

Mikroskopie skenující sondou Roman Kubínek, Milan Vůjtek

Katedra experimentální fyziky, Přírodovědecká fakulta

Univerzity Palackého v Olomouci



Tento projekt je spolufinancován *Evropským sociálním fondem* a státním rozpočtem České republiky v rámci projektu *Vzdělávání výzkumných pracovníků v Regionálním centru pokročilých technologií a materiálů* (CZ.1.07/2.3.00/09.0042)

Mikroskopie skenující sondou

SPM – Scanning Probe Microscopy

1981 – STM – Skenovací tunelovací mikroskopie



1986 Nobelova cena

Gerd Binnig Heinrich Rohrer

konstrukce STM (Scanning Tunneling Microscope)



1986 – AFM (Atomic Force Microscopy) Mikroskopie atomárních sil

1987 – do současnosti – další klony využívající princip přesného polohování a těsného přiblížení sondy k povrchu



Charakteristika metod SPM

 SPM přístroje pracují v oblasti blízkého pole – dosažení rozlišení pod tzv. difrakční mezí (u SM srovnatelné s vlnovou délkou), ovšem za cenu získání pouze lokální informace o vzorku.

 Postupné měření ve více bodech – skenování sondou nad vzorkem pro charakterizaci celého povrchu vzorku.

 Metody poskytují trojrozměrný obraz v přímém prostoru, narozdíl např. od difrakčních technik nebo elektronové mikroskopie s vysokým rozlišením. Techniky SPM tedy vhodně překrývají rozsahy dosažitelné pomocí optické a elektronové mikroskopie – využití k vzájemným kombinacím.

•**Technika SPM nemusí být pouze zobrazovací** – lze ji použít i k modifikaci povrchů až na atomární škále. (Lze provádět litografické zpracování, mechanické odstraňování, manipulace s molekulami i jednotlivými atomy).



Vývojové fáze metod SPM – 1

1928 Synge – teoretický návrh optického zobrazení ostrým skleněným hrotem těsně nad povrchem (Znovuobjevení předchozího teoretického principu skenování O'Keefe 1956). **1972** Ash – Experimentální ověření rozlišení pod vlnovou mezí s mikrovlnami o λ =3 cm, rozlišení 150 µm.

1972 Young - Sestrojení Topografineru, přístroje, který mapuje topografii vodivých vzorků s rozlišením 3 nm vertikálně a 400 nm horizontálně





Vývojové fáze metod SPM – 2

1981 První úspěšná realizace tunelování Binnigem a Rohrerem v roce v laboratořích *IBM* – přístroj pracuje ve vakuu, vibrace jsou tlumeny magnetickou levitací, použití zpětné vazby a piezokeramických pohybových členů

1982 Realizace kapacitní mikroskopie a následně rozvoj mnoha dalších *"klonů",* např. **AFM 1986**

1989 První pozorování poškození vzorku vlivem interakce s hrotem a následné využití k modifikaci povrchů (nanolitografie) sestavení loga IBM z atomů xenonu na niklu



Vývojové fáze metod SPM – 3

1993 Demonstrace kvantových vlastností vznikem stojatých vln v kruhové bariéře sestavené z atomů železa na mědi



2000 Řízení chemických reakcí jednotlivých molekul, bouřlivý rozvoj aplikací nejen v oblasti základního, ale i aplikovaného výzkumu.



Rozvoj metod SPM v 1. desetiletí

Tunelovací	1981	Binnig, Rohrer
Optická blízkého pole	1982	Pohl
Kapacitní		Matey, Blanctepelná Williams, Wickramasinghe
Atomárních sil	1986	Binnig, Rohrer
Přitažlivých sil		Martin, Williams, Wickramasinghe
Magnetických sil		Martin, Wickramasinghe
Třecích sil		Mate, McClelland, Chiang
Elektrostatických sil		Martin, Abraham, Wickramasinghene
Elastická tunelovací spektroskopie		Smith, Kirk, Quate
Laserem řízený STM		Arnold, Krieger, Walther
Emise balistických elektronů		Kaiser
Inverzní fotoemisní	1988	Coombs, Gimzewski, Reihl, Sass, Schlittler
Akustická blízkého pole	1989	Takata, Hasegawa, Hosaka, Hosoki, Komoda
Šumová		Moller, Esslinger, Koslowskispinová Manassen, Hamers,
lontová	1989	Hansma, Drake, Marti, Gould, Prater
Elektrochemická	1989	Husser, Craston, Bard
Absorpční	1989	Weaver, Wickramasinghe
Fotonová absorpční	1989	Wickramasinghe, Weaver, Williams
Chemického potenciálu	1990	Williams, Wickramasinghe
Fotonapěťová	1990	Hamers, Markert



