Письма в ЖЭТФ, том 108, вып. 1, с. 26 – 34 © 2018 г. 10 июля

Люминесцентная микроскопия одиночных пар квантовых точек с нанометровым пространственным разрешением

И. Ю. Еремчев[+*1)], *Н. А. Лозинг*[+×], *А. А. Баев*[∇], *А. О. Тарасевич*[*], *М. Г. Гладуш*[+*∘], *А. А. Роженцов*[∇], *А. В. Наумов*[+*∘]

[+]*Институт спектроскопии РАН, 108840 Москва, Троицк, Россия*

[*]*Московский физико-технический институт (государственный университет), 141700 Долгопрудный, Россия*

[×]*Национальный исследовательский университет Высшая школа экономики, 101000 Москва, Россия*

[∘]*Московский педагогический государственный университет, Кафедра теоретической физики им. Э.В. Шпольского, 119991 Москва, Россия*

[∇]*Поволжский государственный технологический университет, 424000 Йошкар-Ола, Россия*

Поступила в редакцию 14 мая 2018 г.
После переработки 23 мая 2018 г.

Рассмотрен вопрос о возможности определения расстояния между двумя близкорасположенными мерцающими одиночными коллоидными квантовыми точками с использованием техники дальнеполевой люминесцентной микроскопии сверхвысокого разрешения. Было проведено численное моделирование микроскопических изображений одиночной пары точечных источников света для различных режимов мерцания люминесценции, известных из экспериментов с оболочечными квантовыми точками CdSe/ZnS. Расстояние между источниками варьировалось в пределах длины волны излучения λ, характерных для проявления эффектов, связанных с диполь-дипольным взаимодействием (от $\lambda/5$ до $\lambda/30$). С использованием разработанного алгоритма с субдифракционной точностью определено взаимное расположение излучателей в паре для различных типов динамики мерцания одиночных квантовых точек в модельных и лабораторном экспериментах.

DOI: 10.1134/S0370274X18130064

Полупроводниковые нанокристаллы (квантовые точки, КТ) представляют собой перспективный материал для создания эффективных источников белого света, гибридных солнечных батарей с высоким КПД, люминесцентных маркеров для биологических исследований, в том числе на уровне одиночных квантовых точек, источников неклассического излучения для задач квантовой криптографии. Особый интерес представляют коллоидные КТ типа “ядро/оболочка” благодаря относительной простоте синтеза, высокой фотостабильности и большому квантовому выходу люминесценции. Изучению свойств одиночных КТ, а также их макроскопических ансамблей, посвящено большое число работ (см., например, обзор [1] и приведенные там ссылки). В то же время не меньший интерес представляют исследования кластерных структур, состоящих из нескольких КТ, расположенных на расстоянии, существенно меньшем длины волны люминесценции. В таких структурах проявляются эффекты взаимодействия между КТ, которые приводят к необычным люминесцентным свойствам. Например, в работе [2] было обнаружено, что агломерат, состоящий из трех–четырех срощенных между собой гигантских КТ, может излучать фотоны люминесценции, автокорреляционная функция которых имеет ярко выраженную антигруппировку, свойственную излучению одиночных КТ. Изучение свойств кластеров КТ интересно также и с точки зрения понимания механизмов, которые могут проявляться в высококонцентрированных образцах, когда характерное расстояние между КТ сравнимо с размером нанокристаллов и может происходить кластеризация объектов.

Не меньший интерес представляют структуры, состоящие из нескольких КТ, расстояние между которыми находится в пределах длины волны люминесценции. В таких структурах могут проявляться эффекты, связанные с диполь-дипольным взаимодействием между отдельными излучателями [3–6]. Важным и интересным частным случаем такой общей задачи является построение конфигурации из двух квантовых точек, взаимное расположение излу-

1)e-mail: eremchev@isan.troitsk.ru

чателей в которой может меняться по отношению к поляризации падающей волны и направлению ее распространения. Диполь-дипольное взаимодействие в такой паре может влиять на спектры поглощения и флуоресценции и приводить к перепутыванию состояний в квантовых точках и излучаемых фотонов, что интересно с точки зрения развития оптических квантовых технологий (см., например, [7–9] и приведенные ссылки). Для исследования фотофизических свойств одиночной пары КТ необходимо иметь возможность определять пространственную конфигурацию системы – расстояние между излучателями и ориентацию пары по отношению к падающей волне. Для исследования такой системы могут быть использованы методы комбинированной люминесцентной и атомно-силовой микроскопии или электронной микроскопии. В экспериментах такого рода геометрическая конфигурация пары точечных излучателей может быть определена при помощи атомно-силовой или электронной микроскопии, а оптическая часть используется для регистрации фотофизических свойств излучающей пары. Задача существенно усложняется в том случае, если необходимо провести подобный эксперимент при криогенных температурах, требующих охлаждения до температур жидкого гелия. Более того, данная задача становится неразрешимой с использованием электронной или атомно-силовой микроскопии в том случае, если точечные излучатели помещаются в прозрачную твердотельную диэлектрическую среду, например в полимерную пленку или замороженное органическое стекло.

