

矢量光共焦扫描显微系统纳米标准样品的制备与物理测量精度

李潇男 关国荣 刘忆琨 梁浩文 张爱琴 周建英

Fabrication and physical measurement accuracy of nanoscale standard samples for vector beams confocal laser scanning microscopy

Li Xiao-Nan Guan Guo-Rong Liu Yi-Kun Liang Hao-Wen Zhang Ai-Qin Zhou Jian-Ying

引用信息 Citation: *Acta Physica Sinica*, 68, 148102 (2019) DOI: 10.7498/aps.68.20190252

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7498/aps.68.20190252>

当期内容 View table of contents: <http://wulixb.iphy.ac.cn>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于线性成像系统的光学超分辨显微术回顾

Brief retrospect of super-resolution optical microscopy techniques

物理学报. 2017, 66(14): 144209 <https://doi.org/10.7498/aps.66.144209>

超分辨成像及超分辨关联显微技术研究进展

Recent progress on super-resolution imaging and correlative super-resolution microscopy

物理学报. 2017, 66(14): 148703 <https://doi.org/10.7498/aps.66.148703>

基于点扫描的超分辨显微成像进展

Progress of point-wise scanning superresolution methods

物理学报. 2017, 66(14): 148702 <https://doi.org/10.7498/aps.66.148702>

扫描电子显微镜法测定金属衬底上石墨烯薄膜的覆盖度

Coverage measurement of graphene film on metallic substrate using scanning electron microscopy

物理学报. 2018, 67(7): 076802 <https://doi.org/10.7498/aps.67.20172654>

基于环形抽运光的红外超分辨显微成像方法

A super-resolution infrared microscopy based on a doughnut pump beam

物理学报. 2016, 65(23): 233601 <https://doi.org/10.7498/aps.65.233601>

基于累积量标准差的超分辨光学涨落成像解卷积优化

Deconvolution optimization in super-resolution optical fluctuation imaging based on cumulant standard deviation

物理学报. 2016, 65(19): 198701 <https://doi.org/10.7498/aps.65.198701>

矢量光共焦扫描显微系统纳米标准样品的制备与物理测量精度*

李潇男¹⁾²⁾ 关国荣¹⁾ 刘忆琨¹⁾ 梁浩文¹⁾ 张爱琴¹⁾ 周建英^{1)†}

1) (中山大学, 光电材料与技术国家重点实验室, 广州 510275)

2) (中山大学电子与信息工程学院, 广州 510275)

(2019年2月25日收到; 2019年4月4日收到修改稿)

针对超分辨领域分辨率测量标准的缺失情况, 本文介绍了一种用于纳米尺度分辨率测试的标准样品的设计方案和制备方法, 该样品适用于矢量光共聚焦激光扫描显微系统. 该设计方案包含一系列测量图案和明确的指示标记, 具有测量范围宽、线宽梯级序列分布合理、制备精度高等特点. 首先在非晶硅片上实现硅纳米标准样品的制备, 并经过多次探索工艺, 提高了测试图案的精度. 光学测试结果证实该纳米标样可用于分辨率测试, 同时测得矢量光共聚焦激光扫描显微镜的分辨率为 96 nm ($n = 1.52$, 405 nm 光源). 针对硅纳米标准样品低对比度的问题, 本文提供石英片上金属纳米标准样品的制备方法作为补充. 纳米标准样品的实现, 为点扫描式超分辨显微镜的分辨率指标提供了一种更严谨的测试途径, 同时能够为显微镜的调试提供原理性指导. 测试中发现纳米尺度的光学成像效果除了受到样品形貌的影响外, 还受到到样品的光电物性的影响, 其相互作用机理尚待进一步深入研究.

关键词: 微纳加工, 标准样品, 超分辨, 共聚焦激光扫描显微镜

PACS: 81.16.-c, 87.64.M-, 87.57.cf, 87.64.mk

DOI: 10.7498/aps.68.20190252

1 引言

自光学显微镜问世以来, 显微镜性能的提高就成为备受关注的研究课题. 在过去的几十年里, 为了突破衍射极限^[1], 人们发明了一系列的远场超分辨光学显微技术, 如受激辐射损耗显微镜、结构光照明显微镜、光激活定位显微镜和随机光学重构显微镜等, 这些超分辨技术依赖于特殊的荧光标记蛋白和复杂的光路, 可以达到 50 nm 甚至 20 nm 的分辨率^[2,3]. 利用特殊的透镜或者探针, 近场显微技术^[4]也可以实现突破衍射极限的目的.

除此之外, 共聚焦激光扫描显微镜 (confocal

laser scanning microscopy, CLSM) 因具有高分辨率与深度选择性也得到广泛应用^[5]. 相对于其他方法, 它结构简单、非侵入式、无需样品的先验知识, 因此适用于大多数样品, 在生物活体研究方面有很大优势. 不过, 在一般条件下 (空气环境中或油浸), 它的分辨率只达到 180 nm 左右, 不及几种常用的荧光超分辨显微技术. 近年来, 有不少关于柱对称矢量光场的研究提供了提高 CLSM 分辨率的方法. 利用经空间调制的径向偏振光可以得到一个更小的聚焦光斑, 适用于空气中、液体浸润和固体浸润环境中^[6-9]. 文献^[10]采用 532 nm 波长的高对称径向偏振光场为激发光源, 通过光场调控实现矢量光场 CLSM 的点扩散函数的约束, 实现了 115 nm

* 国家自然科学基金 (批准号: 11534017, 11704421)、中央高校基本科研业务费专项资金 (批准号: 16lgpy53, 171gpy20, 17lgjc39) 和广州市科技计划 (批准号: 201805010004) 资助的课题.

