

вых образований, далее в процессе осаждения они объединяются и формируют сплошное покрытие ПЭ (рис. 4, б, в). На данном этапе велико влияние поверхностных сил подложки и, соответственно, наблюдается преимущественная ориентация цепей макромолекул параллельно поверхности подложки.

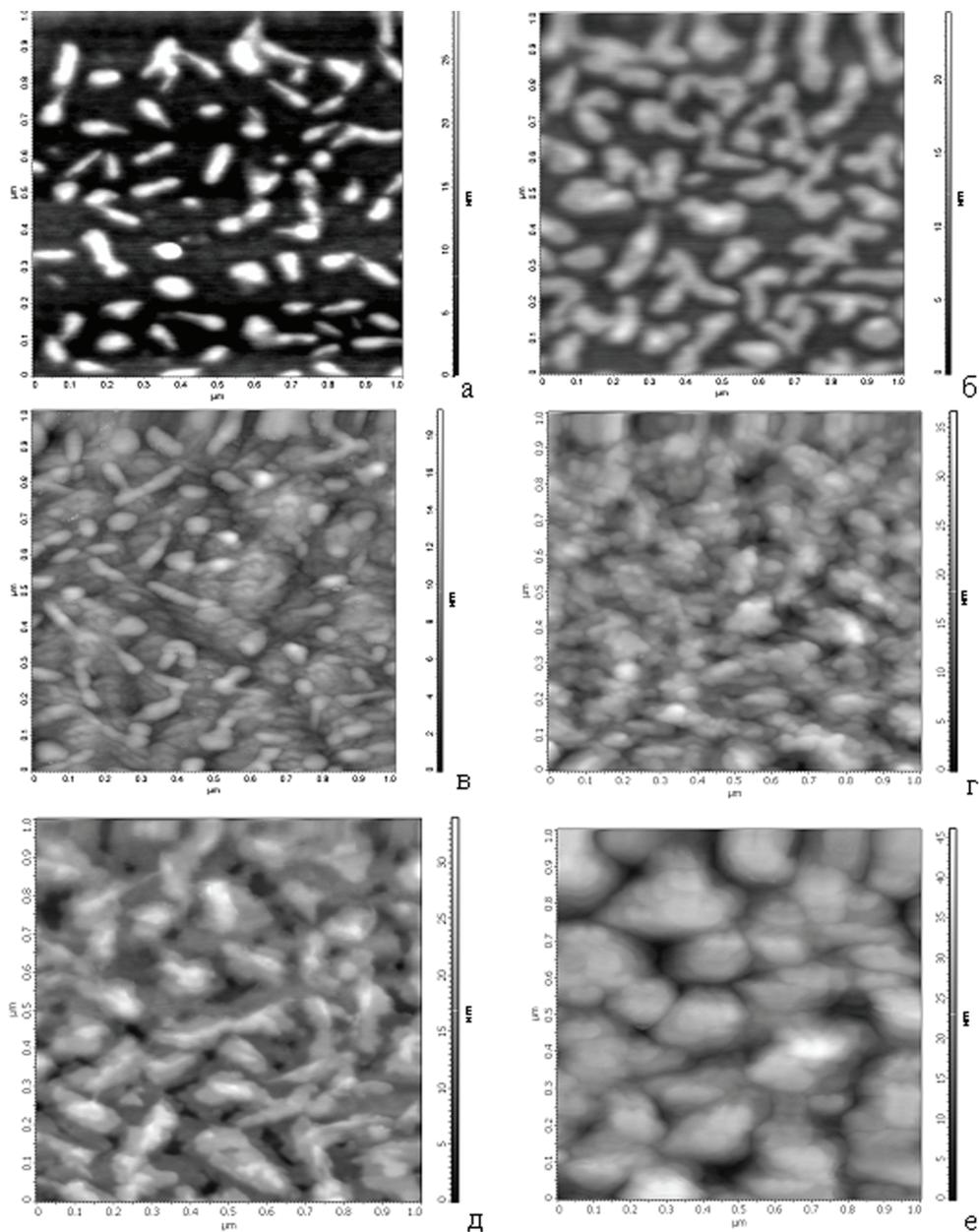


Рис. 4. Данные АСМ-топографии покрытий ПЭ толщиной: *a* – 3 нм; *б* – 5; *в* – 8; *г* – 15; *д* – 19; *е* – 39 нм

Кроме того, низкомолекулярные фрагменты при такой ориентации имеют меньшую вероятность к десорбции. Формируемые агрегаты, по-видимому, представляют собой аморфные структуры, близкие к глобулам и бахромчатым мицеллам, в которых проходные макромолекулы располагаются как в упорядоченных, так и в неупорядоченных областях.

В ходе формирования покрытия растет степень полимеризации адсорбированных молекул ПЭ и, что особенно важно, интенсифицируются процессы их упорядочения, по-видимому, вследствие направленной миграции адсорбированных фрагментов вдоль образовавшихся ранее макромолекул и их присоединения к ядрам полимеризации. Можно предположить, что низкомолекулярные фрагменты, адсорбируемые из газовой фазы вне центра полимеризации, десорбируются и не участвуют в дальнейших процессах структурообразования тонких слоев. Такой механизм роста подтверждается данными АСМ, согласно которым можно наблюдать рост не сплошного покрытия, а отдельных надмолекулярных агрегатов (рис. 4, *г–е*).

В толстых покрытиях ПЭ формируются высокоупорядоченные надмолекулярные структуры, основное место среди которых занимают ламели, образованные из складчатых кристаллов. Макромолекулы в упорядоченных областях складываются таким образом, что их ось направлена перпендикулярно поверхности подложки. Такие складчатые кристаллы формируют наблюдаемые на данных АСМ «террасы». Рост таких «террас» не идеален, образуются винтовые дислокации (рис. 3). Шаг складок не превышает 10 нм, а наиболее различимы такие структуры при исследовании их в режиме фазового контраста.

Заключение. Методом АСМ и поляризационной инфракрасной Фурье-спектроскопии установлены особенности молекулярной организации полимерных покрытий ПЭ, осажденных из активной газовой фазы, генерируемой электронно-лучевым диспергированием исходного полимера. Показано, что в процессе роста однокомпонентных слоев ПЭ одновременно протекают процессы полимеризации и структурообразования. Молекулярная ориентация макромолекул ПЭ изменяется в процессе роста: на начальных стадиях формируемые слои имеют преимущественную ориентацию параллельно поверхности подложки; на расстоянии от поверхности подложки более 100 нм появляются упорядоченные слои с преимущественной ориентацией молекул перпендикулярно поверхности подложки. На поздних стадиях роста установлено складывание молекул и образование ламелей, имеющих дефекты в виде винтовых дислокаций. Полученные данные АСМ полностью коррелируют с данными поляризационной инфракрасной Фурье-спектроскопии и дополняют друг друга.

Список использованных источников

1. Plasma polymer films / ed. Hynek Biederman. – Imperial College Press, 2004. – 386 p.
2. Oriented Polymer Materials / ed. Stoyko Fakirov. – WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2002. – 510 p.
3. Infrared spectroscopy of high polymers / Rudolf Zbinden. – New York : Academic press, 1964. – 260 p.
4. Molecular structure and optical properties of PTFE-based nanocomposite polymer–metal coatings/ A. V. Rahachou [et al.] // Appl. Surface Science. – 2012. – N 258. – P. 1976–1980.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ СЗМ
В БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

EXPLORING BACTERIAL RESISTANCE TO ANTIBIOTICS
BY ATOMIC FORCE MICROSCOPY

G. Longo¹, L. M. Rio², A. Trampuz³, A. Bizzini², G. Dietler¹, S. Kasas^{1,4}

¹Laboratory of Physics of Living Matter, EPFL, CH-1015 Lausanne, Switzerland

²Institute of Microbiology, Université of Lausanne and Université Hospital Lausanne (CHUV), Lausanne, Switzerland

³Infectious Diseases Service, Departement of Internal Medicine, University Hospital Lausanne (CHUV), Lausanne, Switzerland

⁴Département de Biologie Cellulaire et de Morphologie, Université de Lausanne, CH-1005 Lausanne, Switzerland

We present an analysis of the surface mechanical properties of bacteria when exposed to antibiotics. Our results show that resistant S. aureus strains increase their stiffness after exposure to vancomycin.

Introduction. Antibiotic resistant bacteria are a major public health concern nowadays. Their early detection and the identification of the most effective antimicrobial treatment to fight against these microorganisms could significantly decrease overall morbidity and mortality.

The classical method to detect antibiotic-resistant strains requires incubating bacterial specimens in presence of different antibiotics for days in order to reach a detectable cellular density. This methodology leads to the classification of each pathogen-antibiotic couple into susceptible, intermediary or resistant categories. This information is finally employed to advice the clinician for appropriate patient therapy [1].

Alternative methods, such as PCR-based detection are faster [2], but provide only a genetic profile. For most resistant bacteria, antibiotic resistance genetic markers [3], such as *mecA* in staphylococci have not been identified, which therefore further limits the use of this technique.

In the present work we used the capabilities of the atomic force microscope to study a possible correlation between the mechanical properties of bacteria and their resistance to antibiotics.

The atomic force microscope (AFM) is a relatively new imaging technique which has been developed in 1986 by Binnig, Quate and Gerber [4]. The microscope

basically operates by scanning a force probe over the sample. Importantly, the sample and the probe can be immersed in a fluid medium permitting the observation of biological processes in nearly physiological conditions. In addition to its imaging capabilities, the instrument permits to measure the mechanical properties of the observed material. Since 1992, this characteristic of the microscope has been applied to measure the mechanical properties of different types of samples such as single proteins, viruses, bacteria or entire living cells [5]. The measurement is accomplished by indenting the AFM tip into the soft sample and by measuring the cantilever deflection during the process. It is assumed that the cantilever behaves accordingly to the Hook law (i.e. the deflection of the cantilever is directly proportional to the vertical component of the force applied onto the tip). The obtained curve, called the force distance (FD) curve, is then subtracted from another FD curve which has been obtained onto a hard surface. This operation results in the indentation curve, which indicates the force needed to push the AFM tip by a certain distance into the sample (i.e. to indent it). The shape of the indentation curve is then used to determine the mechanical properties of the sample.

In this work we present an analysis of the surface mechanical properties of bacteria in presence of different environmental conditions, in particular when exposed to antibiotics.

Two different *Staphylococcus aureus* strains were chosen for these experiments: ATCC43300 and MU-50, the first one being sensitive whereas the second resistant to vancomycin. Both strains were cultivated in Lysogeny broth (LB) and exposed to 2 µg/ml concentration of vancomycin for 24 h. Eventually, the bacteria were centrifuged twice and diluted in phosphate buffer saline (PBS). Finally the bacteria were fixed by incubating them for 10 minutes in a solution containing 2.5% glutaraldehyde and 4% paraformaldehyde. They were then washed three times in ultrapure water and deposited on a 12 mm glass substrate for AFM investigation.

To ensure a firm adhesion of the bacteria on the substrates, these were preliminarily coated with a linker molecule, (3-aminopropyl) triethoxysilane (APTES), a highly effective silane coupling agent used on a wide series of substrates to enhance cell adhesion. First, the clean substrates were exposed for 1.5 minutes to 1% APTES and rinsed thoroughly in ultrapure water. Next, the bacteria were left to incubate on the coated substrates for 15 minutes before thorough rinsing with ultrapure water to remove loosely adhering cells. The samples were finally placed in 0.5 ml H₂O for AFM investigation.

