ОПТИЧЕСКАЯ МИКРОСКОПИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОЛИНЗ
OPTICAL MICROSCOPY WITH THE USE OF MICROLENSES

И.В.Яминский[1, 2, 3, 4], д.ф.-м.н., проф. физического и химического факультетов МГУ имени М.В.Ломоносова, вед. научн. сотр. ИНЭОС РАН, генеральный директор Центра перспективных технологий, директор Энергоэффективных технологий, (ORCID: 0000-0001-8731-3947), А.И.Ахметова[1, 2, 3], инженер НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ, ведущий специалист Центра перспективных технологий и Энергоэффективных технологий (ORCID: 0000-0002-5115-8030), С.А.Сенотрусова[1, 2], инженер, (ORCID 0000-0003-0960-8920) / yaminsky@nanoscopy.ru

I.V.Yaminskiy[1, 2, 3, 4], Doct. of Sci. (Physics and Mathematics), Prof. of Lomonosov Moscow State University, Physical and Chemical departments, Director of Advanced Technologies Center, Leading Sci. of INEOS RAS, Director of Energy Efficient Technologies, A.I.Akhmetova[1, 2, 3], Engineer of A.N.Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Leading Specialist of Advanced Technologies Center and of Energy Efficient Technologies, S.A.Senotrusova[1, 2], Engineer

DOI: 10.22184/1993-8578.2021.14.3-4.184.187

Получено: 11.05.2021 г.

Микроскопия с использованием микросфер – это новый метод получения трехмерных изображений со сверхвысоким разрешением благодаря использованию прозрачной микросферы при визуализации в классический оптический микроскоп. С помощью микролинзовой микроскопии можно получить оптическое разрешение до ста нанометров по горизонтали, например при визуализации канавок на поверхности Blu-ray-диска. При этом не требуется введение меток, необходимо лишь незначительно модернизировать обычный оптический микроскоп. Расширить возможности микролинзовой технологии можно с помощью интерференционной микроскопии, которая обеспечивает высокую чувствительность по трем координатам и дает изображение топографии со сверхвысоким разрешением.

Microscopy with the use of microspheres is a new method to obtain 3D images with ultra-high resolution due to the use of a transparent microsphere at visualization in a standard optical microscope. When using a microlens microscope it is possible to get an optical resolution up to a hundred of nanometers horizontally, for example, during visualization of blu-ray disc surface grooves. It does not require to introduce labels, it is just necessary to slightly upgrade the standard optical microscope. Besides, it is possible to improve the microlense microscopy capabilities using the interference microscopy which provides high sensitivity along three coordinates and image topography of ultra-high resolution.

ВВЕДЕНИЕ

В 2011 году Zengbo Wang и др. [1–3] экспериментально продемонстрировали принцип микроскопии с субдифракционным пределом с использованием стеклянных микросфер в обычном оптическом микроскопе. Этот неинвазивный метод визуализации в белом свете позволяет преодолеть дифракционный

1 МГУ имени М.В.Ломоносова, физический и химический факультеты, НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ Москва, Россия / Lomonosov Moscow State University, Physical and Chemical departments, A.N.Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Moscow, Russia.
2 ООО НПП "Центр перспективных технологий", Москва, Россия / Advanced Technologies Center, Moscow, Russia.
3 ООО "Энергоэффективные технологии", Москва, Россия / Energy Efficient Technologies.
4 ИНЭОС РАН, Москва, Россия / INEOS RAS, Russia.

