

Лекция

Атомно-силовая
микроскопия (АСМ)

Сканирующая зондовая микроскопия (СЗМ) - один из мощных современных методов исследования морфологии и локальных свойств поверхности твердого тела с высоким пространственным разрешением.

Сканирующий туннельный микроскоп (СТМ) – первый из семейства зондовых микроскопов - был изобретен в 1981 году

Гердом Биннигом и
Генрихом Рорером.

В своих работах они показали, что это достаточно простой и весьма эффективный способ исследования поверхности с пространственным разрешением вплоть до атомарного.



Фотография немецкого физика Герда Биннига (слева) и швейцарского физика Генриха Рорера (справа), «Сканирующий туннельный микроскоп». Nobelprize.org. Nobel Media AB, 2017. Copyright Nobel Media AB 2017.

Вслед за туннельным микроскопом в течение короткого времени были созданы

атомно-силовой микроскоп (АСМ),

магнитно-силовой микроскоп (МСМ),

электросиловой микроскоп (ЭСМ),

ближнепольный оптический микроскоп (БОМ)

и другие приборы, имеющие сходные принципы работы и называемые *сканирующими зондовыми микроскопами*.

Устройство и принцип работы атомно-силового микроскопа

В сканирующих зондовых микроскопах исследование микрорельефа поверхности и ее локальных свойств проводится с помощью специальным образом подготовленных **зондов** в виде игл.

Рабочая часть таких зондов (острие) имеет размеры порядка **десяти нанометров**.

Характерное *расстояние между зондом и поверхностью образцов* в зондовых микроскопах по порядку величин составляет **0,1 – 10 нм**.

В основе работы зондовых микроскопов лежат *различные типы взаимодействия зонда с поверхностью*.

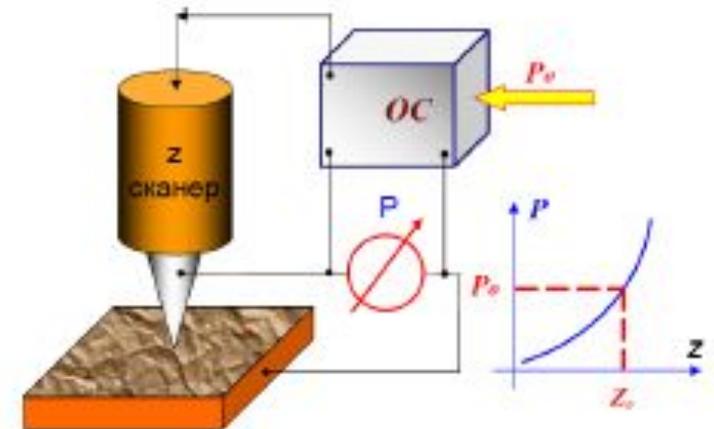


Схема организации системы обратной связи зондового микроскопа

АСМ позволяет получать изображения объектов с высоким разрешением в условиях, при которых макромолекулы не подвергаются жесткой обработке.

В основе работы АСМ лежит силовое взаимодействие, возникающее в процессе сканирования между зондом кантилевера и поверхностью исследуемого образца.



Схематическое изображение зондового датчика АСМ

При сканировании консоль кантилевера отклоняется от равновесного положения в зависимости от рельефа, величина этого отклонения регистрируется системой детектирования, которая посылает в систему управления сигнал, пропорциональный величине отклонения.

Система управления перемещает образец в вертикальном направлении таким образом, чтобы вернуть систему образец-зонд в равновесное положение.

Одновременно перемещения зонда регистрируются и в дальнейшем интерпретируются как рельеф поверхности.

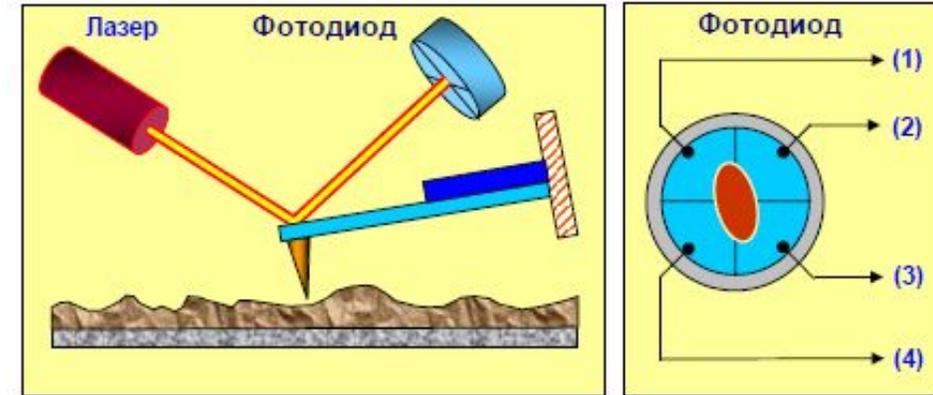


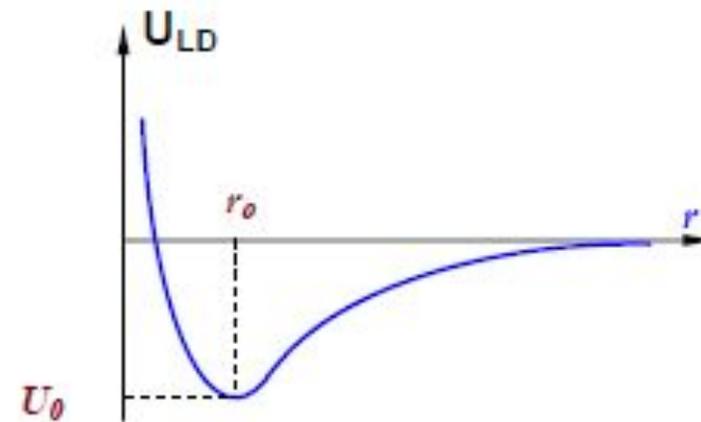
Схема оптической регистрации изгиба консоли зондового датчика АСМ

В процессе сканирования по мере приближения зонд к образцу первоначально слабо, а затем сильнее притягиваются благодаря наличию сил Ван-дер-Ваальса.

Сила притяжения будет возрастать до тех пор, пока атомы зонда и образца не сблизятся настолько, что их электронные оболочки начнут перекрываться, это приведет к появлению отталкивающей электростатической силы.

При дальнейшем уменьшении межатомного расстояния электростатическое отталкивание экспоненциально возрастает и ослабляет силу притяжения.

Эти силы уравниваются на расстоянии между атомами до 0,2 нм.



Качественный вид потенциала Леннарда – Джонса

Наиболее часто энергию ван-дер-ваальсова взаимодействия двух атомов, находящихся

на расстоянии r друг от друга, аппроксимируют степенной функцией – потенциалом Леннарда-Джонса

Потенциал Леннарда-Джонса позволяет оценить силу взаимодействия зонда с образцом

Сила, действующая на зонд со стороны поверхности образца, имеет как нормальную к поверхности, так и латеральную (лежащую в плоскости поверхности образца) составляющие.

