



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I844787 B

(45) 公告日：中華民國 113 (2024) 年 06 月 11 日

(21) 申請案號：110126974

(22) 申請日：中華民國 110 (2021) 年 07 月 22 日

(51) Int. Cl. : G01Q60/34 (2010.01)

G01Q60/38 (2010.01)

(30) 優先權：2020/07/28 美國

16/940,996

(71) 申請人：美商布魯克奈米公司 (美國) BRUKER NANO, INC. (US)

美國

(72) 發明人：達季 亞麗山得 DAZZI, ALEXANDRE (FR) ; 羅伊 亞尼班 ROY, ANIRBAN

(IN) ; 楊紅華 YANG, HONGHUA (CN)

(74) 代理人：林志剛

(56) 參考文獻：

CN 110050193A

CN 110573887A

CN 110687319A

US 2006/0222047A1

US 2012/0204296A1

US 2018/0217181A1

審查人員：張耕誌

申請專利範圍項數：26 項 圖式數：13 共 50 頁

(54) 名稱

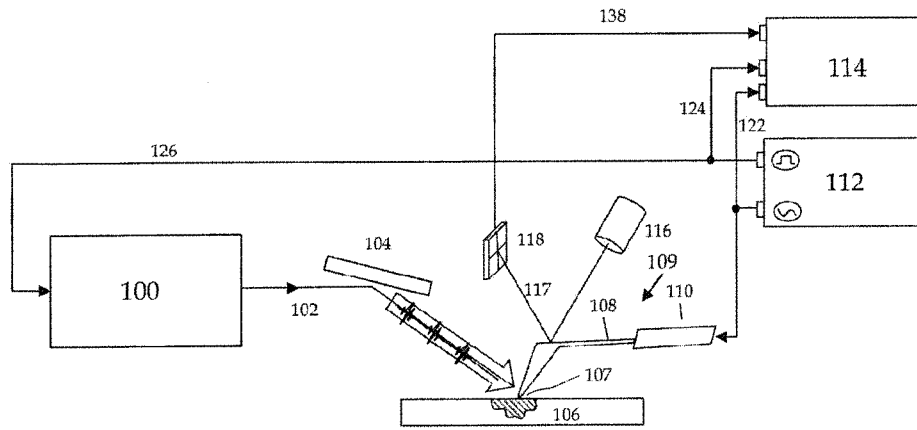
具有控制的探測深度的基於原子力顯微鏡的紅外線光譜的方法及設備

(57) 摘要

一種使用掃描式探針顯微鏡獲得關於樣本的次微米區域的光譜資訊的方法，其具有定量控制的樣本表面的深度/體積。透過控制的探測深度/體積，該方法可以將頂部表面資料與表面下光學/化學資訊分開。該方法還可以應用於適合研究在其原生環境中的生物及化學樣本的液體，而不是空氣。在該方法中，透過用將一束紅外線輻射照射樣本並使用至少一個探針的共振頻率來測量探針響應，以構建表面層的深度受控光譜。表面靈敏度係為透過限制表面下的熱擴散效應以限制訊號來獲得的。訊號限制係為透過聲波與探針的非線性實現的，以及紅外線輻射源的高調變頻率為 >1 兆赫 (MHz) 所帶來的好處。

A method for obtaining optical spectroscopic information about a sub-micron region of a sample with quantitatively controlled depth/volume of the sample subsurface using a scanning probe microscope. With controlled probing depth/volume, the method can separate top surface data from subsurface optical/chemical information. The method can also be applied in liquid suitable for studying biological and chemical samples in their native aqueous environments, as opposed to air. In the method, a depth-controlled spectrum of the surface layer is constructed by illuminating the sample with a beam of infrared radiation and measuring a probe response using at least one of the resonant frequencies of the probe. The surface sensitivity is obtained by limiting the heat diffusion effect of the subsurface so as to confine the signal. The signal confinement is achieved through non-linearity of the acoustic wave with probe, as well as benefits gained by a high modulation frequency of the infrared radiation source at >1 MHz.

指定代表圖：



【圖 2A】

符號簡單說明：

- 100:光源
- 102:光束
- 104:聚焦光學組件
- 106:樣本
- 107:探針尖端
- 108:懸臂
- 109:探針
- 110:致動器
- 112:外部控制器
- 114:解調器
- 116:雷射光束
- 117:垂直偏轉光束
- 118:檢測器
- 122:懸臂或探針調變訊號
- 124:光調變頻率
- 138:訊號輸出



I844787

【發明摘要】**【中文發明名稱】**

具有控制的探測深度的基於原子力顯微鏡的紅外線光譜的方法及設備

【英文發明名稱】

METHOD AND APPARATUS OF ATOMIC FORCE MICROSCOPE
BASED INFRARED SPECTROSCOPY WITH CONTROLLED
PROBING DEPTH

【中文】

一種使用掃描式探針顯微鏡獲得關於樣本的次微米區域的光譜資訊的方法，其具有定量控制的樣本表面的深度/體積。透過控制的探測深度/體積，該方法可以將頂部表面資料與表面下光學/化學資訊分開。該方法還可以應用於適合研究在其原生環境中的生物及化學樣本的液體，而不是空氣。在該方法中，透過用將一束紅外線輻射照射樣本並使用至少一個探針的共振頻率來測量探針響應，以構建表面層的深度受控光譜。表面靈敏度係為透過限制表面下的熱擴散效應以限制訊號來獲得的。訊號限制係為透過聲波與探針的非線性實現的，以及紅外線輻射源的高調變頻率為 >1 兆赫 (MHz) 所帶來的好處。

【 英文 】

A method for obtaining optical spectroscopic information about a sub-micron region of a sample with quantitatively controlled depth/volume of the sample subsurface using a scanning probe microscope. With controlled probing depth/volume, the method can separate top surface data from subsurface optical/chemical information. The method can also be applied in liquid suitable for studying biological and chemical samples in their native aqueous environments, as opposed to air. In the method, a depth-controlled spectrum of the surface layer is constructed by illuminating the sample with a beam of infrared radiation and measuring a probe response using at least one of the resonant frequencies of the probe. The surface sensitivity is obtained by limiting the heat diffusion effect of the subsurface so as to confine the signal. The signal confinement is achieved through non-linearity of the acoustic wave with probe, as well as benefits gained by a high modulation frequency of the infrared radiation source at >1 MHz.

【指定代表圖】圖 2A

【代表圖之符號簡單說明】

100:光源

102:光束

104:聚焦光學組件

106:樣本

107:探針尖端

108:懸臂

109:探針

110:致動器

112:外部控制器

114:解調器

116:雷射光束

117:垂直偏轉光束

118:檢測器

122:懸臂或探針調變訊號

124:光調變頻率

138:訊號輸出

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

具有控制的探測深度的基於原子力顯微鏡的紅外線光譜的方法及設備

【英文發明名稱】

METHOD AND APPARATUS OF ATOMIC FORCE MICROSCOPE
BASED INFRARED SPECTROSCOPY WITH CONTROLLED
PROBING DEPTH

【技術領域】

【0001】較佳實施例涉及奈米光學及光譜測量，更具體地，涉及使用 AFM-IR 來獲取指示化學成分分佈的資訊，較佳地在異質系統中。

【先前技術】

【0002】AFM-IR 係為一種具有解析度接近奈米級的用於測量及映射某些表面的光學特性/材料成分的有用的技術。圖 1 顯示了先前技術中 AFM-IR 的實現，作為接觸模式 AFM(圖 1A)或輕敲模式™(Tapping Mode™)AFM(圖 1B)。在圖 1A 中，AFM-IR 系統 10 包括具有尖端 21 的探針 20，尖端 21 與感興趣區域 17 處的樣本 16 相互作用。鄰近探針懸臂的虛線顯示探針 20 的接觸共振。在操作中，IR 源 11 將電磁能 12 的 IR 光束導向樣本/尖端相互作用區域，通常

透過聚焦光學組件 14。樣本會發生反應(由於 IR 吸收)，並且可以使用光學偏轉檢測配置檢測接觸共振中的對應變化。這種配置包括在探針懸臂的背面引導雷射光束 22，使得它反彈向檢測器 24(例如，象限光電二極體)。檢測到的偏轉被傳送至處理器/控制器 69 以確定接觸共振變化，從而提供一種或多種樣本特性的指示。圖 1B 是類似的。Tapping Mode™ AFM-IR 系統 39 包括具有尖端 44 的探針 43，該尖端 44 位於桿件 46 的遠端。探針 43 被驅動與使壓電元件 48 帶電的源 56 一起振盪。使用光學偏轉檢測設備檢測響應於指向樣本感興趣區域 42 處的尖端-樣本相互作用區域的電磁能 40 的振盪變化。特別地，來自雷射器 50 的雷射光束被導向探針桿的背面，偏轉光束 52 被導向檢測器 54，檢測器 54 與處理器/控制器 58 通訊以測量偏轉。這些 AFM-IR 先前技術系統被稱為下懸臂模式系統(第 1-3 模式)，可在小於 1 兆赫 (MHz) 下操作。

【0003】紅外線光譜與掃描式探針顯微鏡 (SPM) 相結合可執行一種光譜方法，其整合紅外線光源(例如可調諧自由電子雷射器)、光學參數振盪器或具有包含有尖銳的探針的原子力顯微鏡 (AFM) 的量子級聯雷射器，以測量樣本對紅外線光的局部吸收。這方面的常規技術通常基於接觸模式 AFM，並從光吸收期間樣本膨脹(或收縮)時發生的接觸共振振盪中提取吸收訊號。發展已將這些基於光熱 AFM 的技術的空間解析度從微米提高至 100 奈米 (nm)。最近，使用紅外線 (IR) 照明的基於輕敲模式的 AFM 技術已被

證明可產生低至 10 奈米 (nm) 的空間解析度。在這裡，潛在的機制被認為是 AFM 探針與樣本之間的光誘導成像力。

【0004】通常，監測被測樣本與電磁能之間的相互作用可產生關於樣本的資訊。在光譜學中，光透過樣本的透射或其從樣本的反射產生作為波長函數的透射或反射強度的樣本特徵圖。此光譜資訊允許使用者確定樣本的物理特性，例如化學成分或溫度。

【0005】值得注意的是，在奈米尺度上進行空間解析度的光譜測量正在不斷改進。然而，儘管空間解析度超過繞射極限的成像技術的發展不斷進展，但在分子水平上提供化學特異性及靈敏度的同步光譜實施仍然具有挑戰性。

【0006】SPM 正在促進此領域的改善。AFM 是一種裝置，其通常採用具有尖端的探針，並使尖端以適當的力與樣本表面相互作用，以表徵表面至原子尺寸的特性。一般來說，將探針插入樣本的表面以檢測樣本特性的變化。透過提供尖端與樣本之間的相對掃描運動，可以在樣本的特定區域上獲取表面特徵資料，並且可以產生樣本的對應圖。

【0007】AFM-IR 技術的各個方面在美國專利案 8,869,602、8,680,457、8,402,819、8,001,830、9,134,341、8,646,319、8,242,448 及由共同發明人並與本申請案共同擁有的美國專利申請案 13/135,956、15/348,848 及 62/418,886 中有所描述。這些申請案的全部內容皆納入參考。

【0008】在傳統的 AFM-IR 技術中，樣本備製可能是

一個挑戰。此技術仰賴於測量由 IR 照明的吸收產生的樣本膨脹，這會導致樣本被加熱。隨之而來的熱膨脹在 AFM 懸臂中產生運動，這是透過典型的 AFM 偏轉檢測技術測量的。訊號的強度取決於與樣本及懸臂相關的許多參數，例如懸臂的彈簧常數、樣本的熱膨脹係數及紅外線照明的穿透深度。對於具有厚吸收區域的樣本，AFM-IR 訊號可能很強，但由於樣本內的熱擴散導致非局部(由 AFM 尖端的尺寸定義)樣本膨脹，空間解析度會降低。透過在非吸收性或低熱膨脹性基板上將樣本備製為薄層，可實現最佳空間解析度。這種備製可使用多種不同的樣本備製技術來完成，例如滴鑄、旋塗、顯微解剖等。

