сочи, 2016.

6) Bobrovsky, Ryabchun, Mochalov, Oleinikov, Chistyakov, Shibaev Photoinduced bending and mass transfer phenomena in azobenzene-containing LC polymer systems. European Polymer Congress «EPF-2013». Pisa, Italy, 2013.

7) Bobrovsky, A., Ryabchun, A., Shibaev, V., Mochalov, K., Chistyakov, A., Oleinikov, V. Photoinduced bending and mass-transfer phenomena in LC polymer systems. European Polymer Congress «EPF-2013». Pisa, Italy, 2013.

8) Соловьева, Д.О., Чистяков, А.А., Мочалов, К.Е., Лукашев, Е.П., Зайцев, С.Ю., Олейников В.А. Гибридные материалы на основе бактериородопсина: исследование, разработка, применение. Достижения и перспективы супрамолекулярной и биологической химии в биомедицине и сельском хозяйстве. Москва, 2017.

9) Кожина, Е.П., Бедин, С.А., Разумовская, И.В., Зальгин, А.В. Создание SERS-активных подложек. XXII международная молодежная научная школа "Когерентная оптика и оптическая спектроскопия", Казань, 2018

10) Олейников В.А., Мочалов К.Е., Соловьева Д.О., Чистяков А.А., Лукашев Е.П., Набиев И.Р. Воздействие серебряных наночастиц на свойства бактериородопсина. КР и ГКР спектроскопия бактериородопсина и его мутанта D96N. V съезд биофизиков России, Ростов-на-Дону, Россия, 4-10 октября 2015.

11) Чистяков А.А., Соловьева Д.О., Лукашев Е.П., Мочалов К.Е., Олейников В.А. Исследование воздействия серебряных наночастиц на бактериородопсин методом ГКР спектроскопии. Международная научная конференция по биоорганической химии, биотехнологии и бионанотехнологии, посвященная 55-летию Института биоорганической химии им. академиков Ю.А.Овчинникова и М.М.Шемякина РАН и 80-летию со дня рождения академика Ю.А.Овчинникова, ИБХ РАН, Москва, Россия, 2014.