

УДК 544.6.076 + 006.55

EDN: QPLFAK

© М. В. Жуков, А. А. Банков, 2026

СОЗДАНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ ТЕСТОВЫХ СТРУКТУР ДЛЯ СКАНИРУЮЩЕЙ КАПИЛЛЯРНОЙ МИКРОСКОПИИ

Созданы и исследованы полимерные тестовые структуры для использования в качестве тестовых образцов в сканирующей капиллярной микроскопии (СКМ). Использован метод импринтинга на поверхности этилен-винилацетата. В качестве исходной матрицы использована периодическая кремниевая структура с выступающими/лунками круглого профиля. Геометрические параметры исходной кремниевой матрицы и созданной полимерной структуры определены с помощью атомно-силового микроскопа (АСМ). Исследованы искажения формы и геометрических размеров полимерной тестовой структуры, обусловленные технологией импринтинга. Этилен-винилацетатные полимерные тестовые структуры, полученные методом импринтинга, позволяют проводить калибровку сканера в СКМ в латеральной плоскости (X, Y). Предложен метод оценки апертуры зонда-нанопипетки при использовании субмикронных лунок. Учитывая изменение размеров полимерной тестовой структуры со временем, необходимо проводить периодическую проверку ее размеров с помощью АСМ-метода.

Ключевые слова: сканирующая капиллярная микроскопия, атомно-силовая микроскопия, нанопипетка, калибровка, геометрия зонда, лунки, полимерные реплики

ВВЕДЕНИЕ

Сканирующая капиллярная микроскопия (СКМ, в зарубежной литературе scanning ion-conductance microscopy — SICM) является одним из наиболее перспективных методов бесконтактной визуализации поверхности в жидкой среде с нано- и микрометровым пространственным разрешением. Метод основан на регистрации ионного тока через апертуру стеклянной нанопипетки (НП), что позволяет формировать изображение без механического контакта с образцом. Благодаря этому СКМ широко применяется при исследовании мягких и биологических объектов — живых клеток, мембранных структур, полимерных материалов и гидрогелей [1–4]. Отсутствие механического взаимодействия принципиально отличает СКМ от атомно-силовой микроскопии (АСМ) и делает его предпочтительным методом в задачах, где важно минимизировать деформацию поверхности.

За последние годы наблюдается активное развитие аппаратных и алгоритмических решений в области СКМ, включая мультимодальные конфигурации, усовершенствованные режимы сканирования и методы повышения пространственного разрешения [5–8]. Однако несмотря на технологический прогресс, метрологическое обеспечение метода остается ограниченным. В частности, отсутствуют стандартизованные калибровочные образцы и унифицированные процедуры проверки

точности измерения линейных размеров. Это затрудняет сопоставление результатов, полученных на разных установках, и ограничивает применение СКМ в задачах, требующих количественной достоверности.

В АСМ проблема калибровки решена за счет использования сертифицированных периодических решеток, ступенчатых структур и стандартов высоты, позволяющих проводить независимую проверку масштабов по трем осям, а также измерять радиус закругления используемого зонда. Для СКМ прямое применение твердых калибровочных кремниевых структур связано с риском повреждения стеклянной НП, особенно при работе вблизи поверхности. Кроме того, необходимо учитывать, что формирование сигнала в СКМ определяется не только геометрией зонда, но и распределением ионного тока вблизи апертуры, что приводит к дополнительным геометрическим искажениям измеряемого профиля [4, 9].

Одним из возможных решений является использование мягких полимерных реплик периодических кремниевых структур, полученных методом импринтинга. Подобный подход позволяет снизить риск повреждения НП в процессе калибровки СКМ и адаптировать геометрию тест-образца к особенностям метода. Однако выбор формы калибровочной структуры требует отдельного анализа. Форма с узкими или глубокими впадинами может приводить к систематическому занижению измеряемой глубины вследствие конеч-

ного радиуса апертуры и невозможности полного проникновения зонда вглубь впадины [4, 10, 11]. При этом оценка высоты объектов может искажаться и вследствие нелинейного изменения ионного тока на резких перепадах рельефа на выступающих объектах [12]. Таким образом, в случае визуализации участков резкого перепада высот структура может быть пригодна для латеральной калибровки, но не обеспечивать корректной калибровки по оси Z.

В настоящей работе в качестве калибровочного образца для СКМ рассматриваются полимерные реплики с выступами или лунками круглого профиля, снятые с периодических кремниевых структур. АСМ используется в качестве референтного метода для определения фактических геометрических параметров исходной кремниевой структуры и ее полимерной реплики. Основная цель исследования — количественно оценить применимость данной геометрии для калибровки линейных размеров в СКМ и выявить ограничения, связанные с геометрией НП и особенностями распределения ионного тока.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве мастер-образцов для импринтинга использовались две кремниевые периодические структуры: калибровочная решетка TGT01 с массивом выступающих игл (тип 1) [13], а также структура с массивом лунок (тип 2). Обе структуры характеризуются регулярным периодом и конусной геометрией элементов рельефа, что после репликации приводит к формированию массива конусных выступов и углублений.

Полимерные реплики изготавливались методом термического импринтинга с использованием термопластичного сополимера этилен-винилацетата (ЭВА), выбор которого обусловлен его относительно низким модулем упругости, эластичностью и стабильностью формы после охлаждения. Процесс репликации осуществлялся следующим обра-

зом (рис. 1): ЭВА размещался на поверхности кремниевой мастер-структуры и нагревался до температуры $\sim 170^\circ\text{C}$, после чего проводилось механическое прижатие полимера к поверхности штампа. При нагреве полимер переходил в вязкопластичное состояние и заполнял микрорельеф структуры. После выдержки образец охлаждали до комнатной температуры ($\sim 25^\circ\text{C}$), обеспечивая фиксацию формы, после чего выполнялось отделение полимерной реплики от мастер-структуры. В результате формировался инвертированный рельеф исходной кремниевой решетки.