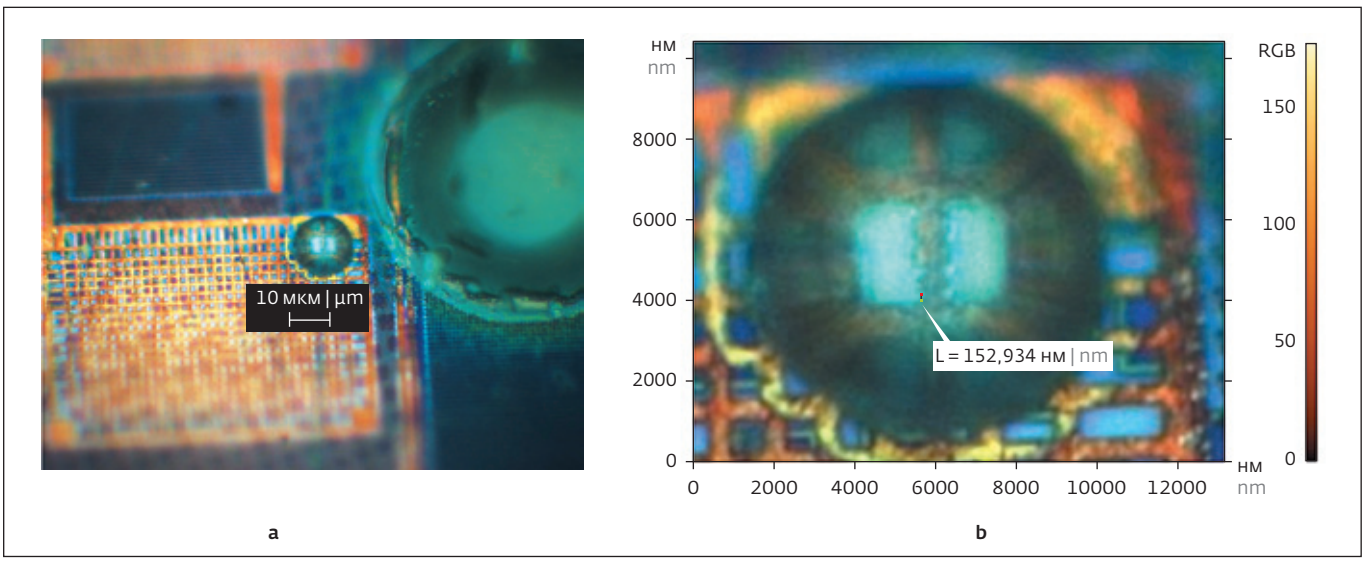

Рис.1. Изображение поверхности микросхемы в оптический микроскоп с использованием микролинзы: а – общий план; б – детальное изображение паттерна на микросхеме через микросферу, ширина одиночного выступа составляет величину около 150 нм

Fig.1. Image of a chip surface made by optical microscope using microlens: a – general view; b – detailed image of the pattern on a chip obtained through a microlens, the width of a single spike is about 150 nm

предел в 2–3 раза (λ/4 – λ/6). Нашей научной группой совместно с научной группой Zengbo Wang разрабатывается установка для совмещенной зондовой, оптической и микролинзовой микроскопии [4].

Принцип микроскопии с использованием микросфер для получения 2D-изображений заключается в размещении прозрачной микросферы между исследуемым образцом и оптическим микроскопом. При этом важно, чтобы расстояние между образцом и линзой было минимальным. Микросфера работает как оптический увеличитель, она создает увеличенное мнимое изображение объекта. Затем уже линза оптического микроскопа собирает мнимое изображение, превосходящее дифракционный предел. Таким образом, с использованием микросферы и линзы объектива оптического микроскопа может быть получено изображение в микромасштабе без меток со сверхвысоким разрешением.

INTRODUCTION

In 2011 Zengbo Wang et al. [1–3] experimentally demonstrated a principle of microscopy subdiffraction limit using glass microspheres in a standard optical microscope. This noninvasive visualization method in white light makes it possible to overcome a diffraction limit 2–3 times (λ/4 – λ/6). Our scientific team together with the Zengbo Wang research team is developing a unit that combines the probe, optical and microlens microscopy [4].

The principle of microscopy with the use of microspheres to obtain 2D images is to arrange a transparent microsphere between the studied sample and an optical microscope. It is important that the distance between the sample and the lens is minimal. A microsphere works as an optical amplifier and forms the magnified virtual image of the object. Afterwards the optical microscope lens collects the virtual image that is superior to the diffraction limit. Thus, the ultra-high resolution image without labels in nanoscale can be obtained using a microsphere and a lens of a standard optical microscope.