The mechanical properties of the bacteria were investigated using a Bioscope I AFM (Bruker). All the images were collected using Bruker DNP-10 cantilevers, choosing the tip with a nominal spring constant of 0.06 N/m. The images were collected in Force Volume (FV) mode, a setup in which the AFM tip is periodically indented into the sample and the deformation of the cantilever is recorded to reconstruct an image formed by a large number of FD curves. All the collected images contain 32 × 32 pixels and, for every pixel, 256 points per force curve were collected. The

cantilever speed for all the presented images was of 1 line per second. For each curve, the tip-sample interaction was limited to a deflection maximum of 30 nm ($\sim 2\text{nN}$). The data analysis was performed in a fully automated fashion by using *OpenFovea*, a free data processing software that uses the Hertz model to reconstruct stiffness maps of the entire image [6]. For the calculations we assumed that the tip is spherical with an apical radius of 20 nm and that the sample's Poisson ratio is 0.5. For each sample, a minimum of 80 cells were investigated by performing several images of different dimensions.

Results and Discussion. A typical 2×2 micron reconstruction of the topography of the specimen, obtained by performing force volume imaging of the ATCC 43300 sample is depicted in figure 1, panel *A*. Several bacteria can be seen attached to the substrate. The corresponding stiffness information is shown in figure 1, panel *B*), showing the soft (blue-to-red) bacteria attached to a much stiffer (white = no indentation) substrate.

As one can notice the topmost part of the cells is colored in red whereas its periphery is blue. This is due to an underestimation of the Young's modulus on spots on the surface of the bacteria that are not orthogonal to the AFM tip indentation path. However as long as the shape of the bacteria remains constant this phenomenon does not interfere noticeably on the data interpretation and on the comparison between the histograms

To better elaborate and compare the stiffness information from all the collected images, all the data was collected in histograms, shown in figure 2. This allowed comparing the typical stiffness values of the two strains when incubated with and without the antibiotic. The stiffness distributions of the *S. aureus* cells without the antibiotic appear similar, both peaked around 50 kPa. On the other hand, when incubated in the antibiotic, the two strains evidence quite different mechanical properties: the sensitive bacteria are still peaked around 50 kPa, while the resistant ones increase almost two-fold their stiffness.

Conclusions. These preliminary experiments clearly demonstrate that sensitive and resistant *S. aureus* possess different mechanical properties. We have shown

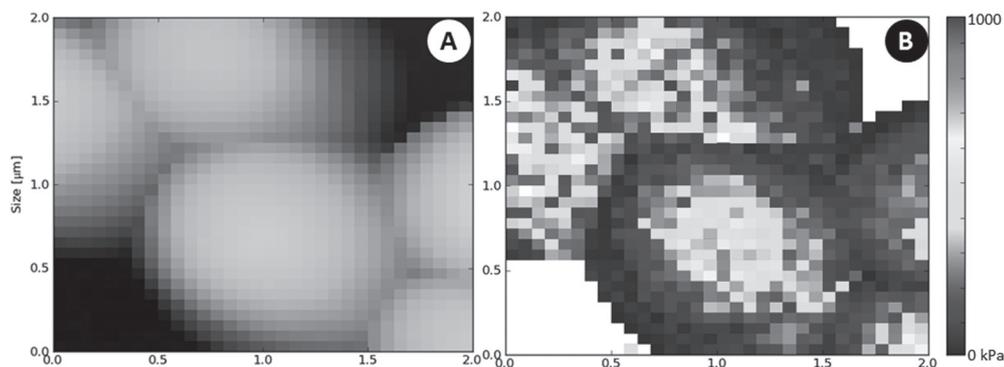


Fig. 1. Topographic (*A*) and its corresponding stiffness map (*B*) image of *S. aureus* ATCC43300

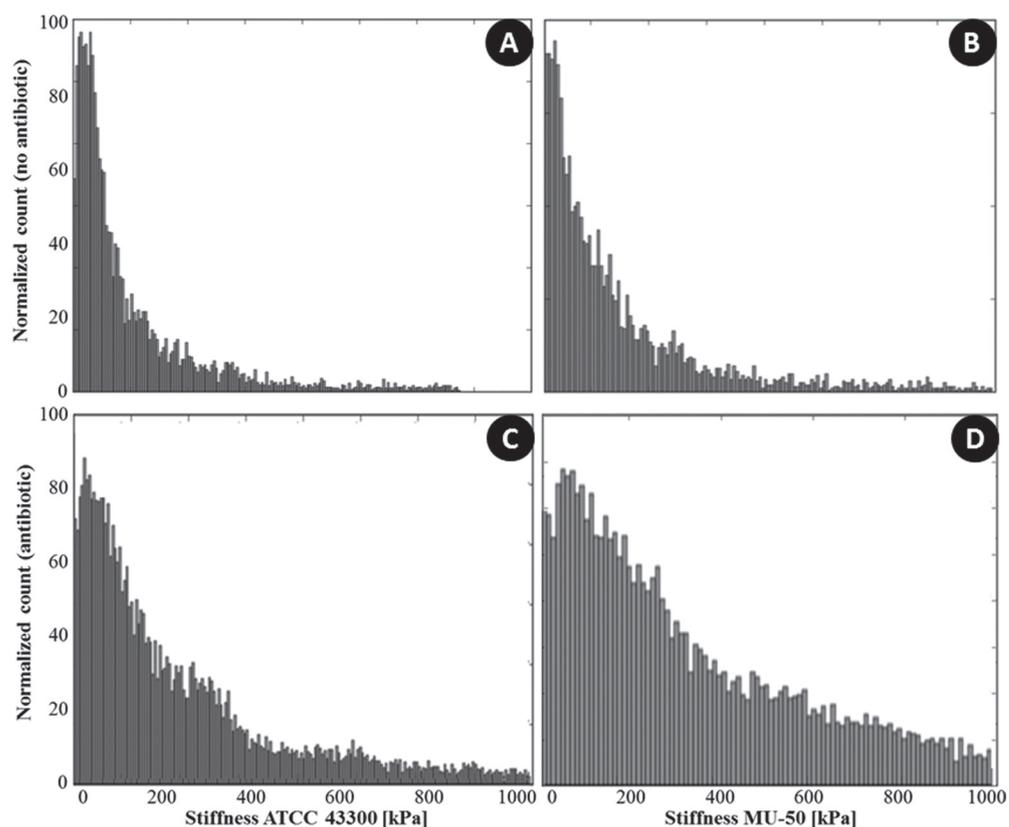


Fig. 2. Stiffness distribution of sensitive (A, C) and resistant *S. aureus* (B, D) before and after vancomycin exposure

that when exposed to vancomycin the stiffness of the resistant strains increases while the corresponding parameter in the sensitive strain remains unaffected. This characteristic could be exploited in a near future to rapidly discriminate by AFM resistant from sensitive strains.

References

1. Turnidge, J. Setting and revising antibacterial susceptibility breakpoints / J. Turnidge, D. L. Paterson // *Clin Microbiol. Rev.* – 2007. – Vol. 20, N 3. – P. 391–408.
2. Rapid diagnosis of bacterial meningitis by real-time PCR and fluorescence *in situ* hybridization / S. Poppert [et al.] // *Journal of Clinical Microbiology.* – 2005. – Vol. 43, N 7. – P. 3390–3397.
3. Identification of Methicillin-Resistant Strains of Staphylococci by Polymerase Chain-Reaction / K. Murakami [et al.] // *Journal of Clinical Microbiology.* – 1991. – Vol. 29, N 10. – P. 2240–2244.
4. Binnig, G. Atomic Force Microscope / G. Binnig, C. F. Quate, C. Gerber // *Physical Review Letters.* – 1986. – Vol. 56, N 9. – P. 930–933.
5. Kasas, S. Probing nanomechanical properties from biomolecules to living cells. / S. Kasas, G. Dietler // *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology.* – 2008 – Vol. 456, N 1. – P. 13–27.
6. Stiffness tomography exploration of living and fixed macrophages / C. Roduit [et al.] // *J. Mol. Recognit.* – 2012. – Vol. 25. – P. 241–246.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Л. В. Кухаренко¹, С. А. Чижик², Е. С. Дрозд², С. В. Сыроежкин²,
М. В. Гольцев¹, Л. Г. Гелис³, Е. А. Медведева³, И. В. Лазарева³

¹Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

²Институт тепло- и массообмена имени А. В. Лыкова НАН Беларуси,
Минск, Беларусь

³Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Беларусь

В данной работе исследовались с помощью АСМ спонтанные тромбоцитарные агрегаты (их количество и количество тромбоцитов в агрегатах), а также определялись морфометрические характеристики тромбоцитов (их форма и размеры) у здоровых лиц и у лиц со стабильной стенокардией (ФК II/III). Алгоритмы для определения морфофункционального состояния тромбоцитов реализованы в виде компьютерной модели в пакете MatLab.

Введение. Изучение морфофункциональных особенностей тромбоцитов с помощью атомно-силовой микроскопии позволяет выявить ранние этапы их внутрисосудистой активации, охарактеризовать гемостазиологический статус у лиц со стабильной стенокардией (ФК II/III) и у лиц с нестабильным течением ИБС, а также контролировать применение фармакологических средств, влияющих на их функции. В последние годы АСМ широко используется для изучения кровяных пластинок. С помощью АСМ исследуются локальные вязко-упругие свойства плазматической мембраны тромбоцитов [1, 2]. Данный метод позволяет измерить силу взаимодействия интегринового рецептора тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa и фибриногена [3]. АСМ дает возможность *in situ* исследовать изменение поверхностной морфологии тромбоцитов в процессе их активации [4], а также используется для визуализации мембранного рецептора тромбоцитов IIb/IIIa [5], фактора Виллебранда [6] и фибриногена [7].

АСМ-изображения тромбоцитов имеют значительно большее разрешение, чем аналогичные изображения, получаемые с помощью оптической микроскопии, и позволяют дифференцировать изменение поверхностной морфологии кровяных пластинок на разных этапах их внутрисосудистой активации. В данной работе методом АСМ визуализировались спонтанные тромбоцитарные агрегаты, определялось их количество и количество тромбоцитов в агрегатах, а также морфометрические характеристики тромбоцитов (их форма и размеры) у здоровых лиц и у лиц со стабильной стенокардией (ФК II/III).

Материалы и методы исследования. Методом АСМ осуществляли морфофункциональную оценку внутрисосудистой активации тромбоцитов. Для того чтобы исследуемые морфологические признаки тромбоцитов соответствовали их функциональному состоянию в кровотоке, что особенно важно

как для диагностических целей, так и для определения морфологических изменений, происходящих с тромбоцитами при применении антиагрегантов, забор крови из локтевой вены проводился максимально быстро. Далее 2 мл крови фиксировали в 4 мл 0,125% глутаральдегида. Фиксированную кровь сразу же центрифугировали 15 мин при 1000 об/мин для получения обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП). Причем, экспериментально было показано, что при центрифугировании в течение 15 мин при 1000 об/мин количество эритроцитов в обогащенной тромбоцитами плазме уменьшается по сравнению с центрифугированием, осуществляемым 10 мин при 1000 об/мин. Супернатант разводили раствором 0,125% глутаральдегида в 2 раза. По одному кусочку свежесколотой слюды помещали на дно микропробирок, в которые добавляли 400 мкл клеточной суспензии. Микропробирки центрифугировали при 3000 об/мин в течение 30 с для осаждения тромбоцитов на слюду. Через 20 мин образцы промывали фосфатным буфером, а затем дегидратировали, последовательно помещая подложки с тромбоцитами в этанол (30, 50, 70, 96%), и высушивали на воздухе.