В то же время задача исследования одиночной пары КТ может быть решена, если воспользоваться подходом, основанным на принципах дальнепольной люминесцентной микроскопии сверхвысокого разрешения [10–12]. В основе такого подхода лежит метод последовательной регистрации и компьютерный анализ микроскопических изображений одиночных точечных источников света, находящихся внутри объема образца, ограниченного дифракционным пределом. Точность определения координаты зависит от количества фотонов люминесценции, формирующих изображение точечного излучателя в люминесцентном микроскопе, ширины аппаратной функции микроскопа, числа фотонов нежелательной люминесценции образца (излучаемых, например, стеклянной подложкой и полимерной пленкой), шумами двумерного фотодетектора, соотношением между размерами пикселя матричного детектора и шириной аппаратной функции [13]. Для одиночных хромофорных молекул точность восстановления координат может достигать единиц ангстрем [14, 15]. При этом ограничение точности в большинстве случаев связано с фотостабильностью органических молекул и динамическим диапазоном чувствительных матричных детекторов.

Для исследования одиночных пар квантовых излучателей необходимо добиться их раздельного свечения – флуоресценции в различные моменты времени. В таком случае появляется возможность восстановить с нанометровой точностью пространственное расположение сначала первого излучателя, а затем второго. В случае коллоидных квантовых точек таким переключающим процессом может служить мерцание. Данный эффект в общем случае представляет собой случайный во времени процесс изменения интенсивности флуоресценции КТ при непрерывном возбуждении (см. [16, 17] и обзор [18]). В частном случае, характерном для одиночных КТ типа "ядро/оболочка", мерцание проявляется в виде случайных во времени переходов из состояния с высоким квантовым выходом флуоресценции ("on"-состояние) в темное безызлучательное состояние ("off"-состояние) [19]. При этом средняя длительность "on"-состояния зависит от интенсивности возбуждающего излучения (см. [20] и приведенные там ссылки). Этот эффект может быть использован для варьирования характерного времени раздельного свечения частиц в паре.

Таким образом, наличие темных состояний вместе с тем фактом, что процесс мерцания происходит в каждой КТ независимым образом, является основой метода раздельного детектирования изображений одиночных КТ в паре или в небольшой агломерации. В то же время существует проблема интерпретации результатов в экспериментах такого рода, связанная со случайным характером процесса мерцания и невозможностью точно определить, является ли измеренное изображение точечного источника результатом флуоресценции только одной из КТ, или же изображение было сформировано фотонами, излученными обеими КТ. Однократное измерение изображения пары дает информацию об интенсивности суммарной флуоресценции и о положении центра тяжести изображения, зависящего от относительных вкладов КТ в суммарный сигнал флуоресценции. Многократное измерение изображения пары КТ позволяет получить статистическое распределение координат излучающего точечного объекта, анализ которого при определенной статистике мерцания точечных объектов может позволить выделить положения, соответствующие раздельному излучению первого и второго излучателей в паре.

В данной работе для проверки границ применимости предложенного метода было проведено численное моделирование и анализ микроскопических изображений одиночных и парных точечных источников для различных режимов мерцания люминесценции, известных из экспериментов с квантовыми точками CdSe/ZnS, в зависимости от расстояния между источниками в паре.

Для моделирования дискретных в пространстве изображений одиночных излучателей, формируемых отдельными фотонами на матричном детекторе в составе люминесцентного широкопольного микроскопа, мы использовали оригинальную процедуру расчета. В качестве физических параметров численного моделирования выступали:

1. Увеличение микроскопа Г и размер элемента (пикселя) матричного детектора d. Данные параметры определяли величину шага пространственной дискретизации изображений одиночных точечных излучателей. В моделировании использовались 100-кратное увеличение микроскопа и физический размер пикселя матричного детектора $d = 10$ мкм. Таким образом, один пиксель детектора соответствовал реальному размеру 100 нм в плоскости образца.

2. Расстояние между центрами двух точечных источников. Данный параметр варьировался в диапазоне от $\lambda/5$ до $\lambda/30$ в плоскости образца, т.е. с учетом интересующих нас длин волн (~ 630 нм) в диапазоне от 20 до 130 нм. С учетом увеличения микроскопа и реального размера пикселя камеры это соответствует расстоянию между изображениями от 0.2 до 1.3 размера пикселя матрицы детектора.

3. Форма и ширина аппаратной функции люминесцентного микроскопа. В случае однородного и изотропного излучения изображение точечного источника в микроскопе описывается функцией Бесселя первого рода, которое является следствием точного решения задачи о дифракции Фраунгофера на круглом отверстии. В качестве хорошего приближения центрального максимума такой функции может быть использована двумерная функция Гаусса:

$$I(x,y) = I_0 \exp\left\{\frac{-(x-x_0)^2-(y-y_0)^2}{2\sigma^2}\right\}, \qquad (1)$$

где σ – это дисперсия функции Гаусса (полуширина на высоте $I_0 \exp\{-1/2\}$), которая может быть использована для количественной оценки ширины аппаратной функции микроскопа. Для моделирования изображений точечных источников света мы использовали ширину аппаратной функции, полученную в наших экспериментах с точечными излучателями. А именно, в случае квантовых точек с узким пиком люминесценции в районе 630 нм и иммерсионного объектива с числовой апертурой NA $=$ 1.3, дисперсия 2D-Гауссиана составляет 113 нм. С учетом увеличения и размера элемента матричного детектора, дисперсия, выраженная в пикселях, составляла 1.13 пикселя.

4. Характерные значения количества фотоотсчетов, формирующих изображения обоих точечных источников в интегральном изображении для последовательности модельных экспериментов. Для расчета количества фотоотсчетов люминесценции для каждого из точечных источников за время экспозиции моделировались случайные флуоресцентные траектории в соответствии с рассматриваемым типом флуоресцентной динамики.

