Март 2019 г. *Том 189, № 3*

УСПЕХИ ФИЗИЧЕСКИХ НАУК

КОНФЕРЕНЦИИ И СИМПОЗИУМЫ

Многофункциональный люминесцентный наноскоп дальнего поля для исследования одиночных молекул и квантовых точек

(к 50-летию Института спектроскопии РАН)

И.Ю. Еремчев, М.Ю. Еремчев, А.В. Наумов

Дальнеполевая флуоресцентная спектромикроскопия одиночных квантовых излучателей (*ОКИ*) (*молекул, квантовых точек, центров окраски в кристаллах*) *является одним из наиболее бурно развивающихся направлений современной фотоники, востребованным в разнообразных приложениях физики, химии, материаловедения, наук о жизни, квантовых технологий. Представлено описание многофункционального экспериментального комплекса, созданного в последние годы в Институте спектроскопии РАН, позволяющего регистрировать оптические спектры и флуоресцентные изображения ОКИ в широком диапазоне температур*: *от криогенных до комнатной, а также их временную динамику и кинетику люминесценции. Продемонстрирована возможность восстановления пространственных координат излучателей с субдифракционной точностью* (*вплоть до единиц ангстрем*). *Приведены примеры реализации разработанных методов многопараметрической микроскопии сверхвысокого разрешения* (*наноскопии*) *материалов и наноструктур.*

Ключевые слова: люминесценция, микроскопия, наноскопия, одиночная молекула, квантовая точка, центр окраски, антигруппировка фотонов, кинетика, полимеры, стёкла, кристаллы, нанодиагностика, криогенные температуры, матрица Шпольского, сенсор, CdSe, NV-центр

PACS numbers: **42.79.–e**, **78.55.–m**, 78.67.Hc DOI: https://doi.org/10.3367/UFNr.2018.06.038461

Содержание

1. **Введение (312).**
2. **Спектромикроскопия одиночных точечных (квантовых) излучателей (313).**
3. **Многофункциональный люминесцентный наноскоп (315).**
   3.1. Блок источников излучения. 3.2. Оптический криомикроскоп и совмещённый зондово-оптический микроскоп. 3.3. Блоки детектирования. 3.4. Методы многопараметрической флуоресцентной наноскопии с детектированием одиночных квантовых излучателей.
4. **Точность восстановления координат одиночных квантовых излучателей (319).**
5. **Заключение (321).**

Список литературы (321).

И.Ю. Еремчев. Институт спектроскопии РАН,
ул. Физическая 5, 108840 Троицк, Москва, Российская Федерация;
Московский физико-технический институт
(государственный университет),
Институтский пер. 9, 141700 Долгопрудный, Московская обл.,
Российская Федерация
М.Ю. Еремчев. Институт спектроскопии РАН,
ул. Физическая 5, 108840 Троицк, Москва, Российская Федерация;
Московский физико-технический институт
(государственный университет),
Институтский пер. 9, 141700 Долгопрудный, Московская обл.,
Российская Федерация;
École Polytechnique Fédérale De Lausanne, Lausanne, Switzerland
А.В. Наумов. Институт спектроскопии РАН,
ул. Физическая 5, 108840 Троицк, Москва, Российская Федерация;
Московский физико-технический институт
(государственный университет),
Институтский пер. 9, 141700 Долгопрудный, Московская обл.,
Российская Федерация;
Московский педагогический государственный университет,
ул. Малая Пироговская 1, 119882 Москва, Российская Федерация
E-mail: naumov@isan.troitsk.ru

Статья поступила 5 октября 2018 г.

1. Введение

Современная наука и технологии формулируют ряд принципиальных требований к инструментам для исследования свойств материалов. В частности, физика твёрдого тела, физическая химия, материаловедение, электроника, нанотехнологии, квантовые технологии, науки о жизни нуждаются в неразрушающих методах исследования, реализующих одновременно сверхвысокую чувствительность аппаратуры, высокое пространственное и временно́е разрешение. В самое последнее время активно развиваются методы оптической наноскопии — флуоресцентной микроскопии со сверхвысоким пространственным разрешением, отмеченные в 2014 г. Нобелевской премией по химии [1 – 3]. Многие из этих методов основаны на детектировании флуоресцентных изображений одиночных квантовых излучателей (ОКИ) (например, органических молекул красителей, нанокристаллов и наночастиц), внедрённых в качестве нанозондов в исследуемые объекты. В основу данного подхода положено то обстоятельство, что компьютерный анализ изображения изолированного (одиночного) квантового излучателя, размеры которого намного меньше длины

© И.Ю. Еремчев, М.Ю. Еремчев, А.В. Наумов 2019

волны его люминесцентного излучения, позволяет восстановить пространственные координаты с точностью, существенно превышающей дифракционный предел Аббе ($\lambda/2NA$), где NA — апертура.

При раздельном детектировании и восстановлении координат для большого количества зондовых ОКИ возможно реконструировать структуру маркированного такими нанозондами объекта с субдифракционной точностью, т.е. получить наноскопическое изображение. Существуют подходы, позволяющие восстанавливать все три пространственные координаты ОКИ, т.е. осуществлять трёхмерную наноскопию материалов и структур [4, 5]. Так, 3D-наноскопия может быть реализована с использованием элементов адаптивной оптики путём инструментальной модификации аппаратной функции точечного излучателя [6]. Наконец, одним из наиболее актуальных направлений в решении задач нанодиагностики конденсированных сред, материалов и устройств является развитие комплексных методик, использующих одновременно потенциал спектроскопии, оптической микроскопии и других видов диагностики материалов (атомно-силовая микроскопия, электронная микроскопия).

Возможности указанных методов существенно расширяются в случае "многоцветовой" флуоресцентной наноскопии, когда изображения отдельных излучателей регистрируются на разных длинах волн [7]. Наиболее продуктивно данная идея может быть реализована при криогенных температурах, поскольку наблюдаемые при низких температурах бесфононные спектральные линии (БФЛ) отдельных примесных молекул имеют ширину, намного (на несколько порядков) меньшую, чем сдвиг частоты БФЛ, вызванный локальными неоднородностями в структуре исследуемого материала. Таким образом, "многоцветовая" наноскопия может быть реализована путём последовательно-параллельного возбуждения БФЛ отдельных зондовых молекул перестраиваемым по частоте узкополосным лазером [8]. Более того, поскольку БФЛ чрезвычайно чувствительны к параметрам локального окружения молекул, появляется возможность нанодиагностики структуры и локальной динамики материала.

С другой стороны, регистрация спектров ОКИ, а также исследование их временно́й динамики, зависимостей от внешних факторов (электрического и магнитного поля, температуры, внешнего гидростатического давления) предоставляет уникальную возможность для фундаментальных исследований внутри- и межмолекулярных взаимодействий на уровне отдельного излучателя и его ближайшего окружения. Особый интерес к этому направлению исследований возник в связи с изучением сложноструктурированных наноразмерных излучающих объектов — макромолекулярных комплексов [9], полупроводниковых нанокристаллов (квантовых точек, КТ) [10–13], наноалмазов с центрами окраски [14], биологических излучающих объектов [15, 16]. Пристальное внимание к направлению флуоресцентной наноскопии связано также с высочайшим потенциалом использования этих методов для биодиагностики [17], для исследования метаматериалов, наноантенн, плазмонных структур, микрорезонаторов [18–20], элементов современной, в том числе органической, оптоэлектроники и фотовольтаики [21, 22]. Инструменты наноскопии позволяют в прямом эксперименте прояснять фундаментальную связь микроскопических характеристик наноструктурированных (мета)материалов с их эффективными макроскопическими параметрами [23]. При этом современная техника позволяет исследовать процессы со сверхвысоким (вплоть до фемтосекунд) временны́м разрешением [24].

Комбинированное использование всего набора указанных методов исследования открывает беспрецедентные возможности как для решения широкого круга фундаментальных задач во многих областях современной науки и техники, так и для прикладного применения в технологических процессах производства современных сверхчистых материалов, синтеза материалов с заданными свойствами, для экологического мониторинга, развития инструментальной базы физической химии, биофизики и нанотехнологий.