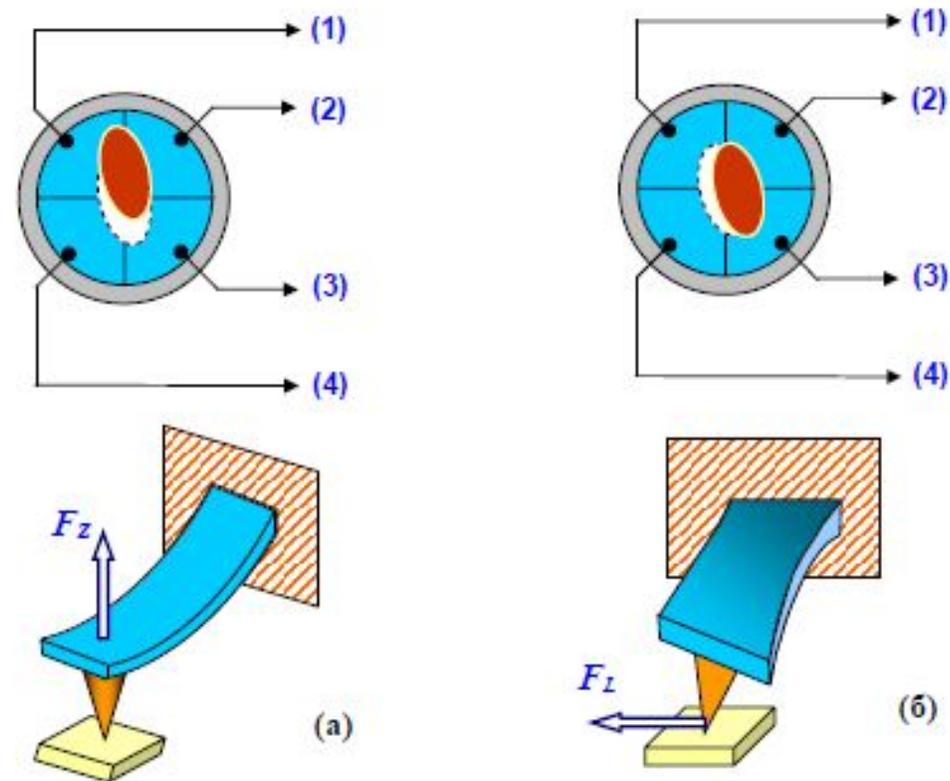
Взаимодействие зонда с образцом имеет более сложный характер, однако основные черты данного взаимодействия сохраняются - зонд АСМ испытывает притяжение со стороны образца на больших расстояниях и отталкивание на малых.

Получение АСМ изображений рельефа поверхности связано с регистрацией малых изгибов упругой консоли зондового датчика.

В атомно-силовой микроскопии для этой цели широко используются оптические методы.

Оптическую систему АСМ юстируют таким образом, чтобы излучение полупроводникового лазера фокусировалось на консоли зондового датчика, а отраженный пучок попадал в центр фоточувствительной области фотоприемника.

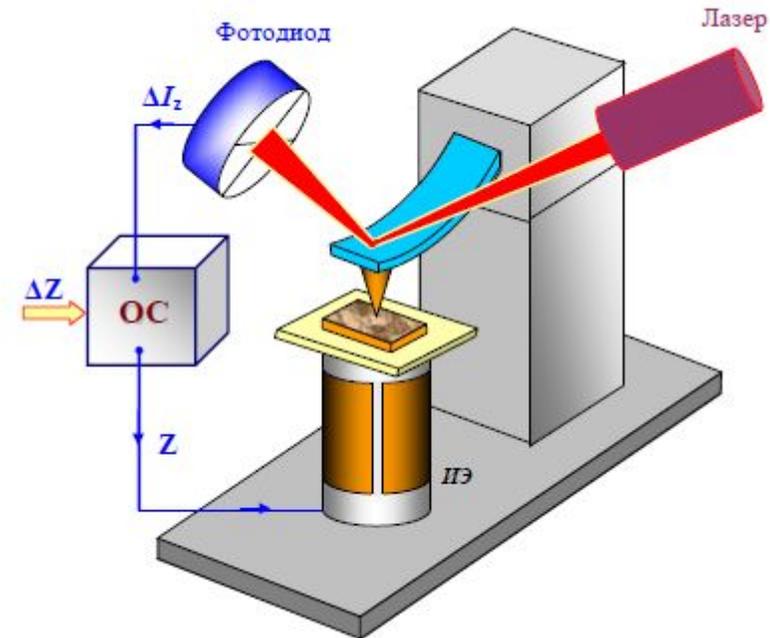
В качестве позиционно - чувствительных фотоприемников применяются четырехсекционные полупроводниковые фотодиоды.



Соответствие между типом изгибных деформаций консоли зондового датчика и изменением положения пятна засветки на фотодиоде

Основные регистрируемые оптической системой параметры

- это величина деформации изгиба консоли под действием нормальной составляющей сил притяжения или отталкивания
- и величина деформации кручения под действием касательных составляющих сил взаимодействия зонда с поверхностью.



Упрощенная схема организации обратной связи в атомно-силовом микроскопе

Пространственное разрешение АСМ зависит от радиуса закругления зонда и чувствительности системы, регистрирующей отклонения консоли.

В настоящее время реализованы конструкции АСМ, позволяющие получать атомарное разрешение при исследовании поверхности образцов.

Так как измерение рельефа поверхности проводят за свет силового взаимодействия, АСМ позволяет получить изображение топографии проводящих и непроводящих поверхностей.

Недостатки АСМ:

- Небольшой размер поля сканирования (max 150 x 150 мкм);
- Максимальный перепад высот составляет несколько мкм;
- Сложность при выборе зонда, необходимо учитывать разрешение получаемого изображения;
- Отсутствие одновременной информации о всей поверхности образца.

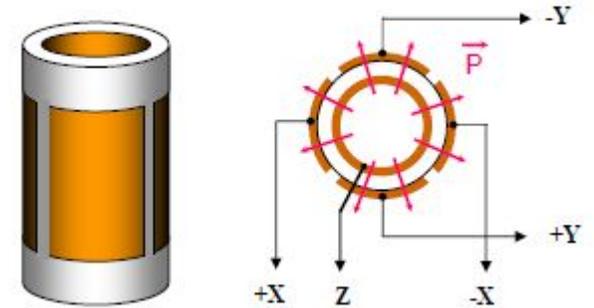
Кроме непосредственного исследования структуры поверхности методом контактной АСМ можно исследовать:

- Силы трения и адгезионные силы;
- Электростатическое и магнитное взаимодействие с образцом (при использовании специальных кантилеверов с магнитными и проводящими покрытиями);
- Применение жидкостной АСМ позволяет локально проводить электрохимические реакции, прикладывая потенциал между зондом и проводящей поверхностью.

Сканирующие элементы

Для работы зондовых микроскопов необходимо контролировать рабочее расстояние зонд-образец и осуществлять перемещения зонда в плоскости образца с высокой точностью (на уровне долей ангстрема).

Эта задача решается с помощью специальных манипуляторов – сканирующих элементов (сканеров).



Трубчатый пьезосканер

Сканеры изготавливают из пьезоэлектриков – материалов, обладающих пьезоэлектрическими свойствами.