Для определения геометрических параметров исходных кремниевых структур и полученных полимерных реплик с целью контроля измеряемой топографии использовался метод АСМ, реализуемый на приборе Ntegra Aura (НТ-МДТ, Россия). Измерения проводились в полуконтактном режиме (tapping mode) на воздухе с использованием кремниевых кантилеверов NSG01 (НТ-МДТ, Россия).

Исследования методом СКМ выполнялись в растворе фосфатно-солевого буфера (PBS) в "прыжковом" режиме (hopping mode) сканирования [6], обеспечивающем бесконтактное приближение зонда к поверхности. Сканирование проводилось на предварительно откалиброванном home-made сканирующем капиллярном микроскопе по структуре пиков [14]. Контроль расстояния до поверхности осуществлялся по относительному падению ионного тока через апертуру НП, которое поддерживалось на уровне 5–10 % от начального значения.

В качестве зондов использовались стеклянные НП из боросиликатного стекла, сформированные методом тепловой вытяжки на установке RMP-107 (MDI, США). Геометрические параметры зондов контролировались с помощью сканирующего электронного микроскопа Quanta Inspect (FEI, США) в режиме регистрации вторичных электронов при вакууме около 10^{-4} Па и ускоряющем напряжении 20 кэВ.

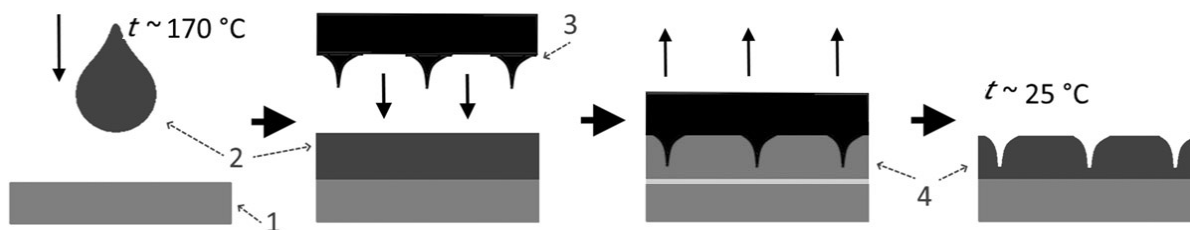


Рис. 1. Схема импринтинга со стадиями, показанными последовательно стрелками слева направо. 1 — исходная гладкая подложка (поликарбонат), 2 — нагретый термопластичный ЭВА, 3 — штамп (периодическая Si структура), 4 — остывший термопластичный ЭВА

Для каждой исследуемой структуры выполнялось не менее десяти измерений профилей в различных областях поверхности. По полученным АСМ- и СКМ-изображениям определялись следующие параметры: период структуры в латеральных направлениях (оси X и Y), высота или глубина элементов рельефа (ось Z), характерный диаметр конусных элементов (у вершины или у основания).

Топографические изображения использовались для извлечения профилей поперечного сечения и построения гистограмм распределения высот. Значения, полученные методом АСМ, принимались в качестве референтных при сравнении с результатами СКМ.

Первичная обработка АСМ- и СКМ-данных выполнялась в программной среде Gwyddion [15].

Обработка включала коррекцию наклона поверхности, приведение минимального значения высоты к нулевому уровню и фильтрацию изображений для подавления высокочастотного шума. Для корректного сопоставления результатов АСМ и СКМ анализ профилей проводился при одинаковых масштабах и сопоставимых размерах областей сканирования.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИНЕЙНЫХ РАЗМЕРОВ ТЕСТОВЫХ СТРУКТУР И КАЛИБРОВКА В СКМ

АСМ- и СКМ-изображения исходных Si-структур и их полимерных реплик (рис. 2, 3) демонстрируют хорошее воспроизведение периодичности и общей топографии структур.

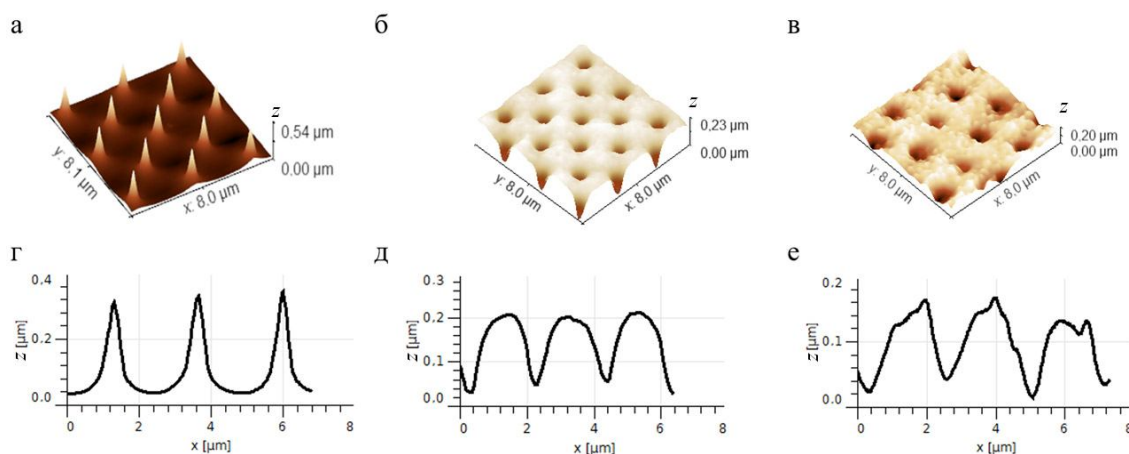


Рис. 2. АСМ-изображения Si-структуры типа 1 (а) и ее реплики (б); СКМ-изображения реплики (в); характерные сечения вдоль структур, взятые с представленных изображений, соответственно (г, д, е)