【0009】然而，某些類型的樣本不允許使用這些備製技術，例如較厚的有機基板上的薄有機塗層或層。在這種類型的樣本中，IR 光可穿透薄頂層進入下面的基板。然後，IR 光將被基板吸收，這可能會產生進一步的膨脹，其總和是 IR 照明的整個穿透深度上的膨脹的捲積(convolution)。這會屏蔽來自頂層的訊號，使測量可能無用。

【0010】此外，如果頂層非常薄(小於幾百奈米)及/或具有與基板相似的化學成分，則這種樣本測量可能特別具有挑戰性。在那種情況下，合成訊號可能受較厚基板層的貢獻所支配，而較薄的頂層僅貢獻很小的調變。因此，需要一種 AFM-IR 解決方案，它可以區分不同厚度的層(例如，有機薄層及較厚的基板，例如厚聚合物層)之間的不

同成分。

【0011】 在美國專利申請案 US20190011358A1 中已公開了替代的表面敏感模式。雖然此技術可過跟蹤表面彈性來實現高表面靈敏度，但頂部表面層的探測深度不受控制且無法量化。表面靈敏度是透過測量由於樣本表面彈性變化引起的探針共振的位移來實現的。

【0012】 AFM 懸臂探針的共振頻率的變化僅由距離 AFM 探針的頂點幾奈米或幾十奈米內的樣本材料的短距離內的相互作用引起，使該技術表面敏感。

【0013】 為了獲取表面下 (subsurface) 資訊，[Tomoda 2003-應用物理學快報 (Applied Physics Letters) 82, 622 (2003)] 已開發出超聲波力顯微鏡來使用 AFM 探測表面下熱特性。然而，將此技術從測量熱性能擴展到測量光譜資訊是一個挑戰。

【0014】 在 Tomoda 中，研究人員使用了波長為 850 奈米 (nm) 的雷射光，其不在樣本的分子振動區域內。雷射光僅作為用於加熱樣本的熱源，而沒有獲得任何光譜資訊。此外，由於透過懸臂的直接頂部照明 (例如，在樣本上方)，該方法需要透明懸臂，其僅適用於近紅外線區域，而不適用於中紅外線區域。

【0015】 基於 AFM 的紅外線奈米光譜技術 (包括 AFM-IR、PTIR、PiFM、sSNOM、NSOM) 是可用的，但由於強光散射/吸收及探針的強機械阻尼，它們通常難以在液體中操作。[光：科學 & 應用 (Light: Science & Applications)]

(2017) 6, e17096][奈米通訊(Nano Lett.) 2020, 20, 6, 4497-4504]。

【0016】這些挑戰使得 AFM-IR 難以在其天然水性環境中而不是在空氣或其他氣體中研究生物及化學樣本。

【0017】水中的強光散射及吸收，特別是在中紅外線區域，會覆蓋來自樣本的訊號。

【0018】AFM 的響應隨著懸臂振盪的強機械阻尼而變弱。例如，基本懸臂機械共振的 Q 因子(Q-factor)可以從空氣中的 ~100 降低至僅有水中的 ~1。

【0019】雖然透過底部照明配置解決了其中一些技術挑戰，但底部照明所需的特殊樣本備製及轉移機制仍然是一個限制。

【發明內容】

【0020】為了解決上述這些缺點，在較佳實施例中開發了一種新的儀器及對應的方法。本文描述的系統和方法提供以控制的探測深度及體積對具有奈米等級厚度的樣本進行化學光譜分析。這些方法可用於從與表面下特性相關的資料中分離關於頂部表面層的資料，即使在非常厚的樣本上也具有表面靈敏度。此方法還可用於獲得埋在表面下的特徵的光學及化學資訊。

【0021】本申請案的較佳實施例的優點在於針對具有相對於距離表面的深度的材料不均勻分佈的薄表面塗層或薄膜、表面污染或複合材料的測量。

【0022】這種新方法應用於液體環境時，即使在頂部或以上照明模式下也能顯著降低液體的訊號貢獻，使其適用於天然水性環境中的生物樣本研究。當在接觸模式下進行樣本調變時，新方法顯著降低了對探針的阻尼效應。此外，可以減去由於液體IR吸收引起的背景，因為來自液體的貢獻產生的訊號的頻率與來自樣本的貢獻的頻率不同。

【0023】在較佳實施例的一個方面，一種使用掃描式探針顯微鏡以定量控制的探測深度及體積來獲得關於樣本的次微米(sub-micron)區域的光譜資訊的方法，其包括使掃描式探針顯微鏡的探針與樣本的一個區域相互作用。使用輻射束照射樣本，且調變探針或樣本於頻率 f_M 。此方法包括調變輻射束於頻率 f_L ，使得邊帶頻率 $f_D=|f_L-f_M|$ 等於探針的諧振頻率，包括諧波，然後測量由於吸收入射輻射而在邊帶頻率 f_D 的探針響應。分析探針的響應以構建指示樣本區域吸收光譜的訊號。較佳地，透過調節 f_L 及 f_M 中的至少一個來控制訊號的探測深度和探測體積中的至少一個。

定義

【0024】「光學特性」係指樣本的光學特性，包括但不限於折射率、吸收係數、反射率、透射率(transmissivity)、透光率(transmittance)、吸光率(absorbance)、吸收率(absorptivity)、折射率的實部及/或虛部、樣本介電函數的實部及/或虛部及/或從這些光學特性中的一個或多個在數學上可推導出的任何特性。

【0025】「掃描式探針顯微鏡(SPM)」係指一種顯微鏡，其中尖銳的探針與樣本表面相互作用，然後在測量樣本表面的一個或多個特性的同時掃描該表面。掃描式探針顯微鏡可以是原子力顯微鏡(AFM)，其可以包括具有尖銳尖端的懸臂探針。SPM通常包括測量探針尖端及/或探針尖端所附接的物體(例如，懸臂或音叉或MEMS裝置)的運動、位置及/或其他響應的能力。最常見的方法包括使用光學桿件系統，其中雷射光束從懸臂探針反射，以測量懸臂的偏轉。替代方案包括自感應技術，如壓阻式懸臂、音叉、電容式感應及其他技術。其他檢測系統可測量其他特性，例如力、力梯度、諧振頻率、溫度及/或其他與表面的相互作用或對表面相互作用的響應。

【0026】「探測深度及體積」係指對最終測量訊號有貢獻的測量區域，從頂部樣本表面在垂直方向上探測深度，以及封閉在尖端下方的3維體積作為探測體積。

【0027】「使探針與樣本相互作用」係指使探針尖端足夠靠近樣本的表面，從而發生一種或多種近場相互作用，例如尖端-樣本的吸引及/或排斥力，及/或產生及/或從靠近探針頂點的樣本區域散射的輻射的增幅。相互作用可以是接觸模式、間歇接觸/輕敲模式、非接觸模式、脈衝力模式、峰值力輕敲(PeakForce Tapping® (PFT))模式及/或任何橫向調變模式。相互作用可以是恆定的，或者是週期性的，如在一些實施例中。週期性相互作用可以是正弦或任何任意週期性波形。脈衝力模式及/或快速力曲線

技術也可用於週期性地使探針達到與樣本的期望相互作用的水平，隨後是保持期，然後是隨後的探針縮回。

【0028】「照射」係指將輻射導向物體，例如樣本表面、探針尖端及/或探針-樣本相互作用區域。照明可包括紅外線波長範圍內的輻射、可見光及從紫外線至太赫茲 (THz) 的其他波長。照明可包括輻射源、反射元件、波導元件(例如光纖)、聚焦元件及任何其他光束控制或調節元件的任何任意配置。

【0029】就本說明書而言，「紅外線光源」係指產生或發射紅外線波長範圍內的輻射的一種或多種光源。例如，它可以包含中-紅外線 (mid-IR)(2-25 微米 (μm)) 內的波長。紅外線光源可在這些波長子區域的大部分上產生輻射，或者具有作為波長範圍之一的子集的調諧範圍 (tuning range)，或可提供跨越多個離散波長範圍的發射，例如 2.5-4 微米 (μm)，或 5-13 微米 (μm)。輻射源可係為大量源中的一種，包括熱源或碳化矽發熱體 (Globar) 源、雷射驅動電漿源、超連續譜雷射源、頻率梳 (frequency combs)、差頻發生器、和頻發生器、諧波產生器、光參數振盪器 (OPOs)、光學參數產生器 (OPGs)、量子級聯雷射器 (QCLs)、奈米秒、皮秒 (picosecond)、飛秒 (femtosecond) 和阿秒 (attosecond) 雷射系統、 CO_2 雷射器、加熱懸臂探針或其他微型加熱器，及/或任何其他產生輻射束的源，無論是在脈衝或連續波操作。源可以是窄帶的，例如具有 $<10 \text{ cm}^{-1}$ 或 $<1 \text{ cm}^{-1}$ 或更小的光譜寬度，或可以是寬帶的，例如具有 $>10 \text{ cm}^{-1}$ 、 >100

cm^{-1} 或大於 500 cm^{-1} 的光譜寬度。

【0030】 「波長範圍為涵蓋紫外線-可見光-紅外線-太赫茲 (UV-Vis-IR-THz)的 200 奈米 (nm)至 300 微米 (μm)內的電磁波」係指波長範圍為 200 奈米 (nm)至 300 微米 (μm)的電磁波。紫外線 (UV)或紫外線 (ultraviolet)：200-380 nm；可見光 (vis)或可見光 (visible)波長：380 奈米 (nm)-700 奈米 (nm)；紅外線 (IR)包括近紅外線 (near-IR)及中紅外線 (mid-IR)，其中 near-IR：700 奈米 (nm)-2 微米 (μm)，mid-IR：2-25 微米 (μm)；太赫茲 (THz)：25 微米 (μm)-300 微米 (μm)。

【0031】 「訊號指示」係指在數學上與感興趣的特性相關的訊號。訊號可以是類比訊號、數位訊號及/或儲存在電腦或其他數位電子設備中的一個或多個數字。訊號可以是電壓、電流或可以容易地轉換及記錄的任何其他訊號。訊號可以在數學上與被測量的特性相同，例如明確的絕對相位訊號或吸收係數。它也可以是在數學上與一個或多個感興趣的特性相關的訊號，例如包括線性或其他縮放、偏移、反轉或甚至複雜的數學運算。

【0032】 「光譜」係指作為波長的函數或等效地(並且更常見地)作為波數的函數的樣本的一種或多種特性的測量。

【0033】 「紅外線吸收光譜」係指與紅外線吸收係數、吸光率或樣本的紅外線吸收特性的類似指示的波長相關性成比例的光譜。紅外線吸收光譜的一個例子是傅立葉轉換紅外線光譜儀 (Fourier Transform Infrared spectrometer,

FTIR)產生的吸收測量值，即FTIR吸收光譜。(請注意，紅外線吸收光譜也可以很容易地從透射光譜中推導出來)。

【 0034 】 「調變(Modulating)」或「調變(modulation)」在提及入射於樣本上的輻射時係指周期性地改變某個位置的紅外線雷射強度。透過光束的機械截波、控制的雷射脈衝及/或偏轉雷射光束來實現光束強度的調變，例如透過以壓電致動器或其他使鏡面傾斜或變形的手段或高速旋轉鏡面裝置靜電地、電磁地驅動的傾斜鏡。調變也可以藉由提供時變傳輸的裝置來完成，如聲光調變器、電光調變器、光彈性調變器、普克爾斯盒(Pockels cells)等。調變也可以透過繞射效應完成，例如透過基於MEMS的繞射調變器，或透過高速快門、衰減器或其他改變入射在樣本上的雷射強度的強度、角度及/或相位的機制。

