TARTU ÜLIKOOL Füüsika-keemiateaduskond Materjaliteaduste Instituut

Martti Pärs

Konfokaalne mikroskoopia üksikute kiirgustsentrite detekteerimiseks

Tahkisefüüsika magistritöö

Juhendaja: TÜ FI teadur füüs.-mat. kand. Viktor Palm

Tartu 2004

1. Sissejuhatus	3
2. Kirjanduse ülevaade	4
 2.1 Lisandispektroskoopia 2.2 Üksikute molekulide spektroskoopia 2.3 Eksperimenditehnika 2.4 Madalatemperatuurne ÜMS eksperiment 2.5 Tulemused ja arutelu 3. Konfokaalne mikroskoopia 	
3.1 Tööpõhimõte3.2 Mikroskoobi lahutusvõime4. Lisandispektroskoopia teemandis	
4.1 Teemandi omadused4.2 Teemandi kasvatamine	
4.2.1 Kasvatusprotsess4.3 Nikliga seotud tsentrite uurimine teemandis	
4.3.1 Uuritav objekt4.3.2 Nikkel-lämmastik tsentri (NE8) struktuur4.4 Nikli tsentrite jaotus teemandis	
 4.4.1 Sissejuhatus 4.4.2 Eksperimendi seade 4.4.3 Kiirguse registreerimine teemandis 4.4.4 Mikroskoobi objektiivi valgusjõud 4.4.5 Tulemused 	
5. Konfokaalse mikroskoobi konstrueerimine	
 5.2 Optiline skeem	
 5.6 Ramani hajumise mõõtmine	
S.0.2 Eksperiment Kokkuvõte Summary Tänuavaldused	
Põhitulemuste aprobatsioon	48
Viited	49

1. Sissejuhatus

Tänu teravikmikroskoopia arengule on saanud võimalikuks tahkise uurimises minna ruumilise lahutusega aatomlahutuse piirile võimaldades otseselt kombata aine struktuuri. Pinna uurimiseks on võimalik kasutada skaneerivaid mikroskoope: skaneerivat tunnelmikroskoopi STM, aatomjõu mikroskoopi AFM ja skaneerivat lähivälja mikroskoopi NSOM. Nende meetodite puuduseks on, et neid saab kasutada ainult pindade uurimiseks. Samas ei ole neid meetodeid võimalik rakendada spektroskoopilisteks uuringuteks.

Valguse laineliste omaduste tõttu ei ole võimalik optilise mikroskoopiaga saavutada teravikmikroskoopidele lähedast lahutusvõimet. Traditsioonilisteks aine süvastruktuuri eksperimentaalseteks uurimismeetoditeks on jäänud siiski erinevad spektroskoopilised meetodid. Konfokaalne mikroskoop on leidnud laialdast kasutamist eelkõige meditsiinis ja bioloogias, samuti mõnes spektroskoopia valdkonnas: Raman spektroskoopia, üksiku molekuli spektroskoopia (ÜMS).

Praegusel hetkel on saanud ÜMS ja üksikute molekulide detekteerimine (ÜMD) standardmeetoditeks aine süvastruktuuri ja molekulide kvantomaduste uurimisel. Rakendades sinna konfokaalset mikroskoopi on ÜMD muutunud perspektiivikaks meetodiks ravimiuuringutes .

Füüsika Instituudis on arendatud ÜMS 12 aasta vältel. Peatükis 2 on refereeritud osa autori osalusel saavutatud sellealastest tulemustest. Kasutades omandatud kogemust ÜMS vallas seadsime edasiseks uurimustöö eesmärgiks olemasoleva aparatuuri täiustamise ja selle rakendamise toatemperatuursetes eksperimentides. Põhieesmärgiks on seatud konfokaalse mõõteaparatuuri loomine, mis muuhulgas võimaldaks muuta fluorestsents- ja Ramanspektroskoopia standardseteks analüüsimeetoditeks, avades võimalusi kasutada neid rakendusuuringuteks. Täiendavaks ülesandeks oli sobiva testobjekti leidmine ja ettevalmistamine mikroskoobi parameetrite määramiseks ja võrdlemiseks mõne töötava samalaadse mikroskoobiga.

2. Kirjanduse ülevaade

2.1 Lisandispektroskoopia

Lisandispektroskoopia pakub võimalusi uurida mitmesuguseid tahkise omadusi, põhinedes tahkistes olevate defektide - vakantside, võõraatomite, molekulide spektrite uurimisel. Tahkisesse asetatud ioonse , atomaarse või molekulaarse lisandi kvantmehaanilise oleku määrab tema elektronseisund ja molekuli võnkeseisund. Sellised üleminekud, kus võnkeseisund ei muutu, nimetatakse foononvabadeks üleminekuteks [1]. Foononvabadele üleminekutele vastavad spektrijooned paistavad silma oma suure intensiivsuse ja väikese spektraalse laiuse poolest. Tänu nende unikaalsetele ja hästi determineeritud omadustele on foononvabade joonte FVJ uurimine aluseks kõrglahutusliku selektiivspektroskoopia meetoditele: fluorestsentsi joone kitsenemine, spektraalsälkamine [2] ja ÜMS [3,4]

2.2 Üksikute molekulide spektroskoopia

ÜMS on meetod, mis võib pakkuda mitmekülgset informatsiooni aine sisemuses asuva üksiku lisandimolekuli ja tema lähiümbruse kohta. Saab uurida homogeense joone kuju ja laiust, elektronseisundite peenstruktuuri, spektraalset difusiooni ja materjali lokaalseid omadusi lisandi ümbruses (elektriväli, magnetväli, sümmeetria), jms. [3]

Selleks, et eraldada üksiku molekuli kiirgust peab ergastava valgusega resonantsis olema ainult üks molekul. Selline olukord on saavutatav kasutades madalaid lisandikontsentratsioone ja suurt ruumilist ja spektraalset lahutust. Spektraalne lahutus on saavutatav tänu kitsastele FVJ-le, tingimusel et mittehomogeenne laius ületab tunduvalt joone homogeenset laiust. Spektraalset selektsiooni iseloomustab joonis 1, kus igal molekulil on erineva sagedusega FVJ, varieerides kitsast ergastussagedust on võimalik saavutada olukord, kus ergastusega on resonantsis ainult üks molekul. Tavaliselt registreeritakse ergastusspekter, kus ergastusega skaneeritakse üle FVJ-e ja registreeritakse integraalselt nt. foonontiiba spektri punases osas.



Joonis 1: a) Mittehomogeensesse spektrisse annavad panuse üksikute molekulide homogeensed jooned, üksikute molekulide spektraalne selektsioon on võimalik mittehomogeense joone tiival (märgitud punase noolega), b) homogeensete joonte kesksagedused varieeruvad, kuna üksiku molekuli spekter sõltub tema ümbrusest [3]

ÜMS meetodit hakati rakendama heeliumi temperatuuril orgaanilistes klaasides ja kristallides, kus lisandmolekulidena kasutati kõrge kvantsaagisega molekule. Traditsiooniliseks ÜMS objektiks on kasutatud terüleeni molekuli, mille FVJ mõnedes maatriksites heeliumi temperatuuril võib olla väga kitsas, ulatudes 40 MHz-ni.

ÜMD meetodi puhul ei ole eesmärgiks seatud registreerida lisandimolekuli spekter, vaid ergastatakse ükskuid kiirgustsentreid mitteselektiivselt ja fluorestsentsi registreeritakse suure ruumilise lahutusega. ÜMD on aktuaalne bioloogia ja meditsiini vallas, kus kiirgavaid markermolekule kasutatakse valkude identifitseerimiseks ja nende difusiooni, seonduvuse ning funktsionaalsuse uurimiseks[5]. Fundamentaalset huvi pakub ÜMD molekulide kvantomaduste tõttu: üksikute footonite allikad [6], kvantlülitid [7], kuni kvantarvuti realiseerimiseni.

2.3 Eksperimenditehnika

Üksikute molekulide detekteerimine seab aparatuurile ja uurimisobjektile küllalt kõrgeid nõudmisi, seetõttu on ta rakendatav küllalt vähestele süsteemidele. Kuna ergastamine peab toimuma võimalikult väiksesse ruumipunkti, tuleb kasutada võimalikult lühikese fookuskaugusega optikat. Ülevaate erinevatest ÜMS eksperimendi skeemidest annab joonis 2. Toatemperatuuril kasutatakse mikroskoobi objektiivi (joonis 2 e), mis annab difraktsiooni piirile lähedase valguspunkti, ning signaali saab koguda üle laia ruuminurga (imersioonobjektiivid). Mikroskoobist tulevat signaali võib koguda kasutades konfokaalset skeemi, või projitseerida CCD kaamerale, viimane annab võimaluse detekteerida ruumiliselt mitu molekuli korraga.



Joonis 2: Optilised skeemid ühe molekuli ergastamiseks ja fluorestsentsi kogumiseks. a) fiiber + parabool; b) parabool + lääts; c) µm auk läätsega; d) konfokaalne paraboolskeem; e) konfokaalne mikroskoobi objektiiv; f) lähivälja mikroskoop koos teritatud fiibriga. Joonis võetud tööst [4].