Оценка внутрисосудистой активации тромбоцитов осуществлялась с помощью атомно-силового микроскопа NT-206 (ОДО «Микротестмашины», Беларусь), совмещающего функции сканирующей зондовой и оптической микроскопии, в режиме прерывистого контакта на воздухе с использованием стандартных кремниевых кантилеверов NSC11 (MikroMasch). Исследования поверхностной морфологии тромбоцитов при больших окнах сканирования проводились на АСМ Nanoscope (R) IIIa MultiMode (Digital Instruments/Veeco) в tapping-режиме на воздухе с использованием стандартных кремниевых кантилеверов NSC15/100 с резонансной частотой 200–300 кГц (NT-MDT, г. Зеленоград, Россия). Алгоритмы для определения морфофункционального состояния тромбоцитов реализованы в виде компьютерной модели в пакете MatLab [8].

Результаты и их обсуждение. Циркулирующие в кровотоке тромбоциты при отсутствии патологических активирующих факторов интактны, практически не взаимодействуют друг с другом, с другими клетками крови и эндотелием сосудов. Интактные тромбоциты имеют вид бесцветных телец размером 2–5 мкм дисковидной или овальной формы. На рис. 1 представлено АСМ-изображение тромбоцитов здорового человека при окне сканирования 35×35 мкм². Диаметр интактных тромбоцитов здоровых лиц в среднем составлял 2,5–3,0 мкм, высота варьировала от 300 до 500 нм.

При ишемической болезни сердца одну из ведущих ролей играет гиперкоагуляционный синдром, триггером которого в значительной степени является повышение адгезивной и агрегационной активности тромбоцитов. При этом наблюдается высокая чувствительность кровяных пластинок к индукторам активации и их повышенная готовность к спонтанной агрегации в кровяном русле. Внутрисосудистая активация тромбоцитов любым индуктором агрегации приводит к последовательному изменению формы кровяных пластинок, которая отражает определенное функциональное состояние клетки.

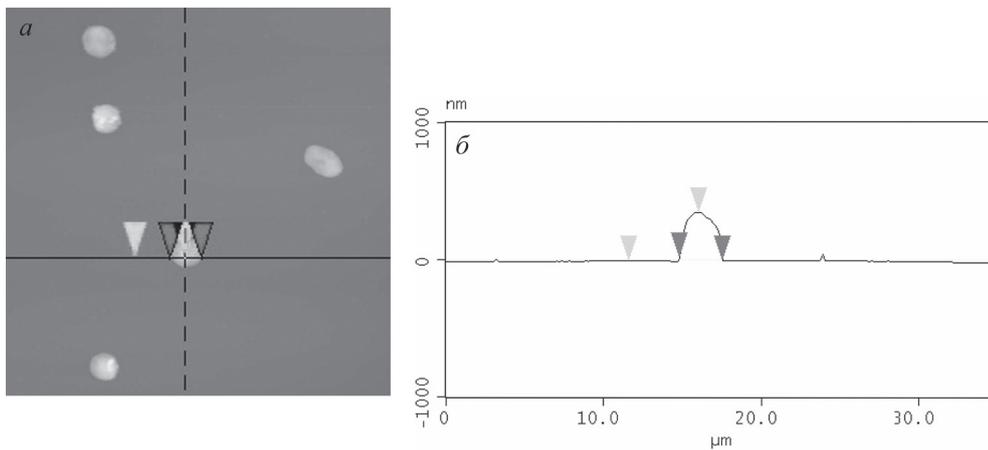


Рис. 1. АСМ-изображение тромбоцитов здорового человека, область сканирования 35×35 мкм² (а); профиль сечения для определения диаметра тромбоцита (б)

АСМ позволяет регистрировать различные стадии внутрисосудистой активации тромбоцитов и исследовать их спонтанную агрегацию. Под воздействием индукторов активации и агрегации происходит изменение формы и размеров тромбоцитов, а также образование небольших тромбоцитарных агрегатов. При этом происходит следующая последовательность изменений поверхностной морфологии тромбоцита: от интактного (дискоидного) тромбоцита до дискоэхиноцита – тромбоцита с филоподиями, далее до сфероцита, в этом случае высота тромбоцита резко возрастает и он приобретает форму шара, и, наконец, до сферозхиноцита – тромбоцита сферической формы с большим количеством филоподий. На рис. 2 представлено АСМ-изображение тромбоцитов пациента со стабильной стенокардией напряжения при окне сканирования 40×40 мкм².

Как видно из представленного АСМ-изображения, увеличивается количество активированных тромбоцитов у лиц со стабильной стенокардией напряжения. Активированные тромбоциты из дисковидной формы превращаются в сферические с многочисленными короткими и длинными выпячиваниями мембраны. Высота кровяных пластинок изменяется от 300 нм до 1,3 мкм. Причем 70% тромбоцитов имеет высоту ~ 700 нм. Визуализировано образование длинных узких филоподий тромбоцитов. Ширина филоподий составляет от 30 до 390 нм, их длина варьирует от 250 нм до 3,2 мкм. Образование псевдоподий является результатом серии сложных молекулярных реакций: полимеризации актиновых микрофиламентов из растворимого актина и присоединения к ним миозина и других белков. Появление филоподий увеличивает частоту столкновений тромбоцитов и способствует их спонтанной агрегации в кровяном русле. На данном АСМ-изображении также визуализированы небольшие тромбоцитарные агрегаты. Количество тромбоцитов в агрегатах изменяется от 2 до 7.

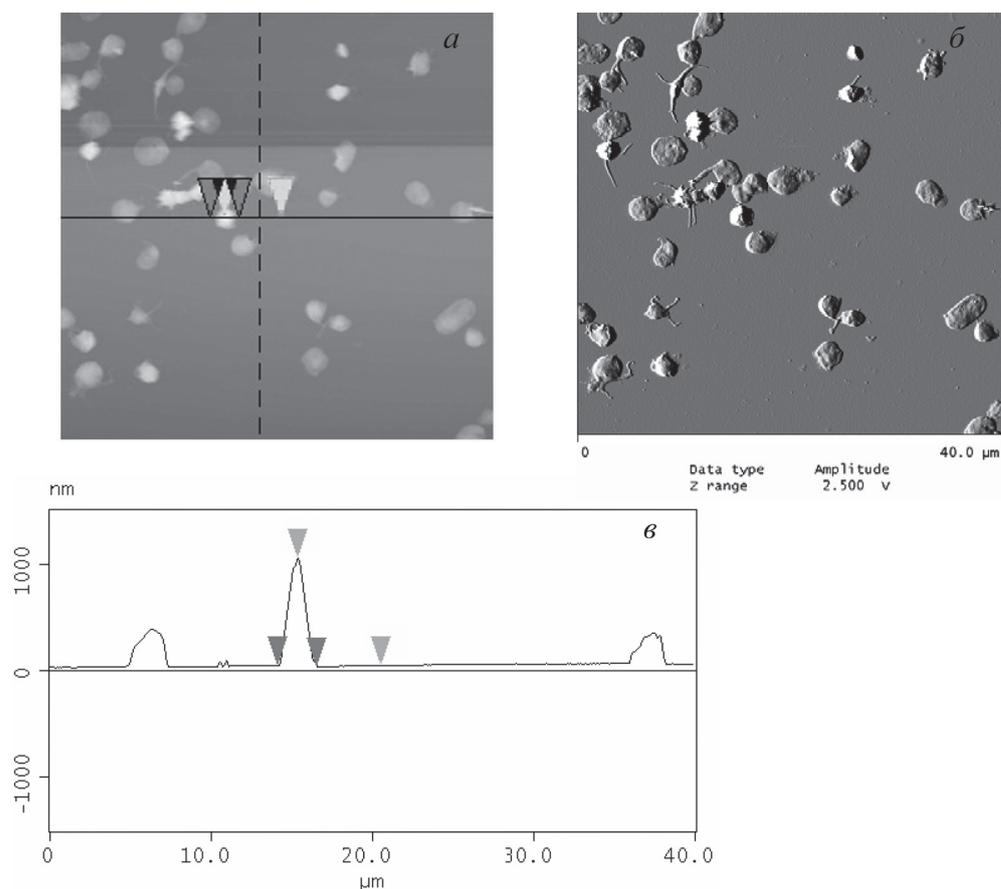


Рис. 2. АСМ-изображение тромбоцитов пациента со стабильной стенокардией напряжения, область сканирования $40 \times 40 \text{ мкм}^2$: *а* – топография; *б* – фазовое изображение; *в* – профиль сечения для определения диаметра тромбоцита

Заключение. Методом АСМ показано, что у лиц со стабильной стенокардией напряжения наблюдается увеличение числа тромбоцитов в активном состоянии – дискоэхиноцитов и сферозхиноцитов. Возрастание внутрисосудистой активации тромбоцитов способствует образованию спонтанных тромбоцитарных агрегатов, циркулирующих в кровотоке. Метод АСМ позволяет дифференцировать внутрисосудистую активацию кровяных пластинок (их форму и размеры) в кровяном русле, определять количество спонтанных агрегатов, а также количество тромбоцитов, вовлеченных в них, и может быть использован в качестве диагностического.

Список использованных источников

1. Measuring the viscoelastic properties of human platelets with the atomic force microscope / M. Radmacher [et al.] // *Biophys. J.* – 1996. – Vol. 70. – P. 556–567.
2. Lee, I. Force measurements on platelet surfaces with high spatial resolution under physiological conditions / I. Lee, R. E. Marchant // *Colloids and Surfaces B : Biointerfaces.* – 2000. – Vol. 19. – P. 357–365.

3. Agnihotri, A. AFM measurements of interactions between the platelet integrin receptor GPIIb/IIIa and fibrinogen / A. Agnihotri, P. Soman, Ch. A. Siedlecki // *Colloids and Surfaces B : Biointerfaces*. – 2009. – Vol. 71. – P. 138–147.
4. Fritz, M. Granula motion and membrane spreading during activation of human platelets imaged by atomic force microscopy / M. Fritz, M. Radmacher, H. E. Gaub // *Biophys. J.* – 1994. – Vol. 66. – P. 1328–1334.
5. Hussain, M. A. AFM imaging of ligand binding to platelet integrin α IIb β 3 receptors reconstituted into planar lipid bilayers / M. A. Hussain, A. Agnihotri, C. A. Siedleckia // *Langmuir*. – 2005. – Vol. 21. – P. 6979–6986.
6. Kang, I. Surface-dependent expression in the platelet GPIb binding domain within human von Willebrand factor studied by atomic force microscopy / I. Kang // *Thrombosis Res.* – 2007. – Vol. 119. – P. 731–740.
7. Soman, P. Measuring the time-dependent functional activity of adsorbed fibrinogen by atomic force microscopy / P. Soman // *Langmuir*. – 2008. – Vol. 24. – P. 8801–8806.
8. Использование атомно-силовой микроскопии для диагностики морфофункционального состояния тромбоцитов / Л. В. Кухаренко [и др.] // *Методологические аспекты сканирующей зондовой микроскопии : сб. докл. IX Междунар. конф., Минск, 12–15 окт. 2010 г. – Минск : Беларус. навука, 2010. – С. 156–162.*

ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ ПРИ ИЗУЧЕНИИ НЕКЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР В ТКАНЯХ ВНУТРЕННЕЙ СРЕДЫ

**П. А. Перевозчиков¹, О. В. Карбань², Ю. Г. Васильев³,
Д. И. Красноперов³**

¹*БГОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия»
Минздравсоцразвития России, Ижевск, Россия*

²*Физико-технический институт УрО РАН, Ижевск, Россия*

³*ФГБОУ ВПО «Ижевская государственная сельскохозяйственная академия»,
Ижевск, Россия*

Методом сканирующей зондовой микроскопии установлено, что при исследовании волокнистых структур и аморфного вещества рыхлой, плотной соединительной и костной тканей имеются определенные особенности предварительной подготовки материалов и особенности полученных результатов.

