

## **ОТЗЫВ**

на диссертацию Филимоненко Дмитрия Сергеевича  
**«Применение методов атомно-силовой и сканирующей ближнеполевой микроскопии для детектирования локальных топографических, оптических и магнитных свойств наноразмерных объектов»**,  
представленной на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.05 – оптика

### **1. Соответствие содержания диссертации заявленной специальности и отрасли науки**

Диссертационная работа Д.С. Филимоненко посвящена применению методов сканирующей зондовой микроскопии и развитию их инструментария для исследования люминесцентных и оптико-магнитных свойств ансамблей NV-центров в кристаллах алмазов, а также оптических свойств и топографии наноразмерных структур на поверхности биологических объектов клеток крови человека. Влияние внешнего магнитного поля на интенсивность люминесценции ансамблей NV-центров в моно-, микро- и нано-кристаллах искусственных алмазов исследовалось экспериментально в видимой и инфракрасной спектральных областях и сопоставлялось с данными, полученными при помощи численных методов математического моделирования. Показано хорошее соответствие результатов моделирования, учитывающего кросс-релаксацию энергии между NV-центрами, экспериментально полученным зависимостям люминесценции ансамблей NV-центров с ярко выраженными нелинейностями (резонансами) в области нулевого магнитного поля. В работе исследована взаимосвязь изменения оптических свойств и параметров шероховатости поверхности эритроцитов и лимфоцитов (клеток крови человека) с воздействием на клетки ионов тяжелых металлов и других химических факторов. Разработан технологический процесс изготовления оптоволоконных зондов для сканирующей ближнеполевой оптической микроскопии, численным методом оптимизированы геометрические параметры изогнутого зонда и доказаны его преимущества в конфигурации зонд-камертон по сравнению с зондом прямого типа при работе в режиме прерывистого контакта в жидком окружении. Таким образом, рассматриваемая диссертация соответствует пунктам 3 (люминесценция, оптика биообъектов), 4 (нелинейная динамика оптических систем) и 5 (разработка основ новых технологий диагностики биообъектов, методы оптических и спектральных измерений) раздела III паспорта специальности 01.04.05 – оптика, отрасли «физико-математические науки».

### **2. Актуальность темы диссертации**

Наноразмерные неорганические, органические и гибридные комплексы и объекты находят все более широкое использование для решения научных и прикладных задач, как в технических, так и в биомедицинских областях. Для их эффективного применения необходимо контролировать размер и форму наноструктур, как при изготовлении, так и в процессе эксплуатации. Поэтому для изучения наноразмерных объектов актуальным является применение



методов исследования, обладающих высокой пространственной разрешающей способностью, к которым относятся методы сканирующей зондовой микроскопии, в том числе атомно-силовой (АСМ). В ряде задач важно знание не только топологии нанообъекта, но и закономерностей его взаимодействия с окружением и электромагнитным излучением. В этих случаях целесообразно также использовать метод сканирующей ближнеполевой оптической микроскопии (СБОМ), позволяющий одновременно получить топографическое и оптическое изображения объекта наряду с выполнением спектроскопических измерений.

Актуальность темы диссертационной работы также определяется выбором объектов исследований: клетки крови человека и NV-центры в кристаллах алмаза. Поскольку система крови одной из первых откликается на неблагоприятные условия, то установление закономерностей изменения структуры поверхности эритроцитов и лимфоцитов под действием внешних агрессивных факторов или состояния метаболического истощения клеток может быть использовано в скрининге ранних стадий патогенеза еще до появления основных клинических признаков заболевания. В связи с этим перед автором диссертационной работы также была поставлена актуальная задача развития инструментария метода СБОМ для реализации прерывисто-контактного режима работы, минимизирующего возможность повреждения мембраны клеток, в том числе путем функционализации зонда нанокристаллом алмаза с NV-центрами для чисто оптического детектирования слабых магнитных полей с пространственным разрешением единиц-десятков нанометров. Поэтому тема диссертационной работы представляется очень актуальной и своевременной.