† 通信作者. E-mail: stszjy@mail.sysu.edu.cn

的分辨率,比一般的共聚焦显微镜提高了不少.该结果是在纳米铝三角岛样品上一个尖角处测得的,与许多文献用到的分辨率测试方法类似^[3,10–15],都是对分散的粒子或单一结构成像,再根据结果算出该显微镜的分辨率.这种测试方法只能说明显微镜有能力分辨某一大小的物体或者某给定间隔的两个物体,无法提供足够多的数据进行对比,也无法精确地描述超分辨显微镜的分辨率,故需要足够精确与严谨的方法用于准确检测矢量光场 CLSM 的分辨率.此外,在矢量光场 CLSM 中,矢量光场可以提供高对称度的激发与探测方式^[6],避免线性偏振光场的非对称聚焦光斑^[16],在这种情况下,更需要标准样品来检测各个方向上的偏差,以保证光路中光场的高对称度,从而减小实验误差.人们在检测摄像机或传统光学显微镜的最佳分辨率时,常用推荐性国家标准 GB/T 6161-2008 (等同于 ISO 3334:2006 标准) 中的 ISO 2 号解像力测试图进行测试^[17],该解像力测试图由一系列测试图样组成,单个测试图样包含两组相互垂直的平行线段,每一组 5 条线段,线段的线宽与间隔等宽.该标准以测试图样的 5 条线段能否全部被辨别作为系统分辨能力的判断依据.参照该判断依据,针对 CLSM 点扫描式的特点,本文提出纳米分辨率测试标准样品(以下简称纳米标样)应具备以下特点:多方向的周期性测量图案、合理紧密的线宽梯级序列分布、明确的指示标记图案、高精度度和高对比度等.

2 纳米标样

2.1 设计方案

目前,与纳米标样相关的成果包括:Stark 团队^[18]利用聚焦离子束刻蚀技术,在掺有荧光分子的聚甲基丙烯酸甲酯 (poly(methyl methacrylate), PMMA) 电子胶上刻出若干等宽 (100 nm) 的纳米线条和同心圆环;Iketaki 团队^[19]利用紫外纳米压印技术,在染色紫外光刻胶上制备出多组纳米线条,包含从 80 nm 到 160 nm 的线宽;Huebner 团队^[20]运用电子束曝光与刻蚀技术,在非晶硅上制备多组纳米标记图案,包括线条、棋盘和圆环三种图形,可用于多个方向上的分辨率测试.然而,以上方法都没有合理的线宽梯级序列,无法达到精确测试超分辨显微系统性能的目的.

图 1 所示是本工作提供的纳米标样设计方案,

分为测量区域和指示标记两个区域.其中,测量区域包括了 29 个测量图案,它们按照空间频率递增的方式,螺旋排列于测量区域.每一个测量图案都包含了 5 个部件,包括一维光栅 (X 方向和 Y 方向)、二维光栅、同心圆环光栅和数码标识.在测量区域周围四个方向上分布了大小两种直角三角形指示标记,它们指向测量区域,能够明确地指出测量区域的位置.该设计方案具有测试功能齐全、测量精度高、测量范围宽、图案排列紧凑、线宽序列分布合理、指示标记巧妙等优点,适用于点扫描式的超分辨显微系统,如矢量光场 CLSM.

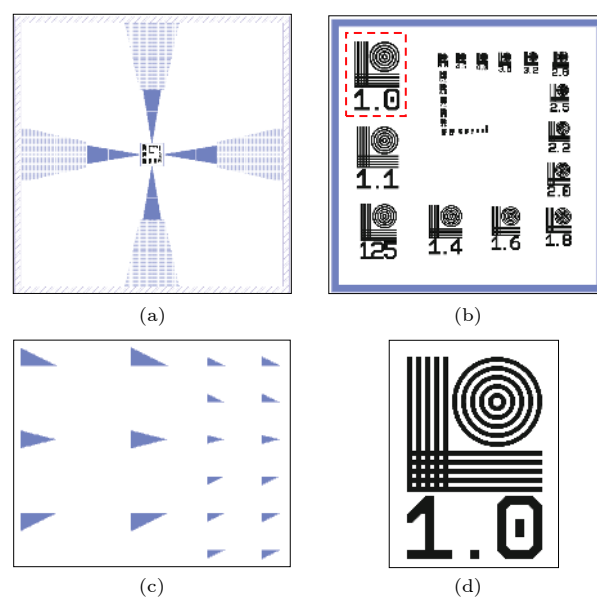


图 1 纳米标样设计示意图 (a) 纳米标样总览图; (b) 测量区域示意图; (c) 指示标记示意图,即 (a) 中红框区域; (d) 单个测量图案示意图,即 (b) 中红框区域

Fig. 1. Designing of the nanoscale standard sample: (a) Overview of the standard sample; (b) measure area; (c) direction marks; (d) a single measure pattern.

另一方面,设计方案中不同的结构线宽大小相差高达 25 倍,这会给制备带来困难.在制备时要同时考虑效率与精确程度,应采用不同工艺参数实现不同的结构.