Esimestes madalatemperatuursetes ÜMS eksperimentides, kus on kõrge spektraalne selektsioon, on kasutatud mitmesuguseid paraboolpeegleid, millel on oma lihtsa konstruktsiooni tõttu mitmeid eeliseid, kuna nad ei vaja justeerimist ja on temperatuuri suhtes stabiilsed. Praegusel ajal kasutatakse ÜMS eksperimentides enamasti konfokaalset skeemi (joonis 2, e).

2.4 Madalatemperatuurne ÜMS eksperiment

Antud töös kasutati terüleeni lisandimolekule bifenüüli ühismõõduta faasi uurimiseks [8,9,10] kasutades ÜMS ja spektraalsälkamise[11] meetodeid. Objekt on paigutatud FI-s konstrueeritud läätsest ja paraboolpeeglist koosnevasse ühemolekuli rakku [12]. Eksperimendis on kasutatud sublimatsiooni meetodil puhastatud bifenüüli polükritalle lisandikontsentratsiooniga 10⁻⁸ mol/mol. Ergastuseks on kasutatud ühesageduslikku ringlaserit CR-699-29 Autoscan (joonelaius 1 - 2 MHz) värvainega Rh6G (skaneerimisulatus 566-610 nm), mida pumbatakse Ar⁺ ioonlaseriga.

2.5 Tulemused ja arutelu

Objektis on jälgitav spektraalsälgu põlemine, mis on fotofüüsikalist päritolu, kuna terüleen on ise väga fotostabiilne. Põlemiskineetika on tugevalt mitteeksponentsiaalne. Joonisel 3 on katsetulemusi lähendatud kahanevate eksponentide summaga. Parima lähenduse saame kasutades kolme eksponendi summat. Võrdluseks on toodud ka parim üheeksponentsiaalne lähendus (tähistatud punktiiriga). Sälgu poollaiuse määramiseks on spektrit lähendatud Lorenzi kontuuriga, vastav poollaius on 3.5 GHz. Ekstrapoleerides nulldoosile saame sälgu poollaiuseks ~2.7 GHz.

Mõõdetud üksikute terüleeni molekulide joonelaiused ületavad tunduvalt eluealist laiust. Üksikute molekulide joonelaiused jäävad vahemikku 150 – 1600 MHz (joonis 4). Joonelaiuste jaotuse maksimum on vahemikus 150-250 MHz.

Selline homogeenne laienemine on seletatav madalatemperatuurse dünaamika olemasoluga bifenüüli kristallis. Joonelaiuste keskväärtus erineb oluliselt spektraalsälkamise eksperimendis saadud tulemustest. Selline lai spektraalne jaotus võib olla tingitud ühismõõduta maatriksis esineva modulatsioonilaine mõjust lisandimolekulide spektritele [13].



Joonis 3: Põlemise kineetika ergastusel λ =557.53 nm, temperatuur 1.7 K, ergastuse intensiivsus ~0.15 mW/cm², laseri joonelaius ~2 MHz. Punktiiriga on näidatud parim üheeksponentsiaalne lähendus. Pidev joon tähistab lähendaus kolme eksponendiga, vastavad ajakonstandid on antud kineetilise kõvera puhul $\tau_1 = 1.6$ s, $\tau_2 = 17.8$ s ja $\tau_3 = 362$ s.



Joonis 4: Üksikute molekulide joonelaiuste histogramm. Mõõdetud 75 stabiilset joont temperatuuril 1.8 K.

3. Konfokaalne mikroskoopia

3.1 Tööpõhimõte

Optilist mikroskoopi kasutades saame objektist suurendatud kahemõõtmelise kujutise, mida võib silmaga vaadelda läbi okulaari või projitseerida maatriksdetektorile. Selliselt saame terava kahemõõtmelise kujutise objekti pinnast või mingist objekti kihist kuhu objektiiv on fokuseeritud. Samas ei ole välistatud väljaspool fookust tulevate kiirte sattumine okulaari või siis detektorisse. Sellised kiired ei anna küll kujutist, kuid tekitavad häguse fooni terava kujutise taustal, mis halvendab kujutise kvaliteeti. Väljastpoolt fookust tulevad kiired on põhiprobleemiks, mis ei luba traditsioonilise optilise mikroskoobiga saavutada difraktsiooni piirile ligilähedast lahutust. Teiseks puuduseks on kolmemõõtmelise kujutise saavutamise võimatus.

Seda väidet illustreerib järgmine näide, vt. joonis 5. Selleks vaatleme ideaalselt läbipaistvat kilet, milles on kolm fluorestseeruvat punkti A, B ja C, mis on paigutatud kilesse erinevale sügavusele, ehk asetsevad erinevates fokaaltasandites. Vaadeldes sellist kilet tavalise mikroskoobiga, näeme kolme punkti. Kolmest kõige teravam paistab see punkt, mis asub objektiivi fookuses, teist kahte punkti näeme hägusena ja laialivalgununa.



Joonis 5: a) kile , kus on kolm punkti, kõik erineval sügavusel , b) kujutis kilest, saadud tavalise mikroskoobiga, c) kujutis saadud konfokaalse mikroskoobiga [14]

See ei võimalda meil määrata, missugusel sügavusel asuvad väljaspool fokaaltasandit asuvad punktid. Ekslikuks võib osutuda ka väide, et hägusemad punktid on väljaspool fookust, sest on võimalus et need punktid on füüsiliselt laiemad või hägusemad. Seega tavalise mikroskoobiga saadud info tõlgendamisel võib tekkida raskusi, kui meil ei ole eelteadmisi objekti omaduste kohta.

Konfokaalse mikroskoobi eeliseks on see, et detektorisse saabub valgus ainult fookuspunktist, lõigates ära väljaspoolt fookust tuleva kiirguse. Konfokaalse mikroskoobiga saadavat pilti illustreerib joonis 5 c), kus me näeme ainult seda kiirgavat punkti, mis asub fokaaltasandis. Teisel sügavusel oleva punkti jälgimiseks tuleb meil mikroskoop fokuseerida uuele sügavusele.

Konfokaalse mikroskoobi printsipiaalset ehitust illustreerib joonis 6. Laserist tulev ergastav kiirtekimp tehakse teleskoobiga sobivalt laiaks, et kogu objektiiv oleks valgustatud. Teleskoobist langeb kiirtekimp pool-läbilaskvale plaadile, mis toimib kiirejagajana. Plaadilt peegeldub laseri kiir mikroskoobi objektiivi ja fokuseerub kuskil objektis mikroskoobi fokaaltasandis. Objektist tulev kiirgus registreeritakse fotoelektronkordistiga (FEK).

Objektist tulev kiirgus langeb läbi mikroskoobi objektiivi kiirejagajale, kus osa valgust langeb mikromeetrilisele avale (pinhole) ja osa valgust peegeldub laserisse. Kujutis tekib ava tasandis. Detektorisse pääsevad ainult avale projitseerunud kujutise kiired. Väljastpoolt fokaaltasandit tulevate kiirte kujutis tekib ava tasandist ette või tahapoole ja seetõttu ei lange need kiired detektorisse. Seega vastab avast läbivatele kiiretele objektis kindlal sügavusel piiratud ruumala, mis annabki ruumilise lahutuse kõikides dimensioonides.

Seega registreeritakse kiirgust samast ruumipunktist , mida valgustatakse ergastava kiirega. Selleks et saada tervet pilti tuleb objekt punktpunkti haaval läbi skaneerida. Lihtsamal juhul võib objekti liigutada objektiivi suhtes. Skaneerides x-y tasandis saame objektist kahemõõtmelise pildi, mille iga punkti heledus vastab kiirgusele objekti vastavas punktis. Muutes objekti asukohta z tasandis, saame registreerida objektist pildi iga sügavuse kohta eraldi, millest lõpptulemusena on võimaik objektist konstrueerida kolmemõõtmeline pilt. Varieerides sügavust z saame võtta objektist lõikeid, mille paksus on vähem kui pool valguse lainepikkust[15].



Joonis 6: Laserist tulev ergastav kiirgus langeb läbi teleskoobi **kiirte jagajale**, millest osa peegeldub mikroskoobi **objektiivi**, ülejäänud läheb mõõtmise jaoks kaduma. Objektiivi läbinud kiired fokuseeruvad **fokaaltasandis**. Objektist tulev kiirgus projitseerub mikroavale (**pinhole**) ja fotoelektronkordistisse - **FEK**

3.2 Mikroskoobi lahutusvõime

Valguse laineliste omaduste tõttu ei ole võimalik optilise mikroskoobiga saavutada kuitahes suurt lahutusvõimet. Vaadeldes objekte, millede mõõtmed on valguse lainepikkusega samas suurusjärgus, piirab objektist terava kujutise saamist valguse difraktsioon. Isegi ideaalse optilise süsteemiga, kus on kõrvaldatud kõik aberratsioonid, transformeerub punkt difraktsioonipildiks, mille peamaksimum on lõpliku laiusega. Seega ei ole võimalik korraga vaadelda kaht väga lähedast punkti, sest nende difraktsioonipildid hakkavad kattuma.