Введение. Структурно-функциональная организация волокнистого компонента межклеточного вещества (в первую очередь коллагеновых волокон), состояние аморфного компонента собственно соединительных и опорных тканей имеет не только научное, но и практическое значение, так как позволяет отслеживать ход их развития, репаративные, дистрофические и гипобиотические процессы [1]. Это значимо при подборе способов модуляции восстановления указанных тканей при разнообразных повреждениях [2, 3].

В отличие от классических способов изучения межклеточного вещества [4, 5] сканирующая зондовая микроскопия (СЗМ) отличается сравнительной простотой предварительной подготовки материала и позволяет рассмотреть собственно структурную организацию.

Цель работы – изучить коллагеногенез в фиброзной оболочке глазного яблока методом СЗМ при стимуляции нанодисперсным биологическим материалом плацентарного происхождения. В связи с этим цель исследования – изучить методом СЗМ процесс коллагеногенеза в плотной соединительной ткани склеры, рыхлой соединительной ткани конъюнктивы глаза и костных образованиях компактного вещества костной ткани.

Материалы и методы исследования. Исследования выполнены на пяти кроликах породы Шиншилла обоего пола в возрасте от одного года до двух лет, а также на трех мертворожденных щенках породы московская сторожевая без признаков нарушений внутриутробного развития, согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Кроликов забивали под тиопенталовым наркозом методом воздушной эмболии. Для контроля микроанатомических особенностей энуклеированные глаза фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, заливали в парафин.

Для исследования бедренной кости, полученный секционный материал подвергали декальцинированию в растворе азотной кислоты (5,5%). После декальцинации препараты на 24 ч перемещали в 5%-ный раствор сульфата натрия. После этого тщательно промывали в течение суток в проточной водопроводной воде.

Для контроля полученных зон срезы, наряду с СЗМ-методом, дополнительно исследовали после окраски гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону.

Исследование структуры также гистологических срезов тканей глаза были проведены с помощью сканирующей зондовой лаборатории Ntegra (NT-MDT) в прерывисто-контактной методике на воздухе. Спектроскопический флуоресцентный анализ гистологических срезов по точкам был выполнен на сканирующей зондовой лаборатории Ntegra Spectra (NT-MDT). В данном случае прибор использовали для конфокального оптического исследования образца с возможностью двумерного сканирования отдельных участков в выбранном спектральном диапазоне и анализа спектральной картины в контрольных точках. Все спектры получены на воздухе при комнатной температуре из области фокуса лазера с участков около 400 нм. Использовали твердотельный лазер с непрерывным источником электромагнитного излучения на длине волны 473 нм и гелий-неоновый лазер на длине волны 632,8 нм. Распределение химического состава по образцу проводили выбором отдельных участков спектральной картины, полученной на ПЗС (прибор с зарядовой связью) детекторе, и анализировали путем дальнейшего двумерного сканирования в выбранной области образца. Характерное время накопления сигнала спектральной картины для каждой контрольной точки составляло 10 с.

Результаты и их обсуждение. Распределение коллагеновых и эластических волокон в конъюнктиве носило сетевидный характер. Волокна были относительно рыхло распределены в объеме межклеточного вещества. Оба типа волокон имели равномерный лонгитудинальный диаметр поперечного сечения. Коллагеновые волокна были значительно толще и преобладали. Их диаметр составлял до 1–2 мкм. Периоды поперечной исчерченности коллагеновых волокон составляли $69,2 \pm 0,5$ нм, что соответствовало зрелому коллагеновому волокну. Отличительной особенностью незрелых волокон были не столько периоды исчерченности, сколько разница в высоте зоны перекрытия. Так, незрелые волокна имели менее выраженные различия в пределах периодов, в них чаще выявляли участки разрыхления волокна. Эластические волокна отличались меньшим диаметром и отсутствием каких-либо регулярных изменений жесткостных характеристик волокон. Между коллагеновыми и эластическими волокнами нередко обнаруживали интегрирующие нежные тонковолокнистые структуры. Мы рассматривали их как проявление нежно-волокнистой организации аморфного матрикса, составленного макромолекулярными комплексами гиалуроновой кислоты с гликоротеинами и сиаловыми кислотами.

Результаты конфокальных и АСМ-исследований дополнены данными спектрального анализа, позволяющими отследить проникновение нанодисперсного коллагенового вещества в ткани в соответствии с которыми обнаруживается диффузия плацентарного биологического материала передних участков стенки глаза. Исследование гистологических срезов на различных сроках после стимуляции нанодисперсным биологическим материалом позволяет определить скорость распространения введенного материала и отклик на его введение тканей передней стенки глаза.

Совершенно иной была организация межклеточного вещества в склере. Волокнистый компонент значимо преобладал над аморфным веществом. Распределение коллагеновых волокон носило более упорядоченный характер, наблюдалось их плотное распределение в объеме межклеточного вещества, равномерный характер толщины волокон, строго упорядоченное и ясно прослеживаемое положение изотропных и анизотропных дисков, выявляемое по характеру жесткости по ходу коллагеновых волокон и характеру изменения рельефа. Периоды поперечной исчерченности ($69,5 \pm 0,5$ нм), толщина волокон (1–2 мкм), жесткостные характеристики в пределах периодов были близки к аналогичным образованиям рыхлой, волокнистой соединительной ткани конъюнктивы, что косвенно подтверждает родственный характер этих волокнистых образований. Эластические волокна в склере носили весьма ограниченный и локальный характер. Аморфный компонент был представлен тонкофибрилярными войлокообразными образованиями, по своей организации аналогичными таковым в рыхлой соединительной ткани конъюнктивы.

Структура межклеточного вещества деминерализованной костной ткани диафизов бедренной кости имела несколько иные особенности. Были выявлены зоны плотно упакованных волокнистых образований, соответствующие матриксу костей. Они чередовались с зонами инвагинаций поверхности с редкими волокнистыми структурами, не имеющими ясно выраженной периодичности по своему ходу. Эти участки рассматривались нами как трофические, или прободающие, каналы, костные каналцы, или лакуны. Компактное вещество существенно отличалось по жесткостным и структурным характеристикам от плотной и рыхлой соединительных тканей. Волокна характеризовались нечетко выраженной периодичностью по своему ходу, выявлялись участки разрыхлений и варикоз. Толщина волокон колебалась от 0,5–0,7 до 1,5 мкм. Нередко выявляли зоны с гранулированной поверхностью, что, вероятно соответствует скоплениям остатков гидроксиапатита и неполной деминерализации аморфного вещества кости. Аморфное вещество носило скорее гранулированную, а не тонковолокнистую организацию. Волокна располагались упорядоченно, формируя пластинки.

Заключение. Полученные в ходе исследования данные указывают на различия в организации как волокнистого, так и аморфного компонентов межклеточного вещества в соединительной и костной тканях. Если плотные и рыхлые соединительные ткани родственны составляющим их структурам и различия носят скорее количественный, а не качественный характер, то костные ткани имеют существенные особенности, в первую очередь это касается аморфной составляющей. Различия между коллагеновыми волокнами могут быть связаны как с изначальными особенностями, так и с артефактами, полученными в ходе обработки материала. Для повышения корректности выводов при исследовании реактивных изменений в указанных тканях следует учитывать конституциональные особенности межклеточного вещества.

Работа поддержана проектом Президиума Российской академии наук.

Список использованных источников

1. Sugo, T. Structural Alterations in Hereditary / T. Sugo, Y. Sakata, M. Matsuda // Ann. NY. Acad. Sci. – 2001. – Vol. 936. – P. 65–88.
2. Sellheyer, K. Development of the human sclera : a morphological study / K. Sellheyer, M. Spitznas // Graefe's Archive Clin Exp Ophthalmol. – 1988. – Vol. 226. – P. 89–100.
3. Spitznas, M. The fine structure of the rabbit sclera with special reference to a peculiar structure in the fibroblast rough surfaced endoplasmic reticulum / M. Spitznas, L. Luciano, E. Reale // Z. Zellforsch. – 1971. – Vol. 118. – P. 439–448.
4. Муслимов, С. А. Морфологические аспекты регенеративной хирургии / С. А. Муслимов. – Уфа ; Башкортостан, 2000. – 168 с.
5. Сканирующая зондовая микроскопия в изучении регенерации тканей при склеропластических операциях в офтальмологии / В. В. Жаров [и др.] // Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования. – 2009. – № 10. – С. 1–6.

ФРИКЦИОННЫЕ СВОЙСТВА ПОВЕРХНОСТНОГО СЛОЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ КЛЕТОК, ОЦЕНЕННЫЕ С ПОМОЩЬЮ МИКРОСКОПИИ ЛАТЕРАЛЬНЫХ СИЛ

М. Н. Стародубцева¹, Н. И. Егоренков^{1,2}, И. А. Никитина¹

¹УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

²УО «Гомельский государственный технический университет им. П. О. Сухого»,
Гомель, Беларусь

Введение. Атомно-силовая микроскопия (АСМ) позволяет изучать геометрические и механические свойства поверхностного слоя биологических клеток. Поверхностный слой клеток представляет собой композитный материал, состоящий из нескольких слоев: гликокаликса, липидного бислоя и внутриклеточного слоя, содержащего кортикальный цитоскелет. Структура этого клеточного композита может значительно изменяться как при патологических процессах, происходящих в организме, так и при воздействии различных внешних факторов на изолированные клетки. Изменения структуры композита отражаются в изменениях характеристик клеток, получаемых при их исследовании с помощью АСМ, в том числе и фрикционных характеристик.

В контактном режиме сканирования одной из опций АСМ является микроскопия латеральных сил. При взаимодействии АСМ-зонда с поверхностью клетки в процессе ее сканирования возникают нормальные и латеральные (боковые) отклонения зонда, пропорциональные действующим на зонд нормальным и латеральным силам. Регистрируемые нормальные силы несут информацию о рельефе поверхности, а латеральные силы – о распределении сил трения и о рельефе поверхности. Для выделения трибологической составляющей из регистрируемых латеральных сил проводят сканирование в двух противоположных направлениях. Разность латеральных сил при первом (прямом) и втором (обратном) проходах пропорционально силе трения между острием АСМ-зонда и поверхностью, а среднее латеральных сил по двум проходам отражает рельеф образца.

Цель работы – выявить с помощью микроскопии латеральных сил закономерности изменения фрикционных свойств поверхностного слоя клеток (эритроцитов и тромбоцитов) в результате патологических процессов.