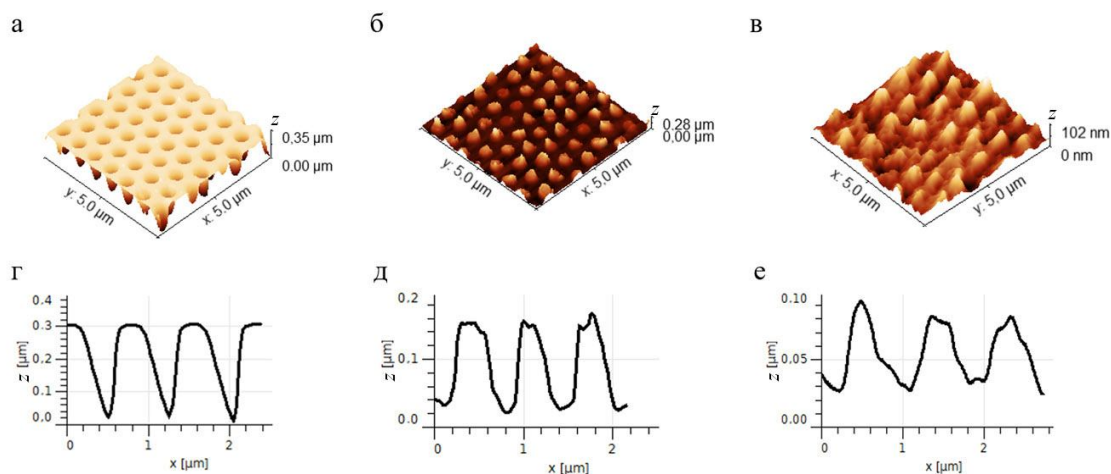


Рис. 3. АСМ-изображения Si-структуры типа 2 (а) и ее реплики (б), СКМ-изображения реплики (в), характерные сечения вдоль структур, взятые с представленных изображений, соответственно (г, д, е)

При этом для всех типов решеток наблюдаются систематические различия в измеряемых высотах и латеральных размерах, обусловленные конечными размерами и геометрией зондов, используемых в методах АСМ и СКМ. Поскольку исследуемые структуры характеризуются регулярным периодом и фиксированными геометрическими параметрами, они могут быть использованы в качестве тест-объектов для контроля линейных размеров в режиме СКМ.

Количественные параметры структур, измеренные методами АСМ и СКМ, приведены в табл. Полученные результаты показывают, что процесс репликации сопровождается заметным уменьшением высоты элементов рельефа и некоторым изменением их латеральных размеров.

Для высоты/глубины наблюдается значительное снижение значений: для структуры типа 1 высота уменьшилась на 58.0%, а для структуры типа 2 — на 65.5%. Это может указывать на неполное заполнение формы полимером либо на усадку материала в процессе полимеризации. Изменение периода выражено менее существенно: для структуры типа 1 период уменьшился на 8.2%, а для структуры типа 2 — на 16.4%. Диаметр вершины для структуры типа 1 увеличился на 75.9%, что указывает на сглаживание острых элементов рельефа при формировании полимерной копии.

Наблюдается систематическое занижение измеряемой высоты элементов: значения, полученные методом СКМ, оказываются ниже АСМ-данных на 25.6% для структуры типа 1 и на 35.9% для структуры типа 2. В СКМ наблюдается некоторое увеличение измеряемого периода структуры относительно АСМ-данных реплики (на 14.6% для типа 1 и на 13.7% для типа 2), что может быть связано с набуханием полимера и осо-

бенностями сканирования наклонных боковых стенок.

В среднем при измерении полимерных реплик методом СКМ высота элементов уменьшается приблизительно на 30% по сравнению с АСМ-данными, что не позволяет использовать такие структуры для калибровки по оси Z. Несмотря на это, периодичность и общая геометрия структур сохраняются, что позволяет использовать такие образцы для оценки латерального разрешения сканера в СКМ.

Следует отметить, что при использовании полимерных калибровочных структур необходимо учитывать возможные изменения их морфологии при длительном контакте с электролитом. Для оценки стабильности образцов была проведена выдержка структур в фосфатно-солевом растворе (PBS) в течение одной недели. В результате на поверхности полимера наблюдалось появление локальных наноразмерных пор, однако общая геометрия периодической структуры при этом сохранялась, что позволяет рассматривать такие реплики в качестве пригодных тест-объектов для калибровки СКМ по XY.

ОЦЕНКА РАЗМЕРА АПЕРТУРЫ ЗОНДА-НП

При измерениях методом АСМ использовались кремниевые кантилеверы с номинальным радиусом вершины 10 нм (рис. 4, а). В экспериментах СКМ применялись стеклянные НП из боросиликатного стекла с внутренним диаметром апертуры 100 нм, углом конусности вершины 3–5° и толщиной стенки в области апертуры 70 нм (рис. 4, б). Измеряемый диаметр скругления у дна лунки определен размерами вершины зонда, что делает возможным использование структуры лунок для оценки апертуры пипетки (рис. 4, в).