В Российской Федерации к экспериментальным работам в области спектроскопии и микроскопии одиночных молекул для исследования низкотемпературной динамики неупорядоченных твердотельных сред одной из первых приступила наша исследовательская группа из лаборатории электронных спектров молекул Института спектроскопии РАН (ИСАН) в сотрудничестве с Bayreuth University (Германия). К настоящему времени авторским коллективом получен в этой области ряд новых результатов, заслуживших международное признание (см. [25–36], а также обзоры [8, 37] и ссылки там). В настоящей статье приведено описание уникального аппаратно-программного комплекса, созданного в лаборатории электронных спектров ИСАН, а также разработанные авторским коллективом методы и подходы в области флуоресцентной спектромикроскопии одиночных квантовых излучателей. Продемонстрированы примеры использования разработанных методик в исследованиях спектров одиночных органических молекул и полупроводниковых коллоидных квантовых точек.

2. Спектромикроскопия одиночных точечных (квантовых) излучателей

Спектромикроскопия одиночных молекул (СМОМ) — относительно молодое направление оптической спектроскопии. Впервые зарегистрировать спектры поглощения и спектры возбуждения флуоресценции одиночных молекул в органическом поликристалле удалось на рубеже 1980–1990-х гг. [38, 39]. За прошедшие 30 лет данное направление интенсивно развивалось и к настоящему времени стало одним из наиболее актуальных в физике, физической химии, биофизике и смежных науках. Причиной значительного интереса к этой методике стало то обстоятельство, что физико-химические свойства вещества могут быть исследованы с её помощью на уровне одиночных молекул. Кроме того, высокая чувствительность оптических спектров одиночных примесных хромофорных центров к параметрам ближайшего (нанометрового) окружения позволяет использовать их в качестве спектральных нанозондов. Особенно информативными и наиболее чувствительными к параметрам ближайшего окружения являются БФЛ примесных центров, наблюдаемые, как правило, при криогенных температурах. Указанное обстоятельство открывает уникальную возможность исследования локальной внутренней динамики конденсированных сред, а также позволяет осуществлять нанодиагностику структуры материала.

К настоящему времени СМОМ стала мощным инструментом для исследования низкотемпературной динамики неупорядоченных твердотельных сред (см. [8] и ссылки там). В частности, в индивидуальных спектрах одиночных молекул динамические процессы в матрице проявляются в виде прыжков частоты и уширения спектральных линий, а на уровне ансамбля примесных мо-

Рис. 1. Количество научных работ с ключевыми словами "single molecule", опубликованных начиная с 1988 г., согласно международной базе данных Web of Science (по состоянию на июнь 2018 г.). На графике отображены также ключевые направления приложений спектромикроскопии одиночных квантовых излучателей.

лекул — как уширение спектров (оптическая дефазировка и спектральная диффузия). Это позволяет получать информацию о низкоэнергетических возбуждениях в неупорядоченных средах путём наблюдения за процессами спектральной динамики в спектрах примесных хромофорных молекул. Именно задачи исследования низкотемпературной динамики неупорядоченных твердотельных сред на микроскопическом уровне определили развитие СМОМ на начальном этапе (рис. 1).

Одним из наиболее перспективных направлений СМОМ является развитие техники флуоресцентной наноскопии — дальнеполевой диагностики твёрдых сред по флуоресцентным изображениям и спектрам одиночных примесных маркерных молекул. Хорошо известно, что пространственное разрешение классического оптического микроскопа имеет предел, который определяется дифракцией и приблизительно равен $1/2$ длины волны света. Развитие методик высокого разрешения, основанных на флуоресцентной микроскопии одиночных молекул, позволило исследователям преодолеть классический дифракционный предел в дальнеполевой оптической микроскопии. Основой этих методов является принципиальная возможность восстановления пространственных координат точечного излучателя с субдифракционной точностью путём регистрации и компьютерного анализа его флуоресцентного изображения.

Первые работы по визуализации одиночных молекул были проведены в начале 1990-х гг. [40], а с развитием высокочувствительных двумерных детекторов на основе приборов с зарядовой связью (ПЗС-камер) и оптических компонентов была продемонстрирована возможность определения поперечных координат с нанометровой точностью (вплоть до нескольких нанометров) [41]. Переход же к детектированию люминесценции одиночных молекул при комнатных температурах привёл к лавинообразному росту интереса к данным методам со стороны исследователей в области наук о жизни [42]. В частности, революционные оптические технологии появились в таких областях, как расшифровка ДНК [43], проточная цитометрия [44], клеточная биология и тераностика [45].

Во второй половине 2000-х гг. интенсивное развитие направления флуоресцентной наноскопии привело к созданию методов и коммерчески доступной аппаратуры для оптической микроскопии биологических объектов со сверхвысоким пространственным разрешением: STochastic Optical Reconstruction Microscopy (STORM [46]), PhotoActivated Localization Microscopy (PALM [47]) и др. Поскольку задачи диагностики протяжённых объектов, как правило, требуют детектирования значительного количества одиночных молекул и их высокой пространственной плотности, в методах наноскопии используют различные подходы для раздельного детектирования молекул, находящихся внутри каждого выбранного общего дифракционного предела. Для этого используют дополнительные лазерные источники для переключения (фотообесцвечивания отдельных молекул), либо различают отдельные молекулы по дополнительному признаку.

В наших работах в основу методики флуоресцентной наноскопии был положен феномен возникновения БФЛ и эффект значительного неоднородного уширения оптических спектров в примесных твердотельных средах [28]. Хорошо известно, что однородная ширина БФЛ одиночных молекул в неупорядоченных органических твердотельных средах при криогенных температурах на несколько порядков величины (до 10^5-10^6) меньше ширины неоднородно уширенного спектра. Таким образом, положения (часто́ты) БФЛ для различных молекул распределены в широком диапазоне частот, что даёт возможность селективным образом возбуждать люминесценцию отдельных хромофоров путём перестройки частоты лазера в резонанс с частотой электронного перехода молекулы.

Разрабатываемый подход предоставляет возможность одновременного измерения пространственных координат и индивидуальных спектров возбуждения флуоресценции огромных ансамблей примесных молекул. По сути, новая техника позволяет зарегистрировать все эффективно излучающие молекулы в поле зрения микроскопа с сохранением полного массива информации об индивидуальных спектральных параметрах и координатах каждой молекулы. В дальнейшем записанный банк данных может быть использован для постэкспериментальной обработки, например для выявления фундаментальных закономерностей, определяющих взаимосвязь локальных характеристик исследуемого объекта с его структурой, а также с макроскопическими характеристиками материала [29, 36]. С использованием данного подхода флуо-

ресцентная наноскопия получает широкую область приложений в материаловедении и нанотехнологиях.

Большой прогресс в развитии спектромикроскопии ОКИ наблюдается в связи с появлением новых видов ОКИ: полупроводниковых квантовых точек, центров окраски в нанокристаллах, диэлектрических и гибридных наночастиц, макромолекулярных комплексов. Так, самостоятельные научные направления сформировались в оптике полупроводниковых квантовых точек [48, 49] и в спектроскопии одиночных центров окраски в наноалмазах [50]. В последние годы всё больше работ посвящено фотонике ОКИ в составе искусственных наноструктурированных (мета)материалов и структур: молекулярных машин, гибридных частиц, наноантенн, микрорезонаторов, что находит свои приложения в квантовой оптике, наносенсорике, микро- и наноэлектронике, технологиях "лаборатория-на-чипе" (см., например, [51, 52]).

Аппаратно-программные решения для методов СМОМ также постоянно развиваются в связи с появлением новых технологий и инструментов фотоники: лазерной и спектральной аппаратуры, высокочувствительных детекторов, оптомеханики, компонентов многоэлементной асферической оптики, адаптивной оптики. Впечатляющие результаты демонстрируют комбинированные методики, в которых техника флуоресцентной наноскопии с детектированием ОКИ сопряжена с атомно-силовой (АСМ) [53, 54] или электронной [55] микроскопией. Наконец, интенсивно развивается компьютерная техника, программные решения и алгоритмы, являющиеся неотъемлемой частью методов наноскопии, что позволяет реализовать наноскопию с использованием обычных персональных компьютеров и даже смартфонов [56].

3. Многофункциональный люминесцентный наноскоп

На рисунке 2 приведена принципиальная схема многофункционального флуоресцентного наноскопа для исследования одиночных молекул и квантовых точек, созданного в последние годы в лаборатории электронных спектров молекул ИСАНа. Здесь и далее будут описаны основные узлы данного аппаратно-программного комплекса и методики измерений, приведены конкретные примеры его использования для исследования фотофизических характеристик одиночных квантовых излучателей различной природы, а также для осуществления многопараметрической нанодиагностики сложноструктурированных конденсированных сред и нанообъектов.