Материалы и методы исследования. АСМ-исследования клеток проводили на атомно-силовом микроскопе «НТ-206» («МикроТестМашины», Беларусь) в контактном режиме сканирования с использованием CSC38 игл-зондов («MicroMash»): уровень В, коэффициент жесткости 0,01–0,08 Н/м. Изучение температурных зависимостей АСМ-параметров клеток проводили в диапазоне температур от 20 до 100 °С, используя входящую в комплект прибора «НТ-206» термоплатформу ТТ-01. Средняя скорость нагрева образцов составляла около 0,5 °С в минуту, а скорость (частота) сканирования – 0,2–0,5 Гц. Нагрузку на АСМ-консоль поддерживали на уровне 1,2–1,6 нН. Сканирование проводили

при стандартных комнатных условиях при влажности $55 \pm 10\%$ и температуре 22 ± 5 °С. Записывали изображения рельефа (топографию) и карты латеральных сил на участках площадью 1–9 мкм². Эритроциты человека выделяли из периферической крови здоровых доноров. Тимоциты выделяли из тимуса белых беспородных крыс. Суспензию клеток обрабатывали химическими агентами и наносили на специально подготовленные стеклянные пластинки. При необходимости клетки фиксировали глутаровым альдегидом (1%-ным водно-солевым раствором). Препараты клеток высушивали на воздухе при комнатной температуре. АСМ-изображения обрабатывали с помощью программы «SurfaceXplore 1.3.11» («МикроТестМашины», Беларусь). В анализе АСМ-данных использовали параметры распределения значений латеральных сил и высот на участках поверхности клеток (среднее значения и отклонение от среднего значения – стандартное отклонение), а также расчетные параметры карт латеральных сил: среднее значение величин латеральных сил при прямом и обратном проходах, несущее информацию о рельефе исследуемой поверхности, и полуразность между значениями латеральных сил при прямом и обратном проходах, характеризующую силы трения между АСМ-острием и исследуемой поверхностью. Результаты статистического анализа экспериментальных данных представлены на рис. 1, 2 в виде границ доверительного интервала с доверительной вероятностью 0,95 ($n = 2 \dots 10$).

Результаты и их обсуждение. Выявлено, что с увеличением температуры испытаний в диапазоне от 15 до 90 °С фиксируемые регистрирующей системой прибора значения латеральных сил для поверхности клеток при прямом проходе (Z_1) увеличиваются, а при обратном проходе (Z_2) – уменьшаются (рис. 1). Их полусумма ($1/2|Z_1 + Z_2|$) практически не зависит от температуры испытаний во всем исследованном интервале температур (рис. 2, б), а полуразность, характеризующая силы трения между поверхностями острия и клетки ($F_{тр} = 1/2|Z_1 - Z_2|$),

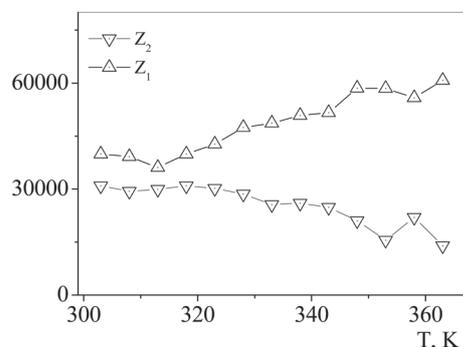


Рис. 1. Типичная температурная зависимость АСМ-параметров для тимоцитов крысы: Z_1 – среднее значение латеральных сил при прямом проходе, Z_2 – среднее значение латеральных сил при обратном проходе

изменяется существенно (рис. 2, а). При этом вертикальные отклонения иглы-зонда ($1/2|h_1 + h_2|$), характеризующие микрорельеф (топографию) поверхности клетки, практически не зависят от температуры испытаний (рис. 2, в). Это свидетельствует о том, что топография (микрорельеф) поверхности клетки не вносит заметного вклада в температурную зависимость латеральных сил при АСМ-сканировании. Экспериментально обнаружено, что силы трения между острием АСМ-зонда и поверхностью клеток значительно увеличиваются с ростом температуры после достижения клетками некоторой критической тем-

пературы, значение которой зависит от типа клетки (40–45 °С – для эритроцитов и 50–60 °С – для тимоцитов) [1].

Исследования показали, что силы трения между острием АСМ-зонда и контрольной поверхностью стекла, не контактировавшей с суспензией клеток, остаются постоянными при изменении температуры в рассматриваемом интервале температур. В образцах, используемых для АСМ-анализа клеток, поверхность стекла в пространстве между клетками покрыта слоем, содержащим молекулы, входящие в состав буферно-солевых сред, и продукты жизнедеятельности клеток. Силы трения, измеренные в межклеточных областях поверхности стекла, также увеличиваются с увеличением температуры. Однако при воздействиях, изменяющих внутреннюю структуру поверхностного слоя клетки, например при активации цитоскелета, зависимость сил трения от температуры для поверхности клеток существенно зависит от интенсивности активирующего фактора (например, от концентрации пероксинитрита), а зависимость сил трения для межклеточных областей поверхности стекла в этих условиях практически не изменяется.

Согласно литературным данным, силы трения между острием АСМ-зонда и поверхностью липидного слоя с увеличением температуры уменьшаются в результате фазового перехода (плавления липидов) [2, 3]. Следовательно, липидный бислой не может рассматриваться как фактор, ответственный за увеличение сил трения между поверхностным слоем клеток и поверхностью иглы-зонда при увеличении температуры испытаний.

Патологические изменения структуры клеток, включая обработку клеток химически активными агентами (например, глутаровым альдегидом, пероксинитритом), приводят к существенному изменению характера зависимости их сил трения от температуры испытаний. Например, обработка клеток глутаровым альдегидом (сши-

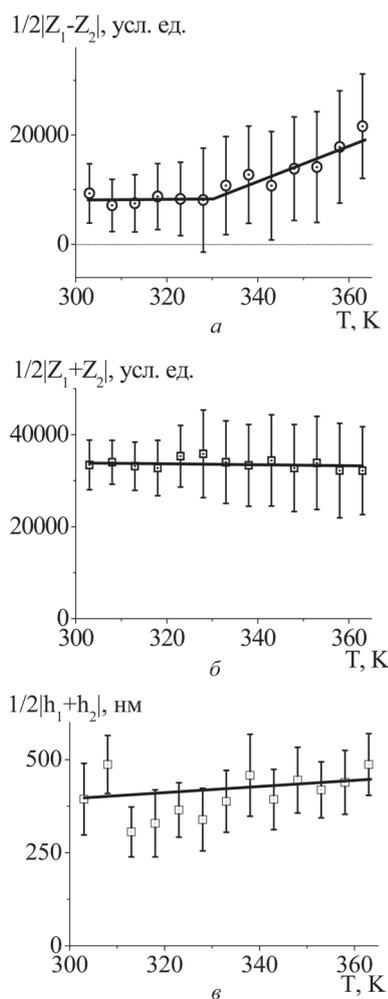


Рис. 2. Температурная зависимость расчетных АСМ-параметров для образцов тимоцитов крысы: $1/2|Z_1 - Z_2|$ – сила трения между острием АСМ-зонда и поверхностью клетки; $1/2|Z_1 + Z_2|$ – среднее по двум проходам значение латеральных сил; $1/2|h_1 + h_2|$ – среднее по двум проходам значение высоты (вертикальных отклонений). Данные представлены как среднее значение и среднеквадратическое отклонение для площади сканирования $3,0 \times 3,0$ мкм для трех разных образцов клеток

вающим биологические макромолекулы, включая белки цитоскелета, агентом) приводит к уменьшению и даже полной потере зависимости сил трения от температуры. Рост сил трения с температурой значительно снижается при термообработке клеток (при нагреве выше температуры денатурации белков цитоскелета). Эти факты указывают на то, что силы трения между острием АСМ-зонда и поверхностью биологических клеток обусловлены белковыми структурами их поверхностного слоя, прежде всего подмембранным цитоскелетом.

Заключение. Использование полуразности значений латеральных сил при прямом и обратном проходах АСМ-сканирования биологических клеток расширяет базу экспериментально получаемых данных о клетках и исключает вклад микрорельефа в значения сил трения. Определяемые с помощью АСМ фрикционные свойства поверхности биологических клеток, а также характер их температурной зависимости позволяют оценивать норму и патологию клеток по свойствам поверхностного слоя, определяемых свойствами цитоскелета.

Список использованных источников

1. Starodubtseva, M. N. Thermo-mechanical properties of the cell surface assessed by atomic force microscopy / M. N. Starodubtseva, N. I. Yegorenkov, I. A. Nikitina // Micron. – 2012. – PMID : 22613572.
2. Luo, M. F. Dynamic behavior of a nanoscale-patterned phospholipid thin film on mica and silicon studied by atomic force microscopy / M. F. Luo [et al.] // Thin Solid Films. – 2009. – Vol. 517, N 5. – P. 1765–1769.
3. Oguchi, T. DSPC/DLPC mixed films supported on silica : a QCM-D and friction force study / T. Oguchi [et al.] // J. Oleo Sci. – 2011. – Vol. 60, N 4. – P. 177–183.

ИЗУЧЕНИЕ ПАТОЛОГИИ ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТРЕХМЕРНЫХ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ИЗОБРАЖЕНИЙ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

М. И. Игнатовский¹, В. В. Лашковский², О. А. Сергей²

¹Научно-исследовательский центр проблем ресурсосбережения НАН Беларуси,
Гродно, Беларусь

²Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

В докладе рассматриваются вопросы применения АСМ для изучения поверхности биологической ткани – хрящей. Показана возможность выявления патологии при помощи анализа трехмерных микроскопических изображений высокого разрешения.

Введение. Согласно литературным источникам, дегенеративно-дистрофические поражения тазобедренного сустава занимают первое место среди аналогичных заболеваний других суставов. Анализ статистических данных о распространенности коксартроза показывает, что в разных регионах Евро-

пы его частота колеблется от 7 до 25% взрослого населения. Неуклонно прогрессирующий характер процесса примерно в 60% случаев ведет к снижению трудоспособности и в 11,5% – к инвалидности. При этом I группу инвалидности имеют около 20% утративших трудоспособность, II группу – 13,3–81,3, а III группу – 18,1–45,0%. Объективной тенденцией последнего времени является уменьшение среднего возраста больных с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями тазобедренного сустава [1].

Материалы и методы исследования. Производили отбор образца хрящевой ткани сустава. По достижении существенной степени дегидратации, препарат, предназначенный для измерений, вырезали в виде прямоугольной пластины размером $\sim 10 \times 5$ мм². Добивались плоскопараллельности сторон пластины, зачищая ее края так, чтобы они не возвышались над ее средним уровнем.

Изображения поверхности препарата получали при помощи оптического микроскопа «Micro 200T-01», оснащенного цифровой видеокамерой, в отраженном свете.

Изучение морфологии поверхности препарата выполняли с использованием атомно-силового микроскопа (АСМ) NT-206 в статическом режиме сканирования кремниевым кантилевером CSC 12/15.

Для обработки и визуализации экспериментальных использовали программное обеспечение SurfaceXplorer (производства ОДО «Микротестмашины») и nanoImages (ГНУ «НИЦПР НАН Беларуси»).