Princip mikroskopií se skenující sondou



- umístění mechanické sondy do blízkosti povrchu vzorku
- rížení pohybu ve směru x–y, z signálem zpětné vazby piezoelektricky (rozlišení 10^{-10} m)



Pozice hrotu a povrchu





Skenovací tunelovací mikroskopie STM





Rekonstrukce atomární struktury Al_{0.8}Ga_{0.2}As s využitím STM





Mikroskopie atomárních sil (AFM)



- kontaktní režim $F \approx 10^{-7} \text{ N}$ – režim konstantní síly
 - $d \approx 1$ nm tuhé vzorky
- nekontaktní režim

 $F_{\rm w} \approx 10^{-12}$ N, $d \approx 100$ nm, raménko kmitá s $f_r \approx 200$ kHz – měkké, pružné (biologické) vzorky

poklepový režim

mapování atomárních sil

- odpudivé síly elektrostatické
- přitažlivé síly Van der Waalsovy





Polohovací zařízení – skener

skener – zajišťuje přesnou pozici vzhledem k povrchu vzorku

piezoelektrická keramika – PbZrO₃, PbTiO₃



zkreslení skeneru – chyby skenování:

nejednoznačnost při rozpínání a smršťování skeneru

• hystereze

• stárnutí

- nelinearita
- prodloužení není lineární funkcí přiloženého napětí • tečení (creep) – postupné prodlužování skeneru
 - změna vlastností piezoelektrické keramiky





Schéma detekce v kontaktním režimu

kontaktní režim F ≈ 10⁻⁷ N – režim konstantní síly d ≈ 1 nm

zejména vhodné pro tuhé vzorky





Schéma detekce

v bezkontaktním a poklepovém režimu nekontaktní režim – měkké, pružné (biologické) vzorky poklepový režim $F_{\rm w} \approx 10^{-12}$ N, $d \approx 100$ nm, Feedback Loop Maintains Constant Oscillation NanoScope IIIa Amplitude raménko kmitá s $f_r \approx 200 - 400 \text{ kHz}$ Controller Electronics Frequency Synthesizer Laser typický hrot s poloměrem 5 až 10 nm Scanner X,Y Detector Electronics Ζ 4 Split Cantilever & T ip Photodiode 11220 Detector Sample 0004 ×300



Rozlišovací mez AFM daná štíhlostí hrotu

1 72 um



1µm

štíhlost hrotu – 1 : 3 speciální hroty – 1 : 10 (schopnost zobrazit ostré hrany a hluboké <mark>zářezy)</mark>

cantileve

silicon wafer





Mikroskopie magnetické síly (MFM)



MFM obraz harddisku v oblasti $30 \times 30 \ \mu m^2$



Skenovací kapacitní mikroskopie (SCM)

Rastrovací kapacitní mikroskopie (SCM) zobrazuje prostorové změny elektrické kapacity.

Princip:

Raménko s hrotem pracuje v NK režimu (režim konstantní výšky) – speciální obvod sleduje elektrickou kapacitu mezi hrotem a vzorkem. <u>Použití:</u>

SCM může sledovat změny obrazu:
v závislosti na tloušťce dielektrického
materiálu na polovodičových substrátech

 SCM může být použit při vizualizaci podpovrchových nosičů náboje – mapovaní příměsí (legovacích látek)
v iontově implantovaných polovodičích.





Topografický a kapacitní obraz správně a špatně srovnané fotomasky v průběhu procesu implantace legovací látky.



Mikroskopie bočních sil

(LFM – Lateral Force Microscopy)

Princip LFM – vyhodnocení příčného ohybu (krutu) raménka





LFM je vhodný pro:

- zobrazení nehomogenit povrchu (změna koeficientu tření),
- získání obrazu povrchů tvořených stupňovitými nerovnostmi (hranami).





vertikální ohvb

detektor





detektor

K laterálnímu ohybu raménka dochází ze dvou příčin:

- změnou tření
- změnou náklonu raménka.