3.1. Блок источников излучения

Источники излучения (блок "Лазер" на рис. 2) для возбуждения фотолюминесценции с контролируемыми характеристиками играют принципиальную роль в исследованиях методами СМОМ и для приложений в наноскопии. В составе обсуждаемого аппаратно-программного комплекса используется набор различных лазерных систем:

— Твердотельные лазеры с непрерывным (cw) излучением на длине волны 532 нм с варьируемой мощностью излучения до нескольких ватт.

— Непрерывный широкополосный ($\sim 8{,}3$ ГГц или $\sim 0{,}28$ см$^{-1}$) лазер Coherent CR-599 на красителе Родамин-6Ж с линейным резонатором с накачкой от твердотельных лазеров Coherent Verdi V6. Непрерывная перестройка длины волны излучения в диапазоне 565–630 нм осуществляется с использованием внутрирезонаторного двулучепреломляющего фильтра, управляемого с компьютера с помощью контроллера Arduino и специально разработанного программного обеспечения. Мощность излучения варьируется в диапазоне до ~ 1 Вт.

— Непрерывный узкополосный (~ 2 МГц, включая быстрые флуктуации) лазер Coherent CR-699 на красителе Родамин-6Ж с кольцевым резонатором с накачкой от твердотельного лазера Coherent Verdi V6 и системой Autoscan для непрерывной перестройки в широком диапазоне $\sim 565-600$ нм. Перестройка и высокоточная

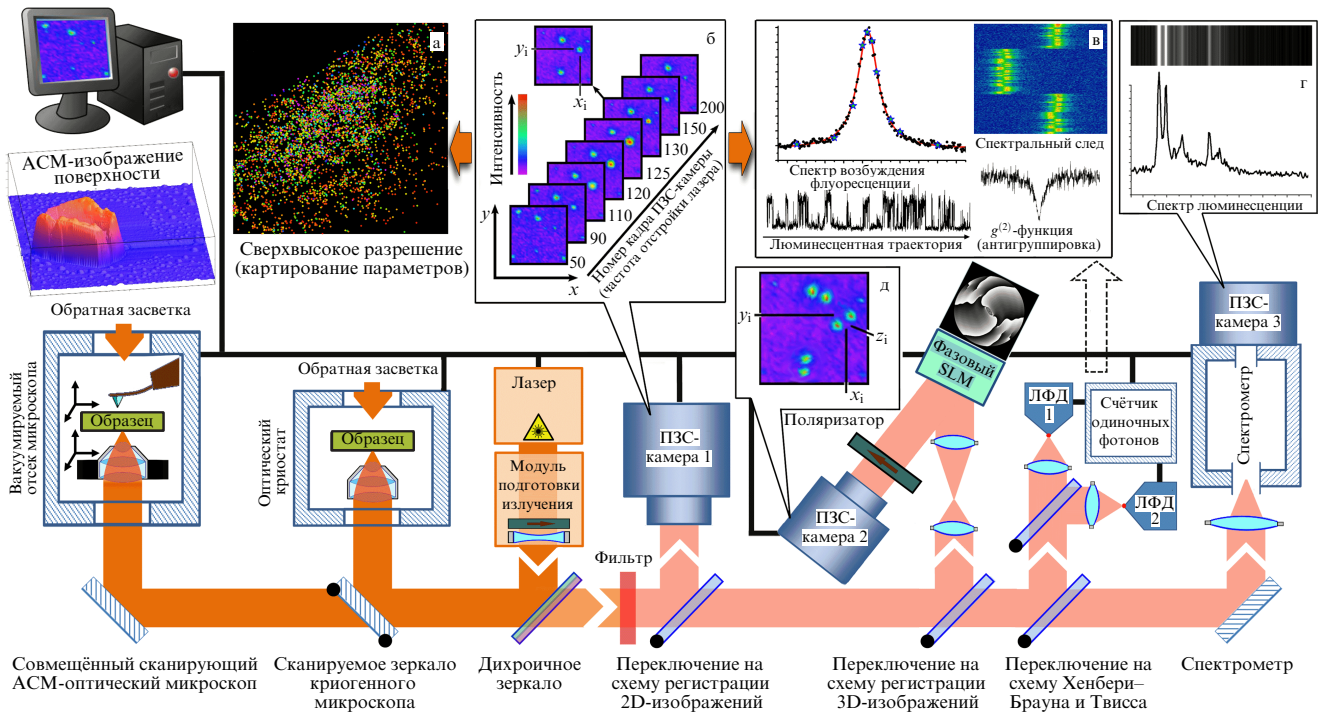

Рис. 2. Общая схема многофункционального флуоресцентного наноскопа для исследования одиночных молекул и квантовых точек (см. описание отдельных узлов в тексте статьи).

(до 2 МГц) стабилизация частоты излучения в таком лазере осуществляются с использованием перестраиваемых эталонов Фабри–Перо. Мощность излучения варьируется в диапазоне до $\sim 0{,}5$ Вт.

— Пико(фемто)секундная лазерная установка, основанная на фемтосекундном лазере "Тема-150" (Авеста) с длительностью импульса 143 фс, частотой повторения 71,2 МГц, длиной волны генерации 1050 нм и мощностью 5,8 Вт. Для понижения частоты следования лазерных импульсов используется электрооптический селектор импульсов (OG2/1000-KTP, Авеста) с возможностью варьирования частоты повторения импульсов в "прореженной" последовательности в диапазоне от 1 МГц до одиночных импульсов. После удвоения частоты (ASG-1050, Авеста) лазерный импульс на длине волны 525 нм уширялся до 2 пс за счёт многократного прохода через стеклянный параллелепипед вследствие дисперсии групповой скорости.

В зависимости от решаемой экспериментальной задачи излучение от лазерного источника может быть контролируемым образом преобразовано (блок "Модуль подготовки излучения" на рис. 2). Для этих целей могут использоваться: стабилизаторы мощности излучения (на основе ячейки Поккельса), пространственный диафрагменный фильтр для формирования гауссовых световых пучков, устройства для изменения поляризационных свойств излучения (пластинки $\lambda/2$, $\lambda/4$), фазовый пространственный модулятор света для манипуляции параметрами волнового фронта лазерного излучения. В состав этого блока входят также устройства для контроля длины волны излучения (поглощающая газовая ячейка с парами йода для грубого контроля стабильности длины волны лазера с точностью до единиц ГГц, эшелле-спектрометр, сканируемый конфокальный интерферометр Фабри–Перо).

Для обеспечения работы в режиме широкопольного эпилюминесцентного (с передней засветкой) микроскопа в составе этого модуля используется длиннофокусная эпилинза, обеспечивающая равномерную засветку поля зрения микрообъектива. Лазерное излучение заводится в один из двух микроскопов (см. описание в разделе 3.2) через дихроичное зеркало (Semrock, Thorlabs), оптимизированное под нужный спектральный диапазон.

3.2. Оптический криомикроскоп и совмещённый зондово-оптический микроскоп

В составе установки имеются два раздельно расположенных микроскопа.

1. Оптический криомикроскоп на основе He^4-криостата (RTI, Россия) и контроллера Lakeshore 93, позволяющий проводить эксперименты в диапазоне температур от 1,5 К вплоть до комнатной. Измерение температуры осуществляется с помощью соответствующих термодатчиков, расположенных в непосредственной близости от образца, закреплённого в специально разработанном трансляционном модуле держателя образцов. Трансляционный модуль, способный работать при криогенных температурах, вместе с держателем образцов и микрообъективом (увеличение $\times 40$, Na $\sim 0{,}6-0{,}8$) помещается в измерительной камере криостата. Прецизионное перемещение образца относительно микрообъектива в аксиальном направлении (для фокусировки) осуществляется с помощью микрометрического винта за счёт изгиба разрезной металлической детали со сложной геометрией. Вращение микровинта осуществляется вынесенным наружу механическим приводом. Измерения проводятся при $T > 4{,}2$ К в парах He^4, в диапазоне температур от 2,17 до 4,2 К над поверхностью жидкого He^4 и при $T < 2{,}17$ К в сверхтекучем He^4 под откачкой.

2. Вторая часть аппаратного комплекса представляет собой специально разработанный совмещённый зондово-оптический микроскоп. Атомно-силовой микроскоп (Nano Scan Technology) позволяет профилировать поверхность образца с точностью от нескольких нанометров, тогда как оптическая часть позволяет синхронно проводить измерения в режиме широкопольного и/или конфокального люминесцентного микроскопа.