Табл. Параметры калибровочных Si-тестовых структур и их полимерных реплик после измерения в АСМ и СКМ

Структура	Параметр	Si-структура в АСМ	Реплика в АСМ	Реплика в СКМ
Тип 1	Высота/глубина, нм	419 ± 7	176 ± 6	131 ± 30
	Период, нм	2219 ± 17	2037 ± 35	2335 ± 205
	Диаметр у вершины/лунки, нм	87 ± 5	153 ± 18	281 ± 12
Тип 2	Высота/глубина, нм	267 ± 14	92 ± 43	59 ± 17
	Период, нм	770 ± 19	644 ± 11	732 ± 37

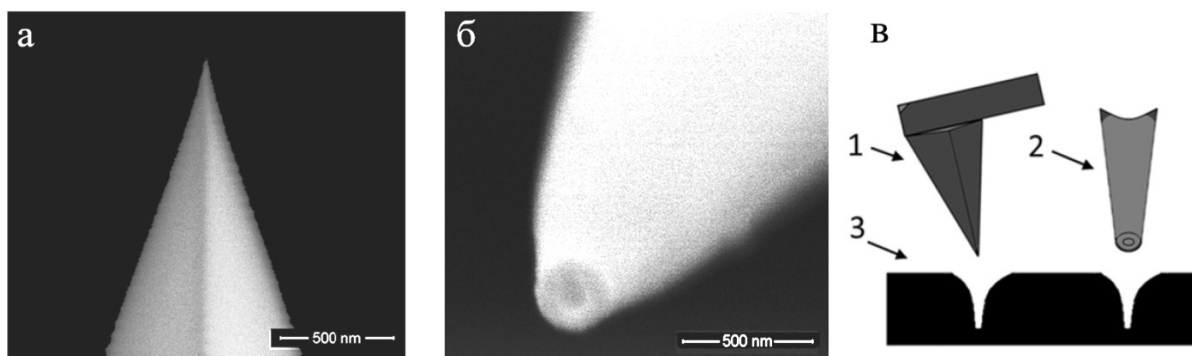


Рис. 4. СЭМ-изображения вершины Si кантилеверного АСМ-зонда (а), вершины зонда-НП из боросиликатного стекла (б). Схема измерения полученных методом импринтинга полимерных структур двумя типами зондов (в), где 1 — АСМ-зонд, 2 — зонд-НП, 3 — структура лунок

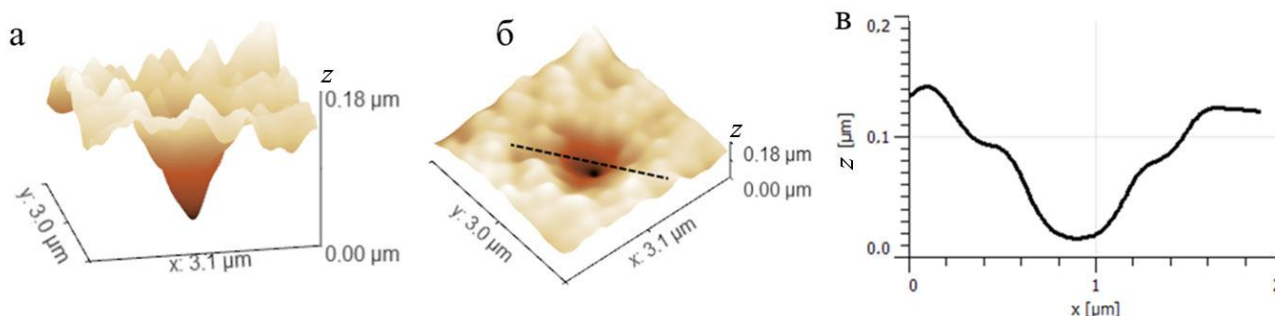


Рис. 5. 3D-СКМ-изображение одиночной лунки: вид сбоку (а) и в изометрии (б), сечение (в) структуры по пунктиру из (б)

Следует отметить, что АСМ-зонды имеют значительно больший угол при вершине (около 30°), что ограничивает их способность проникать в глубокие узкие каналы и приводит к увеличению скругления диаметра у дна лунки. Так, для исследуемых структур измеренный диаметр дна лунки по данным АСМ составил ~ 150 нм, тогда как, по данным СЭМ, диаметр АСМ-зонда составляет ~ 20 нм. НП, напротив, обладают малым углом при вершине ($3\text{--}5^\circ$), что обеспечивает лучшую проникающую способность при исследовании структур с высоким аспектным отношением. Так, измеренный диаметр дна лунки в СКМ ~ 280 нм (рис. 5) оказывается сопоставимым с внешним диаметром апертуры используемой НП с учетом толщины ее стенок, определенным по СЭМ-изображениям ~ 250 нм (рис. 4, б). Это свидетельствует о том, что латеральное разрешение метода СКМ в значительной степени определяется эффективным диаметром апертуры НП и подтверждает возможность применения лунок для оценки апертур НП, а, следовательно, и разрешающей

способности метода СКМ в диапазоне размера лунок (диаметр до ~ 1 мкм).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе продемонстрирована возможность получения полимерных реплик периодических кремниевых структур методом импринтинга и их использования в качестве тест-объектов для СКМ. Изменение периода рельефа при переходе от АСМ к СКМ составило менее 15% относительно данных для реплик, что позволяет использовать данные структуры для латеральной калибровки прибора по осям X и Y. Предложенные структуры не могут быть использованы для калибровки по Z, т.к. имеются существенные расхождения в фактических размерах структуры при измерении в СКМ.

Структуры типа лунок могут быть использованы для определения внешней апертуры пипетки с точностью $\sim 10\%$. Так, диаметр дна лунки, измеренный методом СКМ (~ 280 нм), напрямую

коррелирует с внешним диаметром нанокapилляра (~ 250 нм), измеренным в сканирующей электронной микроскопии, что позволяет использовать подобные структуры для оценки эффективного размера зонда и латерального разрешения метода СКМ.