Mikroskopie modulovaných sil

(FMM – Force Modulation Microscopy)

(FMM) používá modulační techniku v dotykovém režimu s konstantní silou.

Vzorek vibruje se stálou amplitudou a frekvencí nad mezní frekvencí zpětné vazby a se stejnou frekvencí bude kmitat i hrot, který je s ním v kontaktu.

Amplituda kmitů raménka závisí na elastických vlastnostech vzorku v místě doteku.

Měření je možno provádět současně s AFM, jejíž obraz se získává z napětí na piezokeramice







Kontaktní AFM

FMM obraz

kompozit uhlík/polymer (5×5 µm²)



Mikroskopie detekce fázových posunů

(PDM – Phase Detection Microscopy)

Mikroskopie detekce fáze (PDM) – fázové zobrazení ve spojení s obvyklými režimy (NK, P-K AFM, MFM). Změna fáze může být měřena i v průběhu režimu FMM. Detekce fázového posunu – vyhodnocení fázového zpoždění mezi signálem budícím oscilaci raménka a výstupním signálem vyvolaným ve vzorku oscilujícím raménkem Příklad použití:

Pořizování informací o materiálových vlastnostech vzorků, jejichž topografie se snadněji měří v NK AFM než kontaktním AFM způsobem.

PDM poskytuje doplňkovou informaci k topografii povrchu).



Porovnání AFM topografie s PDM Teflonový povrch potažený silikonovým mazadlem (Obrazové pole 9 \times 9 μ m²)



Mikroskopie elektrostatických sil

(EFM – Electrostatic Force Microscopy)

Princip:

EFM mapuje oblasti (domény) s různou polaritou a hustotou elektrického náboje na povrchu vzorku (obdoba MFM). Velikost výchylky raménka s hrotem je úměrná hustotě náboje. Může být měřena standardním detekčním systémem užívajícím laserový svazek.

Použití:

Mapování elektrostatického pole elektronických obvodů při zapnutí a vypnutí přístrojů ("napěťová mikrosonda" pro testování aktivních mikroprocesorových čipů v submikronových mezích).

Ferroelektrický materiál (topografický kontrast vlevo) s implantovaným povrchovým nábojem (+2,5 V), (EFM obraz nabité plochy vpravo) Oblast $5 \times 5 \mu m^2$ vzorek s oblastmi povrchového náboje



hrot

dráha hrotu

+++



Další metody příbuzné AFM

Mikroskopie disipativních sil

(DFM) mapuje výkon, který nosník ztrácí interakcí se vzorkem. Disipace vzniká následkem hystereze v adhezi mezi vzorkem a hrotem (projevují se i jiné principy). Výhodou metody je možnost mapovat rozložení hustoty fononů vzorku podél povrchu (v přiblížení obraz závisí jen na vlastnostech vzorku, nikoliv hrotu, což je jistá analogie k STM).

Mikroskopie ultrazvukových sil

(UFM) využívá ultrazvukové excitace vzorku, především pro mapování materiálových vlastností. Klasická mikroskopie využívá "lineární" režim detekce, v němž je sledována amplituda a fáze pohybu nosníku. V UFM je použit "nelineární" režim. Při ultrazvukovém kmitání je modulována vzdálenost hrot–vzorek mezi maximální a minimální hodnotou, které jsou určeny amplitudou buzení a nastavením síly (setpoint). Pro velké amplitudy se projeví nelinearita, středovaná síla obsahuje přídavnou sílu (vlivem ultrazvuku) a tím přídavné ohnutí nosníku \rightarrow lze provádět mikroskopii.



Skenovací teplotní mikroskopie

(SThM – Scanning Thermal Microscopy)

SThM umožňuje současné snímání tepelné vodivosti a topografie povrchu vzorku <u>Princip:</u>

U SThM přístroje je místo hrotu sonda s odporovým prvkem. Řídící jednotka řídí vytváření map teploty nebo tepelné vodivosti. Ke konstrukci raménka SThM se používá <u>Wollastonova drátu</u> (slitiny dvou různých kovů), který představuje tepelně závislý odporový prvek. Vlastním odporovým teplotním čidlem je na konci umístěný prvek z platiny (příp. ze slitiny platiny s 10% obsahem rhodia). <u>Výhoda</u> této konstrukce je, že může být použita pro oba módy tepelného zobrazení (teplota a tepelná vodivost).