PRINCIPLE OF OPERATION AND DESIGN

In this work the Zeiss Model AxioSkop-40 optical microscope with aperture of 0.9 is used. Resolution of this model is nearby 350 nm. In order to check the accuracy of measurements, microchips, a calibration lattice

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ И КОНСТРУКЦИЯ

В данной работе мы используем оптический микроскоп Zeiss Model AxioSkop-40 с апертурой 0,9. Разрешение микроскопа составляет около 350 нм. Для проверки точности измерений в качестве тестового образца используются микросхемы, калибровочная решетка для оптического микроскопа и поверхность Blu-ray-диска. Параллельно контроль измерений проводится с помощью зондового микроскопа "ФемтоСкан", обработка изображений – в программном обеспечении "ФемтоСкан Онлайн" [5].

Несмотря на то, что явление, лежащее в основе эффекта сверхвысокого разрешения, в настоящее время полностью не изучено, результаты моделирования показывают важность подбора геометрических и оптических параметров для увеличения и улучшения латерального разрешения: в частности, диаметра микросферы, показателя преломления как окружающей среды, так и микросферы, а также длины волны света.

Диаметр микросферы влияет не только на латеральное разрешение, но и на поперечный угол обзора: чем меньше микросфера, тем выше разрешение и тем меньше площадь измерения. Фокусное расстояние определяется по формуле:

$$\frac{1}{f} = \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2}\right) \cdot \left(\frac{n_2}{n_1} - 1\right), \qquad (1)$$

где: n_1 – показатель преломления окружающей среды;

n_2 – показатель преломления линзы;

R_1 и R_2 – радиусы кривизны линзы.

Для сфер с показателем преломления $1<n_2<2$ фокус расположен на некотором расстоянии на поверхности со стороны тени. При $n_2 = 2$ фокусировка происходит именно на теневой стороне. Наконец, для всех $n_2>2$ свет фокусируется внутри линзы. Следуя закону Снеллиуса, можно найти фокус геометрической оптики, который находится на расстоянии

$$f = \frac{R}{2} \cdot \frac{n}{n-1}. \qquad (2)$$

Фокусное расстояние измеряется от центра сферы [6].

Для измерений используются микролинзы из титаната бария BTGMS-4,25, диаметр 30–100 мкм, плотность 4,22 г/см^3, показатель преломления 1,9. При использовании микросферы в 15 мкм фокусное расстояние составляет 7,9 мкм в соответствии с формулой (2).

Чтобы уменьшить показатель преломления n, можно поместить жидкость на сферу, так как важен не абсолютный показатель преломления сферы, а относительный $n_{сферы}/n_{окружения}$. Таким образом, при использовании капли воды относительный показатель преломления составит $n = 1{,}9/1{,}33 = 1{,}4286$.

for an optical microscope and blue-ray disc surface were used. Control of measurements using the FemtoScan probe microscope and image processing by FemtoScan Online software [5] were performed simultaneously.

Despite the fact that the phenomenon of the ultra-high resolution effect is currently not fully studied, the simulation results show the importance to select the geometric and optical parameters to increase and improve the lateral resolution: in particular, the diameter of the microsphere, the refractive index of the environment and the microsphere, as well as wavelengths.

The microsphere diameter affects not only the lateral resolution, but also the transverse viewing angle: the less the microsphere, the higher the resolution and the smaller the measurement area. The focal length is determined by the formula:

$$\frac{1}{f} = \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2}\right) \cdot \left(\frac{n_2}{n_1} - 1\right), \qquad (1)$$

here: n_1 – refraction index of the environment,

n_2 – lens refraction index,

R_1 and R_2 – radiuses of curvature of lens

For spheres with the refractive index $1 < n_2 < 2$ the focus is located at some distance on the surface from the shadow side. If $n_2 = 2$, the focus occurs on the shadow side. Finally, for all $n_2 > 2$, the light focuses inside the lense. Following the Snell law, it is possible to find the focus of the geometric optics and calculate a distance:

$$f = \frac{R}{2} \cdot \frac{n}{n-1}. \qquad (2)$$

The focus distance is measured from the center of the sphere [6].