Предложенная методика использования полимерных калибровочных образцов предполагает предварительный контроль геометрии реплик, например, методом АСМ. При анализе линейных размеров рекомендуется сопоставлять измеренные в СКМ значения периода и других параметров с референтными АСМ-данными.

Предлагаемые мягкие полимерные реплики представляют собой экспериментально доступную и удобную для визуализации тестовую структуру для оценки линейных размеров и пространственного разрешения в СКМ. При этом использование полимерных образцов снижает риск повреждения хрупких НП. Однако стоит учитывать, что при использовании полимерных реплик необходима периодическая проверка их структуры для учета возможных процессов их деградации и набухания.

Финансирование

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-79-00169, <https://rscf.ru/project/24-79-00169/>

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Hansma P.K., Drake B., Marti O., Gould S.A.C., Prater C.B. The scanning ion-conductance microscope // *Science*. 1989. Vol. 243, no. 4891. P. 641–643. DOI: 10.1126/science.2464851
2. Korchev Y.E., Milovanovic M., Bashford C.L., Bennett D.C., Sviderskaya E.V., Vodyanoy I., Lab M.J. Specialized scanning ion-conductance microscope for imaging of living cells // *Journal of Microscopy*. 1997. Vol. 188, no. 1. P. 17–23. DOI: 10.1046/J.1365-2818.1997.2430801.X
3. Novak P., Li C., Shevchuk A.I. et al. Nanoscale live-cell imaging using hopping probe ion conductance microscopy // *Nature Methods*. 2009. Vol. 6, no. 4. P. 279–281. DOI: 10.1038/nmeth.1306
4. Rheinlaender J., Schäffer T.E. An accurate model for the ion current–distance behavior in scanning ion conductance microscopy allows for calibration of pipet tip geometry and tip–sample distance // *Analytical Chemistry*. 2017. Vol. 89, no. 21. P. 11875–11880. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b03871
5. Del Linz S. et al. Contact-free scanning and imaging with the scanning ion conductance microscope // *Analytical Chemistry*. 2014. Vol. 86, no. 5. P. 2353–2360. DOI: 10.1021/ac402748j
6. Жуков М.В., Лукашенко С.Ю., Сапожников И.Д., Фельштын М.Л., Горбенко О.М., Пичахчи С.В., Голубок А.О. Многомодовый сканирующий ион-проводящий микроскоп с пьезоинерционной системой перемещения // *Научное приборостроение*. 2022. Т. 32, № 4. С. 68–87. URL: <http://iairas.ru/mag/2022/abst4.php#abst7>
7. Quan Z., Xu S., Liao X., Wu B., Luo L. Research on an SICM scanning image resolution enhancement algorithm // *Sensors*. 2024. Vol. 24, no. 11. Id. 3291. DOI: 10.3390/s24113291
8. Ayar Z., Penedo M., Drake B., Shi J., Leitao S.M., Krawczuk I., Fantner G.E. Deep-learning-assisted SICM for enhanced real-time imaging of nanoscale biological dynamics // *Small Methods*. 2025. Vol. 9, no. 12. Id. e01080. DOI: 10.1002/smt.202501080
9. Caldwell M., Del Linz S.J., Smart T.G., Moss G.W. Method for estimating the tip geometry of scanning ion conductance microscope pipets // *Analytical Chemistry*. 2012. Vol. 84, no. 21. P. 8980–8984. DOI: 10.1021/ac301851n
10. Rheinlaender J., Schäffer T.E. Image formation, resolution, and height measurement in scanning ion conductance microscopy // *Journal of Applied Physics*. 2009. Vol. 105, no. 9. Id. 094905. DOI: 10.1063/1.3122007
11. Sønderkov S.M., Klausen L.H., Skaanvik S.A., Han X., Dong M. Super-resolution imaging with nanopipettes // *Imaging*. 2025. Vol. 3, no. 1. Id. 46. DOI: 10.1038/s44303-025-00108-9
12. Thatenhorst D., Rheinlaender J., Schäffer T.E., Dietzel I.D., Happel P. Effect of sample slope on image formation in scanning ion conductance microscopy // *Analytical Chemistry*. 2014. Vol. 86, no. 19. P. 9838–9845. DOI: 10.1021/ac5024414
13. TipsNano: AFM Calibration grating TGT1. URL: <https://tipsnano.com/catalog/calibration/tgt1/> (дата обращения: 27.03.2026).
14. Жуков М.В., Банков А.А., Лукашенко С.Ю., Пичахчи С.В. Применение DVD-диска в качестве тест-объекта для оценки разрешающей способности сканирующего капиллярного микроскопа // *Научное приборостроение*. 2026. Т. 36, № 1. С. 17–22. URL: <https://iairas.ru/mag/2026/full1/Art2.pdf>
15. Gwyddion – Free SPM (AFM, SNOM, STM, MFM) data analysis software. URL: <https://gwyddion.net> (дата обращения: 27.03.2026).

Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург (Жуков М.В., Банков А.А.)

Национальный исследовательский университет ИТМО (Университет ИТМО), Санкт-Петербург, Россия (Банков А.А.)