Держатель образца (Nano Scan Technology) обеспечивает контролируемое перемещение образца с точностью до нескольких ангстрем по всем трём направлениям. Весь блок размещается в герметичной камере, которая позволяет проводить измерения в вакууме или в атмосфере (например, инертных) газов. Температура образца при этом может меняться в диапазоне до нескольких десятков градусов по отношению к комнатной с использованием элемента Пельтье или "холодного пальца", охлаждаемого жидким азотом. В составе оптического микроскопа в данном случае применяются сухие и иммерсионные светосильные объективы с компенсацией аберраций.

3.3. Блоки детектирования

Перед тем как люминесцентный сигнал поступит в тот или иной модуль детектирования, излучение проходит через специально подобранные фильтры: полосовые, длинноволновые пропускающие интерференционные фильтры.

1. Измерения в режиме широкопольного люминесцентного микроскопа (рис. 2б) проводятся с использованием высокочувствительных охлаждаемых ПЗС-камер с электронным размножением Andor Luca (квантовая эффективность QE $> 50\,\%$) или Andor Ixon Ultra (QE $> 90\,\%$). Высокая чувствительность и квантовая эффективность таких ПЗС-камер позволяют регистрировать флуоресцентные изображения одиночных ОКИ при накоплении сигнала с экспозицией от нескольких миллисекунд.

2. Отдельный модуль (рис. 2д) предназначен для проведения измерений с инструментальной модификацией аппаратной функции точечного излучателя (Point Spread Function, PSF) для прецизионного измерения глубины залегания ОКИ по отношению к фокальной плоскости микрообъектива. Для этого в канале регистрации в фурье-плоскости микроскопа размещается фазовый пространственный модулятор света (в нашем случае на основе жидкокристаллической матрицы) для создания спирального пучка с заданными свойствами. При загрузке в модулятор специально рассчитанной (с учётом параметров микрообъектива и оптической схемы) маски PSF может быть трансформирована заданным образом. Так, для восстановления третьей (аксиальной) координаты может быть использована биспиральная схема, в которой в результате взаимодействия с фазовой маской изображение каждого точечного излучателя преобразуется в двухлепестковое, при этом угол поворота такого изображения непосредственно связан с глубиной залегания точечного источника по отношению к фокальной плоскости микроскопа. Регистрация таких двухлепестковых изображений производится с помощью высокочувствительной ПЗС-камеры (Andor Luca или Andor Ixon Ultra). Данная техника, предложенная несколько лет назад [57], получила название Double-Helix PSF (DH PSF) и сейчас всё чаще используется в методах 3D наноскопии [37, 54]. Расчёт фазовой маски для подобной схемы

представляет собой отдельную сложную численную задачу поиска стабильных решений волнового уравнения, представляющих собой комбинацию мод Лаггера – Гаусса с заданными пространственными характеристиками [58, 59].

3. Следующий модуль (рис. 2в) включает в себя сканирующий конфокальный микроскоп с детектированием сигнала либо в одноканальной схеме, либо в стандартной схеме интерферометра интенсивности Хэнбери – Брауна и Твисса (ХБТ) с двумя детекторами.

Для регистрации флуоресценции ОКИ используются лавинные фотодиоды EG&G, SPCM-200PQ (квантовый выход ~ 50 % на длине волны 600 нм, "мёртвое" время 200 нс), работающие в режиме счёта отдельных фотонов. Временно́е разрешение детектора составляет 1,3 нс, что соответствует ширине аппаратной функции, измеренной с помощью регистрации пикосекундных лазерных импульсов (см. далее рис. 5). Время прихода фотонов и лазерных синхроимпульсов регистрируется с помощью многоканальной электронной схемы для коррелированного счёта фотонов (TCSPC) Becker&Hickl DPC 230 с временны́м разрешением 165 пс.

В схеме ХБТ поток фотонов от ОКИ делится на два канала с помощью 50%-ной интерференционной делительной пластины (Thorlabs) и регистрируется с помощью двух лавинных фотодиодов. Как и в предыдущей схеме, измеряются абсолютные времена прихода фотонов по двум каналам регистрации, после чего полученные последовательности используются для расчёта кросскорреляционной функции.

4. Спектры люминесценции ОКИ регистрируются с помощью самодельного призменного спектрометра со спектральным разрешением 0,5 нм (рис. 2г), используемого в конфокальном режиме работы микроскопа с детектированием сигнала с помощью ПЗС-камеры Andor Ixon Ultra.

3.4. Методы многопараметрической флуоресцентной наноскопии с детектированием одиночных квантовых излучателей

Перечисленные инструментальные схемы применялись для исследования фотофизических характеристик ОКИ различной природы и химического состава, а также для нанодиагностики сложных твердотельных сред и наноструктур. При этом использовались как известные, так и оригинальные методики.

1. Методика детектирования флуоресцентных изображений ОКИ в схемах конфокального сканирующего и/или широкопольного эпилюминесцентного микроскопа. На рисунке 3 приведены четыре последовательно измеренных кадра ПЗС-камеры с флуоресцентными изображениями одиночных коллоидных КТ CdSeS/ZnS, осаждённых на стеклянной подложке при комнатной температуре. Люминесценция возбуждалась непрерывным одночастотным лазером на длине волны 532 нм. Время накопления сигнала люминесценции на один кадр составляло 100 мс. Размер изображения 20×20 мкм.

На рисунке 3 чётко прослеживается мерцающий характер люминесценции исследованных КТ. Обработка полученных изображений (идентификация и анализ) с использованием специально разработанного программного обеспечения позволяет восстановить поперечные (в плоскости стеклянной подложки) пространственные координаты КТ с нанометровой точностью.

Аналогичные измерения могут проводиться также и при криогенных температурах (рис. 2а, б), в том числе при изменении различных экспериментальных параметров (частоты, поляризации, плотности мощности возбуждающего лазерного излучения, температуры образца и др.).

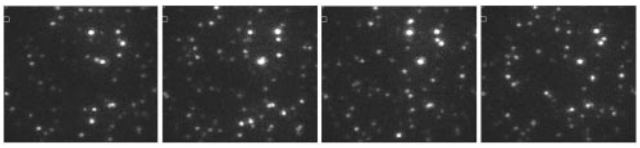

Рис. 3. Измеренные последовательно кадры ПЗС-камеры с флуоресцентными изображениями одиночных полупроводниковых коллоидных КТ CdSeS/ZnS при комнатной температуре. Время накопления на одну точку составляет 100 мс. Размер кадра соответствует размеру образца 20×20 мкм.

2. Методика измерения параметров БФЛ большого числа одиночных органических молекул красителей, внедрённых в твердотельные матрицы (низкомолекулярные органические стёкла, полимеры, поликристаллы), в температурном диапазоне от 1,6 до 70 К в поле зрения микроскопа. Для этого флуоресцентные изображения всех излучателей, попавших в поле зрения микроскопа, регистрируются последовательно путём перестройки частоты перестраиваемого узкополосного лазера (рис. 2б). Далее с использованием оригинального программного обеспечения осуществляется идентификация и сопоставление изображений отдельных молекул в кадрах при перестройке частоты возбуждающего лазера, что даёт спектр возбуждения флуоресценции для каждой молекулы (рис. 2в, слева вверху).

Подобные измерения (сканирование частоты лазера в выбранном спектральном диапазоне) могут проводиться повторяющимся образом, что позволяет измерить для каждой молекулы спектральную траекторию (рис. 2в, справа вверху), отражающую спектральную динамику. Таким образом, в частности, исследовались процессы спектральной диффузии и локальные структурные релаксации в примесных полимерах и стёклах [25, 30, 32]. Анализ температурных зависимостей параметров БФЛ одиночных молекул в диапазоне температур до нескольких десятков кельвин позволяет исследовать не только туннельную, но и колебательную динамику матрицы, в том числе микроскопическую природу электрон-фононного взаимодействия и феномена бозонного пика в неупорядоченных твердотельных средах [26, 27]. В самых последних работах нам удалось впервые зарегистрировать спектр квазилокализованной низкочастотной колебательной моды в полимерной (полиизобутилен) матрице в спектре возбуждения флуоресценции одиночных молекул Mg-тетра-азапорфирина, что позволило напрямую измерить энергию и время жизни квазилокализованных низкочастотных мод. Кроме того, была выявлена спектральная диффузия в аномально широком спектральном диапазоне [60].

3. Методика измерения флуоресцентных траекторий (зависимостей интенсивности флуоресценции от времени) и функций распределения фотонов (статистики фотонов) для одиночных молекул и квантовых точек (рис. 2в, слева внизу). Интенсивности флуоресценции ОКИ в разные моменты времени могут быть измерены как в одноканальном режиме конфокального микроскопа, так и с помощью эпилюминесцентного широкопольного микроскопа с идентификацией флуоресцентных изображений одиночных объектов, полученных с помощью ПЗС-детекторов.