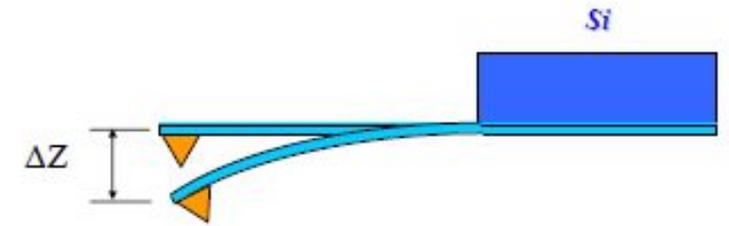
Пьезоэлектрики изменяют свои размеры во внешнем электрическом поле.

Наиболее широко используют сканеры, позволяющие перемещать объект в трех координатах, изготовленные на основе одного трубчатого элемента.

Зондовые датчики атомно-силовых микроскопов

Зондирование поверхности в атомно-силовом микроскопе производится с помощью специальных зондовых датчиков, представляющих собой упругую консоль – кантилевер (cantilever) с острым зондом на конце.

Датчики изготавливаются методами фотолитографии и травления из кремниевых пластин. Упругие консоли формируются, в основном, из тонких слоев легированного кремния, SiO_2 или Si_3N_4 .

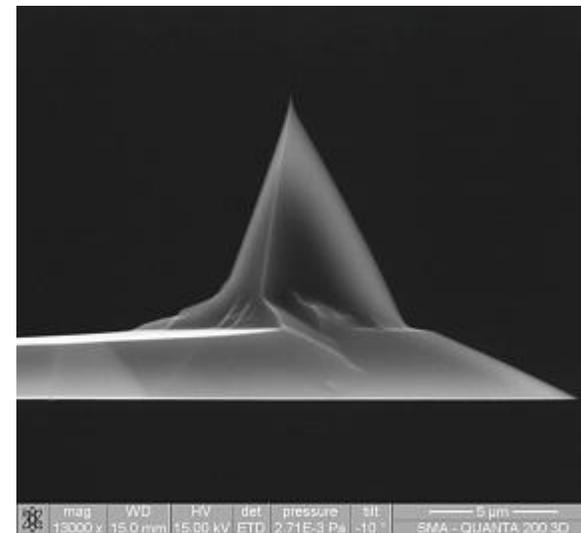


Схематичное изображение зондового датчика АСМ

Один конец кантилевера жестко закреплен на кремниевом основании – держателе.

На другом конце консоли располагается собственно зонд в виде острой иглы.

Радиус закругления современных АСМ зондов составляет $1 \div 50$ нм в зависимости от типа зондов и технологии их изготовления. Угол при вершине зонда - $10 \div 20^\circ$.



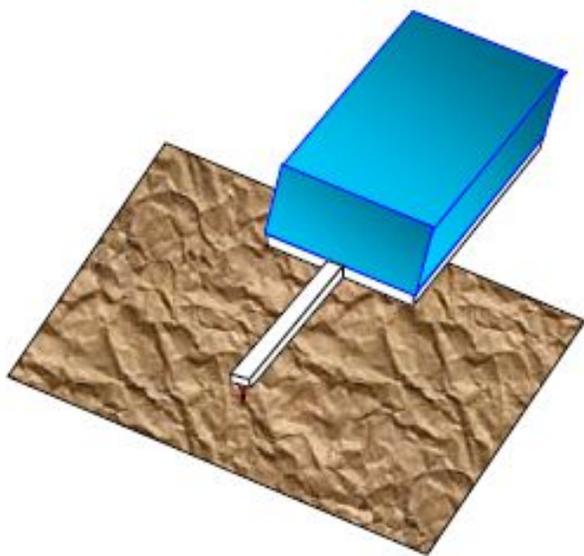
Стандартные АСМ кантилеверы для работы в бесконтактном/полуконтактном режиме

<https://www.mteon.ru/katalog/rashodnye-materialy-i-komplektujushhie/kantilevery/polukontaktnye-kantilevery/>

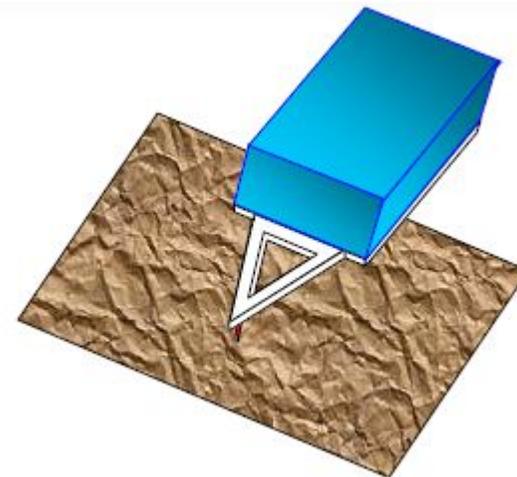
Коэффициенты жесткости кантилеверов k варьируются в диапазоне $10^{-3} \div 10$ Н/м в зависимости от используемых при их изготовлении материалов и геометрических характеристик.

При работе зондовых АСМ датчиков в колебательных режимах важны резонансные свойства кантилеверов.

В атомно-силовой микроскопии применяются, в основном, зондовые датчики двух типов – с кантилевером в виде балки прямоугольного сечения и с треугольным кантилевером, образованным двумя балками.