Диссертационная работа Д.С. Филимоненко выполнена в рамках ряда заданий государственных программ научных исследований и договоров, финансируемых Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований. Тема диссертации соответствует п. 7.2. «Оптические методы исследования структуры и свойств вещества, атомно-молекулярные и плазмодинамические процессы для получения новых материалов, приборов и наукоемких технологий» перечня приоритетных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь на 2006 – 2010 годы, утвержденного Постановлением СМ РБ от 17.05.2010 № 512; п. 6.1. «Фундаментальные проблемы взаимодействия излучения с неорганическими и органическими веществами в разных фазах, в том числе с биологическими тканями, клеточными структурами и организмами» перечня приоритетных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь на 2010 – 2015 годы, утвержденного Постановлением СМ РБ от 19.04.2010 № 585; п. 6. «Электроника и фотоника», перечня приоритетных направлений научных исследований Республики Беларусь на 2016 – 2020 гг., утвержденного Постановлением СМ РБ от 12.03.2015 № 190 и п. 4. «Машиностроение, машиностроительные технологии, приборостроение и инновационные материалы: наноматериалы и нанотехнологии, нанодиагностика» перечня приоритетных направлений научной, научно-технической и инновационной деятельности на 2021 – 2025 годы согласно Указу Президента Республики Беларусь от 07.05.2020 № 156. Соответствие темы диссертационной



работы одновременно нескольким приоритетным направлениям указывает на междисциплинарный характер выполненного исследования и подтверждает значимость полученных соискателем научных результатов.

### **3. Степень новизны результатов, полученных в диссертации, и научных положений, выносимых на защиту**

Новизна научных результатов, полученных Д.С. Филимоненко в диссертационной работе, заключается в том, что впервые:

– обнаружены изменения наноструктуры шероховатости поверхности эритроцитов человека, подвергшихся воздействию различных концентраций ионов цинка и свинца, а также лимфоцитов человека, подвергшихся воздействию различных концентраций ионов цинка, и выявлена зависимость параметров шероховатости поверхности эритроцитов от содержания внутриклеточного кальция;

– установлено, что информативным статистическим параметром, позволяющим охарактеризовать степень металл-индуцированных изменений тонкой структуры поверхности клеток, является корреляционная длина нормированной автокорреляционной функции профилей шероховатости эритроцитов и лимфоцитов;

– показано, что оптимизация геометрических характеристик (длины изогнутой части, радиуса и угла изгиба) изогнутых оптоволоконных зондов позволяет эффективно реализовать работу СБОМ в режиме прерывистого контакта;

– экспериментально обнаружено, что зависимость интенсивности ИК фотолюминесценции ансамбля NV-центров в алмазе от магнитного поля в области слабых магнитных полей имеет выраженный локальный экстремум, параметры которого зависят от мощности и поляризации возбуждающего фотолюминесценцию лазерного излучения.

### **4. Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

Основные научные положения, выводы и рекомендации диссертационной работы основаны на тщательно выполненных экспериментальных исследованиях с использованием современного оборудования и включающих методы микроскопии высокого пространственного разрешения, фотолюминесцентной спектроскопии и оптической спектрометрии. Они корректно сформулированы после детального анализа экспериментальных результатов при их сопоставлении, когда это возможно, с данными численного моделирования и литературных источников. Поэтому обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций диссертации не вызывает сомнений.

### **5. Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертации**

Научная значимость диссертационной работы Д.С. Филимоненко заключается в установлении оптическими методами закономерностей влияния

агрессивного химического воздействия и метаболического состояния клеток крови человека на нанорельеф и структуру их поверхности; в расширении существующих представлений о влиянии параметров возбуждающего лазерного излучения, внешнего слабого магнитного поля и механизмов энергообмена на фотолюминесценцию NV-центров в кристаллах алмаза в инфракрасной спектральной области; в расширении области применимости оптических методов сканирующей микроскопии путем развития новых типов и оптимизации параметров существующих измерительных зондов.