Результаты и их обсуждение. В норме хрящевая ткань состоит из клеток (хондроцитов и хондробластов) и большого количества межклеточного вещества (матрикса), отличающегося упругостью. Межклеточное вещество обладает высокой гидрофильностью, что обуславливает ее плотность, тургор и способствует диффузии питательных веществ, воды и солей. В свежей хрящевой ткани содержится около 70–80% воды, 10–15% органических веществ и 4–7% солей. В сухом веществе хрящевой ткани от 50 до 70% приходится на содержание коллагена, ориентация волокон которого определяется направлением силовых линий, возникающих при деформациях хряща в процессе функционирования органа.

Клетки окружены волокнистым каркасом из коллагеновых волокон, пропитанных аморфным веществом. Они имеют овальную, округлую или полигональную форму в зависимости от степени дифференцировки. Расположены в особых полостях (лакунах), называемых изогенными, в межклеточном веществе в одиночку или группами [2]. Данные изогенные группы возникают в результате митотического деления хондроцита, при котором дочерние клетки не могут синтезировать достаточно большое количество матрикса вокруг себя. Матрикс в средней части хрящевой ткани «пятнистый», с более темными участками вокруг изогенных групп из-за большого содержания гликозаминогликонов, и называется территориальным матриксом. Более светлые участки между группами клеток – интертерриториальный матрикс [3].

Суставной гиалиновый хрящ состоит из трех нечетко очерченных зон. В наружной зоне располагаются мелкие уплощенные малоспециализирован-

ные хондроциты. В средней (промежуточной) зоне клетки более крупные, округлые, расположены в виде колонок, перпендикулярно поверхности. Глубокая зона суставного хряща состоит из кальцинированного хряща [2].

На поверхности препарата хрящевой ткани без патологии имеются нерегулярно расположенные множественные углубления эллиптической формы сечения в плоскости поверхности, а также несколько длинных борозд (рис. 1, *a*). Характерный размер (диаметр) углублений находится в диапазоне от 30 до 120 мкм. Наибольшая ширина борозны – 35 мкм.

АСМ-изображение (рис. 2) получено на границе одного из эллиптических углублений. В связи с тем, что диапазон измерения АСМ по высоте составляет 2 мкм, вертикальные стенки углубления и его дно, расположенные ниже 2 мкм от уровня поверхности препарата, не отображены на рисунке.

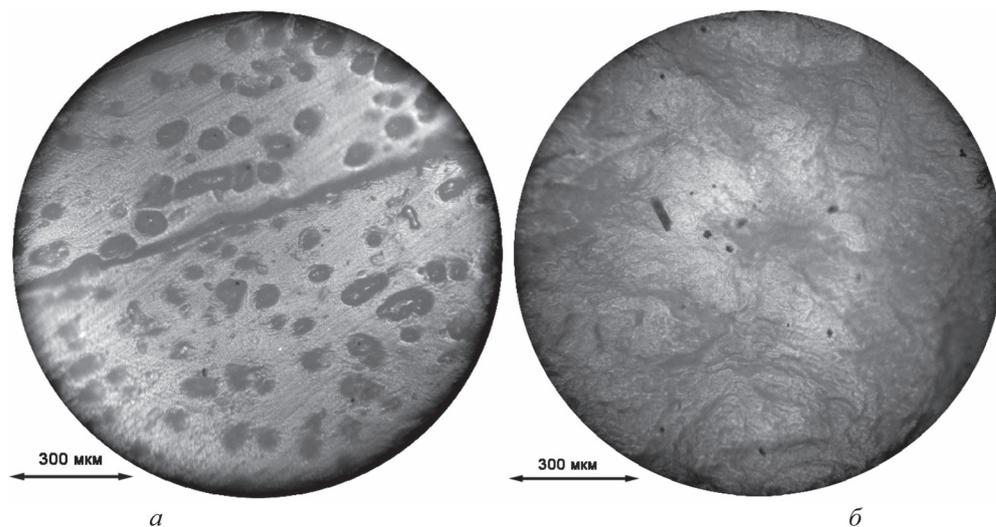


Рис. 1. Оптическое изображение поверхности препарата хрящевой ткани: *a* – без патологии; *б* – с патологией. $\times 200$

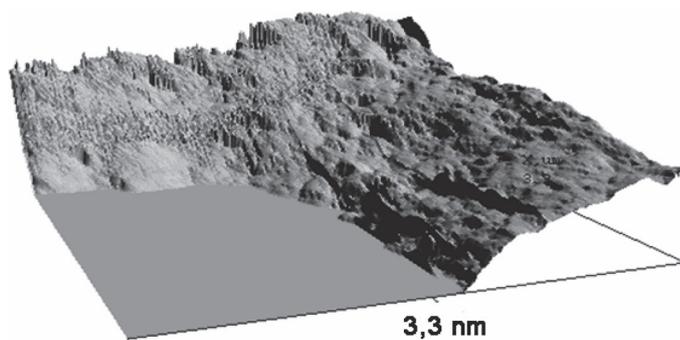


Рис. 2. АСМ-изображение поверхности препарата без патологии

На изображении (рис. 3, *a*) приведен участок поверхности препарата (2,5 × 2,5 мкм). Микроструктура поверхности представлена нерегулярными выступами с диаметрами вершин порядка 200–500 нм и высотами порядка 50 нм.

В начале заболевания при остеоартрозе изменения в хрящевой ткани, связанные с коллагеновыми волокнами, характеризуются изменением в ориентации коллагеновых волокон и содержания протеогликанов в поверхностной зоне, в то время как состав коллагенового волокна изменяется лишь при терминальной стадии заболевания [4].

Характерным признаком деструкции хряща на ранней стадии заболевания является потеря гликозаминогликанов матрикса преимущественно в поверхностной и промежуточной зонах. Значительное снижение как хондроитинсульфата, так кератансульфата сочетается с дистрофическими и некротическими изменениями хондроцитов, а также увеличения количества пустых лакун. Параллельно дистрофическому и некротическому процессам отмечается достоверное увеличение количества функционально активных хондроцитов преимущественно в поверхностной зоне. Однако данная репаративная регенерация не может считаться полноценной, так как содержание гликозаминогликанов в прилежащем матриксе остается сниженным по сравнению с возрастным контролем.

При II стадии ОА на фоне прогрессирующего снижения гликозаминогликанов отмечается разволокнение матрикса, формирование поверхностных узур, появление по их краю клонов, связанных с репликацией хондроцитов. Несмотря на увеличение количества гликозаминогликанов в матриксе вблизи клонов хондроцитов с высоким уровнем метаболизма, содержание их не достигает нормальных показателей. В матриксе, прилежащем к клонам с дистрофическими изменениями хондроцитов, выявляется минимальное количество гликозаминогликанов. Таким образом, клоны, представляющие собой реактивный ответ ткани на повреждение, не ведут к полноценной репарации.

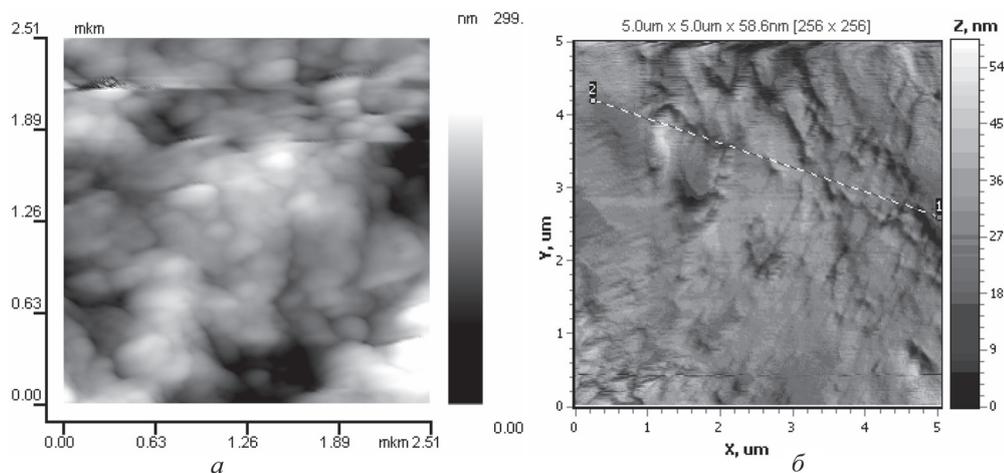


Рис. 3. АСМ-изображение поверхности препарата хрящевой ткани:
a – без патологии; *б* – с патологией

Выраженная деструкция суставного хряща при III стадии ОА характеризуется формированием глубоких узур, ослаблением клонирования, резким снижением содержания гликозаминогликанов в матриксе глубокой зоны.

Таким образом, выявляется повышение митотической активности хондроцитов на ранних стадиях ОА и снижение метаболической активности хряща в фазу образования глубоких узур [5].

Распадающийся суставной хрящ замещается образующейся по краям суставных поверхностей и надвигающейся на центральные их участки хрящеподобной, так называемой хондроидной тканью, обладающей свойствами волокнистого хряща. Ее основное вещество имеет значительную фибриллярность, а мелкие веретенообразные клетки равномерно и плотно распределены по всему пространству [6].

Поверхность препарата, которую мы можем видеть на рис. 1, б, характеризуется «смятиями». При использовании поляризованного света можно наблюдать, что участки поверхности имеют разный угол поляризации, а значит различную структуру (напряжения) или состав. Также, мы видим единичные углубления эллиптической формы сечения в плоскости поверхности с большим диаметром – 355 мкм. Проявляются черные точки (до $\varnothing 15$, мкм) и прямоугольник (80×17 мкм²). При увеличении в 500 раз видно, что черные точки и прямоугольник являются механическими повреждениями поверхности препарата.

АСМ-изображение (рис. 4) получено на границе одного из эллиптических углублений на участке близком к точке окончания большего диаметра. Максимальная зафиксированная глубина – 0,24 мкм. Поверхность как внутри впадины, так и вне нее обладает сложной морфологией.

АСМ-изображение (рис. 3, б) получено на поверхности в глубине впадины. Максимальный обнаруженный перепад высот составляет 30 нм. АСМ-изображения, полученные на поверхности вне впадины, дают максимальный перепад высот равный 10 нм.

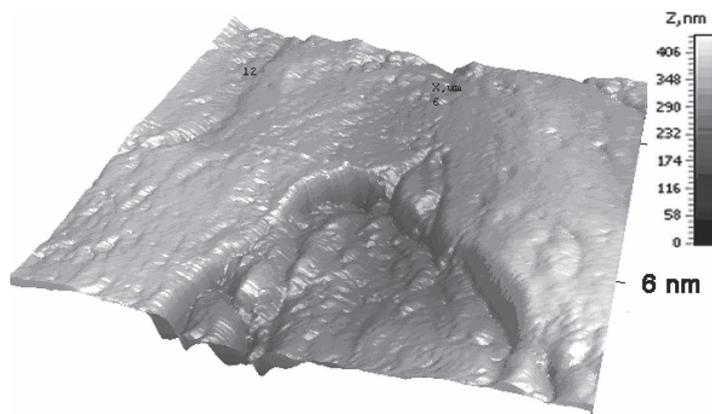


Рис. 4. АСМ-изображение поверхности препарата с патологией

Заключение. На ограниченном количестве образцов выявлены признаки, характеризующие патологию хрящевой ткани суставов. При помощи оптической микроскопии показано исчезновение с поверхности нерегулярно расположенных множественных углублений эллиптической формы сечения в плоскости поверхности – выходящего на поверхность матрикса каркаса из коллагеновых волокон. АСМ-изображения, полученные на склонах углублений, позволяют отследить выступы волокон на поверхность матрикса.

