

**Гибридизация методов SPIM микроскопии, спектральной эллипсометрии и SPR-спектроскопии *in situ* – новый путь исследования модельных мембран с интеркалированными функциональными нанокластерами, самоорганизующихся пленок и мембраномиметических слоёв**

*Градов О.В., Скрынник А.А.*

*ИНЭПХФ РАН*

**Combination of the SPIM, spectroscopic ellipsometry and surface plasmon resonance spectroscopy as a novel way for analysis of model membranes with intercalated clusters, self-organized films and membrane-mimetic layers**

*Gradov O.V., Skrynnik A.A.*

*INEPCP RAS*

В данной методической заметке рассматривается возможность сопряжения методов SPIM микроскопии, спектральной эллипсометрии (в том числе – в магнитных полях при использовании методов измерений MOGE) и SPR-спектроскопии *in situ* для исследования модельных мембран с интеркалированными функциональными нанокластерами, эффектов самосборки в пленках Ленгмюра и процессов самоорганизации мембраномиметических и биоинтерфейсных пленок и слоёв.

Обычная SPIM-микроскопия происходит в капилляре, вокруг которого расположены 2 (SPIM), 3 (mSPIM) или 4 (MuViSPIM, SiMView, Four-lens SPIM) объектива, вводящих и подающих на регистратор оптические потоки при микроскопическом наблюдении образца в капилляре с дискретно-угловым вращением. Однако это решение неприемлемо в случае эллипсометрии и эллипсометрического имэджинга, так как препараты для эллипсометрии должны быть ровными и находиться на поверхности, поскольку измеряемые слои в самом крупномасштабном случае ограничиваются микронами. То есть для реализации на SPIM-платформе метода эллипсометрии необходимо не только ввести поляризатор перед одним из приобъективных конструкторов, но и вынести сам образец на поверхность капилляра. В то же время последнее невозможно при цилиндрической поверхности капилляра, так как в силу кривизны поверхности сигнал не будет оптимальным образом поступать на детектор.

Нами, в связи с этим, предлагается следующее решение данной проблемы. Исходно в качестве / вместо капилляра используется тонкая гониометрическая призма, подобная тем, которые используют при реализации SPR-спектроскопии, но настолько тонкая и длинная, чтобы быть закрепленной в фиксаторах капилляра SPIM. Изменение угла расположения в таком случае осуществляется теми же шаговыми двигателями, что должны двигать SPIM-капилляр в стандартном случае, но удаление объективов от центра вращения изменяется в большую сторону, так как образец наносится на поверхность призмы, а не во внутреннюю полость капилляра, которая соответствует его центровке как тела вращения. Проблемы с тонкой подстройкой относительно возможной неоднородности на поверхности призмы в случае SPIM-подобной конфигурации не должны возникать, так как микроскопические и ультрамикроскопические (при УФ-источнике) масштабы наблюдения снимают указанный вопрос также, как он снимается посредством использования линзовых микроприставок / микрослотов в обычной современной эллипсометрии.

В инфракрасной области степень легирования носителей сказывается на результатах эллипсометрии, поэтому при нанесении металлизации для SPR на призму, которая в SPIM является также предметным стеклом и, своего рода, рефрактором (в связи с чем неизбежен плавный угловой сдвиг фокусировки при ротации призмы, что нужно учитывать в расчете и контроле расположения объективов при регистрации), необходимо учитывать вводимые этим изменения в результат эллипсометрического анализа (решая обратную задачу, нужно учитывать это в модели). С другой стороны это является предпосылкой анализируемости модельных мембраномиметиков с интеркалированными кластерами, самоорганизующихся пленок и мембраномиметических слоёв, содержащих таковые, методами эллипсометрии и эллипсометрического SPR / SPIM имэджинга и картирования. При этом, в известной мере, всё равно каким образом производится нанесение образца. Нами проверены методы спин-коутинга (на базе реконструированной гематокритной центрифуги, в которой вытянутые по спецзаказу призматические нити использовались вместо стандартных капилляров) и фронтально-углового нанесения пленок Ленгмюра на массив призматических носителей.

Особый интерес представляют методы SPIM-SPR-наблюдения фотоиндуцированной самоорганизации. Если известны методы эллипсометрии «in situ» и модели эллипсометров для встраивания в промышленные установки микроэлектронных производств для анализа роста пленок и покрытий при рутинном контроле качества, то аналогичная микрозадача в исследовательском случае, даже с учетом тонкости предлагаемого SPIM-метода, не может представлять недостижимой трудности. Более того, учитывая микроскопический характер метода, можно совместить SPIM с подходами цифровой голографической микроскопии, в

которой достижимо исследование сверхбыстрой кинетики с частотами дискретизации до МГц (за счет стробоскопической приставки).

Следует подчеркнуть, что, в отличие от методов визуализирующей эллипсометрии и соответствующего картирования (*ellipsometric contrast imaging / microscopy*), предлагаемая гибридизация с SPIM-микроскопией, в силу конфокального характера множества методов SPIM-визуализации, способна производить реально трехмерное отображение объекта, а не его барельефную эмуляцию посредством обработки лапласианом или иного метода квазитрехмерного восстановления по оптической плотности. Более того, в силу флуоресцентно-визуализируемых картин в SPIM возможно проведение на одном приборе (а при большем двух количестве объективов – и синхронно) одновременно и эллипсометрических методов измерений, и спектроскопии поляризации флуоресценции (спектрополяриметрии). В силу возможности встраивания также целевых микроприставок, возможно широкое внедрение DIY-спектрометрических методов в практику SPIM-гибридизованной эллипсометрии. Для ряда задач поляризационные возможности эллипсометрии, «помноженные» на множество объективов, которые могут быть снабжены управляемыми с шаговых двигателей блоками поляризации, даёт возможность проведения спектроскопии кругового дихроизма, а также магнитного кругового дихроизма. Данные конструкции разрабатывались и испытывались нами в течение 2013 года и показали достаточно хорошие предварительные результаты (в рамках возможностей наличествовавшей аппаратно-технической базы). Таким образом, за счет множества объективов, позволявших гибридизовать в едином приборе разные схемы проведения пучка и совмещать ноль-схему эллипсометрических измерений на одной базе объективов с вращаемым поляризатором на другой базе, входящей в конструкцию той же установки, снималось противоречие между ИЕ-методами (*imaging ellipsometry*) и методами измерений в рамках единой SPIM-конструкции.

На базе охарактеризованной конструкции возможно также реализовывать методики MOGE – магнито-оптической инфракрасной спектральной эллипсометрии, применяемой для исследования свободных носителей заряда в проводящих образцах (определяются как параметры мобильности, так и эффективные массы) во внешних магнитных полях. Так как для MOGE-анализа используется спектральная эллипсометрия в ИК-диапазоне, логично использовать инфракрасную SPIM-микроскопию, что само по себе представляет новизну. Сопряжение микромасштабной инфракрасной термовизиографии с MOGE в режиме SPIM также представляет существенный метрологический интерес. Возможна реализация на их базе диффузиометрических методов определения подвижности носителей в сопряженных с ними реакционно-диффузионных шеллевских процессах, в т.ч. – биомиметических.