Способ оценки степени воздействия ионов цинка и свинца на мембрану эритроцитов человека, который основан на концентрационных зависимостях средней корреляционной длины нормированной автокорреляционной функции профилей шероховатости их поверхности, полученных методом АСМ с оптической регистрацией силы изгиба кантилевера, был внедрен в учебный процесс и используется при проведении научно-исследовательской работы на кафедре медицинской и биологической физики ГГМУ (г. Гомель) и защищен патентом на изобретение ВУ № 13764 от 30.07.2010.

Обнаруженный эффект резонансного поведения интенсивности ИК-люминесценции ансамбля NV-центров в области слабых магнитных полей открывает возможность создания нового полностью оптического (без использования СВЧ поля) способа магнитометрии, обладающего рядом конструктивных и эксплуатационных преимуществ (невысокая стоимость, надежность, долговечность, малые габариты, масса и энергопотребление).

Разработанный подход к оптимизации параметров и технология изготовления оптоволоконных зондов прямого и изогнутого типа для СБОМ внедрены в ИНСТИТУТЕ ФИЗИКИ НАН Беларуси и используются для изготовления зондов и проведения исследований методом СБОМ. Изготовленные зонды использовались для исследований в Королевском технологическом институте (КТН, г. Стокгольм, Швеция) и коммерческая партия зондов была поставлена в лабораторию физики живой материи Высшей Федеральной Политехнической Школы г. Лозанна (EPFL, Швейцария).

Полученные данные об изменениях параметров шероховатости клеток крови человека, сопровождающих развитие патологических состояний, связанных с воздействием тяжелых металлов и других метаболических состояний, могут быть рекомендованы для использования в клинической практике для улучшения диагностики и ранней профилактики сопутствующих заболеваний у населения Республики Беларусь.

## **6. Опубликованность результатов диссертации в научной печати**

Основные результаты диссертации и положения, выносимые на защиту, достаточно полно представлены в 61 научной работе, в том числе в 14 статьях в научных изданиях, соответствующих п. 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, таких как Журнал прикладной спектроскопии, Оптика и спектроскопия, Весці НАН Беларусі, Scanning, Semiconductors, J. of Physical Chemistry C, Микроэлементы в медицине. Результаты работы прошли неоднократную апробацию на



республиканских и международных научных мероприятиях, были опубликованы в 23 статьях в сборниках научных трудов и материалов научных конференций, в 23 публикациях в сборниках тезисов докладов конференций, а также в 1 патенте на изобретение Республики Беларусь. Таким образом, опубликованность результатов соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук.

## **7. Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК**

Диссертация Д.С. Филимоненко состоит из введения, общей характеристики работы, трех оригинальных глав с результатами исследований, заключения, списка использованных источников (175 наименований) и списка работ автора (61 наименование). Общая характеристика работы содержит актуальность, цели и задачи исследования, научную и практическую значимость полученных результатов, защищаемые положения. Оформление диссертации (разбиение по главам, представление рисунков и таблиц, список использованных источников и собственных работ автора) выполнено в соответствии с требованиями ВАК. Результаты диссертации представлены последовательно, логично и написаны понятным научным языком. Диссертация содержит 57 рисунков и 2 таблицы. Автореферат соответствует основному содержанию диссертации.

## **8. Замечания по диссертации**

Несмотря на тщательное выполнение и оформление работы, имеются недостатки, не влияющие на квалификационные признаки диссертации:

– некоторые сокращения вводятся несколько раз в разных разделах текста и могут встречаться как в русскоязычном, так и в англоязычном варианте без использования аббревиатуры, например, «режим прерывистого контакта (ПК) (tapping mode)». Также в тексте используются сокращения, которые отсутствуют в «Перечне сокращений и обозначений», например, СЗМ (сканирующая зондовая микроскопия), ТМ (тяжелые металлы), ЭМ (электронная микроскопия), ИП (интеркомбинационный переход). На стр. 97 при обсуждении рисунка 3.10 приведено сокращение ZFLAC, которое, по-видимому, относится к образцу CVD1, но нигде не введено и более не встречается;