С использованием поляризованного света обнаружено, что участки поверхности препарата с патологией имеют разный угол поляризации, а, значит, различные структуры (напряжения) или состав. Правление узур представлено на изображениях в виде смятий поверхностного слоя хряща.

Список использованных источников

1. Государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования» [Электронный ресурс] / Режим доступа : www.belmapo.by/downloads/.../organosoxrannie_operacii.doc. – Дата доступа : 25.01.2012.
2. Гистология : учебник / Ю. И. Афанасьев [и др.] ; под ред. Ю. И. Афанасьева. – М. : Медицина, 2002. – 744 с.
3. Гистология хрящей и кости [Электронный ресурс] / Режим доступа : <http://www.courseweb.uottawa.ca/medicine-histology/english/musculoskeletal/default.htm>. – Дата доступа : 15.04.2012.
4. Depth-wise progression of osteoarthritis in human articular cartilage : investigation of composition, structure and biomechanics / S. Saarakkala [et al.] // Osteoarthritis Cartilage. – 2010. – Vol. 18, N 1. – P. 73–81.
5. Морфология суставного хряща при остеоартрозе / Т. Н. Копьева [и др.] // Архив патологии. – 1986. – Т. XLVIII, № 12. – С. 4.
6. Астапенко, М. Г. Болезни суставов / М. Г. Астапенко, Э. Г. Пихлак // М. : Медицина, 1966. – 379 с.

ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ТРОМБОЦИТОВ МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Е. С. Дрозд¹, Е. В. Шамова², О. Д. Бичан², И. В. Горудко², К. Б. Шумаев³,
А. Ф. Ванин³, А. В. Соколов⁴, Н. В. Грудинина², С. Б. Бушук⁵, Б. А. Бушук⁵,
В. Б. Васильев⁴, О. М. Панасенко⁶, С. А. Чижик¹, С. Н. Черенкевич²

¹Институт тепло- и массообмена имени А. В. Лыкова НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

³Институт химической физики им. Н. Н. Семенова, Москва, Россия

⁴НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

⁵Институт физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси, Минск, Беларусь

⁶ФГУ НИИ физико-химической медицины ФМБА России, Москва, Россия

Введение. Прогрессирование любого заболевания сопровождается функциональными и структурными изменениями тех или иных форменных элементов крови. Тромбоциты – клетки крови, играющие ключевую роль в процессах гемостаза. Основная их функция состоит в свертывании крови, образова-

нии тромбов – сгустков, закрывающих просвет разорвавшегося кровеносного сосуда и останавливающих кровотечение. Однако повышенная активность тромбоцитов может быть причиной патологического тромбообразования при сердечно-сосудистых, онкологических и других заболеваниях, сопряженных с развитием воспалительного ответа и окислительного стресса. Важную роль в поддержании редокс-гомеостаза и в редокс-регуляции играют тиолсодержащие молекулы, такие, как глутатион, тиоредоксины, глутаредоксины и пероксиредоксины [1]. В связи с этим была поставлена задача исследовать структурно-функциональные свойства тромбоцитов крови при действии восстановленного глутатиона (GSH), являющегося основным компонентом редокс-буфера. В результате исследований тромбоцитов с помощью амотно-силового микроскопа (АСМ), удалось показать, что данный метод может быть применен для изучения влияния фармакологических препаратов на функциональное состояние клеток крови, а именно на их механические свойства.

Материалы и методы исследования. В работе использовали АДФ, НП, GSNO фирмы «Sigma-Aldrich»(США), глутаровый альдегид фирмы «Reanal» (Венгрия), ДНКЖ с глутатионовыми лигандами, синтезированные способом, разработанным А. Ф. Ваниным [2]. Остальные реактивы – заводов «Реахим» (Россия) и «Белмедпрепараты» (Беларусь).

Донорскую венозную кровь, стабилизированную цитратом натрия (3,8% в соотношении 9 : 1), получали из Республиканского научно-практического центра гематологии и трансфузиологии. Обогащенную тромбоцитами плазму (ОТП) получали центрифугированием крови при 200 g в течение 10 мин при комнатной температуре, бестромбоцитарную плазму (БТП) – центрифугированием крови при 2000 g в течение 15 мин. Количество тромбоцитов в ОТП доводили до $2,5 \cdot 10^8$ кл/мл разбавлением БТП и использовали в качестве исходной суспензии для изучения агрегации/деагрегации тромбоцитов и исследований с помощью атомной силовой микроскопии (АСМ).

Кинетику агрегации/деагрегации тромбоцитов регистрировали путем измерения светопропускания при 540 нм с применением анализатора агрегации AP2110 («СОЛАР», Минск, Беларусь). В кювету анализатора вносили 400 мкл ОТП, инкубировали при 37 °С при постоянном перемешивании в течение 2 мин, а затем добавляли АДФ, конечная концентрация которого составляла 1 мкМ при индуцировании обратимой и 5 мкМ – необратимой агрегации тромбоцитов. Деагрегацию тромбоцитов вызывали добавлением доноров NO: НП, S-нитрозоглутатионом (GSNO) и ДНКЖ. Степень деагрегации рассчитывали по формуле $\frac{T_{\max} - T_{\text{NO}}}{T_{\max}} \cdot 100\%$, где T_{\max} – максимальное изменение величины светопропускания суспензии тромбоцитов в процессе агрегации, T_{NO} – значение светопропускания после добавления донора NO [3].

Для подготовки тромбоцитов для АСМ-исследований 200 мкл либо исходной суспензии тромбоцитов ($2,5 \cdot 10^8$ кл/мл), активированных АДФ и деагрегированных под действием доноров NO, либо суспензии интактных тромбо-

цитов ($2,5 \cdot 10^8$ кл/мл), преинкубированных с донорами NO в течение 3 мин, фиксировали 1,5%-ным глутаровым альдегидом в течение 30 мин. Тромбоциты выделяли путем центрифугирования при 600 g в течение 3 мин с последующим двукратным отмыванием осадка ФСБ, а затем дважды – в дистиллированной воде. После выделения отмывые клетки наносили на предметные стекла размером 10×10 мм² и высушивали на воздухе при комнатной температуре в течение нескольких часов.

Исследование упругих свойств мембран тромбоцитов осуществляли при помощи специализированного экспериментального комплекса, совмещающего функции сканирующей зондовой (АСМ NT-206, ОДО «Микротестмашины», Беларусь) и оптической микроскопии (оптическая система, НПРУП «ЛЭМТ» БелОМО, Беларусь). Процедуру статической силовой спектроскопии выполняли кремниевым зондом CSC38 («MikroMasch» Co, Эстония) после некоторого «затупления» острия. Радиус закругления острия составлял около 100 нм (определялся путем сканирования тестового образца), а коэффициент жесткости консоли – 0,03 Н/м (согласно спецификации производителя зондов). Для расчета модуля упругости использовали модель Герца [4, 5].

Достоверность различий средних величин рассчитывали с применением *t*-критерия Стьюдента, принимая различия достоверными на уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенного исследования, установлено (рис. 1), что при добавлении к активированным тромбоцитам глутатиона в микромолярных концентрациях имеет место уменьшение в 1,4 раза, а в миллимолярных увеличение в 3,1 раза (при 6 мМ концентрации глутатиона) модуля упругости клеточной мембраны (модуль упругости рассчитывался по модели Герца на глубине внедрения 25 нм).

Следовательно, глутатион оказывает влияние на упругие свойства клеток, что может быть связано либо с изменением равновесного потенциала плазматической мембраны [6], либо с перестройкой цитоскелета [7, 8]. Последнее возможно оценить с помощью лазерной конфокальной микроскопии. Такие исследования были проведены с использованием флуоресцентного зонда на *F*-актин (BIODIPY *FL*-фоллацидин) [9]. Получено, что в присутствии в микромолярных концентрациях GSH (5 мкМ) происходит деполимеризация кортикального *F*-актина. Это сопровождается снижением модуля упругости тромбоцитов. В присутствии 6 мМ GSH, напро-

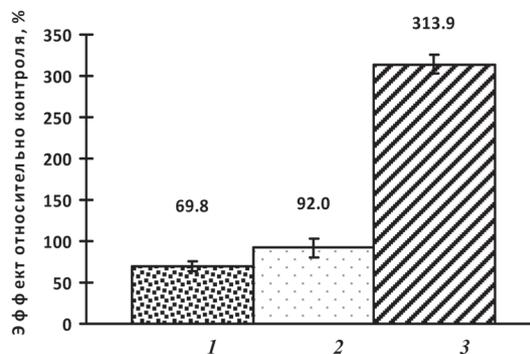


Рис. 1. Влияние глутатиона в различных концентрациях на модуль упругости тромбоцитов (эффект относительно контроля, %): 1 – 5 мкМ; 2 – 3 мМ; 3 – 6 мМ

тив, наблюдается увеличение концентрации F -актина и повышение модуля упругости клеток.

Таким образом, на основании проведенного исследования влияния одной из редокс-молекул на упругие свойства тромбоцитов можно заключить, что оценка локального модуля упругости позволяет расширить представления о некоторых клеточных процессах сопровождающихся/связанных с изменениями механических свойств клеток.

Проведенное исследование влияния доноров оксида азота на механические свойства тромбоцитов включало в себя оценку морфометрических параметров и механических свойств отдельных клеток. Первоначально путем АСМ-сканирования на малых полях определялись основные морфологические параметры тромбоцитов, такие, как, диаметр, высота, толщина, площадь сечения, количество объектов на единице площади, форма и др. (рис. 2). Данные изображения демонстрируют возможности применения АСМ для изучения морфологии тромбоцитов, что особенно актуально с точки зрения оценки функционального состояния данных клеток.