Для моделирования случайной траектории мы использовали простую модель, в соответствии с которой флуоресцентная траектория была разбита на последовательности темных ("off"-) с интенсивностью 0 отсчетов в секунду и светлых ("on"-) интервалов со средней интенсивностью 5000 отсчетов в секунду и распределением значений по нормальному закону с дисперсией 500 отсчетов в секунду.

Распределение длительностей "on"- и "off"-интервалов задавалось степенными функциями вида $at^{-\alpha}$, при этом значение показателя степенной функции α определяло вид флуоресцентных траекторий, качественно и количественно (распределение фотонов) согласующихся с экспериментальными данными: α для "on"-состояний варьировался в пределах от 1.2 до 2.1, для "off"-состояний – в пределах от 1.4 до 1.9.

Для выбранных степенных распределений методом Монте-Карло генерировались случайные последовательности длительностей "on"- и "off"-состояний. При моделировании мы ввели ограничения на минимальную длительность для "on"- и "off"-интервалов. Поскольку "on"-интервал представляет собой группировку последовательно испущенных фотонов, то минимальную длительность "on"- и "off"-интервалов можно определить как среднее время между двумя последовательно испущенными фотонами (в нашем случае было выбрано значение 1 мс). Данное ограничение позволило нам преодолеть проблему, связанную с расчетом вероятности вблизи нулевых значений длительности интервалов, когда значения вероятности стремятся к бесконечности. Полученная траектория разбивалась на временные интервалы, соответствующие времени экспозиции (100 мс). Внутри каждого интервала производилось суммирование сигнала.

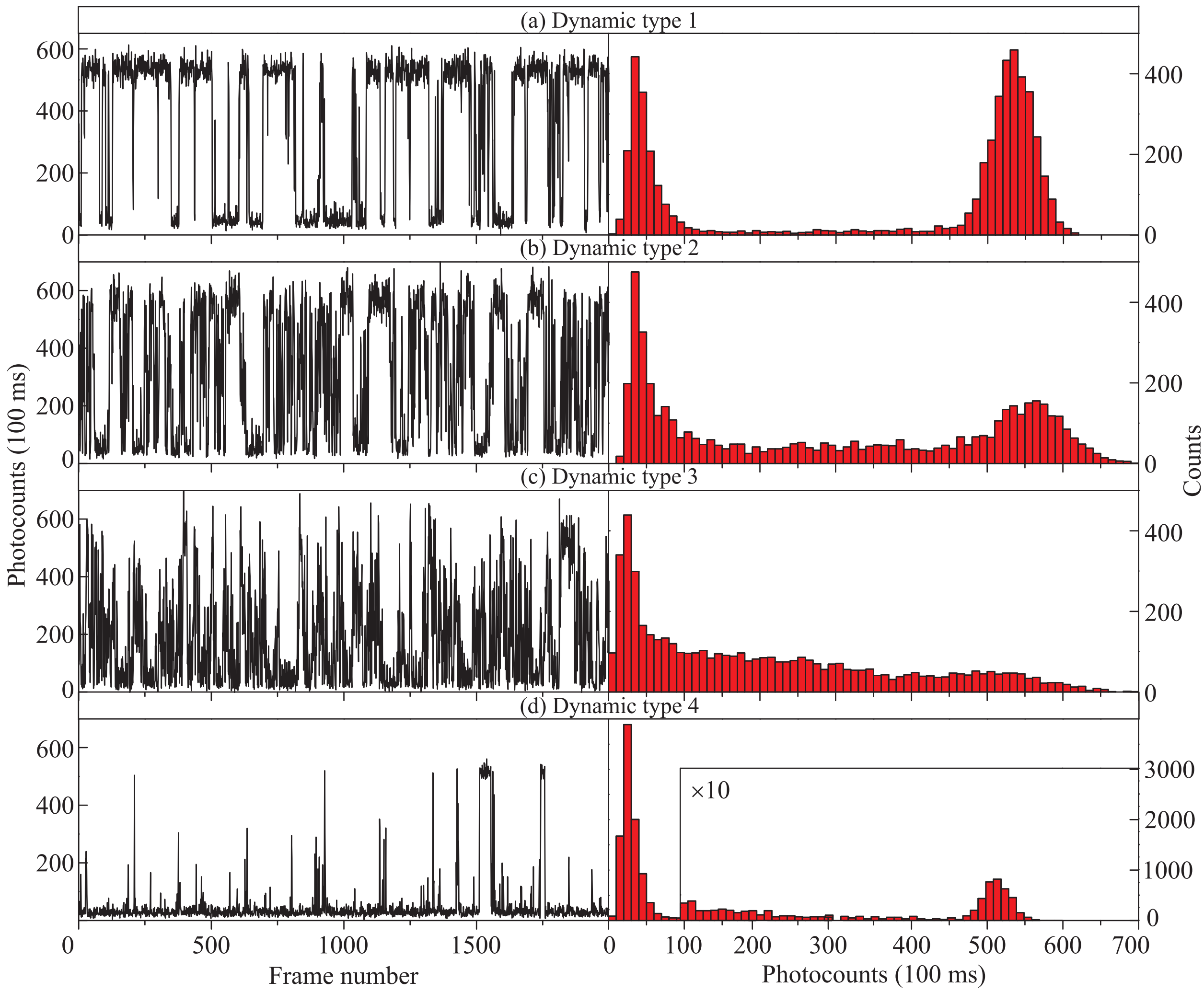

Рис. 1. (Цветной онлайн) Полученные в результате численного моделирования флуоресцентные траектории мерцающих квантовых точек для различных типов динамики (слева), соответствующие распределения фотонов флуоресценции (справа). Время экспозиции на точку – 100 мс

Полученные таким способом значения интенсивности для 5000 моментов времени составляли флуоресцентную траекторию одиночной КТ, которая использовалась далее для моделирования последовательности люминесцентных изображений для точечного источника.