– неудачно подобрано выражение: на стр. 34 при обсуждении статистического распределения поверхностных гранул по радиусу и высоте при воздействии на мембраны эритроцитов ионов цинка (рис. 1.7) «...сдвиг моды распределения латеральных размеров вправо.», на стр. 101 – «...ход кривой  $I(B)$  для синглет-синглетного перехода также должен иметь неравномерный характер»;

– на рис. 1.10 (стр. 39) приведены экспериментальные данные зависимости интенсивности флуоресценции молекул флуорескамина, встроенных в мембраны эритроцитов (лимфоцитов), от длины корреляции шероховатостей поверхности мембран. Обе зависимости имеют выраженную тенденцию к нарастанию или к убыванию интенсивности флуоресценции на мембранах эритроцитов или лимфоцитов соответственно. Статистически значимая связь между этими



параметрами для мембран эритроцитов может считаться сильной (с коэффициентом корреляции  $R = 0,9$  при  $p < 0,05$ ). Но для лимфоцитов такую взаимосвязь трудно назвать сильной. Полезным было бы указать, учет каких факторов при постановке эксперимента или при обработке данных может усилить взаимосвязь рассматриваемых параметров;

– при выполнении численного эксперимента (стр. 66) методом конечных элементов «размер сетки выбирался таким образом, чтобы обеспечивать высокую точность полученного решения». Однако не приводятся критерии, на которых основывается выбор. В работе следовало бы уточнить, что подразумевается под высокой точностью решения;

– исследование влияния локального магнитного поля на люминесцентные свойства ансамбля NV-центров в алмазе выполнялось при ее возбуждении непрерывным (20 мВт) и механически модулированным лазерным излучением. В тексте диссертации указана только частота модуляции. Для сопоставления зависимостей, полученных в разных экспериментах, нужно знать мощность падающего на образцы излучения и режим возбуждения люминесценции (стационарный или не стационарный). Целесообразно было бы указать, какую длительность и среднюю мощность имели полученные при модуляции импульсы. Кроме того, в тексте сказано: «При получении зависимостей мощность возбуждающего лазерного излучения подбиралась таким образом, чтобы интенсивность люминесценции в нуле магнитного поля была одинаковой для каждого из образцов», но на рисунках и в подписях к ним мощность не указана;

– для эффективного кросс-релаксационного обмена энергией между редкоземельными ионами, ионы должны иметь близкие по энергии переходы, а концентрация ионов должна быть такой, чтобы расстояние между ними обеспечивало возможность безызлучательного обмена энергией. Было бы полезным привести значения минимальной концентрации NV-центров, при которой становится существенным вклад в формирование резонанса в нулевом магнитном поле. Также не помешало бы указать, как именно зависят ширина и глубина нулевого резонанса от концентрации центров;

– за поляризацию лазерного излучения отвечает электрическая составляющая его электромагнитной волны, при этом вектор магнитной составляющей перпендикулярен ей. На рисунках 3.13 (стр. 100) и 3.17 (стр. 104) показано влияние взаимной ориентации векторов поляризации лазерного излучения и напряженности приложенного к образцу магнитного поля, показывающее формирование дополнительных резонансов. Такие резонансы также появляются под действием дополнительного магнитного поля с перпендикулярной ориентацией вектора напряженности по отношению к основному (рис. 3.12). Полезным было бы описать, как изменение напряженности магнитного поля волны лазерного излучения влияет на поведение зависимости интенсивности люминесценции ансамбля NV-центров в алмазе от приложенного магнитного поля;

– анализируя рис. 3.10, можно предположить, что за формирование узких резонансов с шириной 2 Гс большой вклад дают процессы обмена энергией с участием P1-центров. К сожалению, в работе не указано, предсказывает ли



подобный вклад указанных процессов разработанная восьмиуровневая модель NV-центра, использованная при численных расчетах.

Следует отметить, что приведенные выше замечания не затрагивают основных положений и выводов, содержащихся в диссертации, не снижают научной и практической значимости полученных результатов и не влияют на общую положительную оценку диссертации.