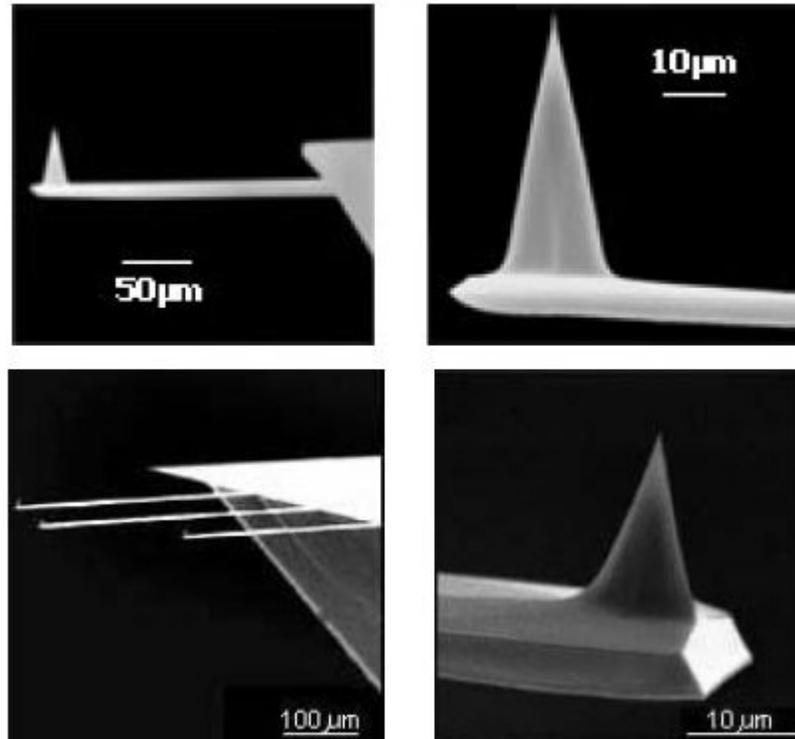


Общий вид зондового АСМ датчика с одиночной консолью прямоугольного сечения



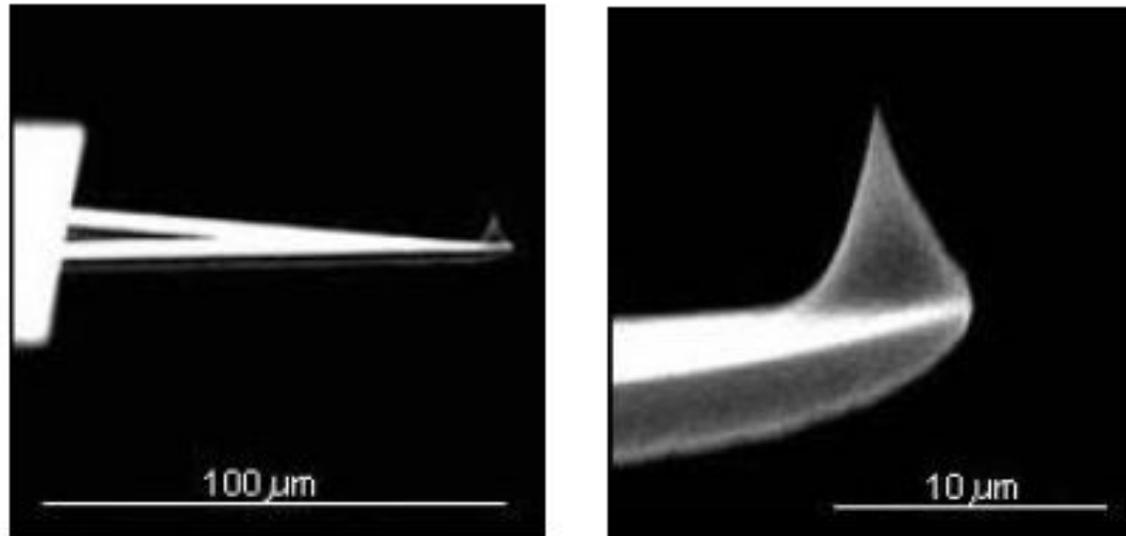
Общий вид зондового датчика с треугольным кантилевером

Иногда зондовые датчики АСМ имеют несколько кантилеверов различной длины (а значит, и различной жесткости) на одном основании. В этом случае выбор рабочей консоли осуществляется соответствующей юстировкой оптической системы атомно-силового микроскопа.



Электронно-микроскопическое изображение АСМ зонда, расположенного на прямоугольной консоли

Зондовые датчики с треугольным кантилевером имеют при тех же размерах большую жесткость и, следовательно, более высокие резонансные частоты. Чаще всего они применяются в колебательных АСМ методиках.



Электронно-микроскопическое изображение АСМ зонда, расположенного на треугольном кантилевере

Защита атомно-силового микроскопа от внешних воздействий

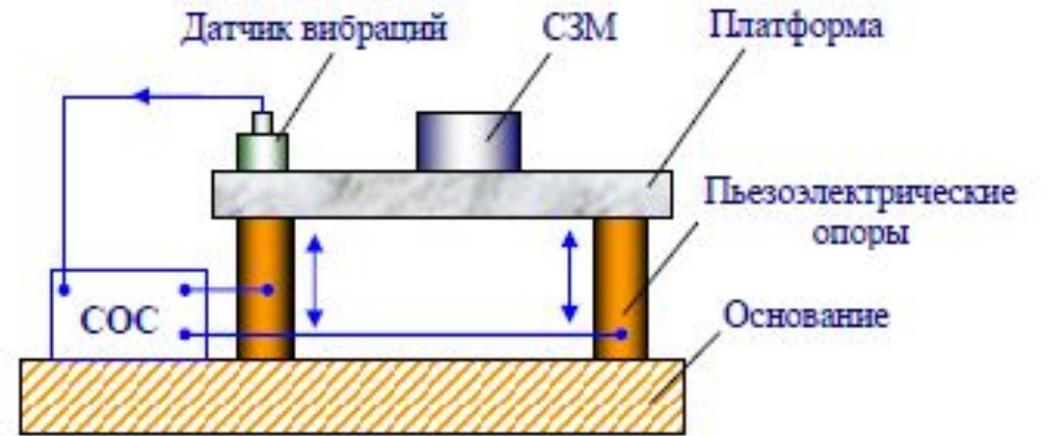
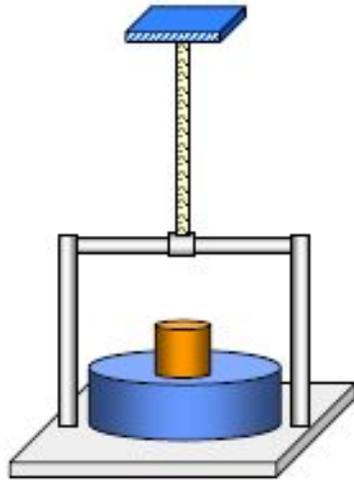
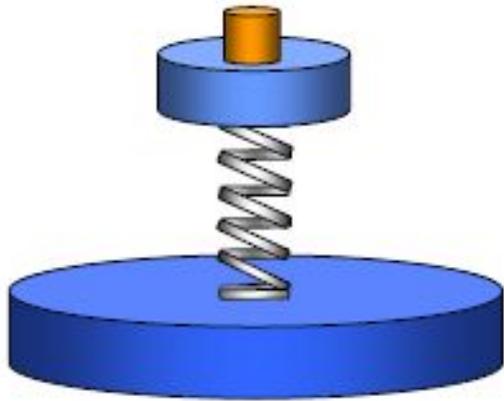
Конструкция АСМ представляет собой колебательную систему, имеющую целый набор собственных резонансных частот.

С целью уменьшения влияния внешних вибраций измерительные головки изготавливают из массивных металлических деталей, имеющих высокие (более 100 кГц) частоты. Наименьшими резонансными частотами обладают сканирующие элементы зондовых микроскопов.

Для защиты приборов от внешних вибраций применяются различные типы виброизолирующих систем:

пассивные (виброизолирующая платформа, упругий подвес);

активные (электромеханические системы с обратной связью).

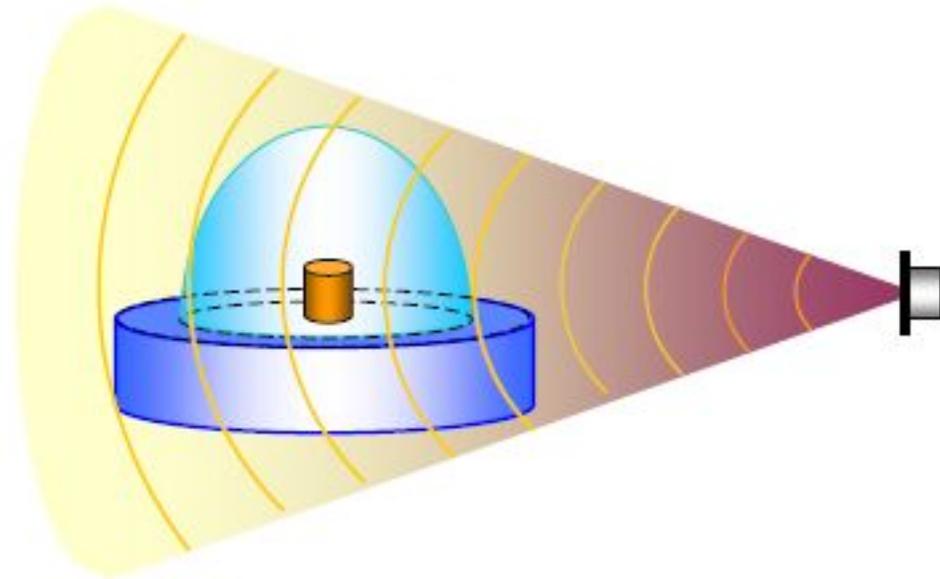


Пассивные виброизолирующие системы

**Схема активной виброизолирующей системы
система обратной связи (СОС)**

Еще одним источником вибраций элементов конструкции зондовых микроскопов являются акустические шумы различной природы.