На рисунке 1 показаны флуоресцентные траектории с различной динамикой и соответствующие им распределения (статистика) фотонов. На рисунке 1a слева показана траектория с двумя хорошо выделяющимися уровнями интенсивности в "on"- и "off"-состояниях. Распределение фотонов для этого случая (рис. 1a справа) имеет два четко выраженных пика, соответствующих темному и светлому состояниям. Такой характер люминесценции мерцающей КТ мы условно назвали динамикой 1-го типа. На следующих рисунках (1b–d) показаны флуоресцентные траектории с постепенным (от 1b к 1d) увеличением скорости перехода из "on"- в "off"-состояния и обратно, которое, в итоге, приводит к отсутствию явно выраженных "on"- и "off"-интервалов, т.е. к "размытию" самого понятия темных и светлых состояний. Так, на рис. 1b появляются промежуточные состояния, которые хорошо видны в распределении фотонов: помимо двух пиков ("on"- и "off"-) появляется плато между ними (динамика 2-го типа). На рисунке 1c яркий уровень не определен: плотность промежуточных состояний сравнивается с плотностью в "ярком" состоянии (динамика 3-го типа). Наконец, на рис. 1d видны лишь редкие переходы в излучательные состояния КТ (динамика 4-го типа).

Моделирование флуоресцентного изображения точечного объекта производилось аддитивным методом, похожим на процесс формирования изображе-

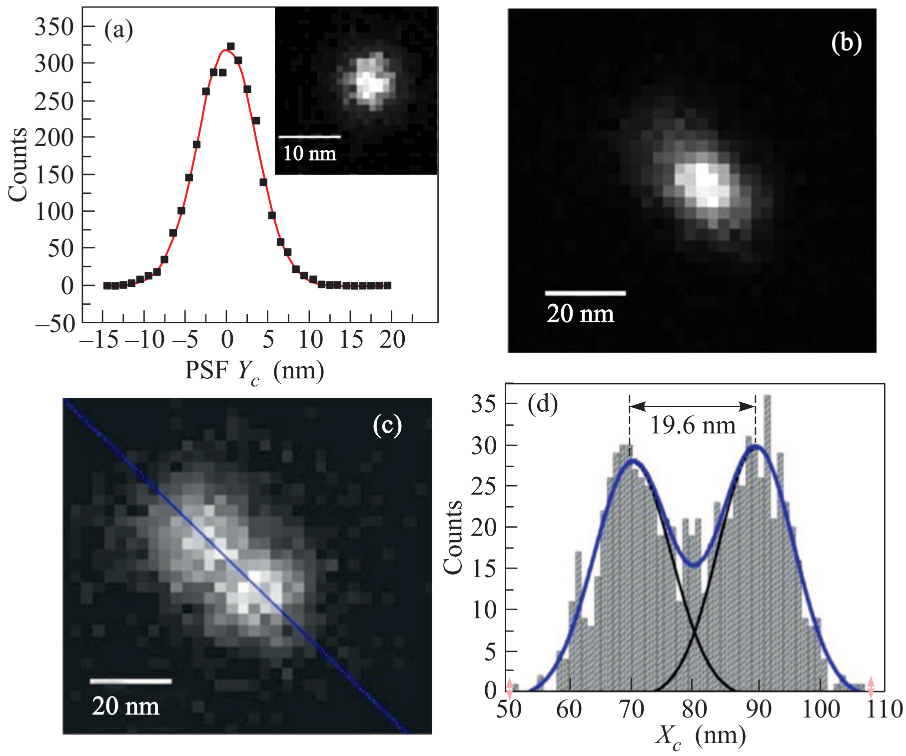

Рис. 2. (Цветной онлайн) Распределения плотности восстановленных координат для смоделированных флуоресцентных изображений квантовых точек. (a) – Одномерное и двумерное (на вставке) распределения плотности восстановленных координат для одиночного излучателя. (b)–(d) – Распределения плотности восстановленных координат пары квантовых точек, расположенных на расстоянии 20 нм друг от друга: (b) – для всей совокупности восстановленных координат; (c) – после применения фильтра-критерия по интенсивности для восстановленных координат (см. описание в тексте статьи); (d) – одномерное распределение вдоль направления, выделенного линией на рис. 2c

ния в реальном эксперименте из последовательности фотонов люминесценции. Для этого на каждом шаге моделирования методом Монте-Карло в соответствии с заданным распределением вероятности (аппаратная функция микроскопа) определялись координаты точки в плоскости детектора, в которой происходило детектирование фотона, т.е. определялся конкретный пиксель матричного детектора, в котором фиксировался фотоотсчет, участвующий в формировании изображения КТ.