Контакты: Жуков Михаил Валерьевич, cloudjyk@yandex.ru

Материал поступил в редакцию 20.03.2026

DEVELOPMENT AND INVESTIGATION OF POLYMER TEST STRUCTURES FOR SCANNING ION-CONDUCTANCE MICROSCOPY

M. V. Zhukov¹, A. A. Bankov^{1, 2}

¹*Institute for Analytical Instrumentation of RAS, Saint Petersburg, Russia*

²*ITMO University, St. Petersburg, Russia*

Polymer test structures were fabricated and studied for use as test samples in scanning ion-conductance microscopy (SICM). An imprinting method was used on an ethylene-vinyl acetate surface. A periodic silicon structure with circular protrusions/cavities was used as the template. The geometric parameters of the initial silicon matrix and the resulting polymer structure were defined using an atomic force microscope (AFM). This study investigates the distortions in the shape and geometric dimensions of a polymer test structure caused by the imprinting process. These ethylene-vinylacetate polymer test structures, produced by the imprinting method, enable the calibration of the scanner in the lateral plane (X, Y) of the AFM. A method for estimating the aperture of a nanopipette probe using submicron cavities is proposed. Given the change in the polymer test structure's dimensions over time, periodic AFM verification is necessary.

Keywords: scanning ion-conductance microscopy, atomic force microscopy, nanopipette, calibration, probe geometry, cavities, polymer replicas

REFERENCES

1. Hansma P.K., Drake B., Marti O., Gould S.A.C., Prater C.B. The scanning ion-conductance microscope. *Science*, 1989, vol. 243, no. 4891, pp. 641–643. DOI: 10.1126/science.2464851
2. Korchev Y.E., Milovanovic M., Bashford C.L., Bennett D.C., Sviderskaya E.V., Vodyanoy I., Lab M.J. Specialized scanning ion-conductance microscope for imaging of living cells. *Journal of Microscopy*, 1997, vol. 188, no. 1, pp. 17–23. DOI: 10.1046/J.1365-2818.1997.2430801.X
3. Novak P., Li C., Shevchuk A.I. *et al.* Nanoscale live-cell imaging using hopping probe ion conductance microscopy. *Nature Methods*, 2009, vol. 6, no. 4, pp. 279–281. DOI: 10.1038/nmeth.1306
4. Rheinlaender J., Schäffer T.E. An accurate model for the ion current–distance behavior in scanning ion conductance microscopy allows for calibration of pipet tip geometry and tip–sample distance. *Analytical Chemistry*, 2017, vol. 89, no. 21, pp. 11875–11880. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b03871
5. Del Linz S., *et al.* Contact-free scanning and imaging with the scanning ion conductance microscope. *Analytical Chemistry*, 2014, vol. 86, no. 5, pp. 2353–2360. DOI: 10.1021/ac402748j
6. Zhukov M.V., Lukashenko S.Yu., Sapozhnikov I.D., Felshytyn M.L., Gorbenko O.M., Pichakhchi S.V., Golubok A.O. [Multimode scanning ion conduction microscope with piezo-inertial moving system]. *Nauchnoe Priborostroenie* [Scientific Instrumentation], 2022, vol. 32, no. 4, pp. 68–87. DOI: 10.18358/np-32-4-16887. (In Russ.).
7. Quan Z., Xu S., Liao X., Wu B., Luo L. Research on an SICM scanning image resolution enhancement algorithm. *Sensors*, 2024, vol. 24, no. 11, pp. 3291. DOI: 10.3390/s24113291
8. Ayar Z., Penedo M., Drake B., Shi J., Leitao S.M., Krawczuk I., Fantner G.E. Deep-learning-assisted SICM for enhanced real-time imaging of nanoscale biological dynamics. *Small Methods*, 2025, vol. 9, no. 12, id. e01080. DOI: 10.1002/smt.202501080
9. Caldwell M., Del Linz S.J., Smart T.G., Moss G.W. Method for estimating the tip geometry of scanning ion conductance microscope pipets. *Analytical Chemistry*, 2012, vol. 84, no. 21, pp. 8980–8984. DOI: 10.1021/ac301851n
10. Rheinlaender J., Schäffer T.E. Image formation, resolution, and height measurement in scanning ion conductance microscopy. *Journal of Applied Physics*, 2009, vol. 105, no. 9, id. 094905. DOI: 10.1063/1.3122007
11. Sønderskov S.M., Klausen L.H., Skaanvik S.A., Han X., Dong M. Super-resolution imaging with nanopipettes. *Imaging*, 2025, vol. 3, no. 1, id. 46. DOI: 10.1038/s44303-025-00108-9
12. Thatenhorst D., Rheinlaender J., Schäffer T.E., Dietzel I.D., Happel P. Effect of sample slope on image formation in scanning ion conductance microscopy. *Analytical Chemistry*, 2014, vol. 86, no. 19, pp. 9838–9845. DOI: 10.1021/ac5024414
13. *TipsNano*: AFM Calibration grating TGT1. URL: <https://tipsnano.com/catalog/calibration/tgt1/> (accessed: 27.03.2026).
14. Zhukov M.V., Bankov A.A., Lukashenko S.Yu., Pichakhchi S.V. [Application of a DVD disc as a test object for assessing the spatial resolution of a scanning ion-conductance microscope]. *Nauchnoe Priborostroenie* [Scientific Instrumentation], 2026, vol. 36, no. 1, pp. 17–22. (In Russ.). URL: <https://iairas.ru/mag/2026/full1/Art2.pdf>
15. *Gwyddion* – Free SPM (AFM, SNOM, STM, MFM) data analysis software. URL: <https://gwyddion.net> (accessed: 27.03.2026).

Contacts: Zhukov Mikhail Valeryevich
cloudjyk@yandex.ru

Article received by the editorial office on 20.03.2026

INTRODUCTION

Scanning capillary microscopy (or scanning ion-conductance microscopy, SICM) is one of the most promising methods for contactless surface imaging in liquid media with nanometer- and micrometer-scale spatial resolution. The method is based on recording the ion current through the aperture of a glass nanopipette (NP), allowing for imaging without mechanical contact with the sample. This makes SICM widely used in the study of soft and biological objects — living cells, membrane structures, polymeric materials, and hydrogels [1–4]. The absence of mechanical interaction fundamentally distinguishes SICM from atomic force microscopy (AFM) and makes it the preferred method for applications where minimizing surface deformation is important.