На рисунке 4а приведён пример измеренной при комнатной температуре флуоресцентной траектории кол-

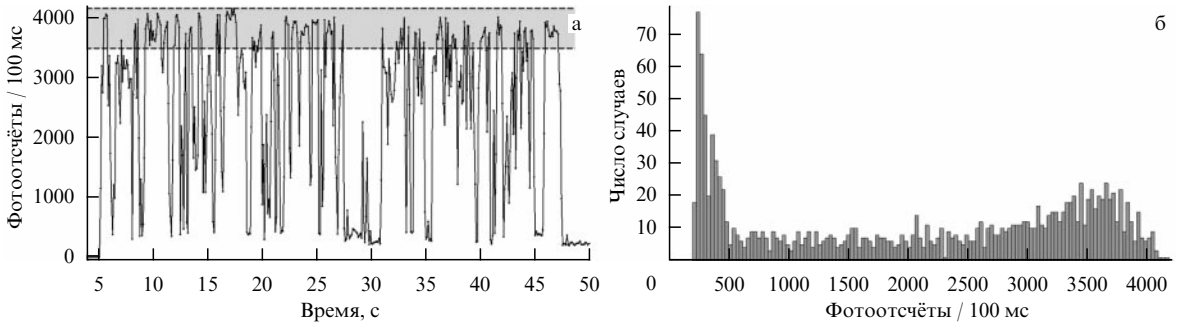

Рис. 4. (а) Флуоресцентная траектория, измеренная при комнатной температуре для полупроводниковой коллоидной квантовой точки CdSeS/ZnS. (б) Соответствующая гистограмма распределения фотонов флуоресценции. Время накопления на одну точку 100 мс.

лоидной КТ CdSeS/ZnS (Sigma Aldrich) с максимумом люминесценции на длине волны 630 нм. Показана также (рис. 4б) гистограмма распределения (статистика) фотонов люминесценции. Время накопления сигнала в каждой точке траектории равно 100 мс. Плотность мощности возбуждающего лазерного излучения составляла 60 Вт $см^{-2}$.

Анализ подобных флуоресцентных траекторий и статистики фотонов, проведённый в [31] для одиночных молекул террилена в полимерной матрице, позволил выявить релаксационные процессы в среде с различными скоростными (временны́ми) характеристиками.

В [34, 35] таким образом была исследована микроскопическая природа процесса мерцания люминесценции одиночных коллоидных полупроводниковых КТ типа ядро – оболочка. А именно, теоретический анализ измеренных флуоресцентных траекторий и функций распределения фотонов для КТ CdSe/ZnS позволил выявить два механизма перехода между излучающими и безызлучательными состояниями КТ [34].

Исследование зависимости длительностей "светлых" и "тёмных" состояний в измеренных флуоресцентных траекториях от плотности мощности возбуждающего излучения для КТ CdSe/ZnS показал, что переходы из светлого состояния в тёмное связаны с внутренней ожеионизацией, тогда как обратные переходы носят туннельный характер [35].

4. Бесфононная флуоресцентная наноскопия — уникальная экспериментальная методика последовательно-параллельного многоканального детектирования бесфононных люминесцентных изображений одиночных квантовых излучателей, внедрённых в твердотельную среду, с использованием криогенного эпилюминесцентного микроскопа-спектрометра [28, 37]. Методика позволяет определять пространственные координаты с нанометровой точностью, регистрировать индивидуальные спектры (БФЛ) и флуоресцентные изображения гигантского числа примесных одиночных излучателей, наблюдать изменения их спектров во времени, в зависимости от температуры и приложенных внешних полей, а также отслеживать пространственные перемещения одиночных излучателей. Анализ пространственно-спектральных корреляций, а также поиск фундаментальных закономерностей, определяющих связь параметров БФЛ (и их зависимостей от внешних параметров) для отдельных молекул с их положением в структуре матрицы, позволяет осуществлять многопараметрическую нанодиагностику твёрдых сред. Например, в [29] была выявлена субсайтовая структура основного спектрального сайта в спектре поглощения примесных молекул террилена в поликристаллическом н-гексадекане, а в [33, 36] предложена и реализована оригинальная техника картирования локальных полей в твёрдой плёнке, что может быть использовано в качестве метода микрорефрактометрии.

5. Методика определения всех трёх пространственных координат одиночных молекул и квантовых точек с субдифракционной (от десятков до единиц нанометров) точностью (рис. 2д). В основе методики лежит анализ флуоресцентных изображений в оптическом микроскопе от ОКИ, размеры которых много меньше длины волны. В простейшем случае изображение ОКИ представляет собой пятно Эйри, центральная часть которого может быть хорошо аппроксимирована двумерной функцией Гаусса. Точность нахождения координаты центра изображения (координат в плоскости изображения) будет определяться полным числом зарегистрированных фотонов флуоресценции, формирующих изображение, и отношением сигнала к шуму. Точность может достигать значений от сотен до единиц нанометров. Как уже отмечалось, для определения "третьей" аксиальной координаты используется метод модификации PSF ОКИ. Специально рассчитанный дифракционный оптический элемент преобразует функцию Эйри в двухлепестковую функцию, угол поворота в которой зависит от расстояния между точечным источником и фокальной плоскостью микрообъектива. Это позволяет определять "глубину залегания" точечного источника в случае использования толстых образцов. Калибровка схемы (сопоставление глубины залегания и угла поворота двухлепестковой функции) осуществляется с помощью перемещения ОКИ в аксиальном направлении с контролем координаты с нанометровой точностью прецизионным пьезосканером. С использованием данной схемы были впервые зарегистрированы БФЛ одиночных молекул террилена в замороженном орто-дихлоробензоле при температуре 4,5 К с полным восстановлением их пространственного расположения в структуре образца [37].

6. Методика измерения кинетики люминесценции ОКИ. Для регистрации кинетики люминесценции ОКИ используется схема измерения, основанная на импульсном пикосекундном возбуждении и коррелированном по времени счёте фотонов флуоресценции. В эксперименте последовательно измеряются времена детектирования одиночного фотона люминесценции относительно времени возбуждений ОКИ. Гистограмма распределения таких времён имеет вид экспоненциально затухающей функции с характерным временем, определяемым временем жизни флуоресценции. На рисунке 5 (кривая *1*) показан пример кинетики флуоресценции одиночной

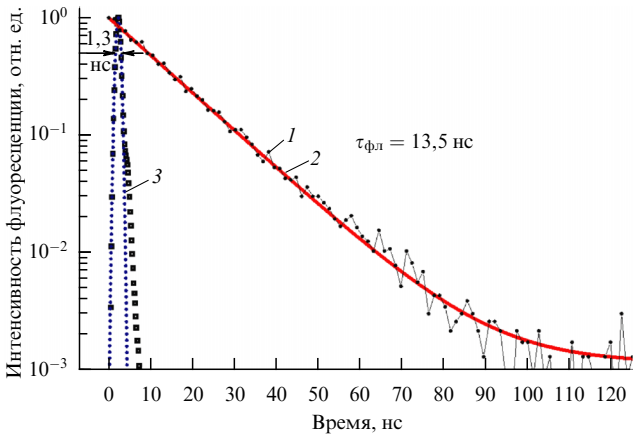

Рис. 5. (В цвете онлайн.) Кривая спада (кинетика) люминесценции одиночной полупроводниковой коллоидной КТ CdSe/ZnS (сплошная чёрная линия *1*) и результат её аппроксимации моноэкспоненциальной зависимостью (красная линия *2*). Для сравнения приведена измеренная независимо аппаратная функция системы регистрации (квадраты), определяющая временно́е разрешение в измерениях кинетики люминесценции, с результатом аппроксимации функцией Гаусса (синяя пунктирная линия *3*).

квантовой точки (CdSe/ZnS, Sigma Aldrich), измеренной в конфокальном микроскопе. На рисунке 5 для сравнения приведена аппаратная функция системы регистрации (кривая *3*). Возбуждение КТ производилось с помощью пикосекундных импульсов ($\sim$ 2 пс) на длине волны 525 нм с частотой повторения 1 МГц.

Аппроксимация кривой спада люминесценции с помощью моноэкспоненциальной функции позволяет определить эффективное время жизни люминесценции одиночной КТ, которое в данном случае составило 13,5 нс.

7. Методика измерения корреляционных функций люминесцирующих ОКИ.