2.1.1 测量区域

测量区域是一个大小为 $150 \mu\text{m} \times 150 \mu\text{m}$ 的区域,测量区域的设计参考了 GB/T 6161-2008 ISO 2 号解像力测试图^[17],并加以改进,使之功能更全面.如图 1(b) 所示,测量区域一共包括 29 个测量图案,其梯级序列参考了国家标准 GB/T 321-2005 所提供的 R20 系列优先数^[21],从 1.0 开始,以空间频率递增的方式呈螺旋排列.如图 1(d) 所示,

每个测量图案包含的 4 组光栅 (水平方向一维光栅、垂直方向一维光栅、二维光栅、同心圆环光栅) 都是等间距分布, 且结构宽度与间隔相等, 可以用于多方向的分辨率测试, 同时可以用于检验显微系统的畸变情况. 而数码标识对应测量图案中各组光栅每微米空间频率大小的两倍, 单位是 cycles/ μm , 恰好是各组光栅结构线宽 (以 μm 为单位) 的倒数, 因此通过辨认数码标识就可以直接得出该测量图案结构的线宽大小.

综上, 测量图案包含多个方向上的周期性结构, 功能齐全, 且拥有合理的线宽序列和紧凑的排列方式, 只需要在测试区内小范围移动样品就可以快速找到临界测试位置. 一次测试结果就可以得到不同方向和位置的分辨率数据, 同时可以检测畸变程度等其他性能指标, 能够有效全面地测试显微镜的性能, 为矢量光场 CLSM 的性能测试和调试提供了一种更加严谨的途径.

2.1.2 指示标记

在点扫描式的 CLSM 中, 要在空白背景下寻找 $150\ \mu\text{m} \times 150\ \mu\text{m}$ 大小的测量区域是非常困难的, 因此需要指示标记来帮助我们快速寻找测量区域的位置.

如图 1(c) 所示, 指示标记为分布在测量区域四个方向上的直角三角形阵列, 以其最小的锐角为方向指向测量区域中心. 指示标记按照距离测量区域的远近分为两种尺寸, 一级标记位于距测量区域 $500\text{--}1000\ \mu\text{m}$ 的范围, 长直角边长 $2\ \mu\text{m}$, 短直角边长 $1\ \mu\text{m}$; 二级标记位于距测量区域 $10\text{--}500\ \mu\text{m}$ 的范围, 长直角边长 $1\ \mu\text{m}$, 短直角边长 $0.5\ \mu\text{m}$.

当找到任意一个三角形标记时, 通过观察其指示方向和大小, 即可直接得知测量区域的大致方位与距离, 在测试中可快速定位到测量区域, 提高实验效率. 此外, 用文献 [10] 中类似的方法, 利用该标记的尖端也可以粗略测试显微镜的分辨率.

2.2 制备与检测

首先制备了硅纳米标样, 适用于反射式矢量光场 CLSM. 制备过程使用厚度为 $500\ \mu\text{m}$ 的单抛非晶硅片作为衬底, 将比例为 1:4 的氢倍半硅氧烷薄膜 (hydrogen silsesquioxane, HSQ, 采用 DOW 公司 FOx™ 16 型号产品) 与甲基异丁酮 (methyl isobutyl ketone, MIBK) 混合溶液以旋涂工艺覆盖到衬底上, 并在 $90\ ^\circ\text{C}$ 热板上烘 $5\ \text{min}$, 得到 $200\ \text{nm}$

厚的电子抗蚀层, 用于电子束曝光. 完成曝光后, 在四甲基氢氧化铵 (tetramethylammonium hydroxide) 显影液中浸泡 $90\ \text{s}$, 纯水中浸泡 $30\ \text{s}$, 氮气吹干, 得到带有标样图案的 HSQ 抗蚀层.

在纳米加工中, 线宽的准确性通常是最重要的考虑因素 [22]. 在制备过程中, 曝光剂量、显影时间和束斑步长都会影响显影后图案的平面与截面的形状, 进而影响刻蚀后结构线宽的准确性, 而对于不同线宽大小的结构, 这种影响的显著程度是不同的. 在未经参数调整的情况下产出的样品中, 大线宽的结构 (标识 1—4.5) 的误差小于 $15\ \text{nm}$, 相对误差较小; 但是部分小线宽结构 (标识 5—25) 的误差可以达到 $25\ \text{nm}$ 左右, 相对误差最高达 52.7% , 标识 20—25 的测试图案甚至出现图案不完整或者粘连的情况.

为了克服大线宽跨度带来的制备困难, 尽可能保证线宽的精确性, 需要根据已有实验的结果, 按组进行曝光剂量调整与线宽修正. 在进行电子束曝光时, 将图案分为 4 组, 采用不同的曝光剂量、不同大小的束斑步长与不同的宽度修正等参数进行曝光, 经过近十次的工艺探索, 筛选出的具体曝光参数如表 1 所列, 其中指示标记对精确程度要求不高, 使用大束流可以提高曝光效率.

表 1 硅纳米标样曝光参数

Table 1. Exposure parameters of the silicon nano-standard sample.

组别	数码标识范围	曝光剂量/ $\mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$	束斑步长/ nm	宽度修正/ nm	束流大小/ nA
1	1—4.5	1100	2	7.5	2
2	5—18	1500	2	5	2
3	20—25	2000	1	5	2
4	指示标记	1100	2	0	40

完成显影后, 使用电感耦合等离子体刻蚀技术, 以溴化氢气体作为刻蚀气体, 将 HSQ 抗蚀层的图案转移到硅片上, 刻蚀深度 $200\ \text{nm}$. 刻蚀后用 10% 氢氟酸溶液浸泡样品, 去除残留的 HSQ 抗蚀层, 完成纳米标样的制备.

制备完成后使用扫描电镜 (scanning electron microscope, SEM) 检验纳米标样制备效果. 图 2 所示为硅纳米标样各区域的形貌细节.