Punktobjektist läbi optilise süsteemi tekitatud difraktsioonipildi kirjeldamiseks on mõistlik kasutusele võtta punkti jaotusfunktsioon (point spread function, PSF), mis transformeerib ideaalse punktobjekti, mida võib võrrelda deltafuntsiooniga, intensiivsuse jaotuseks kujutise ruumis [15]. Joonisel 7 on toodud jaotuse kujud lateraalses x,y ja aksiaalses z, x tasandis.



Joonis 7: intensiivsuse jaotus x-y tasandis a) x-z tasandis b) [15]

Punktobjektide jaoks avaldub registreeritav punkti jaotusfunktsioon PSF_P ergastava PSF_{exc} ja detekteeritava PSF_{det} jaotusfunktsiooni korrutisena.

Paraksiaalses lähenduses ning mitte väga suure objektiivi apertuurarvu puhul kirjeldab konfokaalse mikroskoobi aksiaalset punkti jaotusfunktsiooni järgmine avaldis

$$I_Z(u,0) = \left[\frac{\sin(\frac{u}{4})}{\frac{u}{4}}\right]^4$$
3.1

ja lateraalne jaotusfunktsioon

$$I_r(0,v) = \left[\frac{2 \cdot J_1(v)}{v}\right]^4$$
 3.2

Kus J₁ on esimest järku Besseli funktsioon ning u ja v normeeritud koordinaadid, mis on defineeritud järgmiselt:

$$u = \frac{2 \cdot \pi}{\lambda} \cdot z \sin^2(\alpha)$$
 3.3

$$v = \frac{2 \cdot \pi}{\lambda} \cdot r \sin(\alpha)$$
 3.4

Kus z tähistab aksiaalset koordinaati ja $r = \sqrt{x^2 + y^2}$ lateraalset koordinaati ning $\sin(\alpha)$ on mikroskoobi objektiivi apertuurarv. [14]

Tavalise mikroskoobi lahutusvõime on määratud Rayleigh'i kriteeriumiga, kus kaks punkti on eraldatavad siis, kui esimese punkti difraktsiooni maksimum langeb kokku teise punkti difraktsiooni miinimumiga. Kuna konfokaalne mikroskoop ei anna pilti vaid projitseerib ühte ruumipunkti korraga, siis loetakse mikroskoobi lahutusvõimeks korraga registreertitava ruumipunkti lateraalset ja aksiaalset mõõdet, mis on defineeritud kui punkti jaotusfunktsioonide poollaiused FWHM_{lateral}, FWHM_{aksiaal}.

$$FWHM_{aksiaal} = \frac{0.64 \cdot \lambda}{(n - \sqrt{n^2 - NA^2})}$$
 3.4

$$FWHM_{lateraal} = \frac{0.37 \cdot \lambda}{NA}$$
 3.5

kus λ on valguse lainepikkus, n keskkonna murdumisnäitaja ja NA=sin(α) on mikroskoobi apertuurarv. Antud seosed on tuletatud ideaaljuhule, kui konfokaalse ava diameeter on võrdne või väiksem kui valguse lainepikkus ja objektiivi suurendus on 1. Suuremete avade puhul kehtib lähendusvalem 3.6 kus *PH* ava normeeritud läbimõõtu suurendusele 1[15].

$$FWHM_{aksiaal} = \sqrt{\left[\frac{0.88 \cdot \lambda}{n - \sqrt{n^2 - NA^2}}\right]^2 + \left(\frac{\sqrt{2} \cdot n \cdot PH}{NA}\right)^2} \qquad 3.6$$

4. Lisandispektroskoopia teemandis

4.1 Teemandi omadused

Läbi inimajaloo on teemanti peetud ihaldusväärseks materjaliks tänu tema erakordsele omaduste kombinatsioonile. Näiteks tänu erakordsele tugevusele on teemanti kasutatud abrasiivmaterjalina erinevastes lihvimis- lõikamis- ja puurimistehnoloogiates.



Joonis 8: Teemandi kristallvõre struktuur, koosneb kahest kuubilisest alamvõrest, mis on üksteisega nihkes.

Teemandis on süsinik sp³ hübriidsidemetena, kus iga süsinik on ümbritsetud nelja süsiniku aatomiga ning kõikide naaberaatomite vahelised kaugused võrdsed (1,54 Å) ja on seotud tugevate kovalentsete sidemetega, joonis 8. Selline korrapärane aatomite paigutus ja suhteliselt lühikesed keemilised sidemed annavad teemandile harukordse tugevuse. Teemandi muud silmapaistvad omadused on toodud tabelis 1 [16].

Mehaaniline tugevus (kokkusurutavus)	$8.3*10^{-13}$ Pa
Soojusjuhtivus	$2*10^3$ W*m*K
Optiline läbipaistvus	ultravioletist kaugele infrapunasesse
Suur murdumisnäitaja	2.4
Takistus	$10^{16} \mathrm{O*m}$
Läbilöögipinge	$10^7 \mathrm{V*cm^{-1}}$
Elektroniväljumistöö	negatiivne
Keelutsoonilaius	5.4 eV
Laengukandjate liikuvus	$2000 \text{ cm}^{2} \text{*V}^{-1} \text{*s}^{-1}$

Tabel	1:	Teemandi	omadused
-------	----	----------	----------

Üha rohkem hakkab teemant leidma kasutust elektroonikas. Oma hea soojusjuhtivuse tõttu on temast võimalik valmistada miniatuurseid soojusvaheteid, mida võib integreerida pooljuhtseadistesse[17]. Samuti võib teemanti kasutada pooljuhtseadmete valmistamisel, milledel on väiksem ülekuumenemise oht; suure laengukandjate küllastumise kiiruse tõttu võib luua kiiremaid pooljuhtseadmeid. Elektroni negatiivse väljumistöö tõttu võib teemanti kasutada elektronide doonorina.

Fundamentaalset huvi pakuvad optilised kiirgustsentrid, mida saab luua erinevate lisandite sisseviimisega ja/või defektide tekitamisega. Teemandisse on viidud lisandina ioonpommitamise või kasvatamise käigus **H**, **He**, **Li**, Be, **B**, **N**, **O**, F, **Ne**, Na, Al, S, **Si**, **P**, Ar, **Ti**, **Cr**, Mn, Fe, **Co**, **Ni**, Cu, **Zn**, Ga, **As**, Y, **Zr**, Nb, Mo, Pd, **Ag**, Cd, Sb, **Xe**, **Ta**, **W**, Pt, Au, Er aatomeid, kus "boldis" on märgitud valgust kiirgavaid tsentrid[18]. Tähelepanuväärne on asjaolu, et süsinike-vaheliste tugevate sidemete tõttu on peaaegu võimatu ennustada kiirgustsentri elektronstruktuuri lähtudes lisandi enda struktuurist. Isegi inertgaasid kaotavad tugevas teemandi kristalliväljas oma keemilise inertsuse ja moodustavad kovalentseid sidemeid ümbritsevate lisandi või põhiaine aatomitega.

Enamus optilisi tsentreid on võimalik karakteriseerida nende FVJ-ga, mis mõningatel juhtudel on toatemperatuuril registreeritavad. Kõige rohkem uuritud on N-V tsentrid, millega on jõutud üksiku kiirgustsentri detekteerimise tasemele [19] ja on tutvustatud optiliste kvantlülitite realiseerimise võimalusi[7].

Boori lisandiga on tugevdatud teemandi pooljuhtomadusi, kus keelutsoonilaiuseks on saadud 0.373 eV [20,21] ja avastatud ülijuhtivus temperatuuril T_c = 4 K [22].

4.2 Teemandi kasvatamine

Oma kõrge sulamistemperatuuri tõttu on teemandisse lisandaatomeid sisse viia kasvatamise käigus. Selleks on oluline välja selgitada kirgustsentrite formeerumise mehhanism ja nende kontsentratsiooni sõltuvus kristalli kasvu tingimistest ja järeltöötlusest. Ülalöeldust lähtudes refereerime põhjalikumalt teemanti kasvatuse põhialuseid.

Esmakordselt sünteesiti tehislike teemandi kristalle 1955-dal aastal kõrgrõhu ja kõrgel temperatuuril (nn. HTHP (high temperature high pressure meetod) [23]. Tüüpiline kasvatustsükkel on kujutatud joonisel 9. on näha et kasvatustemeperatuuril on teemant oma stabiilses olekus, katalüsaatoritena kasutatakse põhiliselt niklit või rauda. Kasvatamine toimub temperatuuri gradient-meetodil, kus süsinik difundeerub kuumemast süsiniku allika piirkonnast (joonisel 9 punkt **a**) läbi õhukese metallkile kasvatusraku külmemasse piirkonda, kus toimub kristallide kasv (punkt **b**).



Joonis 9: Süsinik-nikli faasidiagramm, punkt a) vastab lähteallika temperatuurile, b) kasvutemperatuurile vt [24].

Kõrgrõhuraku skemaatiline ehitus on toodud joonisel 10. Tavaliselt kasutatakse kasvatusrakku, millel on kaks kasvatuspinda. Rõhutava silindri keskossa paigutatakse isolaator, millest mõlemale poole paigutatakse süsiniku lähteallika kiht, milleks tavaliselt kasutatakse grafiiti või ka grafiidi a teemati kristalliitide segu. Järgmiseks kihiks on õhuke katalüsaatori kile, mille välimistele külgedele asetatakse

seemnekristallid. Sünteesiks vajalik temperatuur ja gradient saavutatakse takistussilindrist voolu läbi juhtimisel, kus külmemateks piirkondadeks jäävad raku otsad. Vajalik rõhk tekitatakse raku mehaanilisel või hüdrostaatilisel pressimisel[24].