ВЫВОДЫ

Еще одной разработкой является совмещение микролинзовой микроскопии с зондовой. Совмещенный микролинзовый и зондовый микроскоп имеет несколько преимуществ: наличие большого поля обзора для детального подвода с помощью зондового микроскопа, визуализация и механическое манипулирование отдельными объектами, получение 2D- и 3D-изображений образца, наблюдение в воздушных и жидких средах с контролируемыми параметрами.

Следует отметить, что оптическое изображение наноструктур за границей дифракционного предела получается также в случае конфокальной, интерференционной, флуоресцентной и рамановской микроскопии. В случае интерференционной микроскопии пространственное разрешение по вертикали может составлять единицы нанометра.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Лондонского Королевского Общества № 21-58-10005, РНФ, проект № 20-12-00389, РФФИ, проект № 20-32-90036.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Wang Z., Guo W., Li L., Luk'yanchuk B., Khan A., Liu Z., Chen Z., Hong M.** Optical virtual imaging at 50 nm lateral resolution with a white-light nanoscope, Nature Communications (2011) 2, p. Article No. 218. https://doi.org/10.1038/ncomms1211
2. **Monks J., Yan B., Hawkins N., Vollrath F., Wang Z.**, Spider Silk: Mother Nature's Bio-Superlens, Nano Letters. (2016) 16, 5842–5845. https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.6b02641
3. **Fan W., Yan B., Wang Z.B., Wu L.** Three-dimensional all-dielectric metamaterial solid immersion lens for subwavelength imaging at visible frequencies, Sci. Adv. (2016) 2, e1600901. http://dx.doi.org/10.1126/sciad. v. 1600901.
4. **Akhmetova A.I., Yaminsky I.V., Wang Z.** Integration of scanning probe microscopy and optical superlens array technology. Nanoindustry, (2020) 13 (5 (98)) 258–262. http://dx.doi.org/10.22184/1993-8578.2020.13.5.258.262
5. **Yaminsky I.V., Akhmetova A.I., Meshkov G.B.** FemtoScan Online software and visualization of nano-objects in high-resolution microscopy. Nanoindustry, (2018) 11 (6 (85)): 414–416. http://dx.doi.org/10.22184/1993-8578.2018.11.6.414.416
6. **Luk'yanchuk B.S., Paniagua-Domínguez R., Minin I., Minin O., Wang Z.** Refractive index less than two: photonic nanojets: yesterday, today and tomorrow. Opt. Mater. Express (2017) 7, 1820-1847 https://doi.org/10.1364/OME.7.001820

Декларация о конфликте интересов. *Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в данной статье.*

For measurements, are used the BTGMS-4.25 dia. 30–100 microns barium titanate microlenses of 4.22 g/cm^3 density and 1.9 refractive index. When using a 15 μm microsphere, the focal length is 7.9 μm according to formula (2).

To reduce the refractive index n, it is possible to put a wter drop on the sphere, because it is not an absolute refractive index of the sphere which is important, but the ratio $n_{sphere}/n_{oenvironment}$. Thus, with the use of a drop of water the relative refractive index will be equal to n = 1.9/1.33 = 1.4286.

CONCLUSIONS

Another development is the combination of microlens microscopy with a probe microscopy. The combined microlens and probe microscope has several advantages: the presence of a large viewing field for a detailed approach with the aid of the probe microscope, visualization and mechanical manipulation of individual objects, obtaining 2D and 3D images of the sample as well as observation in air and liquid media with the controlled parameters. It should be noted that the optical image of the nanostructures beyond the boundary of the diffraction limit can also be obtained in the case of the confocal, interference, fluorescent and Raman microscopy. In the case of interference microscopy, the vertical spatial resolution can equal units of a nanometer.

ACKNOWLEDGEMENTS

The study was completed with the financial support of the RFBR and the London Royal Society No. 21-58-10005, RNF, Project No. 20-12-00389, RFBR, Project No. 20-32-90036. ■

Declaration of Competing Interest. *The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.*