利用 SEM 的测量功能, 对每一个测试图案中各组光栅的各结构进行多次测量, 取其平均值作为该测试图案的线宽, 并与设计线宽做比较, 各测试

图案的误差与相对误差如图 3 所示.

图 2 表明, 该样品细节完整, 图案清晰, 没有出现结构残缺或粘连的情况. 图 3 中误差的分布情况表明各结构的误差都较小, 大部分测试图案的相对误差都保持在 $\pm 10\%$ 范围内, 仅有 2 个测试图案 (数码标识为 16 和 25 的测试图案) 超出该范围. 计算得到误差平均值 -5.93 nm, 标准差为 9.32 nm; 同时也可以看出不同曝光参数使得不同组之间的误差分布有明显不同, 第 1 组与第 2 组的误差分布存在突变, 但整体线宽更接近设计线宽. 其中第 1 组 (标识 1—4.5) 整体线宽偏小, 误差最大, 但其线宽大于 200 nm, 相对误差很小, 可以满足衍射极限内光学显微镜的分辨率测试要求; 第 2 组 (标识 5—18) 经修正后, 误差得到缩小, 绝对值小于 12 nm; 第 3 组 (标识 20—25) 的误差绝对值小于 5 nm, 十分接近设计线宽. 这种精度已经可以满足我们检测超分辨显微系统性能的要求.

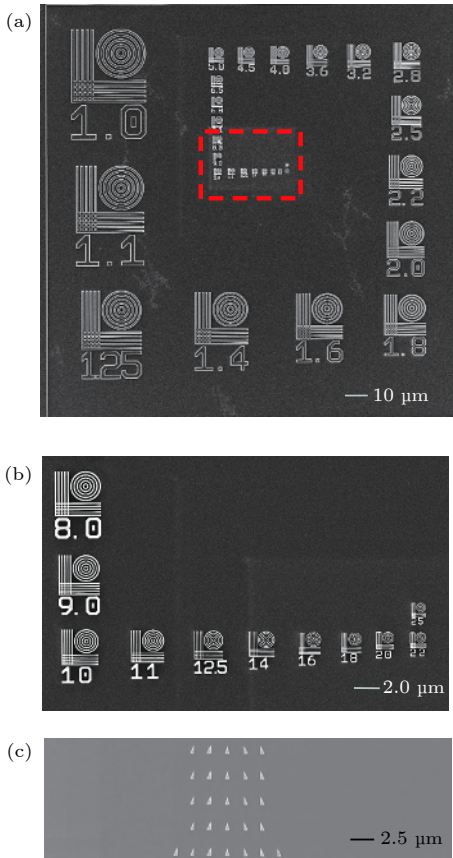


图 2 硅纳米标样 SEM 结果展示 (a) 测量图案全貌; (b) (a) 中红框部分的细节展示; (c) 指示标记
Fig. 2. SEM images of Si standard sample: (a) Overview of standard sample; (b) details of the red dash area in (a); (c) direction marks.

以上结果表明, 以这种工艺制备得到的样品, 符合第 1 节提出的样品要求, 可以作为检验矢量光场 CLSM 性能的标准样品.

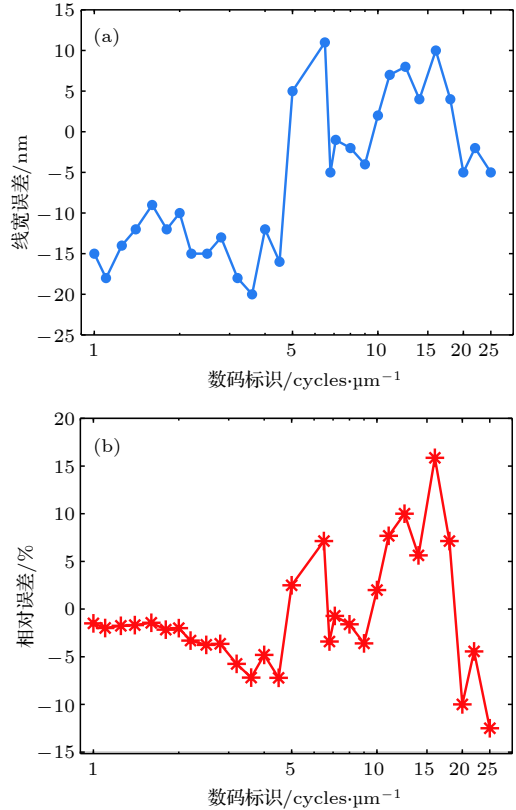


图 3 硅纳米标样各测量图案制备误差分布, 其中 x 轴采用对数坐标轴 (a) 线宽误差分布; (b) 相对误差分布
Fig. 3. Fabrication error distributions of the silicon nano standard sample, in which use logarithmic axis as x -axis: (a) Linewidth error distribution; (b) relative error distribution.

3 矢量光场 CLSM 光学测试

本次测试采用的显微系统是本团队自主搭建的矢量光场 CLSM, 其结构如图 4 所示. 该显微镜是在普通的共聚焦显微镜的光路中, 加入了涡旋片与环形孔径, 得到经空间调制的径向偏振光, 激发样品, 使系统的点扩散函数受到约束, 从而提高显微镜的分辨率^[10].