Для защиты СЗМ от акустических помех применяются различные защитные колпаки, позволяющие существенно снизить уровень акустической помехи в области рабочего промежутка микроскопа. Наиболее эффективной защитой от акустических помех является размещение измерительной головки зондового микроскопа в вакуумной камере.



Защита СЗМ от акустических шумов

Устройство зондовой нанолaborатории ИНТЕГРА Вита

Атомно-силовой микроскоп базируется на инвертированном оптическом микроскопе и включает следующие основные системы и блоки:

1 – базовый блок;

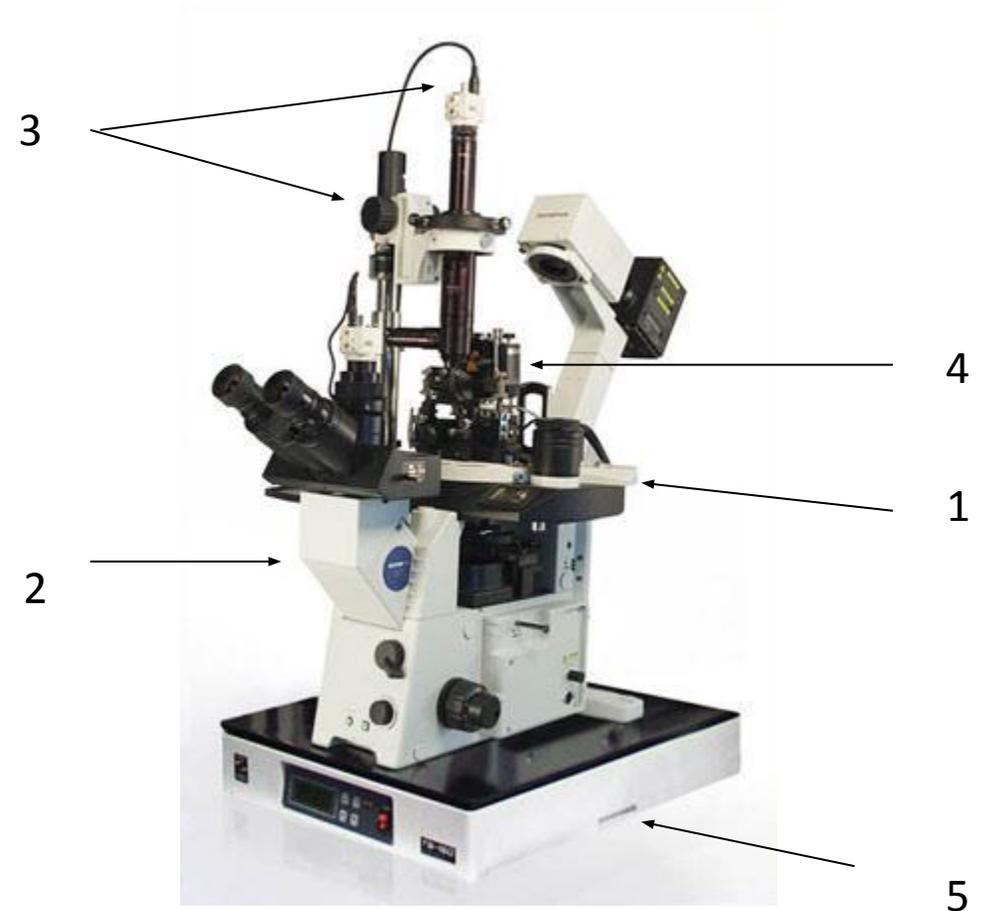
2 – инвертированный оптический микроскоп Olympus X-71;

3 – измерительный блок, включающий измерительную головку, оптическое сменное основание, жидкостные ячейки;

4 – система видеонаблюдения;

5 – система виброизоляции;

6 – система управления, состоящая из СЗМ контроллера, термоконтроллера, компьютера и интерфейсной платы;



ИНТЕГРА Вита. Интеграция СЗМ с дальнепольным инвертированным оптическим микроскопом

Режимы сканирования клеток на АСМ

АСМ расширяет возможности получения информации о биологических материалах, потому что она позволяет проводить исследование живых объектов в окружении, состав которого близок к природным условиям.

Режимы сканирования классифицируют по двум критериям:

- Механическое состояние кантилевера;
- Характер действия силы между кантилевером и поверхностью образца.

В зависимости от механического состояния кантилевера режимы работы АСМ можно разделить на:

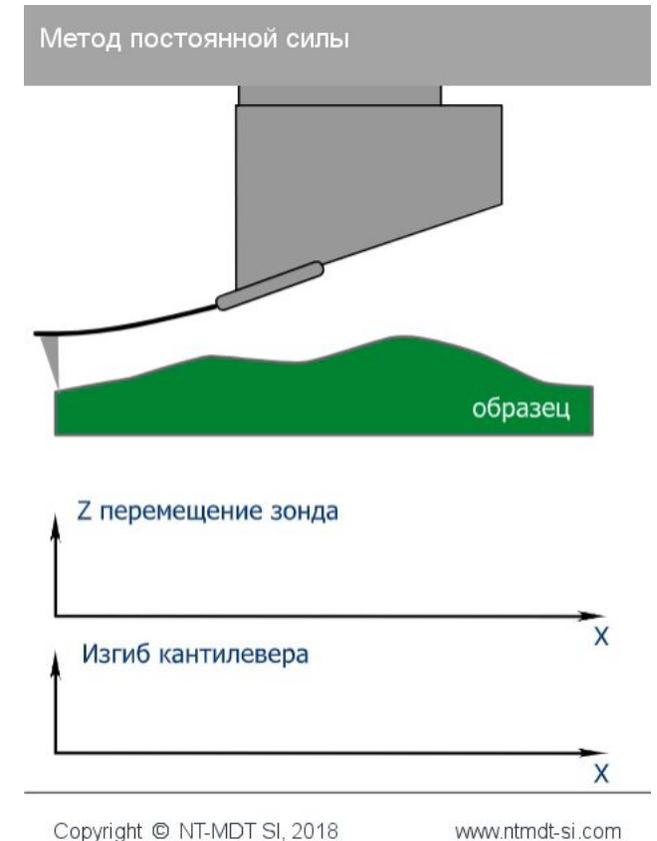
- Статические и
- Динамические (вибрационные, колебательные).

В зависимости от характера действия силы между кантилевером и поверхностью образца режимы работы АСМ классифицируют на:

- контактный;
- полуконтактный;
- бесконтактный.