Данная процедура производилась для первого и второго точечного источника в паре, после чего их изображения складывались попиксельно. Для полученного интегрального изображения в каждом пикселе моделировался (по закону нормального распределения) добавочный "шумовой" сигнал, не связанный с исследуемыми точечными источниками света: темновые шумы матрицы, шумы считывания, фоновая флуоресценция образца. Среднее значение (100 отсчетов в секунду) и дисперсия (10 отсчетов в секунду) шумового сигнала были выбраны близкими к наблюдаемым в эксперименте с одиночными КТ.

Для обработки последовательностей модельных изображений мы использовали разработанные нами алгоритмы и программное обеспечение. Часть этих алгоритмов и программ использовалось для обработки экспериментов с одиночными точечными излучателями [21–23]. Обработка модельных кадров, содержащих изображения одиночных точечных излучателей, основана на алгоритме поиска и распознавания одиночных изображений и аппроксимации их двумерными функциями Гаусса. Для аппроксимации использовался алгоритм Левенберга–Маркварта [24]. В результате аппроксимации определялись координаты центра изображения, дисперсия (ширина изображения), интегральная интенсивность в изображении (параметр, который является оценкой числа фотоотсчетов, формирующих данное изображение). Как было показано нами в работе [25], для оценки интенсивности флуоресценции одиночного точечного излучателя лучше использовать результат прямого интегрирования сигнала в области с радиусом $\sim 2.2\sigma$ 2D-Гауссиана относительно центра изображения, нежели оценку, получаемую из аппроксимации.

На рисунке 2 показаны двумерные распределения плотности восстановленных (из смоделированных флуоресцентных изображений одиночной КТ) координат для случая одиночного точечного источника (рис. 2a) и пары квантовых точек (рис. 2b), расположенных на расстоянии 20 нм друг от друга. По сути, данные распределения можно условно назвать "субдифракционными изображениями" одиночной КТ и пары КТ соответственно. Их не следует путать с обычными флуоресцентными изображениями излучателей. Размер обычного флуоресцентного изображения точечного источника света определяется дифракцией света, тогда как размер "субдифракционного изображения" – статистическим разбросом восстановленных с субдифракционной точностью координат КТ.

В случае одиночного источника распределение является симметричным и имеет вид двумерной функции Гаусса (вставка на рис. 2a). На рисунке 2a показано распределение восстановленной координаты по направлению вдоль оси Y. Дисперсия этого распределения связана со стохастическим характером формирования изображения точечного объекта единичными фотонами и является оценкой точности восстановления пространственных координат. Кроме того, эта точность определяет минимальное расстояние между двумя точечными источниками, которые могут быть пространственно разделены в субдифракционном изображении.

На рисунке 3 показана зависимость эффективной точности восстановления координат от числа фотоотсчетов в ярком состоянии для различных типов флуоресцентных динамик. Эффективное значение точности будет определять разброс значений координат для всей совокупности изображений точечного источника с определенной флуоресцентной динамикой. Зависимости подчиняются степенному закону с показателем степени, близким к $-1/2$, что хорошо согласуется с полуэмпирическим выражением [13]:

$$\sigma = \sqrt{\left(\frac{s_i^2 + a^2/12}{N}\right)\left(\frac{16}{9} + \frac{8\pi s_i^2 b^2}{a^2 N}\right)}, \qquad (2)$$

где s_i – ширина аппаратной функции микроскопа; N – количество фотонов, формирующих изображение; a – размер пикселя детектора; b – средняя интенсивность фоновой люминесценции.

При этом появляется зависимость от типа флуоресцентной динамики, которая приводит к отличию эффективных значений точности при одинаковых интенсивностях ярких состояний. Вариация точ-

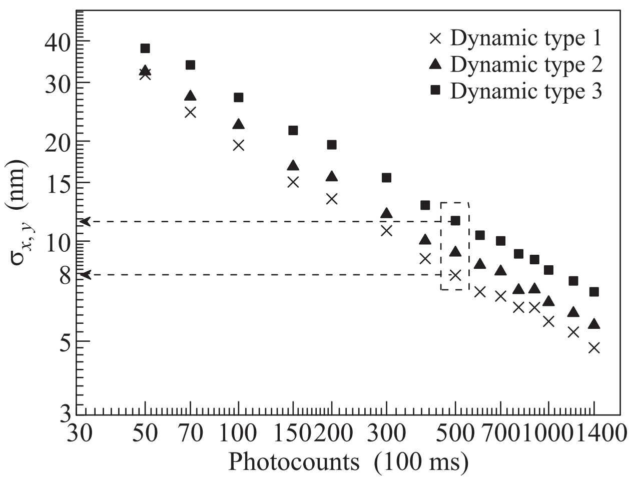

Рис. 3. Эффективная точность восстановления координат одиночной квантовой точки в зависимости от интенсивности флуоресценции в ярком состоянии для различных типов флуоресцентной динамики

ности связана с отличием эффективного времени нахождения в ярком состоянии для различных типов динамик. Так, при значении яркого состояния, которое использовалось для моделирования парных объектов (500 фотоотсчетов/100 мс отмечено штриховыми линиями на рис. 5), эффективная точность в случае динамики 1-го типа составила 8 нм, в случае динамики 2-го типа – 9.5 нм, а в случае динамики 3-го типа – 14 нм. Поэтому численное моделирование проводилось для диапазона расстояний между точечными объектами, начиная с 20 нм и более.