#### **9. Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует**

Содержание диссертационной работы Д.С. Филимоненко отражает личный вклад соискателя в опубликованные научные материалы, который состоит в постановке задач исследования и интерпретации полученных данных, в участии в планировании теоретических расчетов и их сопоставлении с результатами экспериментов, в выполнении численного моделирования для оптимизации параметров оптоволоконных зондов, в непосредственном участии в подготовке и написании публикаций, а также в представлении результатов на научных конференциях. Автором самостоятельно были проведены эксперименты по диагностике поверхностной структуры объектов исследования методами зондовой микроскопии и анализ полученных результатов, а также разработана технология изготовления оптоволоконных зондов с оптимизированными параметрами для исследования объектов в жидкой среде методом СБОМ. Анализ содержания диссертационной работы позволяет заключить, что автор в совершенстве владеет современным состоянием исследований в области оптики биообъектов, люминесцентной спектроскопии наноструктур разной природы, оптическими методами сканирующей зондовой микроскопии и современными достижениями в области их развития. Анализ полученных результатов ведется доказательно, с привлечением литературных данных, полученных различными авторами либо в рамках различных экспериментальных подходов, а также с сопоставлением данных экспериментов и численных расчетов. Научный уровень публикаций по теме диссертации позволяет сделать уверенное заключение, что научная квалификация соискателя соответствует искомой ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.05 – оптика.

#### **10. Выводы**

Диссертационная работа Д.С. Филимоненко «Применение методов атомно-силовой и сканирующей ближнеполевой микроскопии для детектирования локальных топографических, оптических и магнитных свойств наноразмерных объектов», представляет собой завершённую квалификационную работу, соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, установленным главой 3 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий», и содержит новые результаты по экспериментальному и теоретическому исследованиям.

Автор диссертационной работы Филимоненко Дмитрий Сергеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.05 – оптика за новые научно-обоснованные

экспериментальные и теоретические результаты, совокупность которых имеет важное значение для развития оптических методов диагностики и исследования свойств наноразмерных объектов различной природы и заключается:

– в установлении методом атомно-силовой микроскопии с оптической регистрацией силы взаимосвязи изменения структуры цитоскелета и уменьшения латеральных и вертикальных размеров мембранных белковых кластеров с увеличением концентрации внутриклеточного кальция в эритроцитах; а также изменения тонкой структуры шероховатости поверхности клеток, проявляющегося в уменьшении шероховатостей на поверхности эритроцитов и в увеличении числа шероховатостей на поверхности лимфоцитов, при воздействии микромолярных концентраций ионов свинца на эритроциты и миллимолярных концентраций ионов цинка на эритроциты и лимфоциты;

– в оптимизации геометрических параметров изогнутых оптоволоконных зондов и способа их приклейки к камертону, позволивших расширить области применения сканирующей ближнеполевой оптической микроскопии в режиме прерывистого контакта, благодаря увеличению добротности системы «кварцевый камертон - изогнутый зонд» и минимизации латерального силового воздействия по отношению к исследуемым образцам;

– в установлении зависимости интенсивности фотолюминесценции ансамбля NV-центров в алмазе от слабого магнитного поля, характеризующейся резонансным локальным увеличением интенсивности в инфракрасной области спектра при ее соответствующем уменьшении в видимом спектральном диапазоне – формированием экстремумов, и влияния мощности и поляризации возбуждающего лазерного излучения на их амплитуду и форму.

Кандидат физико-математических наук,  
Заместитель заведующего центром «Нелинейная оптика  
и активированные материалы» Государственного  
научного учреждения «ИНСТИТУТ ФИЗИКИ имени  
Б.И.СТЕПАНОВА НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ  
НАУК БЕЛАРУСИ»



И.А. Ходасевич

Я, Ходасевич Инна Андреевна, даю согласие на публикацию данного отзыва в открытом доступе на официальном сайте ИНСТИТУТА ФИЗИКИ НАН Беларуси в сети Интернет.

И.А. Ходасевич  
05.01.2024