Joonis 10: Kõrgrõhu raku skemaatiline joonis teemandi kasvatamiseks vt. [24].

4.2.1 Kasvatusprotsess

Kristallide kasvu antud meetodil saab kirjeldada järgmiste protsesside kaudu:

- i) Süsiniku transport läbi sulanud katalüsaatori kihi toimub difusiooni ja soojusliku konvektsiooni kaudu, kusjuures mõlemate protsesside vood on samasuunalised. Kasutatav temperatuuri gradient jääb vahemikku 60-100 0 C/ cm , sel juhul saadav süsiniku osakeste voog jääb suurusjärku 10^{-4} g*s⁻¹*cm⁻². Varieerides lähteallika kogust ja temperatuuri gradienti, on võimalik saavutada vajalik süsiniku aatomite voog.
- ii) Kontrollitud nukleatsioon ehk kristalliseerumine hakkab toimuma seemnekristallide pinnal. Juhul kui süsiniku aatomite voog on liialt suur, nii et kristalliseerumine ei jõua kõiki osakesi neelata, toimub spontaanne grafiidi kristalliseerumine, hoolimata sellest et antud temperatuuri piirkonnas on grafiit termodünaamiliselt ebastabiilne.

iii) Kristallide väljakirstalliseerumist nikkel-süsiniku lahusest illustreerib järgmine joonis 11. Kihi kasvamine toimub kihi astme nurgas, kus süsinik tõrjub eemale lisandi aatomid. Selleks et vältida lisandi aatomite lõksustumist kristalli tuleb nukleatsioon hoida piisavalt madal, et kasv toimuks üks kiht korraga. Varieerides kasvatusparameetreid, on võimalik saada erineva lisandikontsentratsiooniga kristalle.



Joonis 11. Uue kristallikihi kasv, astme ümbruses tõrjutakse lisandiaatomid kristalli pinnalt [24].

4.3 Nikliga seotud tsentrite uurimine teemandis

4.3.1 Uuritav objekt

Siin töös uuritud teemandi monokristallid on kasvatatud A. Yelisseyevi poolt kõrgrõhu sünteesi meetodil Novosibirski Mineraloogia ja Petrograafia instituudis. Kasvatustemperatuuriks oli 1600 K ja rõhk 5.5 GPa. Peale kasvatamist on läbiviidud lõõmutamine temperatuuril 1900 K. Uuritav kristall omab püramiidi kuju, mille tipmised neli (111) tahku on lihvitud (joonis 12).

Hilisemates kohapeal konstrueeritud konfokaalse mikroskoobi eksperimentides on kasutatud uuritavast kristallist tehtud (110) tasandis poleeritud lõikeid, et pääseda ligi kristalli keskosale.

Selleks et välja selgitada, milliseid tsentreid leidu uuritavas objektis, mõõtsime luminestsentsi spektri toatemperatuuril. Ergastuseks on kasutatud dioodlaserit lainepikkusega 681 nm. Joonisel 13 on registreeritud fluorestsentsi spekter FVJ-ga 793.6 nm. Spektri joon 748.8 nm on identifitseeritud kui teemandi Ramanhajumise joon võnkumisega v=1332 cm⁻¹. Kirjanduses on identifitseeritud FVJ-le 793.6 nm vastav tsenter kui nikkel-lämmastik tsenter (nn. NE8)[25].



Joonis 12: Uuritav teemandi kristall, punane punktiirjoon näitab lõiketasandit.



Joonis 13 Uuuritava teemanti kristalli fluorestsents spekter, ergastuseks on kasutatud dioodlaserit lainepikkusega 681 nm.

4.3.2 Nikkel-lämmastik tsentri (NE8) struktuur

Nikkel-lämmastik tsenter NE8 koosneb ühest nikli aatomist ja neljast teda ümbritsevast lämmastikust (joon 12 a). Nikli aatom paikneb teemandi kristallvõre kahe süsiniku vakantsi vahel. Lämmastik asendab neli süsiniku aatomit kristallograafilistes suundades (331) (332) (joon 12 b). EPR mõõtmistest on selgunud, et lämmastiku aatomid võtavad kristallvõres ligilähedaselt sama positsiooni, mis süsiniku aatomid [25]. Tavaliselt tekib selline tsenter sünteetiliselt valmistatud ja hiljem lõõmutatud kristallides [26].



Joonis 14: a) Nikkel-lämmastiktsentri ruumiline struktuur, b) nikkel paikneb teemandi kristallvõres kahe vakantsi vahel, lämmastik asendab neli süsikiku aatomit kristallograafilistes suundades (331) (332)

Tsentri ergastus- ja fluorestsentsispekter on toodud joonisel 13. Elektron-foononinteraktsiooni iseloomustav Huang-Rhys faktor on S=3.5, fluorestsentsi eluiga 97 ns [27]. Tsentri ergastusspekter on küllalt lai, maksimumidega 380 nm ja 700 nm, seetõttu on meil ergastusallikat võimalik suhteliselt laiades piirides valida. Antud töös oleme kasutanud ergastuseks dioodlaserit lainepikkusega 681 nm ja He-Ne laserit lainepikkusega 632.8 nm.



Joonis 15: Nikkel-lämmastiktsentri NE8 ergastus- ja kiirgusspekter[26].

4.4 Nikli tsentrite jaotus teemandis

4.4.1 Sissejuhatus

Üksikute kiirgustsentrite ruumiliseks lahutamiseks on vajalik lisandite kontsentratsiooni täpne kontrollimine ja viimine võimalikult väikeseks (~1 osakene 10 μ m³ kohta).

Lahustes ja madala sulamistemperatuuriga tahkistes on lisandite kontsentratsiooni varieerimine suhteliselt lihtsasti teostatav: lisandeid võib sisse viia sulatatud tahkisesse lisandite lahustamisel. Kõrge sulamistemperatuuriga tahkiste puhul tuleb lisandid sisse viia kristalli kasvatamisel või hilisemal lõõmutamisel, on kasutatav ka ioon-pommitamine[28], mille käigus viiakse põhiainesse lisandioone või tekitatakse kristallvõresse defekte.

Üheks töö eesmargiks oli nikliga seotud kiirgustsentrite ruumilise jaotuse uurimine olemasolevas teemandi monokristallis. Kõige lihtsam meetod on selleks kiirgustsentrite fluorestsentsi intensiivsuse ruumilise jaotuse mõõtmine, mida sai läbi viia konfokaalse mikroskoobiga.

4.4.2 Eksperimendi seade

Antud eksperiment viidi läbi Bayreuthi Ülikoolis Saksamaal, isevalmistatud konfokaalse Raman- ja luminestsents mikroskoobiseadet kasutades. Seadme ehitust kirjeldab joonis 16. Ergastusallikaks on kasutatud He-Ne laserit , mida eelpuhastatakse interferentsfiltriga 1. Interferentsfilter 2 töötab kiire jagajana, mis laseb otse läbi laserkiirguse, kuid peegeldab nurga all objektist tuleva kiirguse. Konfokaalne mikromeetriline ava (d ~80 μ m) on paigutatud spektrograafi sisendisse, toimides ühtlasi ka sisendpiluna. Spekter registreeritakse lämmastiku temperatuurile jahutatud CCD kaamera abil. Laseri blokeerimiseks kasutatakse Notch filtrit.

Objekt on paigutatud piesonihutile, millega on võimalik teha objekti nihutamist x,y,z sunnas kuni 100 µm.



Joonis 16: Konfokaalse mirkoskoobi optiline skeem Bayreuthi Ülikoolis.

4.4.3 Kiirguse registreerimine teemandis

Suure murdumisnäitaja tõttu on signaali kogumine teemandi seest seotud mõningate iseärasustega. Minnes objektiivi fokaaltasandiga objekti "sisse", muutub objektiivi fookuskaugus suuremaks ja apertuurinurk väiksemaks, seega signaali kogumise ruuminurk väheneb ning registreeritav Raman hajumise ja luminestsentsi intensiivsus langeb.



Joonis 17: Mikroskoobi objektiivi fookuskauguse muutus kõrge murdumisnäitajaga keskkonnas.

Vastavalt murdumisseadusele toimub objektiivist tulevate kiirte murdumine tihedamasse keskkonda (joonis 17) kus nurk α on mikroskoobi objektiivi aperuurinurk ja maksimaalne langemisnurk ja β murdumisnurk ning apertuurnurk teemandis (seos 4.1) ning n_{21} murdumisnäitaja teemandis. Punktiiriga on tähistatud fookuse asukoht õhus.

$$\beta = \arcsin(\frac{\sin(\alpha)}{n_{21}})$$
 4.1

Fookuspunkti nihkumist kõrge murdumisnäitajaga keskkonnas kirjeldab järgmine seos 4.2, kus h_s tähistab sügavust millele vastaks fookuse asukoht kui aine murdumisnäitaja oleks 1 ja f_s on fookuspunkti reaalne asukoht objekti pinnast mõõdetuna.

$$f_s = \frac{\tan(\alpha) * h_s}{\tan(\arcsin(\frac{\sin(\alpha)}{n_{21}}))}$$
 4.2

Seosest 4.2 järeldub, et fookuspunkti reaalne asukoht on võrdeline objekti nihkega.