Mikrotermální analýza

(µTA – Micro–Thermal Analysis)

Mikrotermální analýze (µTA) - submikronové mapování teploty povrchu (lokální kalorimetrická měření).

Princip:

Wollastonův drát působí jako aktivní tepelný zdroj (odpor sondy je úměrný její teplotě). Změny proudu vyžadované k udržení sondy na konstantní teplotě vedou ke vzniku teplotních map (a obráceně, změny elektrického odporu sondy při konstantním proudu vedou rovněž ke generaci teplotních map).

<u>současně vzniká</u>:

- obraz zahrnující informaci o tepelné difúzi
- obraz podpovrchových změn materiálového složení.

použití: pro kalorimetrické měření – mikro-diferenciální termální analýza (µDTA). Je možné sledovat roztažnost, tloušťku vrstvy, teplotu fázových přechodů, změny tvrdosti, procesy tání, tuhnutí, měknutí apod., vlastnosti polymerů na úrovni doménových struktur a jejich rozhraní.



Skenovací optická mikroskopie v blízkém poli

(NSOM – Near Field Scanning Optical Microscopy)

NSOM je skenovací optická mikroskopická technika, která zobrazuje pod difrakčním limitem (λ okolo 300 nm). **Princip**:

na vzorek dopadá světlo procházející přes jednomódové optické vlákno (několik desítek nm v průměru) pokovené hliníkem (zabránění světelných ztrát). Provádí se detekce evanescentních vln









odraz/apertura





transmisní, sběr sondou

Polystyrénové kuličky 500 nm

V režimu NSOM a SM



NSOM obraz srdečního svalu (10 \times 10 μ m²)





Vodivostní AFM

(Conductive AFM)

Princip: Měření změn vodivosti povrchu. Hrot musí být z vodivého materiálu.

Současně je na hrot přivedeno stejnosměrné napětí a vzorek je uzemněn.

Proud procházející hrotem na vzorek měří vestavěný předzesilovač ve skeneru.



Princip vodivostního AFM



Popis mikroskopu AFM – Explorer

(ThermoMicroscopes-Bruker)





spodní pohled



AFM Explorer pro kapalné vzorky

+ inverzní SM Olympus





Trubičkový skener 2 μm/0,8 μm





<mark>Křížový skener</mark> 100 μm/10 μm







Rostlinné buňky a chromozomy

buňky vodních řas

s_m (10 × 10 μm²) _{Sm}

porušený chromozom – DNA ?

centrometrická oblast

chromozomu v metafázi

 $(6 \times 6 \mu m^2)$



Měř<u>ení sil (F–d spektroskopie)</u>







Nezobrazující techniky

Inter a Intra-molekulové síly

Mechanické vlastnosti vzorků

Adhesion Forces Between Individual Ligand-Receptor Pairs





Molekulární a buněčný pohyb pulsace kardiomyocytů



Konformační změny kanály buněčné membrány





Nosník jako biosenzor?

* detektor kontaminace ve vodě a ovzduší
* detektor specifických biomolekul
* detekce biochemických metabolitů
* "umělý nos"– studium chutí a vůní





11111

1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1

Kontaktní nebo poklepový mód?





Redukce dentinové hypersenzitivity

po expozici laserem

dentin, sken 80 µm

Průměr ústí dentinových tubulů 3 – 4 µm



Částečná okluze vstupu dentinových tubulů sníží hypersensitivitu zubu a permeabilitu tubulů

Perspektiva: terapie dentinové hypersensitivity modifikací dentinového povrchu laserem



Analýza povrchu kontaktních čoček





Zobrazení nukleových kyselin

Některé metodiky uchycení NA k slídě •Povrch slídy předběžně upraven kadmiumarachidátem či OTS a potažen LB filmem (Weisenhorn, Egger, Hansma 91)

Povrch slídy neupraven (*Li, Hansma, Vesenka, 92*) – pozorování vysušených adsorbovaných NA, případně v ethanolu , *n*-propanolu (avšak po předchozím vysušení).