【 0035 】 「解調(Demodulate)」或「解調(demodulation)」係指從整體訊號中提取資訊承載訊號，通常但不一定在特定頻率。例如，於此應用中，在光檢測器處收集的探測光代表整體訊號。解調過程挑選出由樣本吸收的紅外線光所干擾的部分。解調可以透過鎖相放大器、快速傅立葉變換(FFT)、於所需頻率的離散傅立葉分量的計算、諧振放大器、窄頻帶帶通濾波器或任何其他在很大程度上增強訊號的技術來完成，同時抑制與調變不同步的背景及噪音訊號。

【 0036 】 「解調器」係指執行解調的設備或系統。

【 0037 】 「分析器/控制器」係指促使系統的資料採

集及控制的系統。控制器可係為單個積體電子外殼或可係為包括多個分佈式元件。多個控制元件可以提供對探針尖端及/或樣本的定位及/或掃描的控制。其還可以收集有關探針偏轉、運動或其他響應的資料，提供對輻射源功率、極化、轉向、聚焦及/或其他功能的控制。這些控制元件等可包括電腦程式方法或數位邏輯方法，並且可以使用各種計算裝置(電腦、個人電子裝置)、類比及/或數位離散電路組件(電晶體、電阻器、電容器、電感器、二極體等)、可程式化邏輯、微處理器、微控制器、特殊應用積體電路或其他電路元件來實施。用來儲存從記憶體執行的電腦程式的記憶體元件可與離散電路組件一起實施以執行本文所述的過程中的一者或一者以上。

【0038】 「鎖相放大器」係為「解調器」(如上定義)的一個示例，並且是一種裝置、系統及/或演算法，用於解調系統的響應於多個參考頻率之一。鎖相放大器可包括類比電子裝置、數位電子裝置以及兩者的組合的電子組件。它們也可能是在微處理器、場式可程式閘陣列(FPGA)、數位訊號處理器及個人電腦等數位電子裝置上實現的計算演算法。鎖相放大器可以產生指示振盪系統的各種度量的訊號，包括振幅、相位、同相(X)及正交(Y)分量或以上的任何組合。在此上下文中，鎖相放大器還可以於參考頻率、參考頻率的高次諧波及/或參考頻率的邊帶頻率兩者產生這樣的測量。

【0039】 「光學響應」係指輻射與樣本相互作用的結

果。光學響應與上文定義的一種或多種光學特性有關。光學響應可以是輻射的吸收、溫度升高、熱膨脹、光誘導力、光的反射及/或散射、相變或由於與輻射的相互作用而引起的材料的其他響應。

【0040】「邊帶頻率」係指作為兩個激發頻率的線性和或差的頻率。例如，如果系統被激發於頻率 f_L 及 f_M ，邊帶頻率可以是任何頻率 f_D ，使得 f_D 滿足 $f_D = |m \times f_L + n \times f_M|$ 的關係，其中 m 和 n 是正整數或負整數。

【圖式簡單說明】

【0041】下面結合所附圖式詳細描述本文所提供的實施例的態樣及優點。

【0042】在所個所附圖式中，可以再次使用參考符號來表示參考元件之間的對應關係。提供所附圖式以顯示本文描述的示例實施例，並非用以在限制本揭露書的範圍。

【0043】[圖 1A 及 1B]顯示根據先前技術的 AFM-IR 系統的簡化示意圖；

【0044】[圖 2A 及 2B]係根據較佳實施例的探測深度敏感 AFM-IR 系統 (2A) 的簡化示意圖，圖 2B 顯示進行樣本測量的操作中的系統；

【0045】[圖 3]顯示根據另一實施例的深度敏感 AFM-IR 系統的替代實施，具有不使用壓電組件的探針調變的替代方法；

【0046】[圖 4]顯示深度敏感 AFM-IR 系統的另一種替

代實施，在這種情況下使用樣本調變；

【0047】[圖 5]係根據說明性實施例的 AFM-IR 的方法的流程圖；

【0048】[圖 6A-6C]顯示使用先前技術傳統 AFM-IR 技術從頂部表面及表面下混合光譜的測量資料，其中 IR 訊號繪製為波數的函數；

【0049】[圖 7A-7C]顯示表面敏感測量資料，其中使用較佳實施例去除了來自表面下的貢獻，其中 IR 訊號繪製為波數的函數；

【0050】[圖 8A 及 8B]顯示當使用較佳實施例時，頂部表面與表面下光譜特徵於不同雷射調變頻率 f_L 的不同比率，得到的合成圖像(圖 8A)及作為波數的函數繪製的 IR 訊號(圖 8B)；

【0051】[圖 9]顯示在雷射調變頻率 f_L 下於楔形樣本上收集的探測深度相關性；

【0052】[圖 10A-10C]描繪根據較佳實施例的 AFM-IR 的操作原理，其中探測深度使用調變頻率 f_L 進行控制，包括探針樣本的 IR 激發及合成聲波傳播(圖 10A 及 10B)，以及於不同調變頻率的輸出訊號與深度的函數關係圖(圖 10C)；

【0053】[圖 11A-11C]顯示改良的橫向空間解析度(圖 11A(接觸諧振模式)及圖 11B(壓電混合模式)中的資料圖像)，使用較佳實施例的深度控制技術；

【0054】[圖 12]係較佳實施例的 AFM-IR 系統的示意

圖，適用於液體中測量；以及

【0055】[圖 13]係較佳實施例的 AFM-IR 系統的示意圖，適用於液體中測量，使用自下而上的 IR 照明。

【實施方式】

【0056】圖 2 示出了當前 AFM-IR 發明的實施例的簡化示意圖。光束 102 從光源 100 向聚焦光學組件 104 發射，聚焦光學組件 104 將光束聚焦在掃描式探針顯微鏡的探針 109 的懸臂 108 的探針尖端 107 附近的樣本 106 上。將光束調變於由外部控制器 112 設定的頻率 f_L 。光源 100 可以是可見光、紅外線或太赫茲光源。在一實施例中，探針尖端 107 以接觸模式接合在樣本 106 上。由控制器 112 提供頻率為 f_M 的調變給致動器 110，例如連接至懸臂 108 的雙壓電晶片 (bimorph piezo)。經由使用引導雷射光束 116 朝向探針的光束反彈技術之位置敏感光檢測器 118 上的懸臂響應 (例如，偏轉) 檢測樣本 106 對調變後光束 102 及壓電調變的響應。由解調器 114 分析來自檢測器 118 的訊號輸出 138，解調器 114 可為鎖相放大器。解調器 114 於光調變頻率 f_L 124 及具有頻率 f_M 的懸臂調變訊號 122 的組合頻率 f_D 進行解調 (即， $|m \times f_L + n \times f_M|$ ，其中 m 和 n 為正整數或負整數)。

【0057】圖 2B 顯示類似於圖 2A 中所示的掃描式探針及樣本區域的放大圖。調變於頻率 f_L 的入射光束 140 入射於接合至樣本 142 上的 SPM 探針尖端 144 的附近。同時，於頻率 f_M 的外部調變源 156 透過致動器 148 激發懸臂 146，例

如透過壓電致動或者光熱或磁激發。樣本 142 對光束 140 的吸收引起局部熱膨脹並產生熱聲波。對於異質材料，局部吸收及熱聲波源取決於位置且在三(3)個維度上變化。由於熱聲波是由入射光產生的，重要的是這允許透過改變調變頻率 f_L 來控制熱聲波傳播長度，從而控制測量區域。調變頻率 f_L 較佳大於 0.5 兆赫 (MHz)，更較佳大於 1 兆赫 (MHz) (甚至大於 2 兆赫 (MHz))。

【0058】熱聲波的傳播長度由以下方程式描述 [Nowaki 1986]：

$$\text{方程式1} \quad L = \sqrt{\frac{\sigma}{\rho C \pi f}}$$

其中， σ 是導熱率， ρ 是密度， C 是熱容量， f 是熱波的調變頻率。

【0059】熱波傳播長度對於調變頻率 f 具有 $1/\sqrt{f}$ 相依性，因此增加了雷射調變頻率 f_L ，從而減少了傳播長度，這將熱擴散定位在表面附近並限制了該區域的 IR 吸收光譜。相反地，降低調變頻率 f_L 會導致更大的熱擴散長度，因此，可以在更深的可控位置產生關於樣本紅外線吸收的有用的理解。可以透過改變頻率 f_L 及 f_M 來產生作為樣本厚度函數的化學物種圖。控制重複率 f_L 可控制 AFM-IR 測量的穿透深度以及橫向擴散。正如在光熱光譜中，與較低頻率調變相比，較高頻率的 IR 調變減少了熱波擴散長度，從而使橫向解析度更好 (參見圖 12) 且表面靈敏度更高 (參見圖 9)。深度靈敏度還取決於樣本的性質，因為熱擴散長度

隨材料密度、熱容量及導熱率而變化。如方程式 1 所示。例如，具有更高導熱率的樣本會產生更深的探測深度。對於具有明確定義的熱特性的材料，透過改變調變頻率，距離樣本的頂部表面的探測深度可以從大於 15 奈米 (nm) (>15 nm) 變化至小於 50 奈米 (nm) (<50 nm)，如圖 9 所示。

【0060】使用引導雷射光束 150 朝向探針的光束反彈技術所獲取之偏轉光束 152 的合成調變由光檢測器 154 上的懸臂垂直偏轉訊號測量。當考慮二階彈性模數時，由於探針-樣本相互作用的非線性特性，於混合或拍頻 $f_D = f_L - f_M$ 或更一般地 $f_D = |m \times f_L + n \times f_M|$ 會產生探針的非線性響應，其中 m 和 n 為正整數或負整數 (壓電混合模式)。

【0061】非線性耦合還取決於探針與樣本之間相互作用力的大小。增加相互作用力會增加於 f_D 的訊號。儘管非線性耦合因子不是空間相關的，但改變該因子可以選擇地濾除雜訊基底之上或之下的訊號。

【0062】透過解調偏轉訊號 152 於頻率 f_D ，可構建與樣本 142 的頂部表面的光吸收特性成正比的訊號。

【0063】儘管使用 AFM 懸臂探針來描述上述實施例，但上述表面敏感技術也可以應用於其他形式的掃描式探針，例如，音叉探針，或帶有尖銳探針的 MEMS 器件，只要尖端與樣本之間的相互作用，可能會導致裝置的一個或多個共振發生偏移。

【0064】返回參考圖 2A，在一個實施例中，光源 100 調變於至少一個頻率 f_L ，以在光吸收時產生樣本 106 的周

期性局部熱膨脹。如上所述，由於探針尖端 107 下方的樣本的局部熱膨脹施加於懸臂 108 上的法向力 (normal force)，導致垂直偏轉光束 117 的調變。同時，額外調變 (壓電、光熱或磁) 源於 f_M 激發懸臂 108，由於尖端-樣本相互作用區域中的非線性混頻而導致拍頻的組合。

【0065】在一個實施例中，光源 (例如，圖 2A 中的 100) 及外部調變源 156 可以分開並獨立控制，即操作可以是非同步的。

【0066】在一個實施例中，由於懸臂振動的正常模式與扭轉模式之間的耦合，局部熱膨脹力可以引起水平偏轉的變化。於 f_L 的合成水平偏轉訊號然後可與於 f_M 的外部調變源 156 進行非線性混頻。

【0067】在一個實施例中，可將 f_M 選擇為或接近樣本的接觸共振頻率之一。與類似驅動強度的非共振激發相比，於 f_M 的有效振幅由於共振會高得多，從而導致更好的靈敏度。共振靈敏度通常可以是非共振靈敏度的 50 倍以上。

【0068】在一個實施例中，檢測器 118 產生的訊號被發送至解調器 114，該解調器於接近上述拍頻 f_D 的頻率進行解調，使得 $f_D = |m \times f_L + n \times f_M|$ ，其中 m 和 n 為正整數或負整數。由於非線性混頻隨著 SPM 尖端與樣本表面之間的相對距離而迅速衰減，因此觀察到的解調訊號主要反映了樣本表面的光吸收。

【0069】在一個實施例中， f_L 被設定為 1.5 兆赫 (MHz)