测试采用波长为 405 nm 的线偏光作为矢量光场 CLSM 的光源, 光线经过涡旋半波片转换成径向偏振光, 经环形孔径调制后称为环形光场, 通过油浸物镜 (Olympus UPlanSApo $100\times/1.40$, 介质油折射率 $n = 1.5$) 聚焦到纳米标样上, 反射光线再反向经过环形孔径和涡旋片, 转换成线偏

光, 经透镜聚焦通过直径为 $15\ \mu\text{m}$ 的针孔将光信号传入光谱仪中. 移动纳米平移台, 逐点将信号发送给计算机处理并输出相应结果.

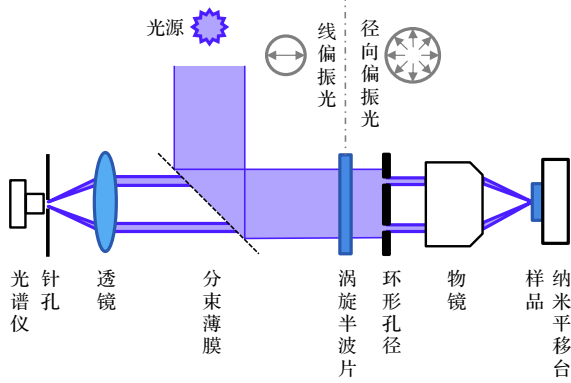


图 4 矢量光场 CLSM 光路示意图

Fig. 4. Optical path of vector beams field CLSM.

在矢量光场 CLSM 的成像分辨率测量实验中, 所使用的硅纳米标样 (未经线宽修正) 所有的测试图案的线宽都经 SEM 测量, 与数码标识一一对应, 将光学测试图像与 SEM 图像对比即可得出分辨率数据. 图 5 展示了硅纳米标样部分测试图案光学扫描结果及 SEM 扫描结果的对比, 第一行是光学扫描输出结果, x - y 轴均为相对位置, 信号强度单位为光子数, 第二行是相应的测试图案电镜扫描结果,

用红框标出了第一行的图案对应的位置. 其中 5 个测试图案的结构线宽经 SEM 测量, 分别是 985, 205, 113, 96 和 88 nm. 初步分析表明, 矢量光场 CLSM 的分辨率可以达到亚 $100\ \text{nm}$ 数量级. 同时由于受到样品光电物性的影响, 矢量光场 CLSM 读出信号的强弱分布与样品的形貌有关, 如图 5(a) 中数码标识“1”字, 其结构连接处产生了强信号.

4 讨论

为了排除伪解像力缺陷的现象, 当显微镜能分辨出某一组光栅 (如一维光栅或者圆环光栅) 全部的 5 个结构, 才认为该显微镜能够分辨该测试图案 [17]. 若只分辨出 4 个或者更少的结构, 则认为无法分辨.

由于光与物质的相互作用, 图 5 的光学扫描结果部分结构之间的光场发生了相互干扰, 降低了信号与背景对比度, 也降低了信号的规律性, 从而影响了直接用肉眼来判读分辨率 (特别是图 5(e)). 但抛开其他指标, 仅仅针对分辨率测试而言, 可以通过绘制强度变化曲线, 从曲线的斜率变化中找到结构对应的信号, 并确定可被分辨的结构数量. 以图 5(d) 中恰好能被分辨的最小测试图案为例, 如图 6 所示. 图 6(a) 中白色虚线位置的信号强度变

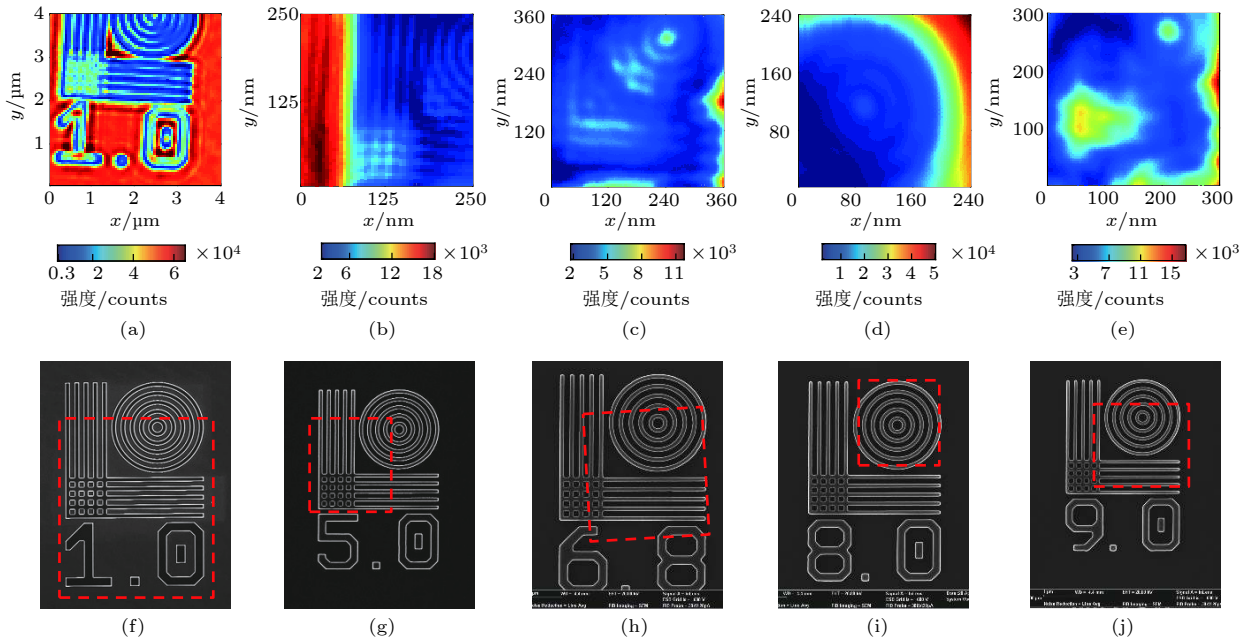


图 5 硅纳米标样部分扫描结果与 SEM 结果对比 第一行, 矢量光场 CLSM 扫描结果; 第二行, 对应的 SEM 扫描结果, 对应位置已用红框标出

Fig. 5. Comparison between optical scanning images (first row) and SEM images (second row) of the Si standard sample. The corresponding positions are marked by red dash squares.