В случае пары точечных независимо мерцающих КТ, расположенных на расстоянии меньшем ширины аппаратной функции микроскопа, флуоресцентные изображения также аппроксимировались двумерной функцией Гаусса. При этом восстановленное распределение координат получается вытянутым вдоль направления, соединяющего центры излучателей (см. рис. 2b). Крайние положения в субдифракционном изображении пары соответствуют раздельному свечению квантовых точек в паре, а именно тем моментам времени, когда одна из КТ находилась в излучательном состоянии, а другая – в темном (или близком к нему по интенсивности). Промежуточные положения восстановленных координат соответствуют моментам времени, когда оба источника излучали одновременно. Такие "фантомные" области в субдифракционном изображении парного центра могут приводить к исчезновению пространственного провала между изображениями первого и второго центров свечения (рис. 2b), препятствуя выделению изображений отдельных КТ в паре. На рисун-

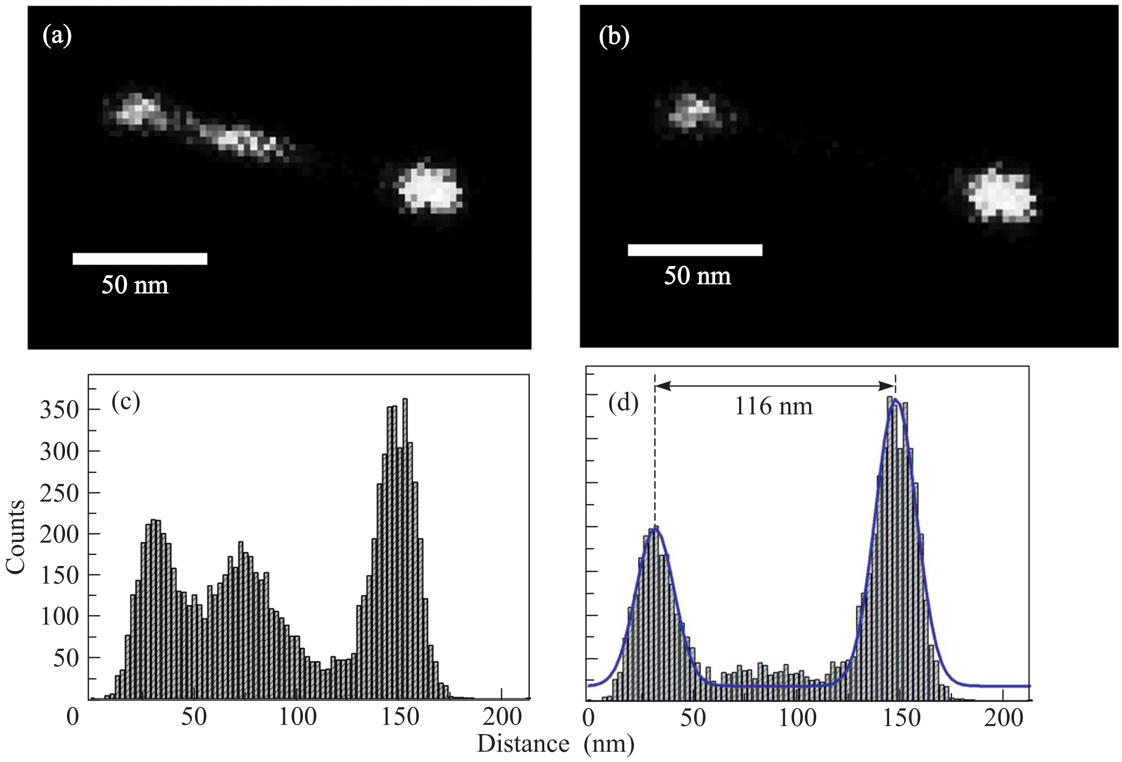

Рис. 4. (Цветной онлайн) Пространственное распределение плотности восстановленных координат для одиночной пары коллоидных квантовых точек CdSe/ZnS, полученное в лабораторном эксперименте. (a) – Для всей совокупности восстановленных координат. (b) – После применения фильтра-критерия по интенсивности. (c), (d) – Соответствующие одномерные распределения вдоль линии, соединяющей центры КТ: (c) – для всей совокупности, (d) – после фильтрации

ке 4a представлен пример субдифракционного изображения пары квантовых точек, полученный в лабораторном эксперименте. Эксперимент проводился с коллоидными квантовыми точками CdSe/ZnS (Sigma Aldrich), помещенными в тонкую полимерную пленку (полиизобутилен) на стеклянной подложке. Квантовые точки возбуждались лазерным излучением (Coherent CR599) на длине волны 580 нм. Флуоресцентные изображения квантовых точек регистрировались с помощью высокочувствительной, охлаждаемой ПЗС-камеры с электронным размножением сигнала (Andor Luca) в схеме широкопольного флуоресцентного микроскопа с микрообъективом CarlZeiss с числовой апертурой 1.3 и 100-х увеличением. Обработка последовательности производилась методом, примененным для модельных изображений.

Пространственное распределение плотности восстановленных координат (рис. 4a) имеет хорошее качественное согласие с полученными модельными субдифракционными изображениями, соответствующими динамике мерцания типа 2. На рисунке 4c представлена гистограмма распределения плотности восстановленных координат вдоль линии соединяющего центры свечения. Периферийные области в изображении (первый и третий пики в одномерном распределении) соответствуют положениям первой и второй КТ в паре, между которыми находится “фантомное” изображение пары КТ (второй пик в распределении), связанное с одновременным свечением обеих КТ.