或更高，以減少樣本內的熱擴散長度。對於各向同性 (isotropic) 介質，熱擴散長度 (L) 可表示為方程式 1。隨著 f_L 值的升高， L 值變得更小，從而導致更高的橫向解析度以及更好的表面靈敏度。例如，在圖 12 中，橫向解析度顯示，與於 200 千赫 (kHz) 的測量相比，於 1.5 兆赫 (MHz) 的解析度提高了兩 (2) 倍。

【0070】 返回參考圖 2A，光源 100 可以是如「光源」的定義中所述的多種可見光、IR 或太赫茲光源中的任一種。在一個實施例中，光源是脈衝紅外線雷射器，例如窄帶可調雷射器。在一個實施例中，IR 光源是脈衝量子級聯雷射器 (QCL)。或者，它可以是具有整合或外部調變器的 CW 紅外線雷射器。聚焦光學組件 104 可以是單個光學元件，例如透鏡或拋物面鏡，或者可以是包括任意數量的透鏡及 / 或反射鏡、繞射組件等的光學組件的系統，以將聚焦光束傳送至在 SPM 探針尖端 107 附近的樣本 106。

【0071】 圖 3 顯示另一種懸臂 108 調變方案，其中懸臂可以由光熱或磁激發源 119 調變，其中光熱或磁激發源 119 是由懸臂或探針調變訊號 122 所驅動。在光熱懸臂激發中，額外光源 (UV、VIS 或 nIR) 聚焦在懸臂 108 的底部，導致熱激發於懸臂的特徵共振頻率。當調變光束的強度於接近懸臂共振之一的頻率 (f_M) 時，可有效地驅動而不受其他機械共振的干擾。

【0072】 在一個實施例中，透過仔細選擇 f_L 、 f_M 、 m 及 n ，將 f_D 設定為或接近樣本的接觸共振頻率之一。在接

觸諧振時，解調訊號的振幅最大，與非諧振狀態相比具有更好的靈敏度。

【0073】圖 4 顯示了另一種替代調變方案，其涉及將額外壓電掃描器 111 連接至樣本 106。替代調變方案透過掃描器 111 的操作在垂直方向移動樣本於 f_M ，而非調變探針 f_M 。這種實施提供了在探針調變的情況下消除了 f_M 接近探針共振頻率的限制的優點。在一個實施例中，可以透過一般聲波調變器來應用樣本調變，而非壓電元件。

【0074】圖 5 顯示說明性方法 200 的流程圖。在步驟 202 中，將光源調諧至所需波長。一般來說，波數與樣本的化學共振相匹配。 800 cm^{-1} - 4000 cm^{-1} 的實際波長範圍受到當前可用雷射器的限制。在步驟 204 中，脈衝該光源於頻率 f_L 。請注意，其可透過內部脈衝控制器或外部截波器來實現。在步驟 206 中，在樣本位置接合 SPM 探針。請注意，其可透過移動尖端或樣本或兩者的組合來實現。在步驟 208 中，調變 SPM 探針尖端於頻率 f_M 。然後在步驟 210 中，使用光來照射 SPM 探針尖端附近的樣本區域。在步驟 212 中，由位置敏感光檢測器檢測探針振盪訊號，然後解調檢測到的訊號，以構建頻率為 $|m \times f_L + n \times f_M|$ 的訊號。其中 m 和 n 為負或正整數(步驟 214)。可以在樣本上的任意數量的不同位置(步驟 216)及/或波長(步驟 218)重複測量。也可以在不同頻率 f_L 重複測量(步驟 220，返回步驟 204)，以實現在不同探測深度的測量。

【0075】圖 6 顯示先前技術測量的表面下污染問題的

示例。被測樣本是一層厚約 300 奈米 (nm) 的聚合物混合物的薄膜，其由嵌入環氧樹脂中的 PMMA 組成。聚合物組成物的空間分佈顯示在 AFM 高度圖 (圖 6A) 及接觸模式 AFM-IR 位於 1732 cm^{-1} 的圖像 (圖 6B) 中。圖 6B 中明亮的球形區域是 PMMA，因為 PMMA 在 1732 cm^{-1} 處的吸收產生比周圍環氧樹脂更高的訊號。AFM-IR 光譜 (圖 6C) 係在位置 1、2 及 3 處獲得，其中位置 1 在 PMMA 上，位置 3 在環氧樹脂上。位置 1 處的光譜對應於 PMMA IR 吸收光譜，位置 3 處的光譜對應於環氧樹脂 IR 吸收光譜。對於位置 2，頂層是環氧樹脂，但 PMMA 嵌入在下面，由於來自頂層環氧樹脂 (位於 1510 cm^{-1} 和 1602 cm^{-1} 的峰值) 和表面下 PMMA (位於 1732 cm^{-1} 的峰值) 的貢獻，在位置 2 上收集的合成光譜是光譜 1 及光譜 3 的疊加。

【0076】相比之下，圖 7A-7C 顯示了用本調變系統 / 方法獲得的相同樣本的圖像 (7A 和 7B) 和光譜 (7C)。現在對於位置 2 的光譜，PMMA 吸收的 1732 cm^{-1} 峰值不存在。相反，它幾乎完全匹配雜訊基底內的位置 3 的環氧樹脂光譜。這表明 PMMA 吸收的表面下貢獻從訊號中移除，僅來自頂層的貢獻。

【0077】為了進一步探索具有雷射調變頻率 f_L 的深度控制靈敏度，圖 8B 顯示了在特定位置於不同頻率 f_L 獲取的三 (3) 個光譜。當 f_L 從 325 千赫 (kHz) 增加至 1701 千赫 (kHz)，由於 PMMA 吸收導致位於 1732 cm^{-1} 處的訊號變弱，表示靠近頂部表面的探測深度更小、更受限 (如圖 8A

所示的圖像)。

【0078】圖9顯示了作為調變頻率 f_L 函數的控制的深度靈敏度。此探測深度與頻率校準的關係是在已知厚度的楔形PMMA樣本上測量的。點是實驗結果，虛線是以方程式1預測的 $1/\sqrt{f_L}$ 擬合(fitting)。請注意，即使方程式1中的公式是針對平面加熱波導出的，然而對於一般幾何形狀，傳播長度的頻率相依性保持為 $1/\sqrt{f}$ ，但具有不同的係數。對於真實的實驗幾何形狀，雷射產生的熱源幾何形狀預計類似於球形。方程式1中的方程式可以作為粗略估計來估計探測深度。例如，對於頻率為1.4兆赫(MHz)的PMMA，根據方程式1，熱波傳播長度 L 等於165奈米(nm)。

【0079】實驗資料顯示，對於PMMA樣本，可以在頻率 $f_L=2$ 兆赫(MHz)下實現 <30 奈米(nm)深的頂部表面限制。

【0080】圖10A-C顯示了新調變方法的原理。圖10A顯示了探針與樣本相互作用的示意圖，其中激發源「S」指向感興趣樣本位置/區域。通常，IR輻射量受比爾-朗伯定律(Beer-Lambert's law)控制，其中樣本吸收與厚度成線性比例，如圖10A所示。樣本吸收脈衝紅外線輻射後，產生的光熱聲波根據斯托克定律(Stoke's law)透過樣本傳播，如圖10B所示，

$$\text{方程式2a} \quad A(d) = \alpha \cdot d \quad (\text{比爾-朗伯定律})$$

$$\text{方程式2b} \quad B(d) = B_0 e^{-\beta d} \quad (\text{斯托克定律})$$

$$\beta = \frac{2\eta\omega^2}{3\rho V^3}$$

此處 α 係指吸收係數， d 係指探測距離或樣本厚度， $A(d)$ 係指探測距離 d 處的樣本吸光率； $B(d)$ 係指距離 d 處的聲音訊號強度， B_0 係指樣本表面處 ($d=0$) 的聲音訊號強度， β 係指複合參數，其由以下各項組成： η ：樣本黏度， ω ：調變頻率， ρ ：密度及 V ：聲波在介質中的速度。訊號強度隨厚度的變化基於方程式 2a 建模，顯示於圖 10C 中的跡線 (a)。類似地，斯托克定律模型 (方程式 2b) 表示為具有不同調變頻率 ($\omega_b < \omega_{b'}$) 的跡線 (b) 及 (b')。當尖端與樣本相互作用時，上述非線性尖端-樣本相互作用力也隨著距離頂部表面的距離 (d) 而變化。假設非線性耦合係數 (γ) 與厚度呈指數關係，則總訊號可以表示為，

$$\text{方程式3} \quad \text{訊號} \sim \alpha \cdot d \cdot e^{-(\beta+\gamma) \cdot d}$$

基於此模型，當我們增加調變頻率時，探測深度會減小，反之亦然，如圖 10C 中的實線 (c) 及 (c') ($\omega_c < \omega_{c'}$) 所示。

【0081】探測體積的限制不僅在垂直方向隨頻率變化，且在橫向方向上也變化。將圖 6C 與圖 7C 進行比較可以看出這一點，圖 7C 顯示了圍繞 PMMA 邊界的更清晰的解析度。圖 11 顯示了從圖 6C 及圖 7C 獲得的穿過 PMMA 及環氧樹脂邊界的線輪廓。實際上，使用新調變的圖 7C 中的實線比使用傳統接觸共振模式 AFM-IR 的圖 6C 中的虛線具有更高的解析度 (圖 11B) (圖 11A 中位於 1732 cm^{-1} 的圖像)。

【0082】圖 12 及圖 13 顯示了本文所述的用於液體中測

量的基本技術的實現。

【0083】 這些圖式表示使用壓電掃描器 158(可以使用開關源 156 調變樣本或探針)的用於液體中測量的兩種不同照明配置。在第一種情況下(圖 12-對應於圖 2B 的參考數字), IR 光束 140 來自頂部並在到達樣本 142 之前通過水彎液面 160 傳播。在第二種情況下(圖 13), 使用中紅外線範圍內透明的稜鏡 162 以全反射方式(如 ATR)完成照明, 且以掃描器 158 與其耦合。最後一種配置更具限制性, 因為樣本必須沉積在稜鏡表面的頂部。在這種情況下, 必須考慮稜鏡的材料及尺寸, 因為稜鏡有時與樣本備製不相容。對於圖 12 中的配置, 樣本可以安裝在在 IR 範圍內不透明的基板上, 因為光不必穿過這裡。

【0084】 進行壓電混合測量(壓電混合模式)的操作與在空氣中相同。光 140 引起光熱-聲波於雷射的重複頻率, 且壓電元件 158 調變樣本表面 142。由於環境是液體, 光熱效應會從尖端周圍的水感應出聲波(當波長對應於其吸收帶時), 無論是哪種配置(圖 12 及 13)。聲波將在整個液體體積中傳播並擊中懸臂 146。聲波的頻率與雷射器的重複率直接相關。與壓電混合技術一樣, 我們將雷射器及壓電元件的頻率調整為遠離懸臂的接觸共振, 因此懸臂不會檢測到來自水的聲波。同樣的想法是, 壓電調變將產生一個於壓電調變頻率在整個體積中傳播的水聲波。同樣, 該頻率將不同於懸臂的共振頻率。

【0085】 如同在空氣環境中, 當考慮樣本的二階彈性

模數(modulus)時，考慮探針-樣本相互作用的非線性性質，在混合頻率 $f_D=f_L-f_M$ 或更一般地 $f_D=|m\times f_L+n\times f_M|$ 下會產生探針的非線性響應，其中 m 和 n 為正整數或負整數。在這種情況下，只有當材料給出對應的非線性彈性響應時才會存在非線性相互作用，這對於固體材料是正確的，但對於液體不是。相比之下，水的二階彈性模數可以忽略不計(甚至為零)。在這些條件下，非線性響應將僅來自樣本，而不是來自AFM尖端周圍的水環境。非線性相互作用就像一個過濾器，從樣本所在的液體環境中去除吸水作用。

