小尺度结构研究必备—— 暗场散射光谱

概念解释：暗场显微(英文：Dark-field microscopy)或称暗视野显微(英文：Dark ground microscopy)描述光学显微和电子显微中的一种特殊显微手法，除去观测物体以外的光线或电子进入物镜，使目镜中观测到的视野背景是黑的，只有物体的边缘是亮的。利用这个方法能见到小至 4~200nm 的微粒子，分辨率可比普通显微法高 50 倍。

应用简介

暗场显微技术采用光学显微镜结合特殊的照明和观察方式，使得只有样品大角度散射的光能够进入物镜并被探测到。采用暗场显微技术，可以克服常规光学显微（明场照明成像）针对均一样品中的微小结构成像时，透射或反射衬度不足的问题，使得微小的结构在背景中得以突出呈现，特别适合颗粒、纤维、小尺度界面等的观测。

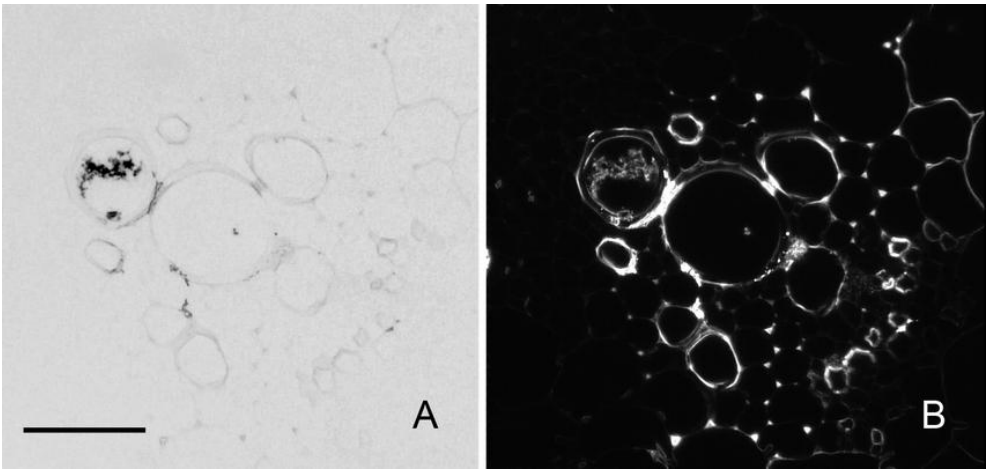


图 1 同一样品明场（A）、暗场（B）像对比

位于衬底、溶液、胶体或细胞中的金属纳米颗粒/团簇是典型的均一样品中的小尺度结构，因此暗场显微技术是一种非常有效的观测手段。更为有趣也更为重要的特性是，因为纳米颗粒的介观特征、表面活性，它们对电磁波的响应既不同于单独的原子/分子，也不同于长程有序的晶体。因此除了暗场散射成像以外，进一步研究此类粒子散射光的光谱特征，有助于理解纳米颗粒的尺度，状态，动力学过程，以及与周边环境的相互作用信息。暗场散射光谱广泛用于金属纳米颗粒研究，表面纳米结构研究，纳米管及纳米线，以及 Plasmon Ruler 等。

系统配置和关键部件

如同一般的微区光谱系统，暗场散射光谱可通过暗场显微镜（透射照明需配置暗场聚光器，落射照明需配置明暗场物镜及落射暗场照明器），成像光栅光谱仪以及高灵敏度科研级 CCD 探测器构成。除显微部分外，暗场散射光谱仪的配置主要考虑以下因素：