При наличии такой проблемы необходимо производить селекцию промежуточных “фантомных” состояний. Это может быть сделано, если использовать идею фильтрации полученных координат по значению числа фотоотсчетов во флуоресцентных изображениях. В качестве количественного критерия в данном подходе может быть использована величина порогового значения числа фотонов флуоресценции, соответствующих случаям свечения двух КТ одновременно и только одной КТ в паре. Из субдифракционного изображения удаляются восстановленные координаты, соответствующие измерениям, в которых число фотонов флуоресценции превышает пороговое значение. Вычисление порогового значения производится с помощью анализа распределения фотонов флуоресценции, излучаемых парой КТ. В случае, когда в распределении присутствуют обособленные пики, соответствующие флуоресценции одной из КТ и двух КТ одновременно, пороговое значение вычисляется как среднее от числа фотонов, соответствующих максимумам этих пиков. Данный критерий имеет ряд ограничений. Это связано с тем, что флуоресцентная траектория КТ может иметь много промежуточных состояний интенсивности. Следовательно, возникает возможность реализации промежуточных положений в субдифракционном изображении, интенсивность которых не будет превышать интенсивности флуоресценции для случая свечения только одного из источников. В связи с этим возникает необходимость проанализировать различные типы динамики мерцающей люминесценции одиночных КТ.

В данной работе были рассмотрены случаи, когда интенсивность точечных источников света в "on"-состоянии и типы динамики их мерцающей флуоресценции совпадали (см. рис. 1). Для динамики мерцания, относящейся к типам 1, 2 и 4 (рис. 1a–d), введенный критерий позволяет разбить решение на две области. На рисунке 2c, d показаны соответствующие двумерное и одномерное (вдоль направления, соединяющего центры изображений) распределения координат. На рисунке 4b представлен результат фильтрации субдифракционного изображения для пары КТ, полученных в лабораторном эксперименте. На рисунке 4d показана соответствующая гистограмма распределения плотности восстановленных координат вдоль линии, соединяющей центры КТ, в которой подавлен промежуточный "фантомный" пик. Полученное распределение позволяет произвести оценку расстояния между КТ, которое в данном случае составило 116 нм. В случае реализации динамики мерцания 3-го типа (рис. 1c) этот критерий невозможно применить: субдифракционное изображение парного источника будет представлять единую вытянутую область, в которой нельзя выделить части, соответствующие раздельному свечению двух источников, что не позволяет определить расстояние между центрами в паре. Когда условия позволяли применять критерий разделения источников, то для оценки расстояния между центрами точечных излучателей мы аппроксимировали одномерное распределение координаты суммой двух Гауссианов (рис. 2d).

Модельные расчеты для 1-го, 2-го и 4-го типов динамики мерцания проводились с варьированием расстояния между точечными источниками в диапазоне от 20 до 130 нм. Для каждого модельного эксперимента была сформирована последовательность из 5000 флуоресцентных изображений с временем экспозиции, соответствующем 100 мс в реальном эксперименте, а расстояние между центрами определялось по описанному выше алгоритму. После чего оценивалось относительное отклонение восстановленного расстояния между КТ от заданного значения в паре (см. рис. 5).

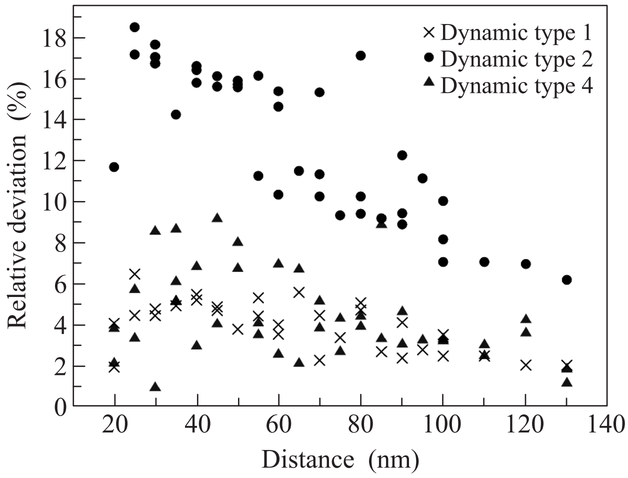

Рис. 5. Относительное отклонение найденных расстояний между КТ в паре от заданных при различных значениях заданного расстояния для различных типов динамики мерцания флуоресценции одиночных КТ

При динамике мерцания 1-го типа систематическое отклонение (заниженный результат) составляет примерно 5%, при этом случайная ошибка (разброс значений от реализации к реализации) для малых расстояний в паре оказывается порядка 4 %. С увеличением расстояния ошибка несколько уменьшается. Однако ее оценка здесь не является окончательной, так как требует значительно большего числа модельных экспериментов.

Для 4-го типа динамики систематическое отклонение от истинного значения и случайная ошибка оказываются бóльшими по сравнению с динамикой 1-го типа.

Наконец, в случае динамики 2-го типа наблюдается заметная зависимость систематического отклонения от расстояния в паре. В случае малых расстояний (20–30 нм) она достигает значений порядка 20 % и убывает до 6–7 % для расстояний более 100 нм. При этом случайная ошибка оценивается на уровне 6–7 %.