化可绘制为图 6(b) 中的强度分布曲线. 受相互作用现象影响, 结构信号都是弱信号, 而背景的信号波动显著, 会给判读带来干扰. 从强度曲线上可以找到 5 处类似于“缺口”的弱信号 (曲线上红色方形标记) 的位置, 即为 5 处圆环结构, 因此认为矢量光场 CLSM 能够分辨该测试图案. 相应地, 利用该方法, 图 5(a)—(c) 中的测试图案都可以被完整分辨, 对于图 5(e) 乃至更小的测试图案, 则无法分辨. 受限于篇幅, 在此不一一展示.

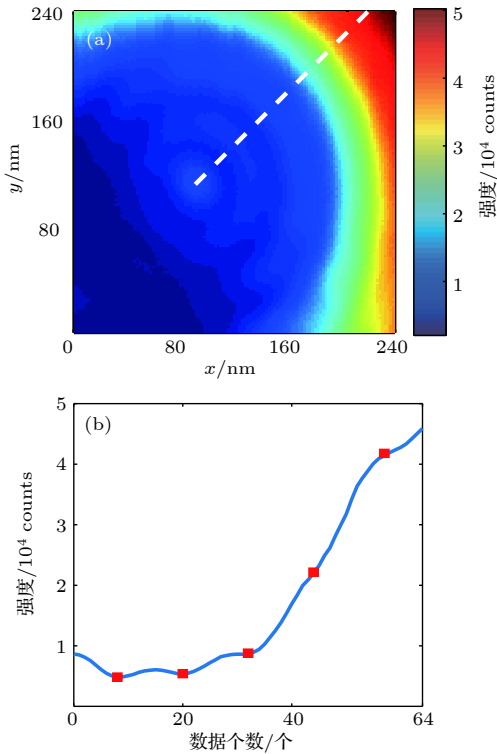


图 6 数据处理结果 (a) 显微系统分辨率临界测量图案; (b) 是 (a) 中白色虚线位置信号强度分布曲线, 根据曲线斜率的变化, 从圆心出发可以找出 5 个弱信号 (红色方形), 其坐标的间隔也符合 SEM 扫描结果, 因此认为可以分辨

Fig. 6. Data analysis result: (a) The critical resolution measurement image obtained by microscopy; (b) amplitude distribution of white dash line, according to the slope variation, 5 weak signal (red square marks) can be found.

从以上结果中得到的结论是: 该纳米标样可用于矢量光场 CLSM 的分辨率测试, 同时测得采用 405 nm 光源的矢量光场 CLSM 可以在介质油环境 ($n = 1.5$) 中达到 96 nm 的分辨率. 在测试过程中也暴露了显微系统的若干问题, 由于严格对称的矢量光场对于系统的稳定性要求很高, 在进行长时间的测试后, 得到的结果将出现变形, 无法得到精细扫描的大范围结果, 需要进一步加强显微系统的

稳定性.

理论研究结果表明^[10,15], 在矢量光场 CLSM 中使用合适的环形孔径和针孔、约束系统点扩散函数, 有望达到小于 $1/5\lambda$ 的分辨率. 以 405 nm 波长为光源, 矢量光场 CLSM 有望达到 81 nm 的分辨率, 比 532 nm 光源理论上的分辨率 (106 nm) 更进一步. 不过目前矢量光场 CLSM 的分辨率离理论值还有一些差距, 需要在后续调试中进一步提高分辨率.

另一方面, 图 5 的光学扫描结果表明, 纳米尺度光学的成像会受到光场在纳米结构中的光子态密度、光场模式分布和样品材料物性的影响, 这种影响随着线宽的减小而变得更加显著, 导致对比度下降, 使得获取到的图像逐渐偏离扫描电镜的物理形貌测量结果, 阻碍分辨率的精确测量.

为此, 在石英衬底上制备金属结构纳米标样 (简称石英-金属纳米标样) 被进一步提出. 该样品 (共两层: 10 nm 钛和 100 nm 金, 其中钛层是为了增加结构的黏附性) 的分辨率测试图案, 适用于透射式与反射式的 CLSM. 石英-金属纳米标样的衬底与结构的材料物性相差很大, 反射率差达 40% 以上 (405 nm), 有望避开上述影响. 首先在厚度为 1 mm 的石英玻璃上旋涂 500 nm PMMA 电子胶, 再溅射 50 nm 厚的铝层用于增强样品导电性, 经过电子束曝光后, 使用 5% 磷酸溶液 50 °C 水浴去除铝层, 依次使用 MIBK、异丙醇和纯水浸泡显影, 得到带测量图案的 PMMA 层. 采用电子束蒸镀技术在样品上蒸镀 10 nm 钛和 100 nm 金, 最后用丙酮溶液浸泡样品, 去除 PMMA 残胶, 得到石英-金属纳米标样.