4.4.4 Mikroskoobi objektiivi valgusjõud

Lihtsamas lähenduses võib kiirgusallikad lugeda aine sees punktallikateks, mis võrdse tõenäosusega kiirgavad sfääri, siis on võimalik objektiiviga registreerida ainult osa kiirgusest. Kui kiirgusvoog kõikides suundades on võrdne siis regitreeritava kiirgusvoo ja kogukiirgusvoo suhet saab hinnata seosest 4.3

$$\eta = \frac{d\Omega}{4\pi}$$
 4.3

Kus $d\Omega$ vastab objektiivi langeva valgusvoo ja 4π kogu sfääri kiiratud valgusvoo ruuminurgale. Objektiivi jaoks õhus ja teemandis avaldub ruuminurk seostest. Konkreetsed arvutused kasutaud objektiivide kohta on toodud tabelis 2.

Parameeter	40 X objektiiv	100 X objektiiv
Fookuskaugus / mm	4.5	1.8
Aperuurinurk, deg	50	71.8
η õhus	0.179	0.329
η teemandis	0.026	0.04
Fookussügavuse muutus	3.538 µm	7.058 μm
objektis 1 µm kohta		

Tabel 2. Kasutatavate objektiivide parameetrid.

4.4.5 Tulemused

Uuritav teemandi kristall oli asetatud tahuga (111) parraleeliselt piesonihuti x,y tasandiga. Skaneerides piesoalust z- suunas sammuga 1 μ m on mõõdetud luminestsents ja Ramanspekter, vt. joonis 18. R-ga on tähistatud teemandi Ramani joon. Luminestsentsi intensiivsuse jaotus (111) tahu normaali suunas on saadud, integreerides FVJ-e alust pindala.

Mõõtmised on teostatud x40 ja x100 kordse suurendusega objektiividega (joonised 19,20), skaneerimise ulatus 100 µm. Joonistel on toodud teemandi Raman-ja NE8 tsentri FVJ-e intensiivsuse sõltuvus sügavusest.

Võrdluseks on joonistel 19, 20 toodud Ramanjoone intensiivsuse sõltuvus, mille järgi toimub ka pinna asukoha määramine eeldusel, et Ramansignaal on kõige tugevam pinna läheduses ja hakkab kahanema objekti sees. Joonistelt 19 ja 20 on näha, et luminestsentsi intensiivsus on kõige tugevam kristalli pinnal ja kahaneb dramaatiliselt kristalli sisemuses. Seega enamus kiirgavaid tsentreid jääb kuni 200 µm pinna kihti.



Joonis18: Nikkel lämmastiktsentri NE8 fluorestsentsspekter, mõõdetud konfokaalse mikroskoobiga, piik R on identifitseeritud kui teemandi Ramani hajumise joon.







Joonis 20: Fluorestsentsi intensiivsuse jaotus tasaandi (111) normaali suunas registreeritud 100 X objektiiviga, punane graafik vastab teemandi Ramani hajumise intensiivusele. Skaneerimise ulatus 100 μ m, millele vastab fookuspunkti sügavuse muutus 705 μ m.

Võib eeldada, et kasvatamise käigus jaotuvad nikli aatomid kristallis ühtlaselt. Kontsentratsiooni fluktuatsiooni võib esineda tahkude servadel ja kasvatamise algfaasis seemnekristalli ümbruses. Kirjandusest selgub, et uuritav FVJ esineb ainult lämmastiku atmosfääris lõõmutatud tehislikel teemanditel. Seega formeerub NE8 tsenter alles lõõmutamise käigus, kui lämmastik difundeerub kristalli ja lõksustub nikli ümbruses olevatesse vakantsidesse[29].

Antud tulemus on märkimisväärne: i) võimaldab lihtsalt varieerida kiirgavate tsentrite kontsentratsiooni kristalli kasvatamisel ja järeltöötlusel. ii) objektis on olemas kontsentratsioonigradient, seega on meil võimalik valida sobivat objekti piirkonda saavutamaks meile sobivat kiirgustsentrite kontsentratsiooni.

5. Konfokaalse mikroskoobi konstrueerimine

5.1 Problemaatika ülevaade

Mikroskoobi põhimõtteline ehitus on kirjeldatud peatükis 3. Põhimõtteliselt ei erine konfokaalne mikroskoop tavalisest valgusmikroskoobist kuigi palju. Konkreetse seadme projekteerimisel on võimalik valida kaks teed:

- Kasutada lihtsalt mikroskoobi objektiivi, ehitada lihtne skeem optilisele
 lauale. Sellist lahendust kasutatakse küllalt palju ÜMS eksperimentides.
 Skeemi eeliseks võib lugeda lihtsust ja odavat lahendust ning ümberehitamise
 võimalust, vastavalt problemaatikale. Reeglina ei ole selline lahendus
 kasutajasõbralik ning vajab igakordset, aeganõudvat, spetsiifilist justeerimist.
- ii) Kasutada standartset mikroskoopi ja lisada sellele vajaminev optiline skeem. Lahenduse eeliseks kasutajasõbralikkus ja kompaktne disain, mis tagab riistaga töötamise suurema efektiivsuse, mis on üks magistri töö eesmärkidest. Puuduseks on skeemi tunduvalt suurem keerukus ja optiliste pindade rohkus, mis võib kaasa tuua seadistamisraskused ja signaali kao.

Selle töö eesmärgiks on seatud luua küllalt universaalne ja kasutajasõbralik optiline skeem, nii et konstrueeritud konfokaalset mikroskoopi oleks võimalik kasutada erinevates spektroskoopia valdkondades. Seetõttu seadsime eesmärgiks, et mikroskoobi konstruktsioon peab vastama järgmistele tingimustele:

- Säilitada võimalikult palju tööstusliku mikroskoobi disaini ja optilist skeemi.
- Mikroskoopi peab saama kasutada mitte ainult mõõtmiseks, vaid ka objekti visuaalseks vaatlemiseks ja prepareerimiseks.
- Tavalisele mikroskoobile lisanduv optiline skeem peab olema hästi justeeritav
- Lihtsamate mõõtmiste puhul ei tohi skeem vajada igakordset justeerimist.

- Mikroskoobist tulevat signaali peab olem võimalik registreerida erinevatel meetoditega: mõõta spektreid läbi spektrograafi või registreerida footoneid fotoelektronkordistiga.
- Mikroskoop peab olema lihtsalt seadistatav tööks madalatel temperatuuridel.

5.2 Optiline skeem

Baasmikroskoobiks valisime Olümpuse mikroskoobi BX51BX seeria mikroskoobi, kus kasutatakse lõpmatusse korrigeeritud optilist süsteemi, joonis 21. Traditsioonilise mikroskoobi optilises lahenduses tekitab objektiiv mingile kaugusele vahekujutise, mida siis vaadatakse okulaariga. Lõpmatusse korrigeeritud optilises skeemis tekib objekti kujutis läbi objektiivi lõpmatusse, vahekujutis tekitatakse nn. tuubusläätsega ja projitseeritakse silma võrkkestale. Objektiivi ja tuubusläätse vahele võib paigutada paralleelseid kiiri nõudvaid optilisi elemente, nt prismasid, kiire jagajaid filtreid ja peegleid, ilma et tekiks olulisi lisaaberratsioone. Lisaks on võimalik objektiivi ja tuubusläätse vahemaad laias piirides varieerida mikroskoobi suurendust muutmata.



Joonis 21: Lõpmatusse korrigeeritud optikaga mikroskoobi skeem. Mikroskoobi suurenduse määrab objektiivi ja tuubusläätse fookuskauguste suhe.

Selline skeem võimaldab muuta mikroskoobi palju paindlikumaks ja võimaldab teda lihtsalt ümber seadistada vastavalt ülesande spetsiifikale. Seega osutus antud mikroskoop meile kõige sobivamas baasmikroskoobiks, millele tuli juurde ehitada konfokaalne seadistus.

Baasmikroskoobi skemaatilist ehitus illustreerib joonis 22 ja optiline skeem joonsel 23. Tabelis 3 on ära toodud optiliste detailide parameetrid ja funktsioonid.



Joonis 22: konstrueeritud mikroskoobi eestvaade: 1) fokuseerimiskruvi, 2) objektilaud 3) objektiiv koos revolvriga 4) trinokulaar, 5) ruumiline filter 6) Nd:YAG laser.



Joonis 23: Konstrueeritud konfokaalse mikroskoobi optiline skeem, detailide parameetrid ja funktsioonid on kirjeldatud tabelis 3.