•Povrch slídy ošetřený octanem hořečnatým 33mM. (Vesenka, Hansma 1992)

•Povrch slídy upraven

3-aminopropyltriethoxyslianem (APTES)

(Y. L. Lyubchenko 92)

•Povrch slídy upraven NiCl₂ (M. Bezanilla 94)

 Povrch slídy ošetřený by spermine (Okada 98) lipidové dvojvrstvy, které vážou DNA skrz interakce mezi fosfátovými skupinami NA a pozitivně nabitými lipidy (Mou 95)



1167 nr

583 nm

7.1 nm

0 nm

583 m

Որթ

Kalibrace AFM a analytické možnosti





AFM studium optických povrchů





AFM studium povrchů kovů a polovodičů





Korekce chyb při skenování

Softwarová korekce (méně přesná) spočívá např. v přeměření testovacího vzorku a určení korekční matice, která se použije k opravě naměřených dat. Druhým způsobem softwarové korekce může být matematické modelování chování skeneru. (Softwarové korekce jsou nenáročné finančně i přístrojově, ale korekce je správná jen pro ten režim měření, při němž byla korekce stanovena).

Hardwarové korekce jsou založeny na snímání skutečné polohy skeneru pomocí vnějšího nezávislého zařízení: optické – na skener je připevněn (odražeč) a jeho poloha je snímána světelným paprskem; kapacitní – na skeneru je nanesena kovová vrstva a poblíž je další pevná, měří se změna kapacity; **piezorezistivní** – ke skeneru je připevněn element, jehož elektrický odpor se mění v závislosti na jeho vnitřním mechanickém napětí.

14

11

25

56

14

332

matice korekčních hodnot









Artefakty na testovací mřížce



Nelinearitou deformovaný tvar mřížky (po delší době nepoužívání testovacího vzoku)

Stejná mřížka, stejný hrot po několika hodinách provozu skeneru

Silné zněčištění, případně deformace hrotu, zabraňuje prokreslení detailů mřížky

Uvolnění uchycené nečistoty na hrotu, která mění jeho koncový poloměr. (Výškový rozdíl v obraze 60 nm)

Artefakty na nanočásticích

Zrcadlení hrotu, konvoluce

Každý bod v obraze nepředstavuje pouze tvar povrchu, ale je určen prostorovou *konvolucí* povrchu vzorku a hrotu. Při zobrazení povrchu, který obsahuje ostré hroty, jejichž šířka je menší než šířka hrotu, dojde k "výměně" funkcí (vzorek) vzorek bude snímat hrot. V obraze se tedy neobjeví povrch vzorku, ale povrch hrotu. **Tvar hrotu**

Na kvalitě zobrazení se může podepsat i nesymetrie hrotu, která vytváří zkreslený obraz, závislý na směru skenování. Může se projevit zdvojením (dvě špičky na konci hrotu nebo prodloužením objektů

v jednom směru (elipsovitý hrot)





Artefakt interference

Je-li k detekci ohnutí nosníku použito optické záření, je nutno vzít do úvahy i odrazivost vzorku. Je-li hodně lesklý, může se světlo od něj odrážet do detektoru, který bude přesvícen a ztratí schopnost udržovat zpětnou vazbu.

Projevit se může také interference vznikající mezi vzorkem a další odrážející částí, která se projeví vznikem proužků v obraze (tmavá a světlá místa z interferenčního obrazce ovlivňují množství světla dopadajícího do detektoru, který to chybně interpretuje jako signál z nosníku (obrázek vpravo).



obrázek povrchu skla se šikmými interferenčními proužky



Artefakty při zpracování obrazů





Naskenovaný povrch nakloněného vzorku CD

Odečtením roviny získáme správný povrch Odečtením řádků získáme rovný, ale nesmyslný obraz

Mapa laterálních sil na mřížce, která na pohled přesně zobrazuje mřížku, ale do povrchu zapadají jednotlivé čtverečky. Nabízí se tedy interpretace, že materiál čtverečku vykazuje jiné třecí vlastnosti než substrát. Jedná se o artefakt.

Do laterálních sil se promítá i topografie, tj. změna sklonu, a to je jeden z jejích projevů. Jak ukazuje profil, v obraze se žádné čtverce nevyskytují a jsou vidět pouze *hrany* čtverců. **Plné** čtverečky jsou tedy jen optický klam.







Roman KUBÍNEK, Milan VŮJTEK, Miroslav MAŠLÁŇ MIKROSKOPIE SKENUJÍCÍ SONDOU

http://atmilab.upol.cz