1）通常的散射谱较宽，一般不需要太高的分辨率；

2）光谱仪通常要兼顾成像，所以需要影像矫正的光谱仪，并配置开度较大的入口狭缝；通常会在光栅位配置一面反射镜用于成像，也可使用光栅的零级作为反射镜来成像；

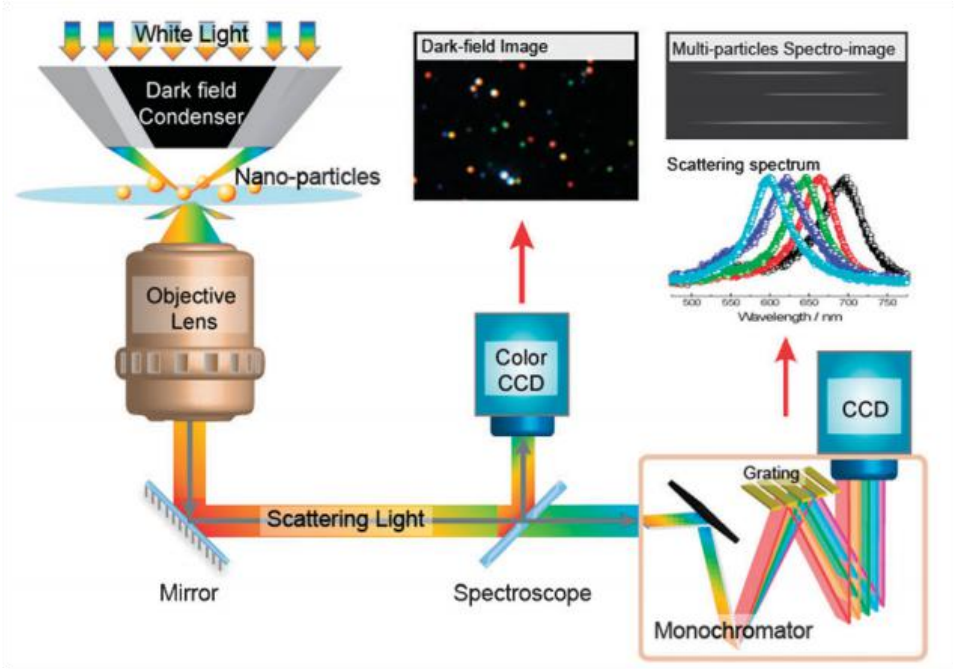


图 2 金纳米颗粒透射暗场散射光谱示意图

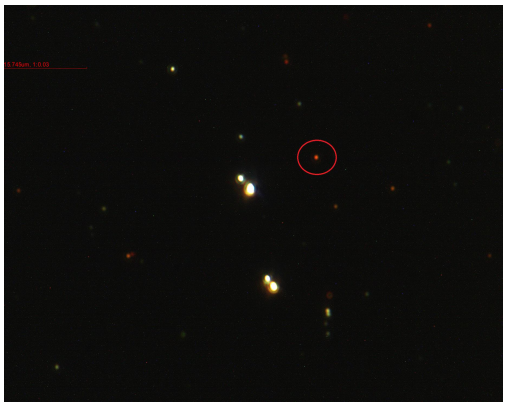
暗场散射光谱系统的结构由图 3 所示。在暗场显微镜的影像出口转接光栅光谱仪，显微镜成像于光谱仪入口。光谱仪入口狭缝开到最大，选择反射镜替代光栅（或将光栅波长设为“0”），可在光谱仪 CCD 上观测暗场成像；选择感兴趣的颗粒使其位于视场中心，狭缝调小，光栅切换到适当的波长位置，即可获得暗场光谱。

解决方案

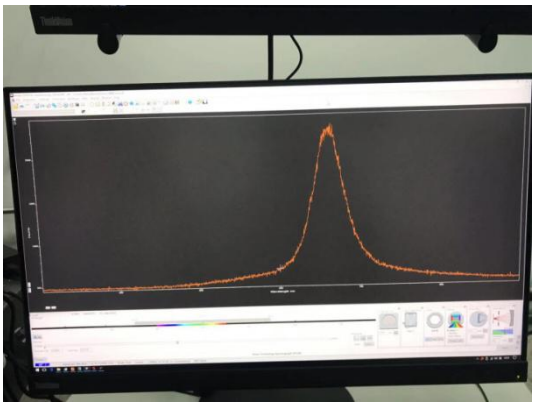
先锋科技针对暗场散射系统提供灵活配置，既可以为您提供独立的纯暗场散射系统，亦可在标准的 RTS2 共聚焦拉曼光谱系统上升级暗场散射功能。

序号	项目	推荐配置	说明
1	显微镜	正置：Leica DM2700M 或 Olympus BX51 倒置：主流倒置显微镜（透射暗场） 必须配置电动样品台	如果要兼容倒置拉曼，则显微镜为 Nikon Ti2-U 或 Olympus IX73/83 双层荧光转盘光路
2	光谱仪	300 或 500mm 焦长光谱仪 低刻划密度光栅	单窗口光谱范围要求 500-600nm
3	CCD 相机	DU920,940,971（纯暗场） iVac316 （拉曼兼容）	纯暗场需要较大靶面的相机，拉曼兼容可使用拉曼专用 CCD 相机

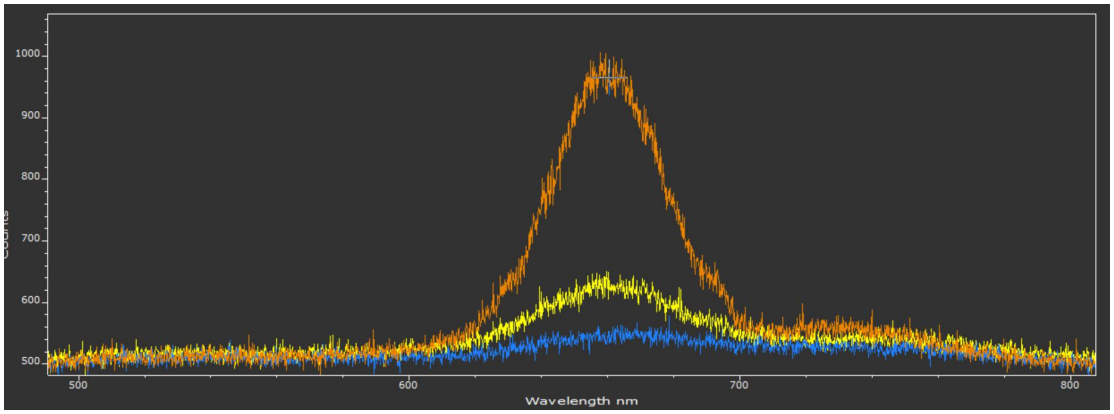
暗场散射实测结果



1）金纳米棒暗场散射图像，长径比 2:1



2）金纳米棒暗场散射光谱，中心波长 660nm



3）同一个金纳米棒暗场散射偏振光谱测试（0° 30° 90° 光谱）