【0086】請注意，如果樣本內部含有水(如細胞樣本)，樣本內部的吸水仍會引起光熱效應，這將有助於樣本的最終熱膨脹。

【0087】壓電混合(壓電混合模式)是一種很好的技術，可以去除IR範圍內的吸水貢獻，在IR中以奈米級解析度打開細胞生物學實驗。

【0088】校準程序可以應用於樣本，以估計AFM-IR的奈米級深度穿透。例如，透過對具有特定機械及熱特性的已知樣本進行測量，可以透過樣本高度校準來量化不同頻率下的探測深度。透過將資訊應用於具有機械特性及熱特性但未知光學特性的先前知識的新樣本，可以在新的未知樣本上校準探測深度。

【0089】對於使用 f_M 激發探針的探針調變，具有僅大約五(5)個接近探針懸臂共振頻率的離散頻率是可使用的限制。然而，透過樣本以 f_M 調變應用，可以使用連續頻率

重複率，其不限於探針共振頻率。這使得可以於任何任意頻率 f_L 進行測量。於連續調諧 f_L 獲得測量結果，可以在不同頻率執行 IR 映射。使用合適的數學程式，可以取得作為深度函數的吸收圖像。

【0090】當考慮二階彈性模數時，由於探針-樣本相互作用的非線性特性，於混合或拍頻 $f_D = f_L - f_M$ 或更一般地 $f_D = |m \times f_L + n \times f_M|$ 會產生探針的非線性響應，其中 m 和 n 為正整數或負整數(壓電混合模式)。

【0091】非線性探針-樣本相互作用可以透過樣本膨脹及探針振動來調變。探針-樣本相互作用的耦合係數也可以透過探針對樣本施加的應力來控制。

【0092】增加探針施加於樣本的應力會增加 f_D 的訊號。

【0093】儘管上文公開了發明人設想的實施本發明的某些實施例，但本發明的實踐不限於此。很明顯，在不悖離基本發明構思的精神及範圍的情況下，可以對本發明的特徵進行各種添加、修改及重新佈置。

【符號說明】

【0094】

10: AFM-IR 系統

11: IR 源

12: 電磁能

14: 聚焦光學組件

- 16:樣本
- 17:感興趣區域
- 20:探針
- 21:尖端
- 22:雷射光束
- 24:檢測器
- 69:處理器/控制器
- 39:輕敲模式™AFM-IR系統
- 40:電磁能
- 42:區域
- 43:探針
- 44:尖端
- 46:桿件
- 48:壓電元件
- 50:雷射器
- 52:偏轉光束
- 54:檢測器
- 56:源
- 58:處理器/控制器
- 100:光源
- 102:光束
- 104:聚焦光學組件
- 106:樣本
- 107:探針尖端

- 108:懸臂
- 109:探針
- 111:額外壓電掃描器
- 110:致動器
- 112:外部控制器
- 114:解調器
- 116:雷射光束
- 117:垂直偏轉光束
- 118:檢測器
- 119:光熱或磁激發源
- 122:懸臂或探針調變訊號
- 124:光調變頻率
- 138:訊號輸出
- 140:入射光束
- 142:樣本
- 144:SPM探針尖端
- 146:懸臂
- 148:致動器
- 150:雷射光束
- 152:偏轉光束
- 154:光檢測器
- 156:外部調變源
- 158:壓電掃描器
- 160:水彎液面

162: 稜鏡

200~220: 方法步驟

【發明申請專利範圍】

【請求項 1】一種使用掃描式探針顯微鏡以定量控制的探測深度及體積來獲得關於樣本的次微米區域的光譜資訊的方法，該方法包括以下步驟：

使該掃描式探針顯微鏡的探針與該樣本的一區域相互作用；

以輻射束照射該樣本；

調變該探針或該樣本於頻率 f_M ；

調變該輻射束於頻率 f_L ，使得邊帶頻率 $f_D = |f_L - f_M|$ 等於該探針的共振頻率；

測量由於入射輻射的吸收而於該邊帶頻率 f_D 的探針響應；

分析該探針的響應以構建指示該樣本區域的該吸收光譜的訊號；

透過調整 f_L 及 f_M 中的至少一個來控制距離該樣本的頂部表面的探測深度及該訊號的探測體積中的至少一個；以及

其中，該調變頻率 f_M 獨立於該探針的任何探針共振頻率而施加於該樣本。

【請求項 2】如請求項 1 所述的方法，還包括調整以下中的至少一個：a) 該輻射束調變頻率 f_L ，同時對應地調整 f_M ，以將 f_D 維持於探針共振頻率，及 b) 該探針與該樣本之間的相互作用力。

【請求項 3】如請求項 2 所述的方法，其中，透過改變

於頻率 f_M 的調變的振幅來調整該相互作用力。

【請求項 4】如請求項 2 所述的方法，其中，透過控制施加於該探針或該樣本的靜力或應力來調整該相互作用力。

【請求項 5】如請求項 2 所述的方法，其中，該掃描式探針顯微鏡以接觸、間歇接觸、輕敲或非接觸模式中的至少一種方式操作。

【請求項 6】如請求項 1 所述的方法，其中，將該調變頻率 f_M 施加於該探針且等於該探針的接觸或自由空氣共振，以增加該訊號。

【請求項 7】如請求項 1 所述的方法，其中，該邊帶頻率 $f_D = |m \times f_L + n \times f_M|$ ，其中， m 和 n 為正整數或負整數。

【請求項 8】如請求項 1 所述的方法，其中，該輻射束調變頻率 f_L 大於 0.5 兆赫 (MHz)。

【請求項 9】如請求項 1 所述的方法，其中，該輻射束調變頻率 f_L 大於 1 兆赫 (MHz)。

【請求項 10】如請求項 1 所述的方法，其中，該輻射束調變頻率 f_L 大於 2 兆赫 (MHz)。

【請求項 11】如請求項 1 所述的方法，其中，距離該樣本的該頂部表面的該探測深度小於 100 奈米 (nm)。

【請求項 12】如請求項 1 所述的方法，其中，距離該樣本的該頂部表面的該探測深度小於 50 奈米 (nm)。

【請求項 13】如請求項 1 所述的方法，其中，距離該樣本的該頂部表面的該探測深度小於 30 奈米 (nm)。

【請求項 14】如請求項 1 所述的方法，其中，該輻射束是波長範圍為涵蓋紫外線-可見光-紅外線-太赫茲 (UV-Vis-IR-THz) 之間約 200 奈米 (nm) 至 300 微米 (μm) 的電磁波。

【請求項 15】如請求項 1 所述的方法，其中，在多個頻率下測量指示該吸收光譜的該訊號，以校準該探測深度。

【請求項 16】如請求項 15 所述的方法，其中，在多個頻率下的測量用於將該樣本的頂部表面層性質與表面下性質分開。

【請求項 17】如請求項 15 所述的方法，其中，在多個頻率下的測量用於測量該樣本的嵌入式表面下特性。

【請求項 18】如請求項 2 所述的方法，其中，該樣本及該探針在液體環境中係為一體。

【請求項 19】如請求項 18 所述的方法，其中，該液體環境對該訊號的貢獻被抑制，以作為該調整步驟的結果。

【請求項 20】一種使用掃描式探針顯微鏡獲得關於液體環境中樣本的次微米區域的光譜資訊的方法，該方法包括以下步驟：

使該掃描式探針顯微鏡的探針與該樣本的一區域相互作用；

以輻射束照射該樣本；

調變該探針或該樣本於頻率 f_M ；

調變該輻射束於頻率 f_L ，使得邊帶頻率 $f_D = |f_L - f_M|$ 等於該探針的共振頻率；

測量由於入射輻射的吸收而於該邊帶頻率 f_D 的探針響應；

透過調整 f_L 及 f_M 中的至少一個來控制距離該樣本表面的探測深度及該訊號的探測體積中的至少一個；以及

構建指示該樣本的光學特性的訊號，其中，該液體環境對該訊號的貢獻被抑制。

【請求項 21】 如請求項 20 所述的方法，還包括調整以下中的至少一個：a) 該輻射束調變頻率 f_L ，同時對應地調整 f_M ，以將 f_D 維持在探針共振頻率，及 b) 該探針與該樣本之間的相互作用力。

【請求項 22】 如請求項 20 所述的方法，其中，該輻射束來自該樣本的上方或下方。

【請求項 23】 如請求項 20 所述的方法，其中，該輻射束在沒有稜鏡的條件下來自該樣本上方。

【請求項 24】 如請求項 20 所述的方法，其中，該樣本及該探針完全浸入液體中，無需特殊的液體池。

【請求項 25】 一種用於以定量控制的探測深度及體積獲得關於樣本的次微米區域的光譜資訊的設備，包括：

具有探針的掃描式探針顯微鏡；

輻射源；

輻射源調變器；

探針響應檢測器，且

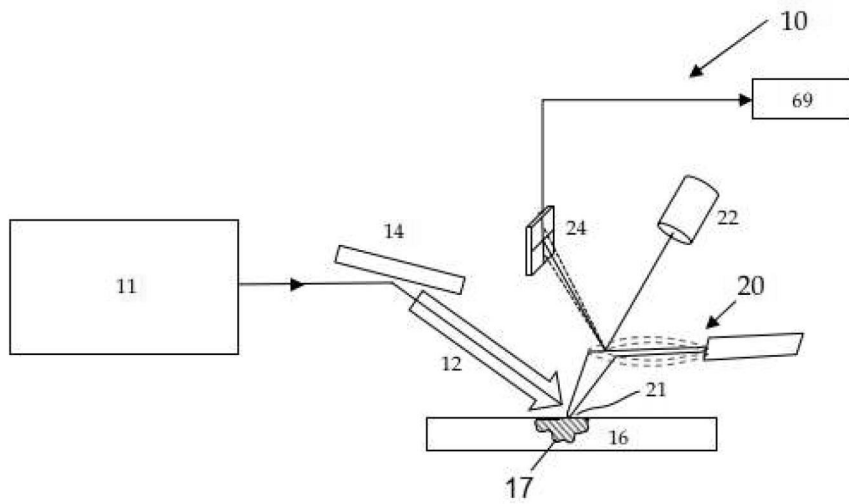
其中，該設備被配置為：

以來自至少一個輻射源的多個輻射波長的輻射束照射

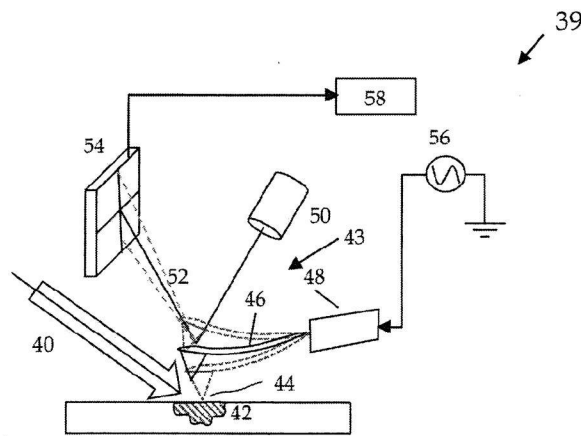
樣本，調變該探針於接近探針接觸共振頻率 f_M ，調變該光束於至少一個頻率 f_L ，測量該探針由於入射輻射的吸收而在至少一個邊帶頻率 f_D 的響應，自動調整調變頻率 f_M 及 f_L 中的至少一個，並分析該探針的響應以構建指示該樣本區域的吸收光譜的訊號，以及其中，該調變頻率 f_M 獨立於該探針的任何探針共振頻率而施加於該樣本。

【請求項 26】如請求項 25 所述的設備，其中，該設備進一步調整該輻射束調變頻率 f_L ，以控制距離該樣本的頂部表面的探測深度以及指示該吸收光譜的該訊號的體積中的至少一個。