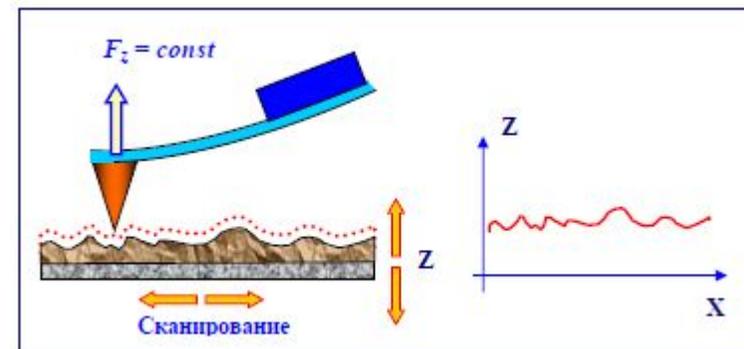
Контактная атомно-силовая микроскопия

В контактных квазистатических методиках остриё зонда находится в непосредственном соприкосновении с поверхностью, при этом силы притяжения и отталкивания, действующие со стороны образца, уравниваются силой упругости консоли. При работе АСМ в таких режимах используются кантилеверы с относительно малыми коэффициентами жесткости, что позволяет обеспечить высокую чувствительность и избежать нежелательного чрезмерного воздействия зонда на образец.

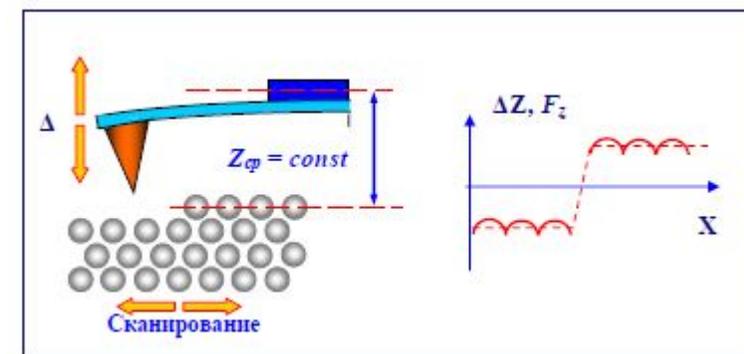


В квазистатическом режиме АСМ изображение рельефа исследуемой поверхности формируется либо при постоянной силе взаимодействия зонда с поверхностью (сила притяжения или отталкивания), либо при постоянном среднем расстоянии между основанием зондового датчика и поверхностью образца. При сканировании образца в режиме $F_z = \text{const}$ система обратной связи поддерживает постоянной величину изгиба кантилевера, а следовательно, и силу взаимодействия зонда с образцом.

При этом управляющее напряжение в петле обратной связи, подающееся на Z-электрод сканера, будет пропорционально рельефу поверхности образца.



Формирование АСМ изображения при постоянной силе взаимодействия зонда с образцом



Формирование АСМ изображения при постоянном расстоянии между зондовым датчиком и образцом.

При исследовании образцов с малыми (порядка единиц ангстрем) перепадами высот рельефа часто применяется режим сканирования при постоянном среднем расстоянии между основанием зондового датчика и поверхностью ($Z = \text{const}$).

В этом случае зондовый датчик движется на некоторой средней высоте $Z_{\text{ср}}$ над образцом, при этом в каждой точке регистрируется изгиб консоли ΔZ , пропорциональный силе, действующей на зонд со стороны поверхности.

АСМ изображение в этом случае характеризует пространственное распределение силы взаимодействия зонда с поверхностью.

Контактный режим АСМ позволяет сканировать поверхность с высокой скоростью, что важно, например, при изучении процессов в реальном времени.

Образцы с сильными вертикальными изменениями топографии проще всего сканировать в контактном режиме.

Возможно достижение атомарного разрешения поверхности в контактном режиме.

Недостаток контактных АСМ методик:

- непосредственное механическое взаимодействие зонда с поверхностью.

Это часто приводит к поломке зондов и разрушению поверхности образцов в процессе сканирования.

- При постоянном контакте зонда с поверхностью при их относительном движении возникают латеральные силы (силы трения).

- На воздухе нормальная составляющая взаимодействий зонд-образец увеличивается за счет капиллярных сил от абсорбированного на образце слоя жидкости. Т.о. латеральные сил совместно с высокой нормальной составляющей силы зонд-образец могут привести к сильному нарушению структуры мягких образцов. Проблема частично снимается в жидкости (ниже нормальная составляющая силы образец-зонд). Биологические образцы обычно сканируют с помощью самых гибких кантилеверов,

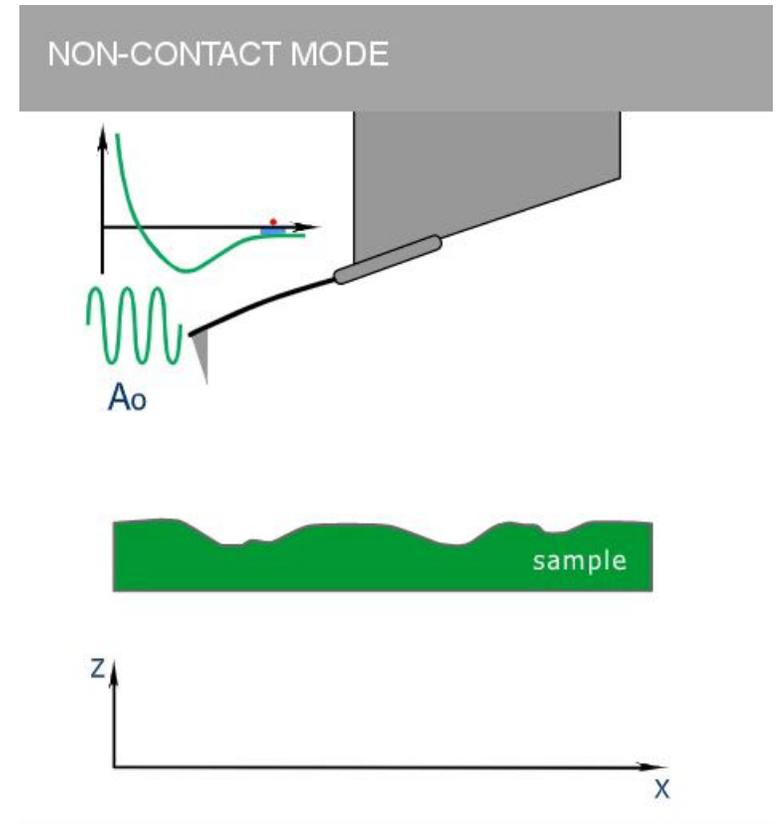
Бесконтактный режим

В бесконтактном режиме АСМ отслеживает притягивающие Ван-дер-Ваальсовы силы между зондом кантилевера и поверхностью образца.

Зазор между зондом и поверхностью обычно составляет 5-10 нм.

На таком расстоянии электронные орбитали атомов зонда начинают синхронизироваться с электронными орбиталями атомов образца.

В результате возникает слабое притяжение атомов зонда и образца.



В области бесконтактного режима работы АСМ кривая Ван-дер-Ваальсовых сил более полого, чем в контактной. Это обеспечивает меньшие отклонения консоли кантилевера при изменении величины зазора между зондом и образцом. В то же время необходимо использовать более жесткую консоль, чтобы исключить прилипание зонда к поверхности образца (при приближении на малое расстояние).