Tähis	Kirjeldus		
P1, P2	Alumiinium peeglid laseri sisendläätsele projekteerimiseks		
L1	Asfääriline lääts d=6,35 mm, fookuskaugus f=7.2 mm laseri fokuseerimiseks sisend avale. A1		
L2	Akromaat lääts d=25.4 mm, fookuskaugus 30 mm. Sisendava valgustäpist paralleelse kiirekimbu tekitamiseks.		
A1	Sisendava 50 µm, moodustab koos läätsedega L1 ja L2 ruumilise filtri , et parandada gaussi kiire profiili.		
KJ	Kiire jaga laserkiirguse mikroskoopi juhtimiseks. Võimalik kasutada kahte erinevat varianti , Ramanspektroskoopias kasutatakse kvartsplaati, mille pinnal peegeldub objektiivi 4% laserkiirgusest , Fluorestsentsi mõõtmiseks kasutatakse, dikroidseid peegelid.		
L3	Tuubuslääts f=160, kuulub Olympus okulaari kooseisu, koosneb mitmest läätsest ja sisaldab kujutise korrektsiooni.		
L4	negatiivne akromaatlääts f=-75, tuubusläätse poolt projitseeritud kujutise kauguse lõpmatusse viimiseks		
0	Olympuse standartne trinokulaar, mis võimaldab, kujutise projitseerimist ainul okulaaridesse, jagada kujutis 80% fotoporti 20% okulaari, 100% fotoporti.		
P3	Objekti kujutise horisontaalseks pööramiseks ja paralleelsete kiirte justeerimiseks läätsele L5		
L5	Akromaatlääts f=160 lõpmatusse teravustatud kujutise fokuseerimiseks avale A2		
A2	Mikromeetriline ava d=100 µm objektilt punkti eraldamiseks.		
L6	Avast A2 tuleva signaali kogumiseks, ava kujutis tekitatakse lõpmatusse.		
P4	Peegel paralleelsete kiirte 90 [°] pööramiseks kujutise spektrograafi projitseerimiseks		
L7	Akromaatlääts f=100 mm, töötab spektrograafi kondensorina täidetusega 1/4 lõpmatuses oleva kujutise pilule projitseerimiseks.		

Tabel 3: Konstrueeritud konfokaalse mikroskoobi optiliste detailideparameetrid ja funktsioonid

Peeglite P1 ja P2 –ga juhitakse laserkiir mikroskoobi sisendläätsele L1. Sisendava A1, läätsed L1 ja L2 moodustava ruumilise filtri, laserist tuleva paralleelse kiirekimbu profiili parandamiseks, et see vastaks paremini Gaussi kimbule. Eriti oluline on ruumilise filtri kasutamine siis kui ergastusallikaks kasutada dioodlaserit, mille kiirekimbu hajumine on küllalt tugev. Lisaks toimib ruumiline filter kiire laiendajana. Kiirte läbimõõtude suhe on määratud läätsede L1 ja L2 fookuskauguste suhtega.

Kiire jagaja KJ peegeldab paralleelse laserikimbu mikroskoobi objektiivi, samas laseb otse läbi objektist tuleva fluorestsents- või siis Raman signaali.

Lihtsamal juhul võib Ramanspektroskoopias kiire jagajana kasutada kvarts plaati, mille esimeselt pinnalt saab objektiivi peegeldada 4 % laseri intensiivsusest ja laseb otse läbi väljundavale ~ 90 % objektilt tulevast kiirgusest. Kvartsplaadi eeliseks on tema spektraalne mitteselektiivsus. Selleks et vältida interferentsi kvartsplaadi kahe pinna vahel, kasutatakse kiilukujulist kiirejagajat, mis garanteerib, et objektiivi projitseeritakse ainult esimeselt plaadi pinnalt peegeldunud laserkiirekimp. Kvartsplaadi kasutamist piirab asjaolu, et temaga on võimalik objektile saada väga väike osa laseri võimusest. Otstarbekas on kasutada väga kitsa peegeldusribaga 45⁰ alla asetatavat peeglit.

Luminestsentsmõõtmiste jaoks on käesoleva mikroskoobi komplektist dikroidne peegel (kutsutakse ka külm peegel), mis peegeldab 45⁰ all sinist valgust kuni 650 nm ja laseb otse läbi punase objektist tuleva fluorestsents kiirguse.

Laserkiir juhitakse mikroskoopi standardse trinokulaari fotopordi kaudu vt joonis 22. Trinokulaari on sisse ehitatud tuubuslääts. Selleks et fotopordis saada paralleelset kiiret kimpu, on trinokulaarile lisatud negatiivne akromaat, mis moodustab koos tuubusläätsega teleskoobi suurendusega 1/2.

Kiirejagaja KJ 2 kuulub mikroskoobi koosseisu ja on mõeldud objekti valgustamiseks halogeenlambiga läbi objektiivi, et oleks võimalik objekti pinda visuaalselt jälgida.

Lääts L5 tekitab objekti kujutise mikromeetrilise ava A2 tasandis, mis lõikab objekti tasandist välja ligikaudu ergastustäpi suuruse punkti.

Läätsed L6 ja L7 ning peegel P4 moodustavad signaali trakti, mille kaudu juhitakse mikromeetrilisest avast A2 tulev valgussignaal spektrograafi sisendpilule. Lääts L6 on paigutatud ava A2 fookusesse, projitseerides selle kujutise lõpmatusse. Peegel P4 suunab paralleelse kiirekimbu läätsele L7 mis töötab spektrograafi kondensorina, mis projitseerib ava kujutise spektrograafi sisendpilule suurendusega 1/2.

Objektilt tulev luminestsents- või ramansigaal registreeritakse topeltmonokromaatoriga DFS-24. Kuna antud eksperimentides nii suurt lahutust ei olnud vaja , kasutasime monokromaatorist ainult esimest poolt, asetades CCD kaamera keskmise pilu tasandisse.

5.3 Mehaaniline konstruktsioon

Konstrueeritud mikroskoobi mehaanilist skeemi illustreerib koostejoonis 25. Kuna paralleelsed kiired sisenevad ja väljuvad mikroskoobist trinokulaari fotopordi kaudu, osutus otstarbekaks, et mikroskoop tuleb paigutada vastava raami sisse, mille pealmine plaat moodustab väikse optilise laua, konfokaalse seadistuse tarvis (vt. Joonis 24).

Et tagada konstruktsiooni stabiilsust ja mugavat käsitsemist, on tähtsamad mehaanilised sõlmed tellitud optomehaanikat valmistavast firmast Thorlabs. Füüsika Instituudi töökojas on valmistatud sõlmi toetavad ühendusdetailid, nende kirjeldus ja funktsioon on toodud tabelis 4.

Kogu optiline skeem on üles ehitatud standartse nelja varda süsteemile: seda peamiselt kolmel põhjusel i) selline konstruktsioon tagab süsteemile hea stabiilsuse ii) kõik mehaanilised sõlmed on standartsete ühendustega, mis jätab võimaluse optilist skeemi lihtsalt modifitseerida ja ümber ehitada, iii) optilisi elemente hoidvaid translaatoreid on võimalik mööda vardaid suures ulatuses vabalt nihutada, mis tagab paindliku eeljusteeringu. iiii) vardad garanteerivad automaatselt optilise skeemi hea tsentreerituse, mistõttu täppisreguleerimiseks piisab 1-2 mm-st reguleerimisulatusest.



Joonis 24: Mikroskoobi pealtvaade, mehaanilist sõlmede kirjeldus ja funktsioon on toodud tabelis 4.

Detail	Kirjeldus	Funktsioon
D2	Peegli P2 hoidja võimaldab kallutada peeglit kahes dimensioonis	Laseri mikroskoopi juhtimiseks
D3	Sisendläätse L1 hoidja, võimaldab läätse z sihilist justeeringut 1 µm täpsusega	Laseri fokuseerimine sisendavale A1
D4	µm täpsusega x,y translaator, võimaldab liigutada sisendava A1 x,y tasandis	Kiire tsentreerimine mikroskoobi optilises süsteemis
D5	x,y- translaator läätse L2 tsentreerimiseks	Kiire tsentreerimine ja kallutamine mikroskoobi optilises süsteemis
D6	Kiirejagaja KJ kuup, sisaldab x,y tasandis kallutatavat alust	Kiire kallutamine optilises mikroskoobis, laserkiire paralleelseks seadmine mikroskoobi optilise teljega
D7	Kuup sisaldab kahes suunas kallutatavat peegli P alust	kiirte pööramine laua tasandisse, kujutise x,y tasandis jämejusteerimine väljundavale A2
D8	Tuubusläätse L5 hoidja võimaldab läätse z sihilist justeeringut 1 µm täpsusega	Kujutise teravustamiseks väljundavale A2
D9	µm-täpsusega x,y translaator, võimaldab liigutada sisendava A2 x,y tasandis	Väljundava A2 peenjusteerimiseks
D10	Kuup sisaldab kahes suunas kallutatavat peegli P alust	Mikroskoobi optilise telje pööramine , spektrograafi telje sihile
D11	x,y- translaator läätse L tsentreerimiseks	Kujutise projitseerimiseks spektrograafi sisendilule

 Tabel 4: mehaanilist sõlmede kirjeldus ja funktsioon.



Joonis 25: Konfokaalse mikroskoobi koostejoonis pealtvaates, detailide kirjeldus ja funktsioonid on tabelis 4.