Для регистрации автокорреляционной функции второго порядка $g^{(2)}(\tau)$ могут быть использованы две разные схемы. Первая применима в случае, если необходимо измерить $g^{(2)}(\tau)$ в диапазоне времён задержек τ, большем "тёмного времени" системы регистрации одиночных фотонов (200 нс в нашем случае). В этой схеме используется режим счёта одиночных фотонов с регистрацией абсолютного времени прихода каждого фотона. Измеренная последовательность времени прихода фотонов позволяет рассчитать автокорреляционную функцию.

Вторая схема позволяет измерять $g^{(2)}(\tau)$ в интервале времени, ограниченном снизу только временны́м разрешением системы регистрации (порядка 1 нс в нашей установке). Для этого используется стандартная схема интерферометра интенсивности ХБТ (см. рис. 2). Как и в предыдущей схеме, измеряются абсолютные времена прихода фотонов, но уже не по одному, а по двум каналам регистрации, после чего полученные последовательности используются для расчёта кросскорреляционной функции:

$$g^{(2)}(\tau) = \frac{n_t}{N_{p1} N_{p2}} \sum N_1(t)\, N_2(t+\tau)\,, \qquad (1)$$

где n_t — число временны́х каналов, N_{p1} и N_{p2} — полное число зарегистрированных фотоотсчётов по каналам 1 и 2 соответственно, N_1 и N_2 — сигналы по каналам 1 и 2 в соответствующие моменты времени.

Измерение $g^{(2)}(\tau)$ в субнаносекундном – наносекундном диапазоне интересно, поскольку позволяет наблюдать антигруппировку фотонов для источника неклассического излучения, например, одиночной молекулы. В случае непрерывного лазерного возбуждения антигруппировка проявляется в виде характерного провала в функции $g^{(2)}(\tau)$ вблизи $\tau = 0$ ($g^{(2)}(0) \approx 0$), ширина которого определяется временем жизни флуоресценции (рис. 6а), а глубина провала $g^{(2)}(0)$ — числом независимо излучающих одиночных объектов и отношением их интенсивностей. В случае возбуждения ОКИ импульсным излучением с длительностью импульса, существенно меньшей времени жизни флуоресценции, наличие антигруппировки фотонов проявляется в виде "исчезновения" пика в области нулевых задержек в функции $g^{(2)}(\tau)$ (рис. 6б).

В реальном эксперименте малое значение $g^{(2)}(0)$ является хорошим индикатором того, что исследуемый объект представляет собой источник одиночных фотонов, т.е. оно может быть использовано для проверки локализованного характера (одиночности) ОКИ. Необходимо также отметить, что зависимость нарастания $g^{(2)}(\tau)$ вблизи нулевой задержки может быть использована для оценки времени жизни флуоресценции ОКИ.

8. Наконец, значительный потенциал аппаратно-программного комплекса заложен в совместном использовании атомно-силового микроскопа с эпилюминесцентным микроскопом сверхвысокого разрешения. Помимо прецизионной калибровки перемещений ОКИ и получения информации об абсолютных размерах структур с ангстремной точностью появляется возможность манипулирования нанообъектами в контактном режиме работы АСМ и, разумеется, профилирования и характеризации поверхности.

9. Отдельно в составе аппаратно-программного комплекса следует выделить алгоритмы и специальные компьютерные программы для управления процессом измерения и обработки экспериментальных данных. Все блоки экспериментальной установки требуют обеспечения синхронизации, в ряде случаев скоростной (как, например, при корреляционных и кинетических измерениях). В настоящее время в качестве центральных управляющих контроллеров используются, в зависимости от задачи, электронная схема TCSPC Becker&Hickl DPC 230, контроллер АСМ NST, самодельные контроллеры на основе плат Arduino, блок управления Standford SR400.

10. Программное обеспечение для обработки изображений и специфической статистической обработки больших баз данных разработано самостоятельно [8] и включает в себя алгоритмы и модули для фильтрации шумов, для идентификации изолированных изображений и их границ, для распознавания отдельных изображений и их анализа с учётом аппаратной функции точечного источника, для "сквозной" идентификации изображений в повторяющихся измерениях, в том числе при изменении параметров эксперимента (температуры, мощности и поляризации возбуждающего излучения), для учёта медленных дрейфов изображений и т.д. Разработанное программное обеспечение позволило реализовать многопараметрическую (гиперспектральную) наноскопию материалов со сложной внутренней структурой [8, 28, 36].

4. Точность восстановления координат одиночных квантовых излучателей

Принципиальным моментом дальнеполевой локализационной микроскопии (наноскопии) является вопрос о точности восстанавливаемых координат одиночных точечных источников, получаемых из обработки флуоресцентных изображений, размеры которых определяются дифракцией излучения на оптических элементах

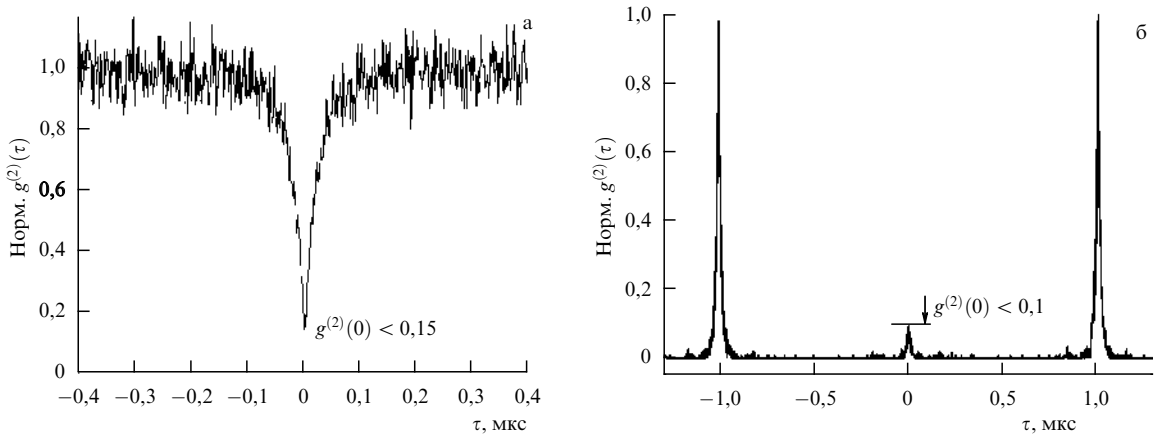

Рис. 6. (а) Автокорреляционная функция второго порядка $g^{(2)}(\tau)$ для одиночной КТ CdSeS/ZnS, измеренная при комнатной температуре при возбуждении люминесценции непрерывным лазерным источником на длине волны 532 нм. (б) Функция $g^{(2)}(\tau)$ для КТ CdSeS/ZnS, измеренная при комнатной температуре при возбуждении люминесценции импульсным пикосекундным лазером с длительностью импульса 2 пс и частотой повторения 1 МГц.

микроскопа. В первом приближении точность $\sigma_{x,y}$ определяется шириной σ_{PSF} аппаратной функции микроскопа (PSF) и числом фотоотсчётов (фотонов) N, формирующих дифракционно ограниченное изображение:

$$\sigma_{x,y} = \frac{\sigma_{\text{PSF}}}{\sqrt{N}}\,. \tag{2}$$

Более точная формула учитывает дискретность изображения (соотношение между размером PSF и шагом пространственной дискретизации) и наличие паразитных шумов [61]:

$$\sigma_{x,y} = \sqrt{\left(\frac{\sigma_{\text{PSF}}^2 + a^2/12}{N}\right)\left(\frac{16}{9} + \frac{8\pi\sigma_{\text{PSF}}^2 b^2}{a^2 N}\right)}\,, \tag{3}$$

где a — размер пикселя ПЗС-камеры, b — уровень шума (паразитной засветки).

Для экспериментального исследования зависимости точности восстановления координат от числа фотонов можно поступить следующим образом: поместить ОКИ с характерными размерами много меньше длины волны излучения в поле зрения микроскопа и провести измерения люминесцентных изображений с помощью двумерного детектора при различных временах накопления или интенсивностях лазерного возбуждения. Необходимо отметить, что в случае одиночных квантовых точек или одиночных молекул флуоресценция может флуктуировать в широком диапазоне значений времени и интенсивности даже при непрерывном возбуждении на фиксированной длине волны. Поэтому для корректного анализа данных полученные совокупности координат необходимо ранжировать по числу фотоотсчётов, формирующих изображения. В итоге для каждого требуемого интервала "яркости" (горизонтальная серая полоса на рис. 4а) изображения получается распределение восстановленных координат, которое может быть использовано для оценки исследуемой точности. В случае, если пространственным дрейфом изображения за время эксперимента можно пренебречь (или компенсировать), получаемое распределение восстановленных координат будет близко к нормальному закону, а его стандартное отклонение будет являться оценкой точности восстановления координат при однократном измерении с данным числом фотонов.