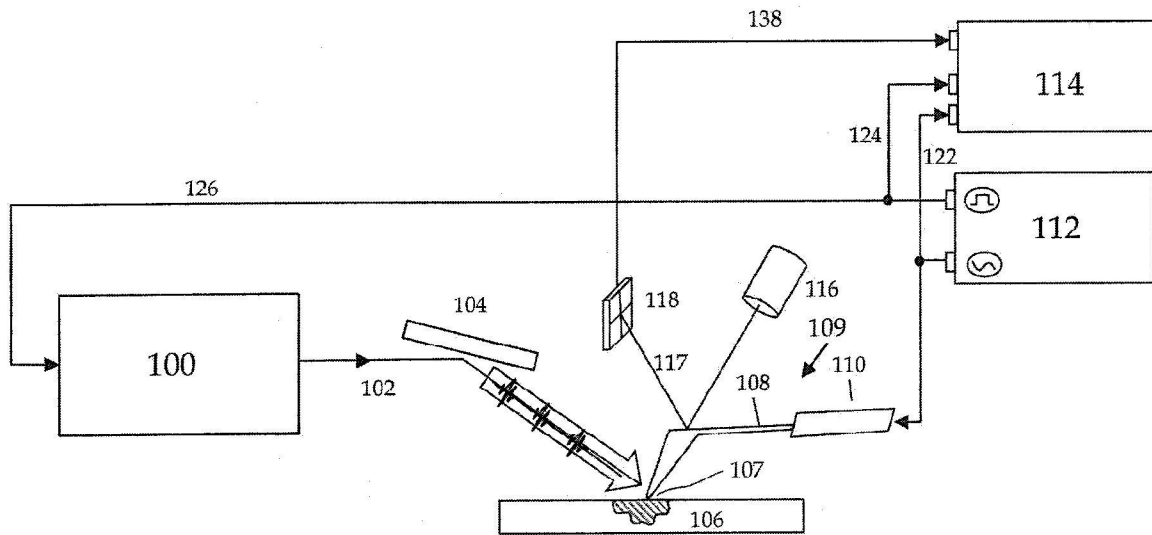
【發明圖式】



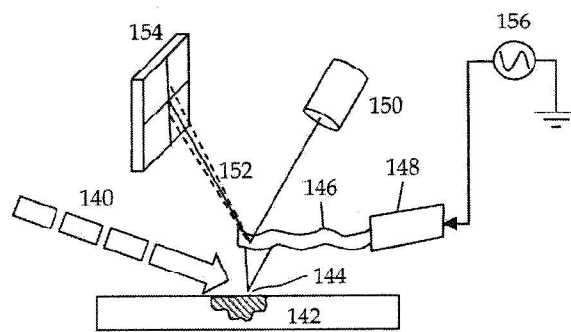
【圖 1A】



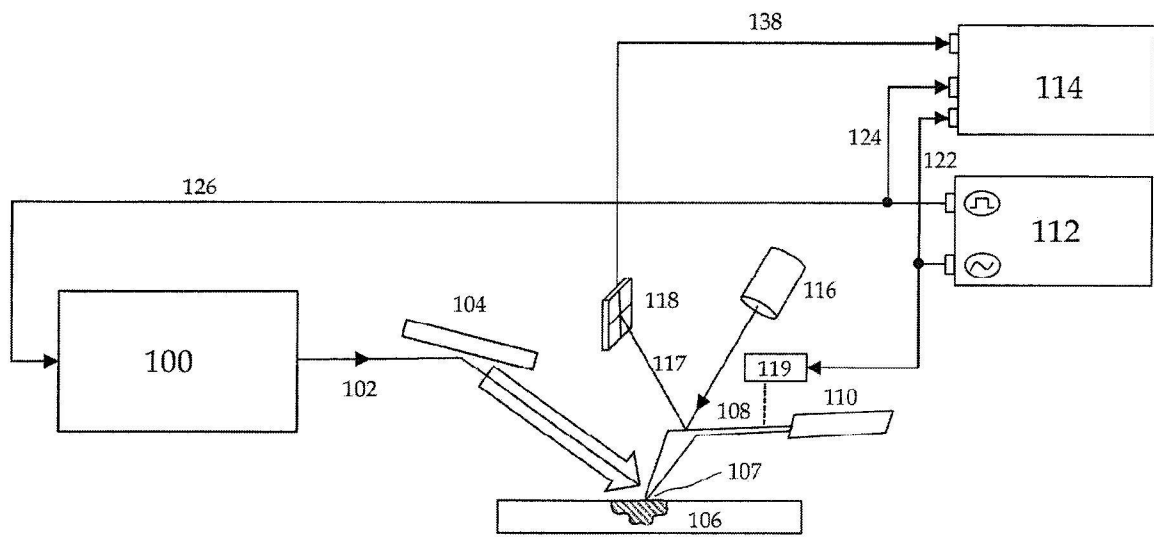
【圖 1B】



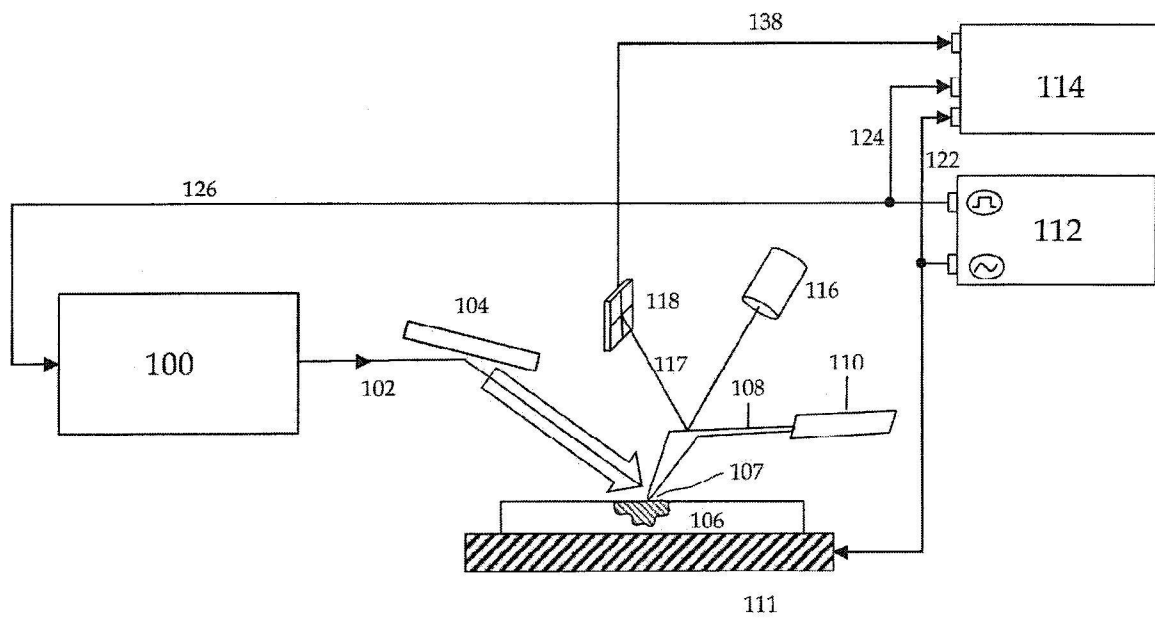
【圖 2A】



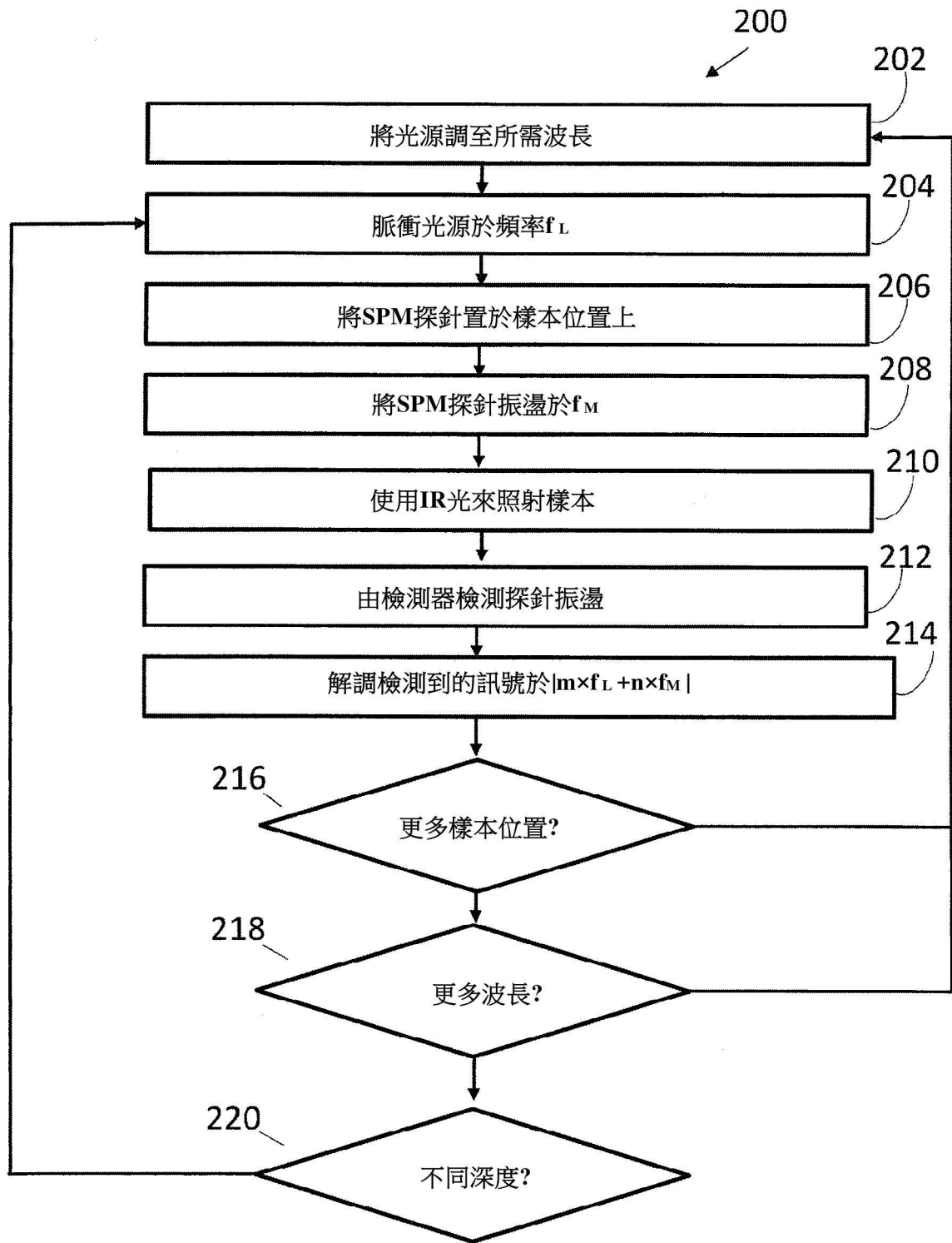
【圖 2B】



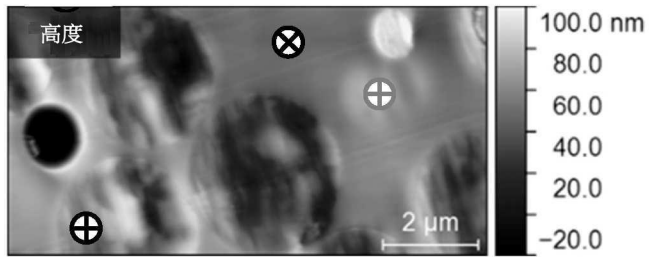
【圖 3】



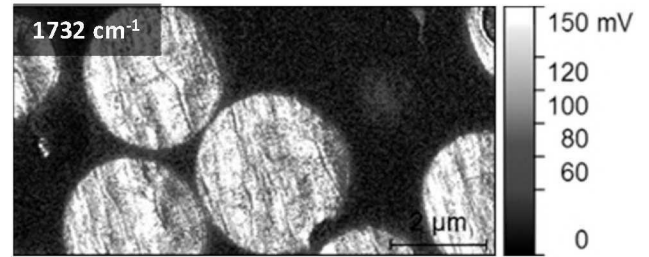
【圖 4】