5.4 Mikroskoobi lahutusvõime määramine

Konkreetse optilise süsteemi puhul sõltub lahutusvõime lisaks registreeritavale lainepikkusele, objektiivi apertuuriarvule ka optilise süsteemi suurendusest ja kasutatavast mikromeetrilisest avast.

Reaalset lateraalset lahutusvõimet saab üsna täpsel hinnata, teades mikroskoobi suurendust ja mikromeetrilise ava läbimõõtu eeldusel, et konfokaalne süsteem ei lisa oluliselt abberatsioone. Sellisel juhul on lahutus määratud pinnaelemendi suurusega, mis projitseerub läbi mikromeetrilise ava. Antud mikroskoobis kasutasime x30 suurendusega objektiivi ja 100 μ m ava, mille puhul lateraalseks lahutusvõimeks saame 3.3 μ m ja x10 objektiivi puhul 10 μ m. Reaalne aksiaalne lahutusvõime ei sõltu otseselt süsteemis suurendusest.

Konstrueeritud mikroskoobi aksiaalset lahutusvõimet määrasime eksperimentaalselt, registreerides objektiivi fookuses peegelpinnalt tagasipeegeldunud intensiivsust. Kiirgusallikana kasutasime Nd:YAG tahkekeha laserit laseri lainepikkusega 532 nm, võimsuseks objekti pinnal oli 0.3 mW. Peegelpinnaks kasutasime klaasplaati, millelt peegeldunud ja mikromeetrilist ava läbinud kiirgust registreerisime monokromaatori pilu tasandis võimsusmõõtjaga. Skaneerimiseks kasutati mikroskoobi fokuseerimislauda, mille z teljeline kalibreeritud nihke samm on 1 µm. Peegeldunud valguse suhtelise intensiivsuse sõltuvust peegli z telje suunalisest nihkest kirjeldab joonis 26. kus Zeiss x_{30} , NA = 0.4 objektiiviga saadud intensiivsuse jaotuse poollaiuseks saime14 µm. Tulemus on kooskõlas seosest 3.6 arvutatule PSF_{det}=13 µm. Võrdluseks võib tuua töö [30], kus on X 100 suurendusega NA=1.4 immersioonobjektiiviga saadud intensiivsuse poollaiuseks on 1.2 µm.



Joonis 26: Konstrueeritud mikroskoobi aksiaalne lahutusvõime: klaasi pinnalt peegeldunud intensiivsus sõltuvus pinna kaugusest, st. fookuspunktist. Intensiivsuse jaotuse poollaiuseks on saadud14 µm.

5.5 Nikkeltsentrite (NE8) kontsentratsiooni jaotuse mõõtmine omavalmistatud mikroskoobiga

Testisime omavalmistatud mikroskoobi lahutusvõimet, korrates niklitsentrite jaotuse mõõtmist, mis oli tehtud Bayreuthi Ülikoolis. Selleks kasutasme (110) tasandis lõigatud objekti. Lõikepind pakub huvi ka sellepoolest, et erinevalt peatükkis tehtud mõõtmistest selgus, et kontsentratsioonigradient on risti (111) tasandiga. Sellises lõikes on kontsentratsiooni gradient lõikepinnaga 45^0 nurga all. Seega on nüüd võimalik mõõta kontsentratsioonijaotust objekti x-y tasandis nihutamisel. Kuna antud hetkel puudub meie mikroskoobis piesonihuti, siis on x telje suunas nihutamine realiseeritud mikromeeter lauaga sammuga 10 µm.

Luminestsentsspekter on registreeritud ühekordse DFS24 monokromaatori ja CCD kaameraga. Mõõtmised on teostatud X10 suurendusega objektiiviga. Tulemused on joonisel 27, kus selgub et lateraalse nihke muhul tasandis (110) puhul on saadud tulemuseks et enamus kiirgavaid tsentreid on kuni 500 µm kaugusel kristalli servast.



Joonis 27: NE8 kiirgustsentrite jaotus mõõdetud mööda (110) tahku. Mõõdetud omavalmistatud mikroskoobiga.

5.6 Ramanhajumise mõõtmine

5.6.1 Sissejuhatus

Raman- ehk kombinatsioonhajumine efekt ilmneb valguse läbiminekul gaasidest, vedelikest ja läbipaistvatest kristallidest. Hajumisspektrisse lisaks laserijoonele tekib ka uusi jooni, mille ringsagedused ω kujutavad endast kombinatsiooni langeva valguse ringsagedusest ω_0 ja molekulide võnkumis- ja pöörlemissiirete ringsagedustest ω_t .

 $\omega = \omega_0 \pm \omega_i$

Klassikalise elektromagnetteooria kohaselt põhjustab väline elektriväli molekuli dipoolmomendi muutuse:

 $P = P_0 + \alpha * E$

Kus P₀ on molekuli omadipoolmoment ja α *E elektrivälja poolt põhjustatud dipoolmoment, α on üldjuhul molekuli polariseeritavuse tensor, mis sõltub molekuli võnkumisest. Rakendades molekulile muutuvat elektrivälja, hakkab molekuli dipoolmoment ostsilleeruma ja kiirgab elektromagnetlaineid ergutava elektrivälja sagedusel. Kuna dipoolmoment on läbimoduleeritud molekuli omavõnkesagedustega, tekivad hajumisspektrisse jooned sagedustega (ω - ω _n, Stokes joon) ja (ω + ω _n, Anti-Stokes joon) [31].

Tüüpiliselt on Ramanhajumise neeldumisristlõige väga vaike jäädes 10^{-30} cm² suurusjärku, seetõttu vajab ramansignaali, nagu ka üksikute molekulide fluorestsentsi detekteerimine head tundlikkust registratsioonis. ÜMS-s rakendust leidnud molekulidel jäävad neeldumisristlõiked heeliumtemperatuuril 10^{-10} cm² ning toatemperatuuril 10^{-16} cm² suurusjärku[31].

Ramanspektroskoopias tuleb maha suruda objekti lisandaatomitelt defektidelt tulev luminestsentskiirgus, seetõttu on vajalik ergastuse fokuseerimine võimalikult väikesesse ruumipunki, et vähendada samaaegselt ergastatavate lisandite arvu võrreldes põhiainega.

5.6.2 Eksperiment

Eelnevast arutelust järeldub, et Ramanspektroksoopia ja üksikute molekulide spektroskoopia esitab eksperimendi seadmetele sarnaseid nõudmisi, seetõttu testisime oma mikroskoobi tundlikkust mõõtes teemandi põhiaine ramanspektri. Ergastuseks on kasutatud Nd:YAG laserit (λ =532 nm), signaal on dedekteeritud läbi X 30 objektiivi. Laseri blokeerimiseks on kasutatud kahte klaasfiltrit OS12. Rahuldava müra-signaali suhtega spekter (joonis 28) on saadud ergastusintensiivsusega 0.35 mW objektil, registreeritud monokromaatori piluga 0.2 mm ja ekspositsiooni ajaga 1 s. Antud eksperimendist võib järeldada, et on saavutatud piisav tundlikkus üksikute molekulide detekteerimiseks. Teemandi puhul on kasutatud võimsusi 10-100 mW objektile [32].



Joonis 28: Teemandi Ramanhajumise spekter. Ergastuseks on kasutatud Nd:YAG tahkekeha laserit 532 nm, rahuldav signaali-müra suhe on saavutatud ergastusintensiivsusel 0.35 mW objektil, , spektrograafi pilu laiusega 0.2 mm, ekspostsiooniajaga 1 s.

Kokkuvõte

Töö koosneb kahest suuremast osast, kusjuures esimeses osas on mõõdetud ühte molekuli, kasutades **spektraalset** selektsiooni. Tulemused on kajastatud publikatsioonis [33]. Teises osas on konstrueeritud konfokaalmikroskoop, et rakendada ühe molekuli detekteerimeseks **ruumilist** selektsiooni.

Töö esimeses osas on uuritud ühismõõdutuse mõju lisandi spektraalomadustele üksikute terüleeni molekulide tasemel, kasutades **spektraalset** selektsiooni. . On tuvastatud efektiivne fotofüüsikaline sälkamisprotsess, mille kineetika mitteeksponentsiaalsus viitab sellele, et lisanditsentrite fotofüüsikalise transformatsiooni tõenäosus varieerub laias vahemikus. Samuti on mõõdetud üksiku molekuli spektreid temperatuurivahemikus 1.7 - 2.2 K ja tehtud stabiilsete joonte laiuse statistikat. Joonelaiuste lai skaala ja nende keskväärtuse erinevus sälkamiseksperimentidest saadud suurusest näitab samuti väga laia lisandimolekulide omaduste jaotust bifenüüli maatriksis, mille põhjuseks võib olla ühismõõduta maatriksi omaduste modulatsioon nanomeeterskaalas.

Töö teises osas käsitletakse konfokaalse mikroskoobi konstrueerimist ja rakendamist üksikute molekulide spektroskoopias kasutades **ruumilist** lahutust. Antakse ülevaate tööpõhimõtetest ja rakendustest. Töö käigus on valminud autori poolt konstrueeritud konfokaalne mikroskoop, 30 x objektiivi ja 100 μ m avaga on saavutatud lateraalseks lahutuseks 3,3 μ m, aksiaalseks lahutuseks 14 μ m, mis on hästi kooskõlas teoreetiliste arvutustega.