In recent years, there has been active development of hardware and algorithmic solutions in the field of SICM, including multimodal configurations, advanced scanning modes, and methods for increasing spatial resolution [5–8]. However, despite technological progress, metrological support for the method remains limited. In particular, there is a lack of standardized calibration samples and unified procedures for verifying the accuracy of linear dimension measurements. This complicates the comparison of results obtained using different setups and limits the use of SICM in tasks requiring quantitative reliability.

In AFM, the calibration problem is solved through the use of certified periodic gratings, stepped structures, and height standards, which allow for independent verification of scales in three axes, as well as measurement of the radius of curvature of the probe applied. For SICMs, the direct use of solid silicon calibration structures carries the risk of damaging the glass NP, especially when working near the surface. Furthermore, it is important to consider that signal formation in SICMs is determined not only by the probe geometry but also by the ion current distribution near the aperture, which leads to additional geometric distortions in the measured profile [4, 9].

One possible solution is to use soft polymer replicas of periodic silicon structures obtained by imprinting. This approach reduces the risk of NP damage during SICM calibration and adapts the test sample geometry to the specifics of the method. However, the choice of the calibration structure shape requires separate analysis. A mold with narrow or deep depressions can lead to a systematic underestimation of the measured depth due to the finite aperture radius and the

impossibility of the probe fully penetrating the depression [4, 10, 11]. Furthermore, the height estimate of objects can be distorted due to nonlinear changes in ion current at sharp elevation changes on protruding objects [12]. Thus, in the case of visualizing areas with sharp elevation changes, the structure may be suitable for lateral calibration but not provide correct calibration along the Z-axis.

In this study, polymer replicas with protrusions or dimples of a circular profile, taken from periodic silicon structures, are considered as calibration samples for SICMs. AFM is used as a reference method to determine the actual geometric parameters of the original silicon structure and its polymer replica. The main goal of the study is to quantitatively evaluate the applicability of this geometry for calibrating linear dimensions in SICMs and to identify limitations associated with the NP geometry and the characteristics of ion current distribution.

MATERIALS AND METHODS

Two periodic silicon structures were used as master samples for imprinting: a TGT01 calibration grating with an array of protruding needles (type 1) [13] and a structure with an array of dimples (type 2). Both structures are characterized by a regular period and conical geometry of the relief elements, which, after replication, leads to the formation of an array of conical protrusions and cavities.

Polymer replicas were fabricated by thermal imprinting using the thermoplastic copolymer ethylene-vinyl acetate (EVA), chosen for its relatively low elastic modulus, elasticity, and dimensional stability after cooling. The replication process was carried out as follows (Fig. 1): EVA was placed on the surface of a silicon mold and heated to ~170 °C, after which the polymer was mechanically pressed against the stamp surface.

Fig. 1. Imprinting schematic with stages shown sequentially by arrows from left to right. 1 — initial smooth substrate (polycarbonate), 2 — heated thermoplastic EVA, 3 — stamp (periodic Si structure), 4 — cooled thermoplastic EVA

Upon heating, the polymer transitioned to a viscous-plastic state and filled the structure microrelief. After holding, the sample was cooled to room

temperature (~ 25 °C), ensuring mold fixation, after which the polymer replica was separated from the master structure. This resulted in the formation of an inverted relief of the original silicon lattice.

To determine the geometric parameters of the original silicon structures and the resulting polymer replicas to control the measured topography, AFM was used on an Ntegra Aura instrument (NT-MDT, Russia). Measurements were performed in tapping mode in air using NSG01 silicon cantilevers (NT-MDT, Russia).

SICM studies were performed in a phosphate-buffered saline (PBS) solution in hopping scanning mode [6], which ensures a contactless approach of the probe to the surface. Scanning was performed on a pre-calibrated, home-made scanning capillary microscope using the pit structure [14]. The distance to the surface was monitored by measuring the relative drop in ion current through the NP aperture, which was maintained at 5–10% of the initial value.

Glass NPs made of borosilicate glass and formed by thermal drawing on a PMP-107 system (MDI, USA), were used as probes. The probes' geometric parameters were monitored using a Quanta Inspect scanning electron microscope (FEI, USA) in secondary electron mode at a vacuum of approximately 10^{-4} Pa and an accelerating voltage of 20 keV.

For each studied structure, at least ten profile measurements were performed in different surface areas. The following parameters were determined from the obtained AFM and SICM images: the period of the structure in the lateral directions (X and Y axes), the height or depth of relief elements (Z axis), and the characteristic diameter of conical elements (at the apex or base).

Topographic images were used to extract cross-sectional profiles and construct height distribution histograms. The values obtained by the AFM method were taken as reference values for comparison with the SICM results.

Primary processing of the AFM and SICM data was performed in the Gwyddion software environment [15].

Processing included surface tilt correction, bringing the minimum height value to zero, and image filtering to suppress high-frequency noise. To ensure accurate comparison of the AFM and SICM results, profile analysis was performed at the same scales and comparable scan area sizes.

STUDY OF LINEAR DIMENSIONS OF TEST STRUCTURES AND SICM CALIBRATION

AFM and SICM images of the original Si structures and their polymer replicas (Figs. 2, 3) demonstrate good reproduction of the periodicity and overall topography of the structures.