图 7 所示为两种不同材料样品的光学扫描图像的对比, 选用扫描的对象是纳米等边三角形, 材质分别是石英衬底金属材质 (边长 4 μm) 和硅材质 (边长 0.8 μm), 纳米三角所处位置在图中用红色虚线标出, x - y 坐标轴均表示相对位置, 信号强度单位为光子数.

反射光信号对比度 C 定义为

$$C = \frac{N_{\max} - N_{\min}}{N_{\max} + N_{\min}}, \quad (1)$$

其中 N 为光子数.

根据 (1) 式, 石英/金属纳米三角的信号对比度为 0.786, 硅纳米三角的信号对比度为 0.099. 计算结果表明, 石英/金属纳米样品比硅样品拥有更

高的反射率差和对比度, 对于分辨率的精确测量将提供更大帮助. 另一方面也可以看到, 图 7(b) 中硅三角岛的光学成像结果也在一定程度上偏离了物理形貌, 上述样品的光电物性对光学显微结果的作用机理尚待进一步深入探讨.

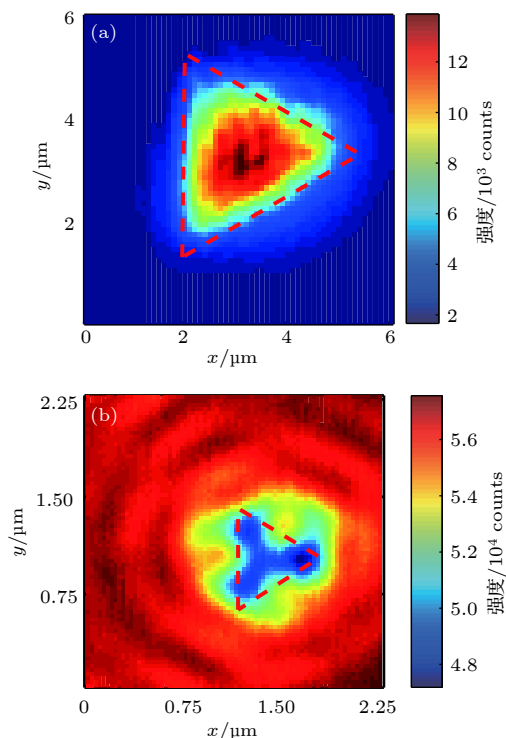


图 7 两种不同材质纳米等边三角的光学扫描结果对比 (a) 石英基底金属纳米等边三角; (b) 硅纳米等边三角

Fig. 7. Comparison between optical scanning images of two nano-triangles made from different materials: (a) A quartz substrate metal nano equilateral triangle; (b) a silicon nano equilateral triangle.

不过石英-金属纳米标样制备方法更复杂, 制备精度受限于蒸镀金属材料 (钛和金) 的颗粒大小, 精度差于硅纳米标样; 制备过程中线宽小于 100 nm 的结构容易脱落, 导致测试图案不完整. 这些问题对制备高质量的石英/金属纳米标样带来很大挑战, 因此该制备方案还需进一步探索, 完善制备工艺, 以制作出高质量的石英-金属纳米标样.

5 结 论

综上所述, 在前人工作的基础上, 我们总结出适用于测量矢量光场共聚焦激光扫描显微镜分辨率的纳米标准样品的设计要求, 并提供了设计方案和制备工艺, 该纳米标样提供 40—1000 nm 范围

内分辨率的精确测量, 具有多种类测试图案、紧密的线宽梯级序列分布、较高的精度和巧妙的指示标记, 能够在快速准确地检测显微系统的最佳分辨率. 首先利用电子束曝光与电感耦合等离子体刻蚀技术, 在非晶硅片上实现纳米标样的制备, 在此基础上不断探索工艺参数, 将线宽的误差控制在合理范围内. 在光学扫描中检验硅纳米标样的应用效果, 使用 405 nm 光源的矢量光共聚焦激光扫描显微镜, 精确检测到显微系统的分辨率达到 96 nm (介质油 $n = 1.5$), 同时也暴露出显微镜稳定性的不足, 为显微镜进一步的调试与改进工作提供了指导. 测试中发现, 纳米尺度的光学成像效果除了受到样品形貌的影响外, 还受到样品的光电物性的影响, 其相互作用机理尚待进一步深入研究. 作为补充, 本工作进一步制备了石英基底金属纳米样品, 纳米标样光学成像结果的低对比度问题得到改善, 对于分辨率的精确测量将提供更大帮助. 这一设计方案, 为矢量光场 CLSM 的亚 100 nm 尺度的分辨率提供了一种更严谨的测试途径, 也为显微系统调试改进提供原理性指导.

后续的工作将进一步探索透明基底金属纳米标样更精确的制备工艺, 做出更精确与更高对比度的纳米标准样品, 为远场矢量光共聚焦显微镜探寻更小尺度的光学成像过程提供更多支持; 另一方面, 也将对纳米尺度光学成像过程中, 样品的光电物性对于形貌表征的影响机制进行深入研究.

感谢中山大学光电材料与技术国家重点实验室李俊韬教授与周丽丹工程师在样品制备过程中提供的思路与帮助.