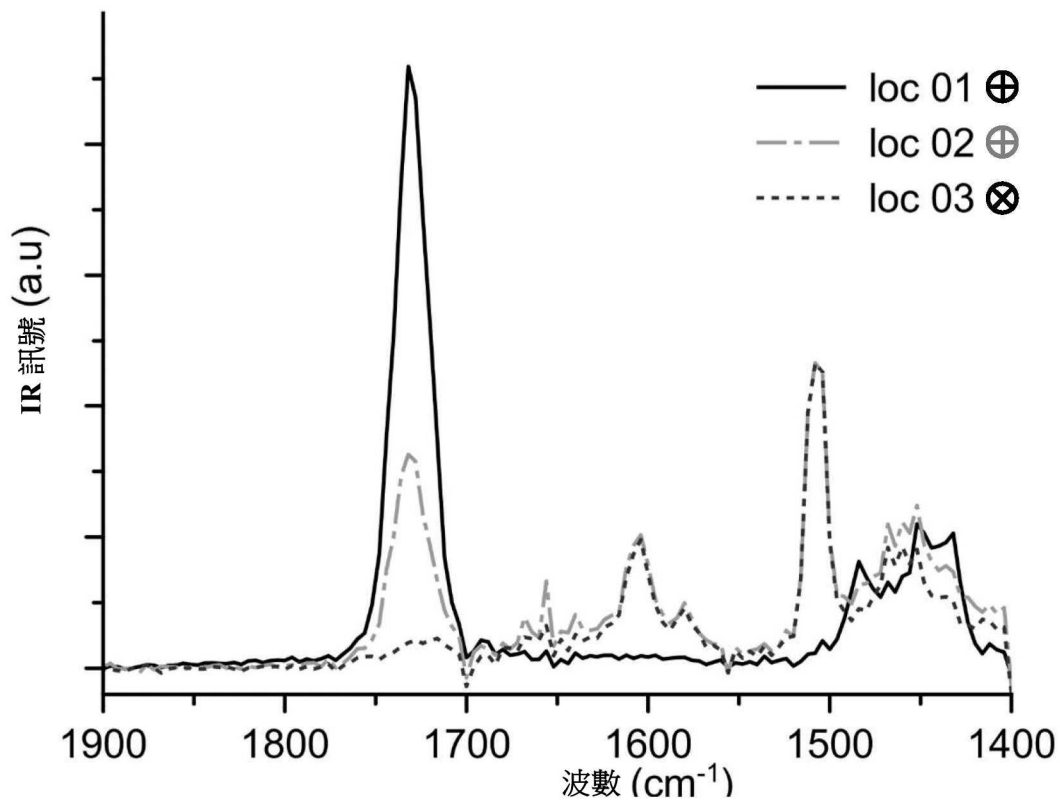
【圖 5】



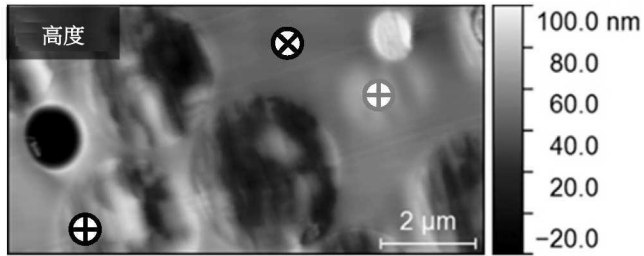
【圖 6A】



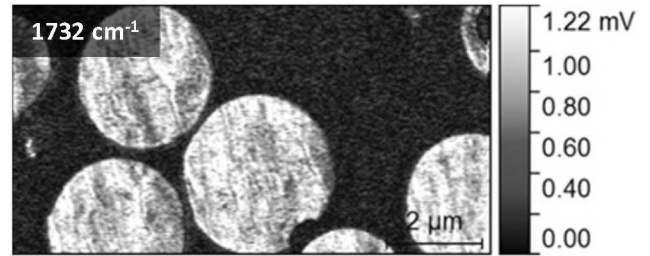
【圖 6B】



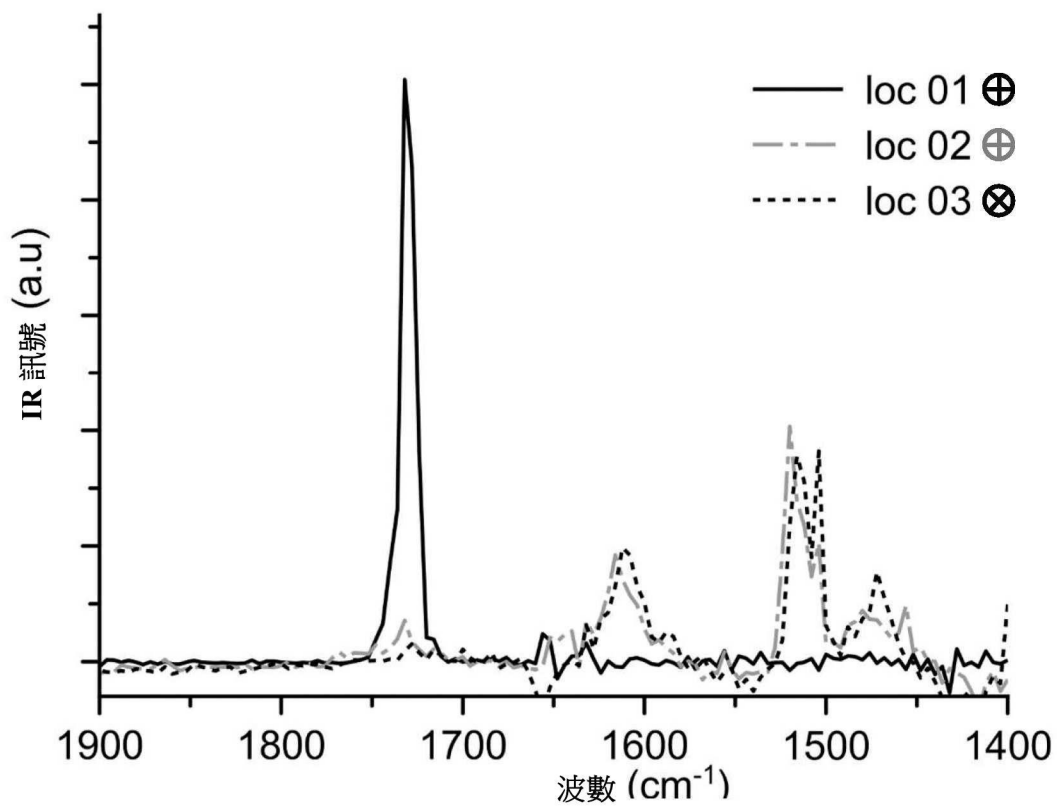
【圖 6C】



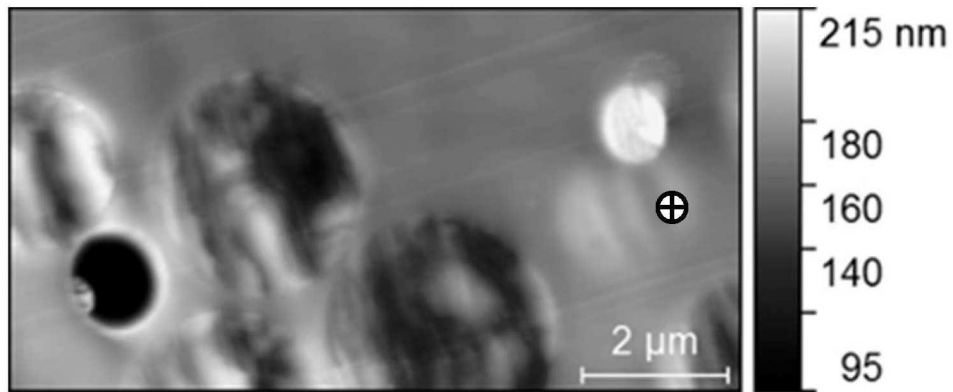
【圖 7A】



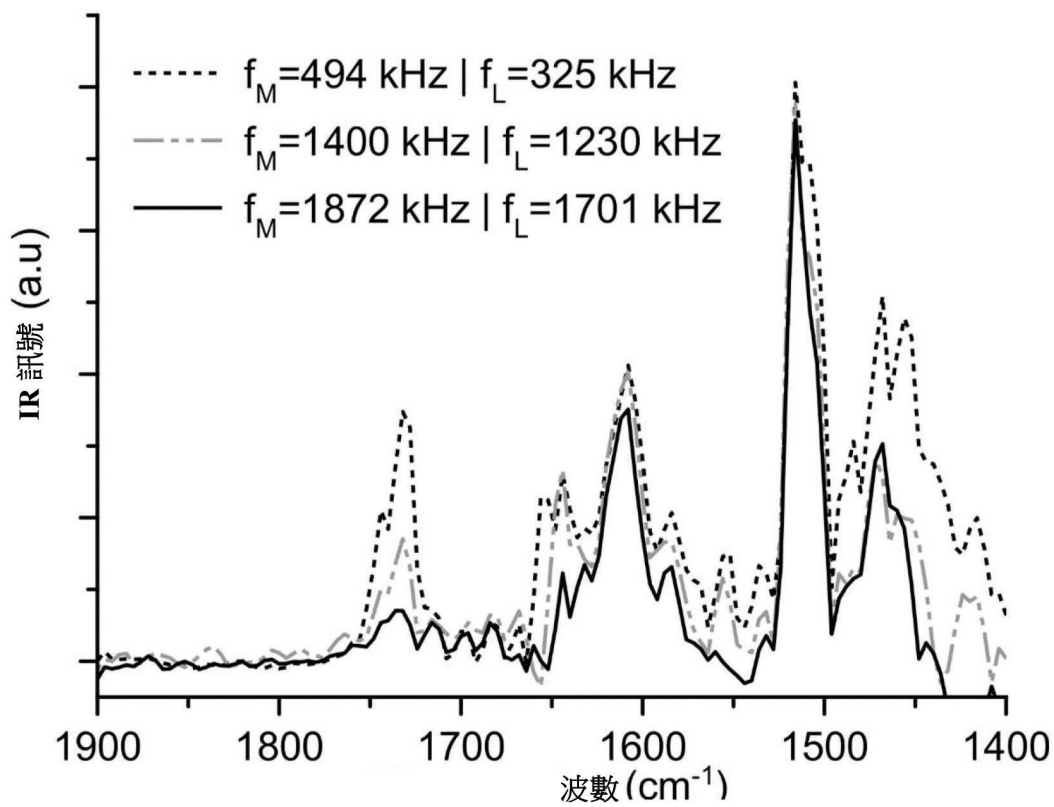
【圖 7B】



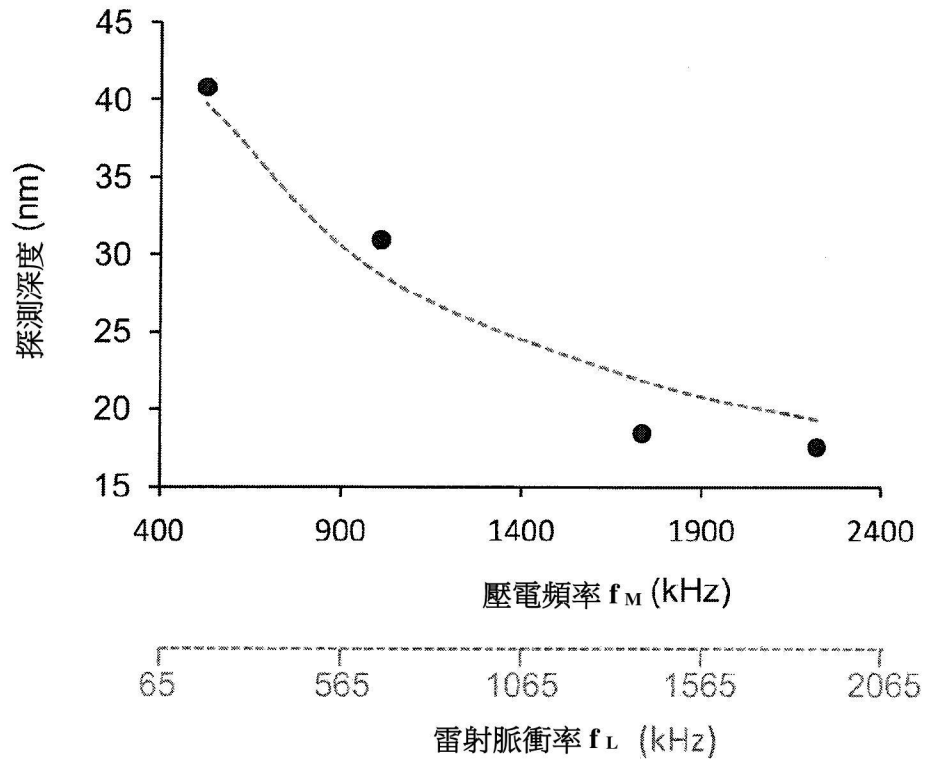
【圖 7C】



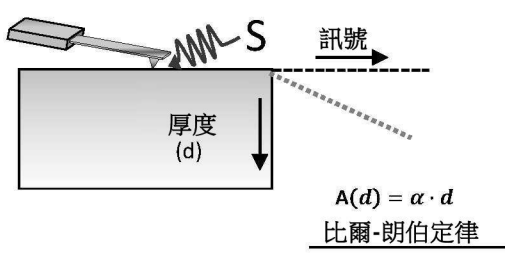