Таким образом, в данной работе предложена методика восстановления расстояния с субдифракционной точностью между двумя близкорасположенными одиночными мерцающими точечными излучателями (квантовыми точками) путем анализа последовательности их флуоресцентных изображений. Проведено моделирование микроскопических изображений одиночных и парных квантовых объектов с различной динамикой мерцания флуоресценции. Проведенный анализ показал, что в случае, когда в функции распределения фотонов присутствуют четко определяемые пики, соответствующие яркому ("on"-) и темному ("off"-) состояниям, возможно определение расстояния между двумя излучателями в паре с точностью, существенно превышающей дифракционный предел, даже для расстояний намного меньше длины волны. Ошибка восстановления расстояния составляет от нескольких процентов до 15−20 % в зависимости от типа динамики мерцания. Показано, что при наличии множества промежуточных уровней интенсивности свечения одиночных КТ определение расстояния между излучателями в паре становится невозможным. Проведенные модельные эксперименты показали, что восстанавливаемые значения расстояния систематически занижены, причем отклонение зависит от расстояния в паре и от типа динамики. Дальнейшее увеличение точности предложенного метода возможно только при компенсации указанной систематической ошибки. Проведен эксперимент с двумя одиночными близкорасположенными коллоидными КТ CdSe/ZnS, внедренными в полимерную пленку. Показано, что субдифракционное изображение исследованной пары КТ качественно совпадает с изображениями, получаемыми в модельных экспериментах. Произведена оценка расстояния между КТ в паре с использованием предложенного подхода и алгоритма фильтрации "фантомных" областей в субдифракционных изображениях.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант # 17-72-20266). Техника флуоресцентной микроскопии разрабатывается в рамках Государственного задания ФГБУН Института спектроскопии РАН.

1. M. J. Fernee, P. Tamarat, and B. Lounis, Chem. Soc. Rev. **43**, 1311 (2014).
2. B. H. Lv, H. C. Zhang, L. P. Wang, C. F. Zhang, X. Y. Wang, J. Y. Zhang, and M. Xiao, Nat. Commun. **9**, 1536 (2018).
3. C. Hettich, C. Schmitt, J. Zitzmann, S. Kühn, I. Gerhardt, and V. Sandoghdar, Science **298**(5592), 385 (2002).
4. Z. Ficek and R. Tanas, Phys. Rep. **372**, 369 (2002).
5. T. Unold, K. Mueller, C. Lienau, T. Elsaesser, and A. D. Wieck, Phys. Rev. Lett. **94**, 137404 (2005).
6. B. D. Gerardot, S. Strauf, M. J. A. de Dood, A. M. Bychkov, A. Badolato, K. Hennessy, E. L. Hu, D. Bouwmeester, and P. M. Petroff, Phys. Rev. Lett. **95**, 137403 (2005).
7. E. Cecoi, V. Ciornea, A. Isar, and M. A. Macovei, J. Opt. Soc. Am. B **35**, 1127 (2018).
8. A. A. Makarov and V. I. Yudson, JETP Lett. **105** (3), 205 (2017).
9. M. O. Scully, Phys. Rev. Lett. **115**, 243602 (2015).
10. E. Betzig, Opt. Lett. **20**, 237 (1995).
11. A. M. van Oijen, J. Kohler, J. Schmidt, M. Muller, and G. J. Brakenhoff, Chem. Phys. Lett. **292**, 183 (1998).
12. M. J. Rust, M. Bates, and X. W. Zhuang, Nature Methods **3**, 793 (2006).
13. K. I. Mortensen, L. S. Churchman, J. A. Spudich, and H. Flyvbjerg, Nature Methods **7**, 377 (2010).
14. S. Habuchi, S. Onda, and M. Vacha, Phys. Chem. Chem. Phys. **13**, 1743 (2011).
15. T. Furubayashi, K. Motohashi, K. Wakao, T. Matsuda, I. Kii, T. Hosoya, N. Hayashi, M. Sadaie, F. Ishikawa, M. Matsushita, and S. Fujiyoshi, J. Chem. Soc. **139**, 8990 (2017).
16. K. Zhang, H. Chang, A. Fu, A. P. Alivisatos, and H. Yang, Nano Lett. **6** (4), 843 (2006).
17. K. T. Shimizu, R. G. Neuhauser, C. A. Leatherdale, S. A. Empedocles, W. K. Woo, and M. G. Bawendi, Phys. Rev. B **63**, 205316 (2001).
18. P. Frantsuzov, M. Kuno, B. Jankó, and R. A. Marcus, Nature Phys. **4**, 519 (2008).
19. M. Nirmal, B. O. Dabbousi, M. G. Bawendi, J. J. Macklin, J. K. Trautman, T. D. Harris, and L. E. Brus, Nature **383**, 802 (1996).
20. I. Yu. Eremchev, I. S. Osad'ko, and A. V. Naumov, J. Phys. Chem. C **120**(38), 22004 (2016).
21. И. Ю. Еремчев, Ю. Г. Вайнер, А. В. Наумов, L. Kador, ФТТ **55**, 652 (2013).
22. А. В. Наумов, УФН **183**, 633 (2013).
23. A. V. Naumov, I. Y. Eremchev, and A. A. Gorshelev, EPJ D **68**, 348 (2014).
24. Ф. Гилл, У. Мюррей, М. Райт, *Практическая оптимизация*, МИР, М. (1985), 509 с.
25. И. Ю. Еремчев, Н. А. Лозинг, М. Г. Гладуш, А. А. Баев, А. А. Роженцов, А. В. Наумов, Известия РАН, сер. Физ. **82**(8), 189 (2018).