На рисунке 7а показан пример распределения восстановленных координат для излучающей одиночной КТ CdSe/ZnS (с размером излучающего ядра 4,2 нм), полученного с микрообъективом Carl Zeiss ($\times$100, NA = 1,3) для $\sim$ 3000 фотоотсчётов, формирующих каждое изображение КТ. Стандартное отклонение в данном случае составляет 3,5 нм (70 % восстановленных с субдифракционной точностью координат для данного случая лежит в интервале 7 нм).

На рисунке 7б показаны зависимости точности восстановления координат x и y (стандартного отклонения распределения координат по осям x и y) от числа регистрируемых фотоотсчётов для этой же КТ. Зависимости имеют вид степенного закона с показателем степени, близким к $-0{,}5$. Необходимо отметить, что данная зависимость сохраняется для точности, сравнимой и меньшей размера ядра КТ, в котором происходит локализация фотоиндуцированной электронно-дырочной пары и её последующая излучательная рекомбинация. Для того чтобы продолжить данную зависимость в область меньших значений стандартного отклонения для координат x и y, необходимо ещё большее число фотоотсчётов. Например, для достижения точности порядка 1 нм необходимо накопить порядка 50000 фотоотсчётов, что вызывает ряд трудностей, связанных с фотостабильностью исследуемых излучателей и эффективным динамическим диапазоном ПЗС-камер с электронным умножением.

Для того чтобы преодолеть описанные трудности, мы проводили измерения с малой экспозицией, равной 100 мс (что давало не более 1000 фотонов в изображении). После этого производилась обработка и ранжирование полученных изображений одиночной КТ по интенсивности флуоресценции. Для выбранного уровня интенсивности проводилась группировка изображений и их статистическая обработка, позволяющие получить эффективную интенсивность, соответствующую требуемой точности восстановления координат. Таким образом удалось достичь точности восстановления координат лучше 0,5 нм, что примерно в 10 раз меньше размера ядра одиночной КТ.

Для того чтобы проверить, что полученная с помощью такой процедуры точность восстановления координаты имеет физический смысл, был проведён следующий тонкий эксперимент. Образец с одиночными КТ, закреплёнными в тонкой полимерной плёнке на стеклян-

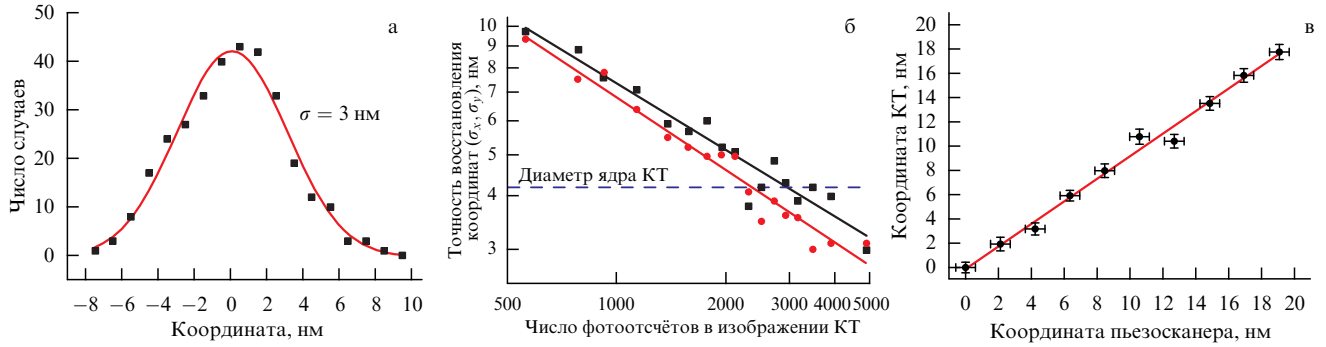

Рис. 7. (а) Пример распределения восстановленных координат для излучающей одиночной КТ CdSe/ZnS (с размером излучающего ядра 4,2 нм), полученного с микрообъективом Carl Zeiss (×100, NA = 1,3) для ∼ 3000 фотоотсчётов, формирующих каждое изображение КТ. (б) Зависимости точности восстановления координат x и y от числа регистрируемых фотоотсчётов. (в) Зависимость одной из восстановленных координат (x) одиночной КТ от реального перемещения образца в пространстве.

ной подложке, помещался на пьезосканируемый столик микроскопа (NanoScanTech). Точность позиционирования столика составляла единицы ангстрем, что обеспечивалось системой обратной связи на основе калиброванных ёмкостных датчиков. Образец передвигался с шагом 2 нм вдоль одной из осей, после чего производились многократные измерения и анализ изображений КТ. В результате получился набор координат для одиночных КТ, соответствующих различным пространственным положениям образца.

На рисунке 7в показана зависимость восстановленных координат одиночной КТ от реального перемещения образца в пространстве. Указанные погрешности соответствуют точности восстановления координат и точности позиционирования столика (< 5 Å). Можно видеть, что в приведённом примере наблюдается хорошее соответствие (с точностью до указанной погрешности) между реальными и измеряемыми перемещениями центра свечения одиночной КТ. Это означает, что получаемые указанным способом стандартные отклонения определяют погрешность, с которой мы можем отслеживать перемещения центра свечения ОКИ.

Данные результаты интересны с точки зрения исследования процессов взаимодействия в различных системах типа нескольких близкорасположенных квантовых точек, таких как сросшиеся оболочками гигантские квантовые точки [62], в которых наблюдается антигруппировка, связанная, по мнению авторов, с процессами ожеионизации с участием экситонов, локализованных в различных ядрах агломерата, а также цепочки КТ [63] и пары КТ [64]. Высокая точность пространственной локализации центра свечения открывает путь к исследованию процессов взаимодействия в таких системах на уровне отдельных квантовых излучателей.

5. Заключение

Вся совокупность экспериментальных методов, инструментов и программно-численных подходов, объединённая в рассмотренном в данной статье многофункциональном люминесцентном наноскопе дальнего поля, обеспечивает уникальные возможности для исследования фотофизических свойств одиночных квантовых излучателей различной природы и химического состава, а также композитных материалов и структур на их основе. Разработанный аппаратно-программный комплекс позволяет исследовать внутри- и межмолекулярные процессы на уровне одиночных молекул, молекулярных комплексов и отдельных квантовых точек. Например, в представленных в статье работах прояснена микроскопическая природа эффекта мерцания люминесценции полупроводниковых коллоидных нанокристаллов (квантовых точек).

Последовательно-параллельное детектирование спектров и флуоресцентных изображений для большого количества примесных одиночных маркерных квантовых излучателей с последующей обработкой больших баз данных обеспечивает возможность многопараметрической нанодиагностики материалов. В частности, развиты подходы для субволнового картирования материальных характеристик твердотельных плёнок. Достигнуты рекордные значения точности восстановления координат одиночных органических молекул и полупроводниковых коллоидных квантовых точек.

Разработанные методы и подходы могут найти свои приложения при решении широкого круга фундаментальных и прикладных задач современного материаловедения, нанотехнологий, квантовых технологий, микроэлектроники.

Благодарности

Авторы благодарят Российский научный фонд (проект 14-02-01415) за финансовую поддержку работ по направлению "Статистические методы исследования люминесценции одиночных нанообъектов". Работы по развитию методов микроскопии сверхвысокого разрешения с полупроводниковыми квантовыми точками (И.Е., М.Е.) были поддержаны в рамках гранта Президента РФ для молодых кандидатов наук (МК-2184.2017.2). Часть работ, обзор которых приведён в настоящей статье, была выполнена при поддержке программы Президиума РАН I.7 "Актуальные проблемы фотоники, зондирование неоднородных сред и материалов" и финансирования в рамках Государственного задания ФГБУН Института спектроскопии РАН.