Fig. 2. AFM images of a type 1 Si structure (a) and its replica (б), SICM images of the replica (в), characteristic cross-sections along the structures taken from the presented images, respectively (г, д, е)

Fig. 3. AFM images of a type 2 Si structure (a) and its replica (б), SICM images of the replica (в), characteristic cross-sections along the structures taken from the presented images, respectively (г, д, е)

Moreover, systematic differences in the measured heights and lateral dimensions are observed for all grating types due to the finite dimensions and geometry of the probes used in the AFM and SICM methods. Since the studied structures are characterized by a regular period and fixed geometric parameters, they can be used as test objects for monitoring linear dimensions in SICM mode.

The quantitative parameters of the structures measured by AFM and SICM are presented in Tab. The obtained results reveal that the replication process is accompanied by a noticeable decrease in the height of relief elements and some change in their lateral dimensions.

Tab. Parameters of calibration Si test structures and their polymer replicas after measurements using AFM and SICM

A significant decrease in height/depth values is observed: for the type 1 structure, the height decreased by 58.0%, and for the type 2 structure, by 65.5%. This may indicate incomplete filling of the mold with polymer or shrinkage of the material during polymerization. The change in period is less pronounced: for the type 1 structure, the period decreased by 8.2%, and for the type 2 structure, by 16.4%. The apex diameter for the type 1 structure increased by 75.9%, indicating smoothing of sharp relief elements during the formation of the polymer copy.

A systematic underestimation of the measured element heights is observed: the values obtained by the SICM method are lower than the AFM data by 25.6% for the type 1 structure and by 35.9% for the type 2 structure. In the SICM, a slight increase in the measured structure period is observed relative to the AFM data of the replica (by 14.6% for type 1 and by 13.7% for type 2), which may be due to polymer swelling and the scanning characteristics of inclined sidewalls.

On average, when measuring polymer replicas by the SICM method, the element height decreases by approximately 30% compared to the AFM data, which

does not allow the use of such structures for Z-axis calibration. Despite it, the periodicity and overall geometry of the structures are preserved, allowing the use of such samples for assessing the lateral resolution of the SICM scanner.

It should be noted that when using polymer calibration structures, it is necessary to consider possible changes in their morphology during prolonged contact with the electrolyte. To assess the stability of the samples, the structures were soaked in a phosphate-buffered saline solution (PBS) for one week. As a result, localized nanoscale pores were observed on the polymer surface; however, the overall geometry of the periodic structure was preserved, making these replicas suitable test objects for XY calibration of SICM.

ESTIMATION OF THE NP PROBE APERTURE SIZE

Silicon cantilevers with a nominal tip radius of 10 nm were used for AFM measurements (Fig. 4, a). Glass NPs made of borosilicate glass with an inner aperture diameter of 100 nm, a tip taper angle of 3–5°, and a wall thickness of 70 nm in the aperture region were used for SICM experiments (Fig. 4, б). The measured rounding diameter at the cavity bottom is determined by the probe tip dimensions, making it possible to use the cavity structure to estimate the pipette aperture (Fig. 4, в).

Fig. 4. SEM images of the tip of a Si cantilever AFM probe (a) and the tip of a borosilicate glass NP probe (б). Schematic diagram of the measurement of polymer structures obtained by imprinting using two types of probes (в), where 1 is the AFM probe, 2 is the NP probe, and 3 is the cavity structure.

It should be noted that AFM probes have a significantly larger apex angle (approximately 30°), which limits their ability to penetrate deep, narrow channels and leads to an increase in the rounding of the diameter at the dimple bottom. Thus, for the studied structures, the measured cavity bottom diameter according to AFM data was ~150 nm, while, according to SEM data, the AFM probe diameter was ~20 nm. NPs, in contrast, have a small apex angle (3–5°), which ensures better penetration when studying structures with high aspect ratios. Thus, the cavity bottom diameter measured by SICM, ~280 nm (Fig. 5), is comparable to the outer diameter of the aperture of the used NP, taking into account its wall thickness, determined from SEM images to be ~250 nm (Fig. 4, б). This indicates that the lateral resolution of the SICM method is largely determined by the NP effective aperture diameter and confirms the applicability of cavities for

evaluating NP apertures, and, consequently, the resolving power of the SICM method in the range of cavity sizes (diameter up to ~1 μm).

Fig. 5. 3D SICM image of a single cavity: side view (a) and isometric view (б), cross-section (в) of the structure along the dotted line in (б)

CONCLUSION

This study demonstrates the feasibility of producing polymer replicas of periodic silicon structures by imprinting and using them as test objects for SICM. The change in the relief period from AFM to SICM was less than 15% relative to the replica data, allowing these structures to be used for lateral calibration of the instrument along the X and Y axes. The proposed structures cannot be used for calibration along the Z axis due to significant discrepancies in the actual structure dimensions when measured in SICM.

Cavity-type structures can be used to determine the external aperture of a pipette with an accuracy of ~10%. Thus, the cavity bottom diameter measured by SICM (~280 nm) directly correlates with the nanopillary outer diameter (~250 nm) measured by scanning electron microscopy and enables the use of such structures to estimate the effective probe size and lateral resolution of the SICM method.

The proposed method for using polymer calibration samples requires preliminary control of the replica geometry, for example, by AFM. When analyzing linear dimensions, it is recommended to compare the SICM-measured period and other parameters with reference AFM data.

The proposed soft polymer replicas represent an experimentally accessible and visually convenient test structure for assessing linear dimensions and spatial resolution in SICM. Furthermore, the use of polymer samples reduces the risk of damage to fragile nanoparticles. However, it is worth considering that when using polymer replicas, periodic verification of their structure is necessary to account for possible processes of degradation and swelling.