Однако жесткая консоль в ответ на малые силы отклоняется меньше, поэтому для режима бесконтактного сканирования на АСМ должна быть использована более чувствительная схема детектирования.

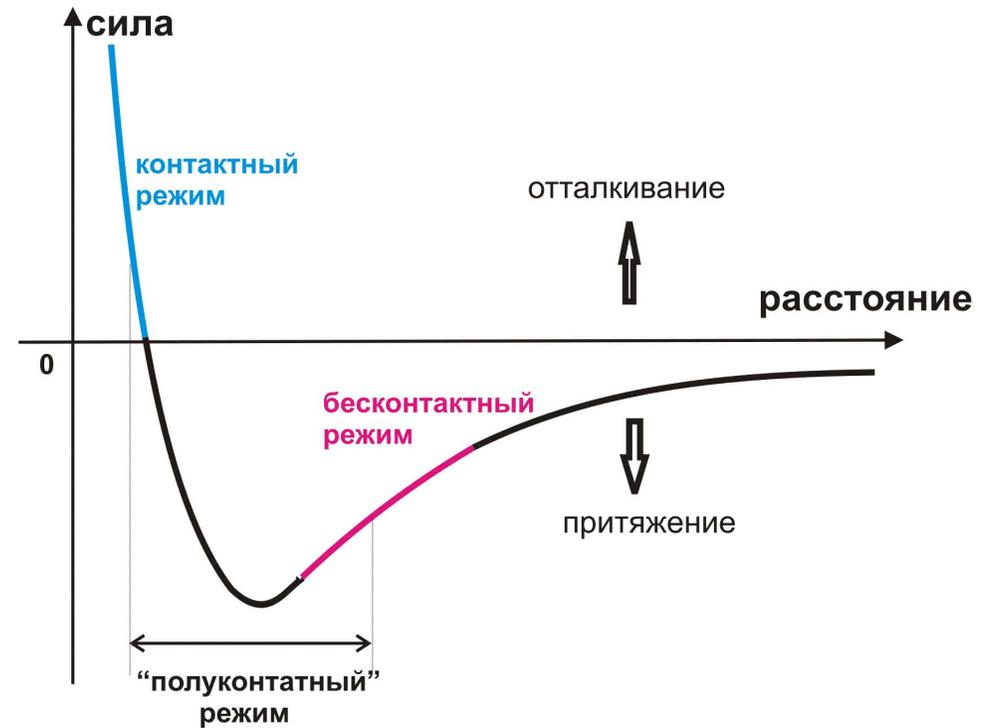
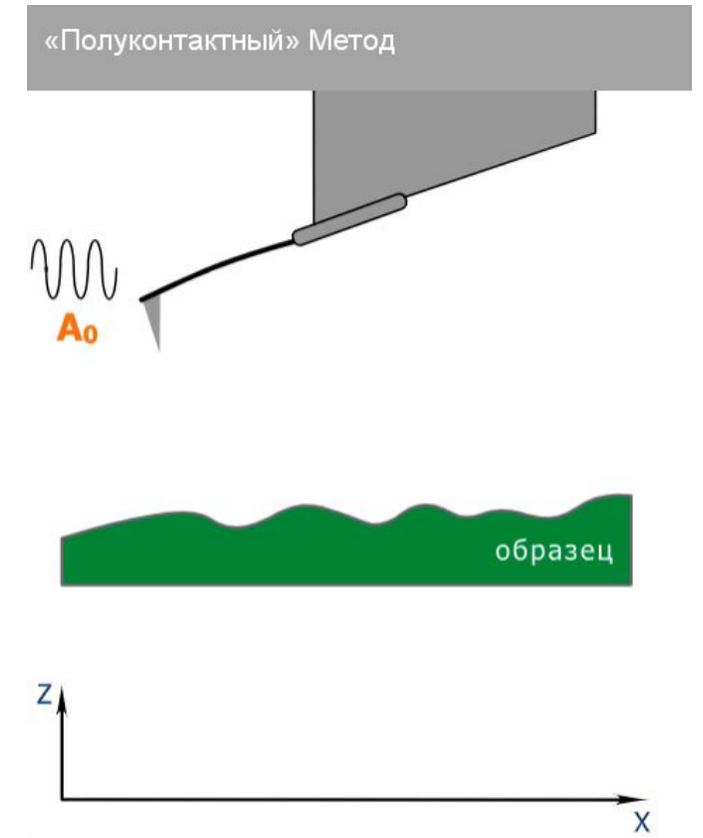


График зависимости сила Ван-дер-Ваальса от расстояния между кантилевером и поверхностью образца.

Полуконтактная атомно-силовая микроскопия

Сканирование поверхности образца с колеблющимся таким образом кантилевером является не бесконтактным, а **прерывисто-контактным**. Соответствующий метод Сканирующей Зондовой Микроскопии (Прерывисто-контактный Метод, ПКМ) довольно часто используется на практике.

При использовании этого метода давление кантилевера на поверхность образца существенно меньше, что позволяет работать с более мягкими и легко разрушающимися материалами, такими как полимеры и биоматериалы. Прерывисто-контактный Метод также более чувствителен к различным взаимодействиям с поверхностью, что дает возможность ряд характеристик поверхности – распределение вязкости и упругости, электрических и магнитных доменов.



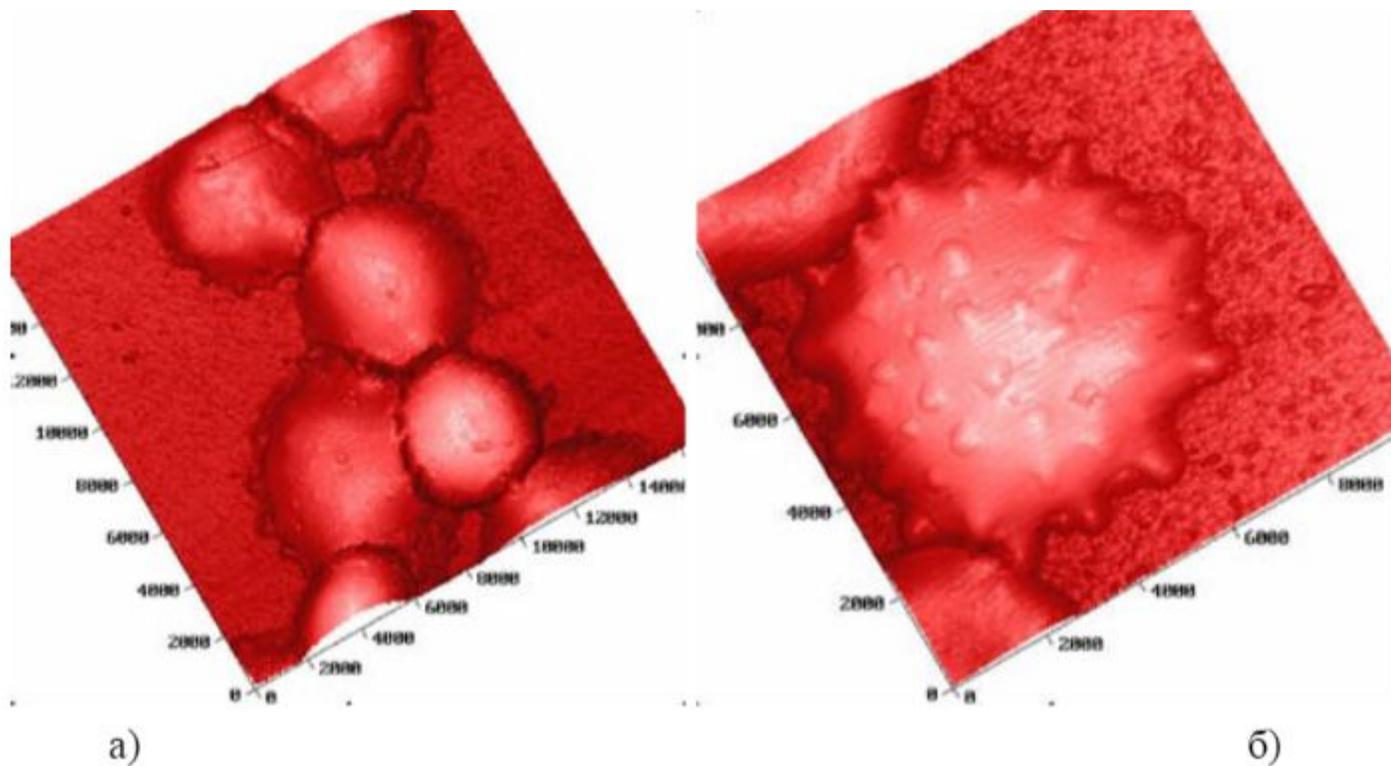
На практике чаще используется так называемый «полуконтактный» режим колебаний кантилевера (иногда его называют прерывисто-контактный, а в иностранной литературе – «intermittent contact» или «tapping mode» режимы).