Список литературы

1. Moerner W E *Angew. Chem. Int. Ed.* **54** 8067 (2015)
2. Betzig E *Angew. Chem. Int. Ed.* **54** 8034 (2015)
3. Hell S W *Angew. Chem. Int. Ed.* **54** 8054 (2015)
4. Henriques R et al. *Nature Meth.* **7** 339 (2010)
5. Jones S A et al. *Nature Meth.* **8** 499 (2011)
6. von Diezmann A, Shechtman Y, Moerner W E *Chem. Rev.* **117** 7244 (2017)
7. Bates M et al. *Science* **317** 1749 (2007)

8. Наумов А В *УФН* **183** 633 (2013); Naumov A V *Phys. Usp.* **56** 605 (2013)
9. Hofmann C et al. *Phys. Rev. Lett.* **90** 013004 (2003)
10. Nirmal M et al. *Nature* **383** 802 (1996)
11. Двуреченский А В, Якимов А И *УФН* **171** 1371 (2001); Dvurechenskii A V, Yakimov A I *Phys. Usp.* **44** 1304 (2001)
12. Разумов В Ф *УФН* **186** 1368 (2016); Razumov V F *Phys. Usp.* **59** 1258 (2016)
13. Осадько И С *УФН* **186** 489 (2016); Osad'ko I S *Phys. Usp.* **59** 462 (2016)
14. Doherty M W et al. *Phys. Rep.* **528** 1 (2013)
15. Mishin A S et al. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **27** 1 (2015)
16. Турчин И В *УФН* **186** 550 (2016); Turchin I V *Phys. Usp.* **59** 487 (2016)
17. Доронина-Амитонова Л В и др. *УФН* **185** 371 (2015); Doronina-Amitonova L V et al. *Phys. Usp.* **58** 345 (2015)
18. Kinkhabwala A et al. *Nature Photon.* **3** 654 (2009)
19. Виноградов А П и др. *УФН* **182** 1122 (2012); Vinogradov A P et al. *Phys. Usp.* **55** 1046 (2012)
20. Краснок А Е и др. *УФН* **183** 561 (2013); Krasnok A E et al. *Phys. Usp.* **56** 539 (2013)
21. Витухновский А Г *УФН* **181** 1341 (2011); Vitukhnovsky A G *Phys. Usp.* **54** 1268 (2011)
22. Витухновский А Г *УФН* **183** 653 (2013); Vitukhnovsky A G *Phys. Usp.* **56** 623 (2013)
23. Виноградов А П, Дорофеенко А В, Зухди С *УФН* **178** 511 (2008); Vinogradov A P, Dorofeenko A V, Zouhdi S *Phys. Usp.* **51** 485 (2008)
24. Brinks D et al. *Chem. Soc. Rev.* **43** 2476 (2014)
25. Naumov A V et al. *Phys. Rev. B* **6321** 212302 (2001)
26. Vainer Yu G, Naumov A V, Bauer M, Kador L *Phys. Rev. Lett.* **97** 185501 (2006)
27. Eremchev I Yu, Naumov A V, Vainer Yu G, Kador L *J. Chem. Phys.* **130** 184507 (2009)
28. Naumov A V et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **48** 9747 (2009)
29. Naumov A V et al. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **13** 1734 (2011)
30. Eremchev I Y, Vainer Y G, Naumov A V, Kador L *Phys. Chem. Chem. Phys.* **13** 1843 (2011)
31. Osad'ko I S et al. *Phys. Rev. A* **86** 053802 (2012)
32. Еремчев И Ю, Вайнер Ю Г, Наумов А В *ФТТ* **55** 652 (2013); Eremchev I Y, Vainer Y G, Naumov A V, Kador L *Phys. Solid State* **55** 710 (2013)
33. Anikushina T A, Gladush M G, Gorshelev A A, Naumov A V *Faraday Discuss.* **184** 263 (2015)
34. Osad'ko I S, Eremchev I Yu, Naumov A V *J. Phys. Chem. C* **119** 22646 (2015)
35. Eremchev I Yu, Osad'ko I S, Naumov A V *J. Phys. Chem. C* **120** 22004 (2016)
36. Naumov A V et al. *Nano Lett.* **18** 6129 (2018)
37. Naumov A, Eremchev I Yu, Gorshelev A A *Eur. Phys. J. D* **68** 348 (2014)
38. Moerner W E, Kador L *Phys. Rev. Lett.* **62** 2535 (1989)
39. Orrit M, Bernard J *Phys. Rev. Lett.* **65** 2716 (1990)
40. Güttler F et al. *Chem. Phys. Lett.* **217** 393 (1994)
41. van Oijen A M et al. *Chem. Phys. Lett.* **292** 183 (1998)
42. Weiss S *Science* **283** 1676 (1999)
43. Eid J et al. *Science* **323** 133 (2009)
44. Dittrich P S, Manz A *Nature Rev. Drug Discov.* **5** 210 (2006)
45. Mehta S B et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **113** E6352 (2016)
46. Rust M J, Bates M, Zhuang X *Nature Meth.* **3** 793 (2006)
47. Betzig E et al. *Science* **313** 1642 (2006)
48. Efros A L, Nesbitt D J *Nature Nanotechnol.* **11** 661 (2016)
49. Shirasaki Y et al. *Nature Photon.* **7** 13 (2013)
50. Jelezko F, Wrachtrup J *Phys. Status Solidi A* **203** 3207 (2006)
51. Chizhik A I et al. *Nano Lett.* **11** 1700 (2011)
52. Türschmann P et al. *Nano Lett.* **17** 4941 (2017)
53. Mochalov K E et al. *ACS Nano* **7** 8953 (2013)
54. Fischer T et al. *Nano Lett.* **17** 1559 (2017)
55. Wolff G et al. *Biol. Cell* **108** 245 (2016)
56. Wei Q et al. *ACS Nano* **8** 12725 (2014)
57. Pavani S R P et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106** 2995 (2009)
58. Волостников В Г *УФН* **182** 442 (2012); Volostnikov V G *Phys. Usp.* **55** 412 (2012)
59. Волостников В.Г. и др. *Изв. РАН, Сер. физ.* **80** 841 (2016); Volostnikov V G et al. *Bull. Russ. Acad. Sci. Phys.* **80** 766 (2016)
60. Савостьянов А О и др. *Письма в ЖЭТФ* **107** 426 (2018); Savostianov A O et al. *JETP Lett.* **107** 406 (2018)
61. Mortensen K I et al. *Nature Meth.* **7** 377 (2010)
62. Lv B et al. *Nature Commun.* **9** 1536 (2018)
63. Koole R et al. *J. Am. Chem. Soc.* **128** 10436 (2006)
64. Еремчев И Ю и др. *Письма в ЖЭТФ* **108** 26 (2018); Eremchev I Yu et al. *JETP Lett.* **108** 30 (2018)

Multifunctional far-field luminescence nanoscope for studying single molecules and quantum dots

I.Yu. Eremchev [(1,2)], **M.Yu. Eremchev** [(1,2,3)], **A.V. Naumov** [(1,2,4)]

[(1)] *Institute of Spectroscopy, Russian Academy of Sciences, ul. Fizicheskaya 5, 108840 Troitsk, Moscow, Russian Federation*

[(2)] *Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Institutskii per. 9, 141700 Dolgoprudnyi, Moscow region, Russian Federation*

[(3)] *École Polytechnique Fédérale De Lausanne, Lausanne, Switzerland*

[(4)] *Moscow State Pedagogical University, ul. Malaya Pirogovskaya 1, 119882 Moscow, Russian Federation*

E-mail: naumov@isan.troitsk.ru

Far-field fluorescence spectromicroscopy of single quantum emitters (SQE) (organic molecules, quantum dots, color centers in crystals) is one of the actively developing fields of modern photonics, which is widely demanded in various applications in physics, chemistry, material sciences, life sciences, quantum technologies. In this paper we present a description of multifunctional experimental setup, which was developed last years in the Institute for Spectroscopy of the Russian Academy of Sciences. It allows to measure optical spectra and fluorescence images of SQE, as well as their temporal behavior and luminescence kinetics, in a broad range of temperatures (from cryogenic to ambient). It is shown that spatial coordinates of SQE can be reconstructed with subdiffractional accuracy (up to a few Angstroms). Some examples of the developed methods for multiparameter superresolution microscopy (nanoscopy) of materials and nanostructures are presented.

Keywords: luminescence, microscopy, nanoscopy, single molecule, quantum dot, color center, antibunching, kinetics, polymers, glasses, crystals, nanodiagnostics, cryogenic temperatures, Shpol'skii matrix, sensor, CdSe, NV-center

PACS numbers: **42.79.–e**, **78.55.–m**, 78.67.Hc
Bibliography — 64 references
Uspekhi Fizicheskikh Nauk **189** (3) 312–322 (2019)
DOI: https://doi.org/10.3367/UFNr.2018.06.038461

Received 5 October 2018
Physics–Uspekhi **62** (3) (2019)
DOI: https://doi.org/10.3367/UFNe.2018.06.038461