参考文献

- [1] Abbe E 1873 *Archiv f. mikrosk. Anatomie* **9** 413
- [2] Huang B, Babcock H P, Zhuang X W 2010 *Cell* **143** 1047
- [3] Sigal Y M, Zhou R B, Zhuang X W 2018 *Science* **361** 880
- [4] Roy T, Rogers E T, Zheludev N I 2013 *Opt. Express* **21** 7577
- [5] Minsky M 1961 *US Patent* 3013467
- [6] Dorn R, Quabis S, Leuchs G 2003 *Phys. Rev. Lett.* **91** 233901
- [7] Yang L X, Xie X S, Wang S C, Zhou J Y 2013 *Opt. Lett.* **38** 1331
- [8] Chen R, Agarwal K, Sheppard C J R, Chen X D 2013 *Opt. Lett.* **38** 3111
- [9] Yurt A, Grogan M D W, Ramachandran S, Goldberg B B, Ünlü M S 2014 *Opt. Express* **22** 7320
- [10] Xie X S, Chen Y Z, Yang K, Zhou J Y 2014 *Phys. Rev. Lett.* **113** 263901
- [11] Rittweger E, Han K Y, Irvine S E, Eggeling C, Hell S W 2009 *Nat. Photon.* **3** 144

- [12] Gustafsson M G L 2005 *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **102** 13081
- [13] Huang B, Wang W Q, Bates M, Zhuang X W 2008 *Science* **319** 810
- [14] Rust M J, Bates M, Zhuang X W 2006 *Nat. Methods* **3** 793
- [15] Yang K, Xie X S, Zhou J Y 2017 *J. Opt. Soc. Am. A* **34** 61
- [16] Dorn R, Quabis S, Leuchs G 2003 *J. Mod. Opt.* **50** 1917
- [17] GB/T6161-2008 2008 *Micrographics-ISO Resolution Test Chart No. 2-Description and Use* (Beijing: Standards Press of China) (in Chinese) [GB/T6161-2008 2008缩微摄影技术ISO 2号解像力测试图的描述及其应用 (北京: 中国标准出版社)]
- [18] Stark P R H, Rinko L J, Larson D N 2003 *J. Microsc.* (Oxford, U. K.) **212** 307
- [19] Iketaki Y, Oi H, Bokor N, Kumagai H 2015 *Rev. Sci. Instrum.* **86** 086109
- [20] Huebner U, Morgenroth W, Boucher R, Meyer M, Mirandé, Buhr E, Ehret G, Dai G, Dziomba T, Hild R, Fries T 2007 *Meas. Sci. Technol.* **18** 422
- [21] GB/T 321-2005 2005 *Preferred Numbers-Series of Preferred Numbers* (Beijing: Standards Press of China) (in Chinese)) (in Chinese) [GB/T 321-2005 2005优先数和优先数系 (北京: 中国标准出版社)]
- [22] Dai G L, Hahn K, Bosse H, Dixon R G 2017 *Meas. Sci. Technol.* **28** 065010

Fabrication and physical measurement accuracy of nanoscale standard samples for vector beams confocal laser scanning microscopy*

Li Xiao-Nan¹⁾²⁾ Guan Guo-Rong¹⁾ Liu Yi-Kun¹⁾ Liang Hao-Wen¹⁾
Zhang Ai-Qin¹⁾ Zhou Jian-Ying^{1)†}

1) (*State Key Laboratory of Optoelectronic Materials and Technologies, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China*)

2) (*School of Electronic and Information Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China*)

(Received 25 February 2019; revised manuscript received 4 April 2019)

Abstract

Various kinds of super-resolution optical microscope techniques have been developed to break the diffraction barrier in the past decades. Confocal laser scanning microscopy is the super-resolution microscopy. It is widely used due to high resolution and depth selectivity in obtaining images. However, there are neither accurate nor rigorous measurement methods with a nanoscale resolution. In order to measure the resolution of vector beam confocal laser scanning microscopy accurately and rigorously, a nanoscale resolution standard sample is proposed and experimentally realized. This sample is composed of a series of accurate measure patterns and a couple of arrays of triangle finding structures. It allows a wide measurement range between 40 nm to 1000 nm, and provides appropriate measurement steps and high measurement accuracy. The measurement patterns can be efficiently figured out by using the found structures, and their structure line width can be easily calculated. The first standard sample is produced on a piece of amorphous silicon by electron beam lithography and inductive coupled plasma etching technology, and measured by the scanning electron microscopy. According to the test, the sample meets the requirements of accuracy for nanoscale resolution measurement. Optical testing is applied to the sample by a vector beam confocal laser scanning microscope. And the sample shows that the resolution is 96 nm (oil immersion, refractive index 1.52) under the irradiation of 405 nm radially polarized beams, which is far beyond the diffraction barrier. Furthermore, a metal structure standard sample, which is based on a piece of indium tin oxide glass, is produced to improve the signal contrast ratio of the silicon standard sample. The measurement patterns are fabricated by electron beam lithography and electron beam evaporation and made of 10 nm titanium and 100 nm gold. It works for both reflective and transmissive confocal laser scanning microscopy, and would obtain high resolution images with a better contrast ratio. These standard samples are able to test the performance of microscope system efficiently, and provide a more rigorous way to make sub-100 nm resolution measurement and a calibration guidance for point scanning super-resolution microscope. In the meantime, we find that nanoscale optical imaging is affected not only by sample morphology, but also by the photoelectron property of the sample. Further study is required to understand the underlying mechanism.

Keywords: micro- and nanofabrication, standard sample, super-resolution, confocal laser scanning microscopy

PACS: 81.16.-c, 87.64.M-, 87.57.cf, 87.64.mk

DOI: 10.7498/aps.68.20190252

* Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 11534017, 11704421), the Fundamental Research Funds for the Central Universities of Ministry of Education of China (Grant Nos. 16lgpy53, 171gpy20, 17lgjc39), and the Science and Technology Project of Guangzhou, China (Grant No. 201805010004).

† Corresponding author. E-mail: stszjy@mail.sysu.edu.cn