Mikroskoobi tundlikkust ja ruumilist lahutust testiti teemandi ramanspektrite mõõtmisega nikliga dopeeritud teemandikristallis. Määrati nikkel-lämmastik (NE8) kiigustsentrite ruumiline jaotus. Osutus, et kiirgustsentrite jaotus jääb kristalli 200 µm pinnakihti, mis on seotud kiirgustsentrite formeerumise mehhanismiga kristalli lõõmutamisel.

Eelnimetatud tulemused tõestavad loodud aparatuuri funktsionaalsust ning sellealast tööd on plaanis jätkata eesmärgiga jõuda üksikute kiirgustsentrite detekteerimiseni.

Summary

The work consists of two main parts. In the first part the **spectral** resolution has been applied to study single impurity molecules in a solid; the results of the first part are discussed in detail in publication [33]. In the second part the confocal microscope has been constructed for detection of single molecules using the **spatial** resolution.

The first part of the work concerns low-temperature impurity spectroscopy of terrylene in biphenyl. An influence of incommensurate matrix of biphenyl on spectral properties of impurity has been studied at the level of single terrylene molecules. Effective processes of non-photochemical spectral hole burning have been observed; the strong non-exponentiality of the hole-burning kinetics indicates a very wide range of probabilities of photoinduced spectral transitions of terrylene molecules. Additionally, single-molecule spectra have been recorded in a temperature range between 1.7 and 2.2 K and a linewidth statistics for stable single-molecule lines made. Broad distribution of the linewidths as well as obvious disagreement between their average value and the corresponding holewidth also demonstrate a large variety of spectral behavior of terrylene impurity molecules, which can be attributed to the spatial modulation of properties of the incommensurate matrix on the scale of nanometers.

The second part of the work concerns the application of confocal microscopy for single molecule spectroscopy and detection of single radiant centres; diamond with nickel-nitrogen centres has been used as a sample.

A confocal microscope has been designed and built by the author. In good accordance with theoretical calculations, the spatial resolution of 14 μ m and axial resolution 3,3 μ m has been obtained when using a 30 X microscope objective and a 100 μ m pinhole. Raman scattering experiments have been performed on diamond to test the sensitivity of the microscope.

The spatial distribution of NE8 nickel-nitrogen centres has been studied at the normal direction to the (111) crystallographic plane of diamond crystal using both a author-built confocal microscope and home-built microscope of the Bayreuth University. Reference measurements of the same sample have been made on the author-built microscope, where the spatial distribution of the emission centres has been studied over the (110) crystallographic plane.

The mentioned test results demonstrate the proper functionality of our homebuilt confocal microscope; we plan to continue the work with a goal to apply the apparatus for single molecule detection.

Tänuavaldused

Autor soovib tänada meeldivat LSL-i kollektiivi, kes on andnud panuse käesoleva magistritöö valmimisse. Eelkõige soovin tänad oma juhendajaid V. Palmi ja Jaak Kikast. Minu juhendamisele on rohkesti kaasa aidanud Ilmo Sildos, kes tegi võimalikuks konfokaalse mikroskoopia arendamise Füüsika Instituudis. Tehnilist küsimuste lahendamisel on olnud suureks abiks Mart Moppel ja Ants Lõhmust.

Uurimustöö teostamist on toetanud Eesti Teadusfond grantidega 5864 ja 5544. Seadme ehitust on finantseeritud TÜ FI-le eraldatud Eesti Tippkeskuse rahadest.

Täname Prof. L. Kadorit Dr. U. Bognerit võimaluse eest stažeerida Bayreuthi ja Regensburgi Ülikooli uurimislaboratooriumites.

Veel tänan kallist Siretit moraalse toetuse eest.

Põhitulemuste aprobatsioon

- I. M. Pärs and V. Palm, "Single-molecule spectroscopy of terrylene in incommensurate matrix of biphenyl". Abstract book of The 4th Nordic-Baltic SPM Workshop, Tartu, Estonia, May 29-31, 2002, p.55-56
- II. V. Palm, M. Pärs, J. Kikas, "Hole burning and single-molecule spectroscopy of terrylene in incommensurate biphenyl "J. Lumin. 107 (2004) 57

Viited

- [1] K.K Rebane, Impurity Spectra of Solids. Plenum Press, New York 1970
- [2] W.E. Moerner (editor), Persistent Spectral Hole Burning: Science and Applications. Springer, Berlin 1988
- [3] T. Basche, W.E. Moerner, M. Orrit, U.P. Wild (Eds.) Single-Molecule Optical Detection, Imagin and Specrtoscopy. VCH, New York 1997
- [4] Ph. Tamarat, A. Maali, B. Lounis, and M. Orrit, J. Phys. Chem. 104 (2000) 1
- [5] P. Kask, K. Palo, D. Ullmann and K. Gall, PNAS 96 (1999) 13756
- [6] C. Kurtsiefer, S. Mayer, P. Zarda and H. Weinfurter Phys. Rev. Lett. 85 (2000) 290
- [7] T. A. Kennedy, F. T. Charnock, J. S. Colton, J. E. Butler, R. C. Linares and P. J. Doering, Phys. Stat. Sol. 233 (2002) 416
- [8] H. Cailleau, J. C. Messager, F. Moussa, F. Bugaut, C.M.E. Zeyen, C. Vettier, Ferroelectrics 67 (1986) 3.
- [9] P.Launois, F. Moussa, M.H. Lemee-Cailleau, and H. Cailleau, Phys. Rev. B40 (1989) 5042
- [10] B. Tinland, Acta Phys. Sci. Hungary 25 (1968) 111
- [11] A.A. Gorokhovskii, Ya.V. Kikas, V.V. Palm, L.A Rebane, Sov.Phys.-Solid State (USA), 23 (1981) 602 [Transl. of Fiz.Tverd.Tela (USSR), 23 (1981) 1040].
- [12] V. Palm, Rev. Sci. Instrum., 70 (1999) 2957
- [13] H. Cailleau, in: R. Blinc, A.P. Levianyk (Eds.) Incommensurate Phases in Dielectrics, Vol. 2, North-Holland, Amsderdam, 1986, p. 71.
- [14] P. Hänninen New Techniques in Confocal Microscopy Diss. Turku 1995 p.10
- [15] S. Wilhelm, B. Gröbler, M. Gluch, H. Heinz, Confocal Laser Scanning Microscopy, Zeiss 1996, p. 5
- [16]. Karl E. Spear (Editor), John P. Dismukes (Editor) Synthetic Diamond: Emerging CVD Science and Technology Wiley, NY, 1994
- [17] M. W. Geis et al., IEEE Elec. Dev. Lett., 8 (1987) 416
- [18] A.M. Zaitsev Phys. Rev. B61 (2000) 12909
- [19] D. Dräbenstedt, L. Fleury, C. Tietz, F. Jelezko, S. Kilin, A. Nizovtzev, J. Wrachtrup, Phys. Rev. Lett. B60 11503
- [20] H. M. Strong and R. M. Cherenko, Journal of Physical Chemistry, 75 (1971) 1838
- [21] M. L. Terranova, V. Sessa and S. Piccirillo, Appl. Phys. Lett., 75(3) (1999) 379

- [22] E. A. Ekimov, V. A. Sidorov, E. D. Bauer, N. N. Mel' nik, N. J. Curro, J. D. Thompson, S. M. Stishov, Nature, 428 (2004) 542
- [23] F.P. Bundy, H.T.Hall, H. M. Strong and R. H. Wentorf, Nature, 176 (1955) 51
- [24] R. H. Wentorf, Journal of Physical Chemistry 75 (1971) 1833
- [25] V.A. Nadolinny, A.P. Yelisseyev, J.M. Baker, M.E.Newton, D.J. Twitchen, S. C. Lawson, O. P. Yuryeva and B.N. Feigelson, J. Phys. Condens Matter 11 (1999) 7357
- [26] A. Yelisseyev *, S. Lawson , I. Sildos , A. Osvet , V. Nadolinny , B. Feigelson ,
 J.M. Baker , M. Newton and O. Yuryeva, Diamond and Related Materials 12 (2003) 2147
- [27] A.M. Zaitsev, in: M.Prelas, G. Popvici, L. Bigelow (Eds.) Handbook of Industrial Diamond Films, Decker, NY, 1998, p. 227
- [28] Johan F. Prins, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A., 514 (2003), 69
- [29] S.C. Lawson, H. Kanda, J. Appl. Phys. 73 (8) (1993) 3967
- [30] S. W. Hell, P. E. Hännine, J. Salo, A. Kuusisto, E. Soini, T. Wilson and J.B. Tan, Optics Communicationon 113 (1994) 144
- [31] W. Demtröder, Laser Specroscopy, Basic Consepts an Instrumentation, Springer-Verlag New York 1996
- [32] M. Mermoux, A. Tajani, B. Marcus, E. Bustarret, E. Gheeraert, M. Nesladek, S. Koizumi, Diamond and Related Materials 13 (2004) 886
- [33] V. Palm, M. Pärs, J. Kikas, J. Lumin. 107 (2004) 57