При работе в этом режиме возбуждаются вынужденные колебания кантилевера вблизи резонанса с амплитудой порядка 10 – 100 нм. Кантилевер подводится к поверхности так, чтобы в нижнем полупериоде колебаний происходило касание поверхности образца

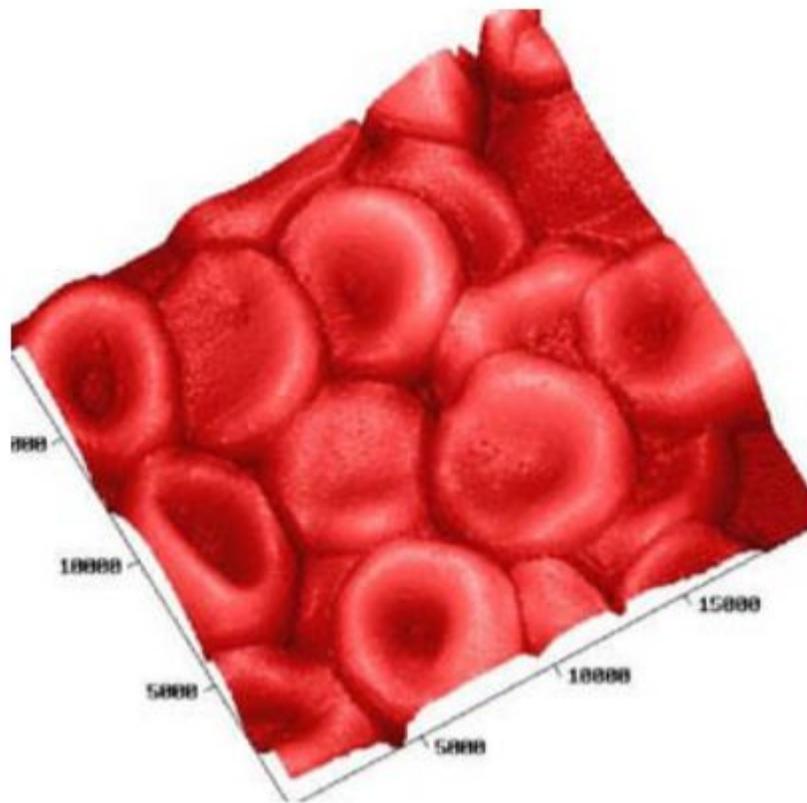
Основным преимуществом режима прерывистого контакта перед контактным режимом является кажущееся исчезновение латеральных сил (при этом меньшим механическим воздействиям подвергается образец).

Недостаток:

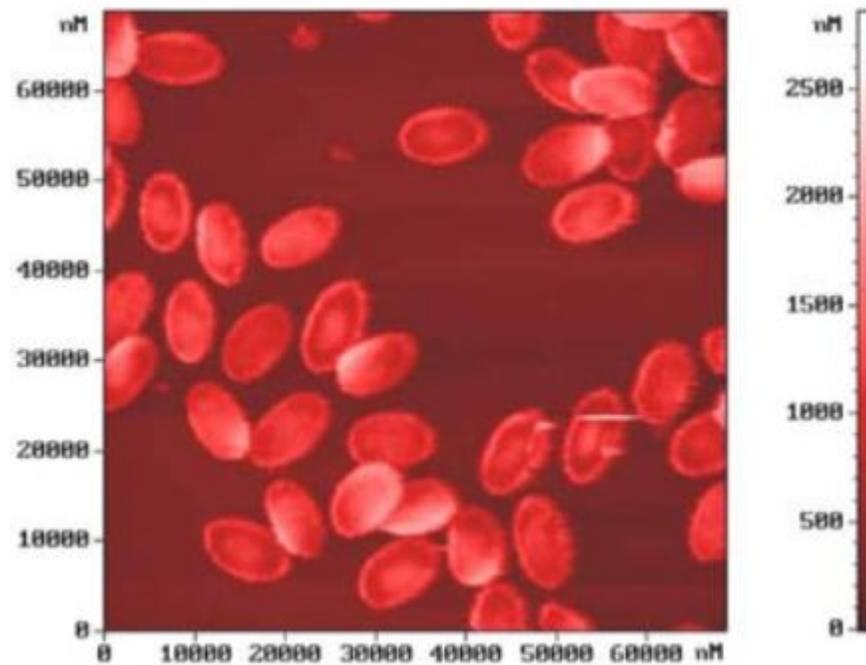
- Относительно низкая скорость сканирования.



Влияние нарушений в методике приготовления эритроцитов для АСМ на их форму: а) нарушения рН при промывке; б) влияние гипертонированного раствора



а)



б)

Сканы эритроцитов, полученные полуконтактным методом: а) – эритроциты макаки резус, осажденные из суспензии. IC mode Форма относительно мягких эритроцитов млекопитающих искажается даже под действием соседних клеток. б) - Эритроциты петуха. IC mode. Имеющие ядро эритроциты птиц являются более жесткими по сравнению с эритроцитами млекопитающих и не искажаются при взаимном контакте.

Для ознакомления:

- Электростатическая силовая микроскопия

<https://www.ntmdt-si.ru/resources/spm-principles/atomic-force-microscopy/electrostatic-force-modes/efm>

- Статическая Магнитно-Силовая Микроскопия (С МСМ)

<https://www.ntmdt-si.ru/resources/spm-principles/atomic-force-microscopy/mfm/dc-mfm>

- Динамическая Магнитно-силовая Микроскопия

<https://www.ntmdt-si.ru/resources/spm-principles/atomic-force-microscopy/mfm/ac-mfm>