【圖 8A】



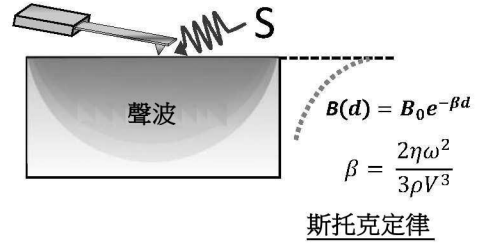
【圖 8B】



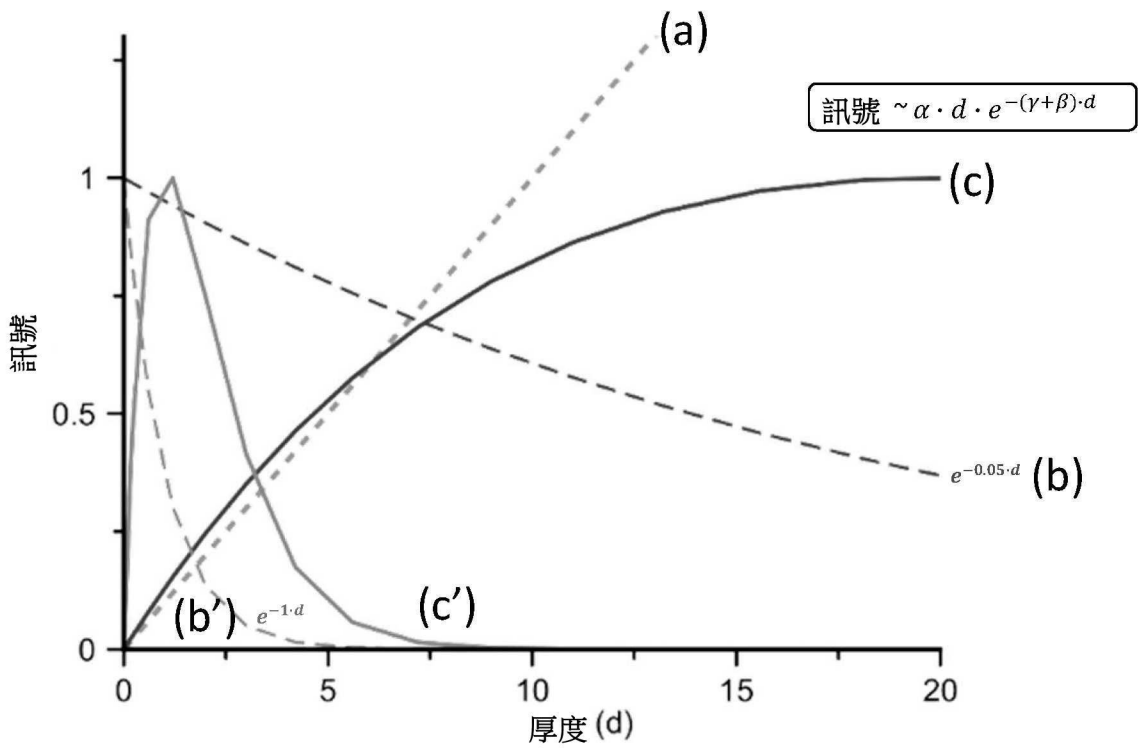
【圖 9】



【圖 10A】



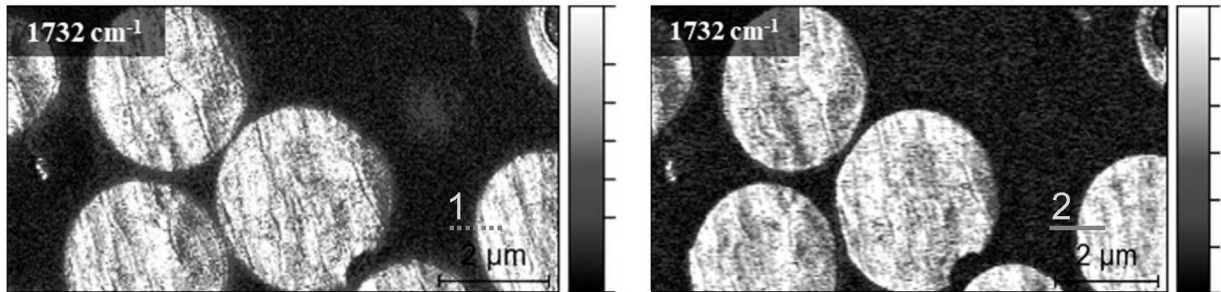
【圖 10B】



【圖 10C】

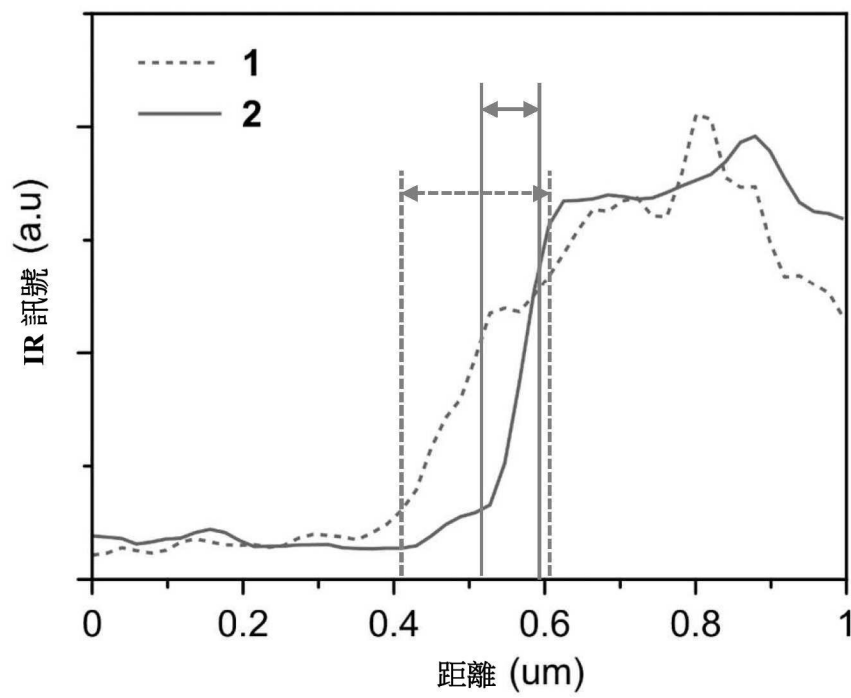
接觸共振模式

壓電混合模式

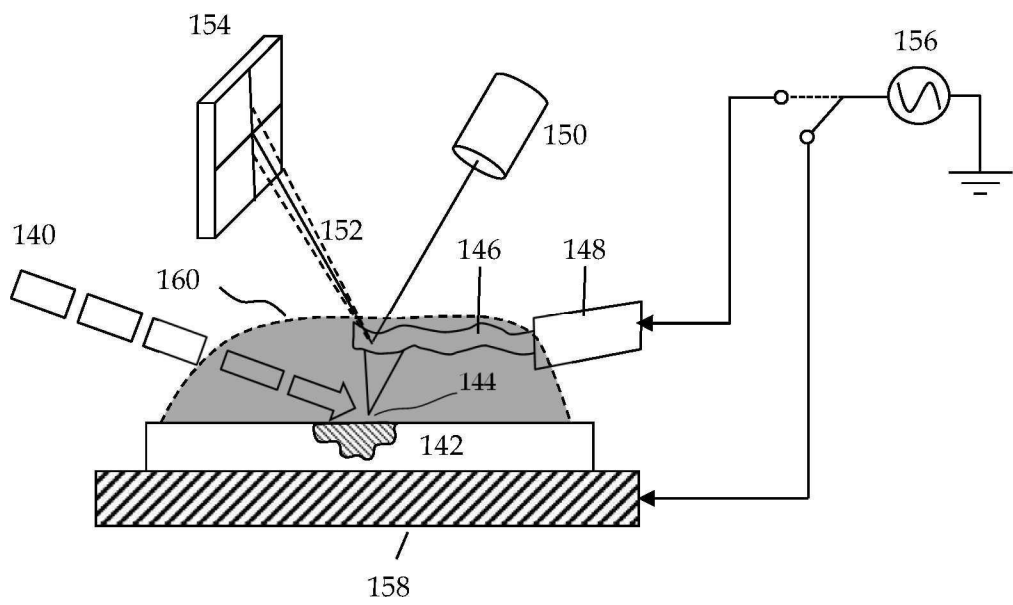


【圖 11A】

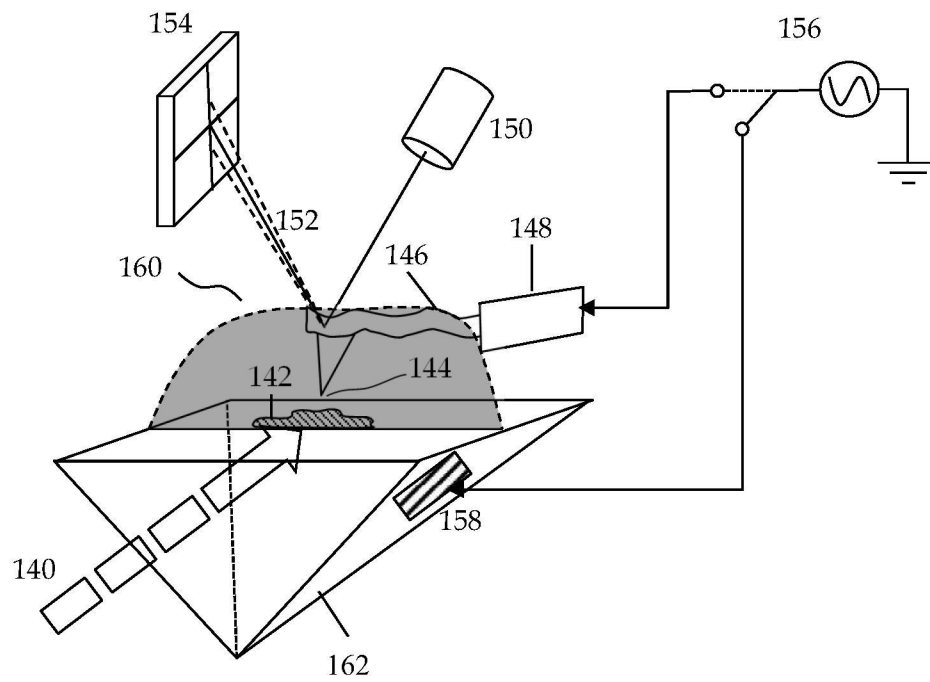
【圖 11B】



【圖 11C】



【圖 12】



【圖 13】