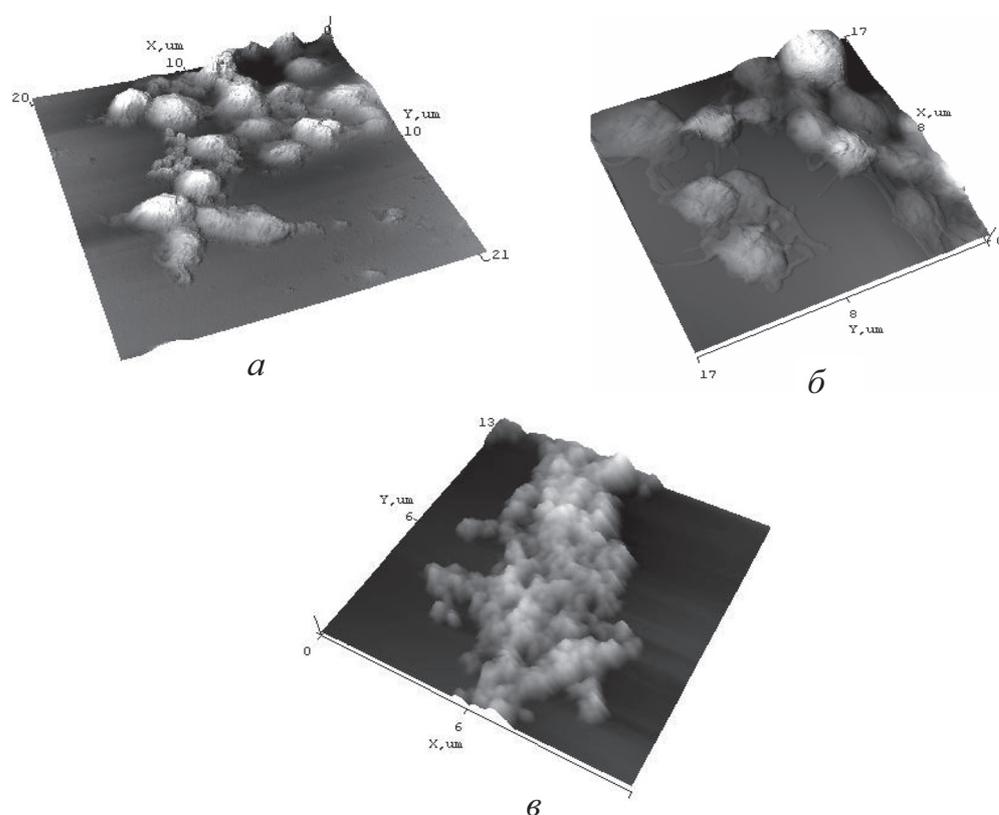


Рис. 2. Трехмерные АСМ-изображения тромбоцитов: *а* – одиночные тромбоциты, область сканирования 21×20 мкм²; *б* – клетки, зафиксированные на начальной стадии агрегации, область сканирования 20×20 мкм²; *в* – тромбоцитарный агрегат, область сканирования 13×12 мкм²

В исследовании в качестве веществ, оказывающих влияние на функциональное состояние клеток и предположительно на их механические свойства, были выбраны доноры оксида азота – нитропруссид натрия (НП) и динитрозильные комплексы железа с глутатионом (ДНКЖ).

Оксид азота (NO) является одним из наиболее важных биологических медиаторов, который вовлечен во множество физиологических и патофизиологических процессов. Он представляет собой уникальный по своей природе механизм действия и вторичный мессенджер в большинстве клеток организма. В частности, оксид азота вовлечен в реализацию многих важных физиологических функций, таких, как вазодилатация, нейротрансмиссия, снижение агрегации тромбоцитов, реакции иммунной системы, регуляция тонуса гладких мышц, состояние памяти и другие, а также участвует в некоторых патологических процессах [9, 10]. Ряд заболеваний (атеросклероз, инфаркт миокарда, инсульт, а также сахарный диабет и др.) сопровождается дисфункцией эндотелия и характеризуется пониженным содержанием NO в крови [11, 12]. Поскольку уменьшение уровня эндогенного NO приводит к нарушению ряда физиологических NO-зависимых процессов, возникает необходимость в использовании лекарственных препаратов, способных поддерживать уровень NO. Широко применяемыми в медицинской практике донорами NO являются нитроглицерин и нитропруссид натрия (НП). Однако при использовании нитроглицерина развивается толерантность к нему, тогда как при использовании НП возникает опасность токсического действия цианида, высвобождающегося из НП. В связи с этим в настоящее время ведется поиск новых лекарственных средств, способных выступать в качестве доноров NO. Одним из таких доноров рассматриваются динитрозильные комплексы железа с глутатионом, которые обладают сильно выраженным гипотензивным и антитромбоцитарным эффектами [11]. Известно, что NO участвует в регуляции функциональных свойств тромбоцитов, однако механизмы его действия детально не изучены. В связи с этим была поставлена задача провести оценку упругих свойств клеток, которые являются не только показателем состояния мембраны и цитоскелета, но и функционального состояния клетки в целом.

Результаты исследования воздействия доноров оксида азота на тромбоциты представлены на рис. 3.

Обработка интактных тромбоцитов НП (1 мМ) и ДНКЖ (50 мкМ) в течение 3 мин не влияет на упругие свойства, в то время как при дезагрегации тромбоцитов донорами воздействие ДНКЖ и НП различно. Так, модуль упругости нитропруссид-деагрегированных тромбоцитов в 2,9 раза меньше, чем у интактных ($p < 0,05$). При сравнении данного параметра между интактными и ДНКЖ-деагрегированными клетками достоверных различий не установлено (модуль упругости определялся на глубине внедрения индентора равной 25 нм).

Изменение модуля упругости при агрегации свидетельствует о запуске процессов реорганизации цитоскелета при активации тромбоцитов. Причем можно предположить, что в результате воздействия ДНКЖ данный про-

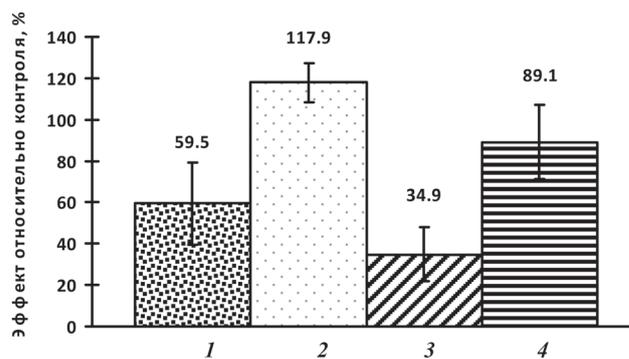


Рис. 3. Влияние доноров оксида азота на модуль упругости тромбоцитов (эффект относительно контроля, %): 1 – тромбоцитарные агрегаты; 2 – спонтанно дезагрегированные клетки; 3 – НП-дезагрегированные тромбоциты; 4 – ДНКЖ-дезагрегированные тромбоциты

цесс прекращается и происходит обратимая реорганизация цитоскелета, поскольку значения модуля упругости интактных, спонтанно и ДНКЖ-дезагрегированных тромбоцитов практически не различаются. Иное имеет место при дезагрегации тромбоцитов под действием НП.

Таким образом, результаты исследования показали, что дезагрегация тромбоцитов, индуцированная донорами NO, сопровождается изменением упругих свойств клеток. Полученные данные указывают на возможность использования АСМ для контроля изменений морфологии клетки на разных стадиях активации, а также для проведения количественной оценки локальных механических свойств тромбоцитов, что открывает новые возможности использования данного метода для тестирования действия различных фармакологических веществ, в частности антитромбоцитарных препаратов.

Заключение. Оценка влияния доноров оксида азота на упругие свойства тромбоцитов показала, что дезагрегация тромбоцитов, индуцированная донорами NO, сопровождается изменением упругих свойств клеток, причем при использовании НП изменение данных свойств относительно контроля более выражено, чем в случае применения ДНКЖ. Это свидетельствует о возможности использования силовой спектроскопии в качестве дополнительного метода контроля действия различных антитромбоцитарных препаратов. Кроме того, на примере исследования воздействия глутатиона показано, что применение такого метода способствует лучшему пониманию протекающих физиологических процессов, и открывает широкие возможности для проведения целого ряда модельных экспериментов.

Список использованных источников

1. Essex, D. W. Redox control of platelet function / D. W. Essex // *Antioxidants and Redox Signaling*. – 2009. – Vol. 11, N 5. – P. 1191–1225.
2. Лакомкин, В. Л. Длительный гипотензивный эффект стабильных динитрозильных комплексов железа у бодрствующих нормотензивных и гипертензивных крыс / В. Л. Лакомкин, А. А. Тимошин, А. Ф. Ванин // *Кардиологич. вестн.* – 2006. – Т. 1, № 1. – С. 42–47.

3. Регуляция функциональных и механических свойств тромбоцитов и эритроцитов донорами монооксида азота / Е. В. Шамова [и др.] // Биофизика. – 2011. – Т. 56, № 2. – С. 256–271.
4. Hertz, H. Üeber den kontakt elastischer körper / H. Hertz // J. für die Reine Angewandte Math. – 1881. – Vol. 92. – P. 156–171.
5. Дрозд, Е. С. Атомно-силовая микроскопия структурно-механических свойств мембран эритроцитов / Е. С. Дрозд, С. А. Чижик, Е. Э. Константинова // Рос. журн. биомеханики. – 2009. – Т. 13, № 4(46). – С. 22–30.
6. Simultaneous mechanical stiffness and electrical potential measurements of living vascular endothelial cells using combined atomic force and epifluorescence microscopy / C. Callies [et al.] // Nanotechnology. – 2009. – Vol. 20, N 17. – P. 175104.
7. Wu, H.W. Mechanical properties of L929 cells measured by atomic force microscopy: effects of anticytoskeletal drugs and membrane crosslinking / H. W. Wu, T. Kuhn, V. T. Moy // Scanning. – 1998. – Vol. 20, N 5. – P. 389–397.
8. The actin cytoskeleton response to oxidants: from small heat shock protein phosphorylation to changes in the redox state of actin itself / I. Dalle-Donnen [et al.] // Free Radical Biol. and Med. – 2001. – Vol. 31, N 12. – P. 1624–1632.
9. Redox regulation of morphology, cell stiffness, and lectin-induced aggregation of human platelets / E. V. Shamova [et al.] // Eur. Biophys. J. – 2011. – Vol. 40, N 2. – P. 195–208.
10. Lefér, A. M. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischaemia-reperfusion / A. M. Lefér, D. J. Lefér // Cardiovascular Research. – 1996. – Vol. 32, N 4. – P. 743–751.
11. Kawashima, S. Dysfunction of endothelial nitric oxide synthase and atherosclerosis / S. Kawashima, M. Yokoyama // Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biol. – 2004. – Vol. 24, N 6. – P. 998–1005.
12. Кардиопротекторная эффективность динитрозильного комплекса железа с L-цистеином у крыс *in vivo* / О. И. Писаренко [и др.] // Изв. Акад. наук. Сер. биологическая / Рос. акад. наук. – 2008. – № 1. – С. 110–114.

АТОМНО-СИЛОВАЯ МИКРОСКОПИЯ – СОВРЕМЕННЫЙ МЕТОД ВИЗУАЛИЗАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

Б. Е. Алпысбаева¹, Н. Е. Коробова², А. П. Рягузов³, Р. Р. Немкаева³

¹*Лаборатория инженерного профиля КазНУ им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан*

²*Кафедра физики твердого тела и нелинейной физики физико-технического факультета КазНУ им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан*

³*Национальная нанотехнологическая лаборатория открытого типа, Алматы, Казахстан*

Введение. Атомно-силовая микроскопия (АСМ) представляет собой уникальную методику получения изображений с большим динамическим диапазоном разрешений, выходящим за пределы возможностей оптических и электронных микроскопов. АСМ позволяет исследовать не только морфологию поверхности, дефекты поверхности, но также локальные свойства исследуемой поверхности, такие, как проводимость поверхности, распределения статического заряда, намагниченность отдельных участков, локальное трение и упругие модули [1]. В зависимости от типа взаимодействия зонда с поверх-



Рис. 1. Зависимость силы межатомного взаимодействия от расстояния между острием и образцом

ностью (рис. 1) АСМ может работать в различных режимах: в контактном, бесконтактном и полуконтактном. Каждая методика имеет определенные различия при исследовании поверхности, но также данные режимы могут дополнять друг друга, что позволяет получить более подробную информацию об исследуемой поверхности [2].

АСМ на данный момент является одним из основных методов исследования структуры и свойств микро- и нанообъектов, к которым можно отнести не только объекты, полученные различными физическими или химическими методами, но также

и биологические объекты [3]. Как известно, исследование биологических объектов вызывает некоторые сложности из-за специфических свойств и структуры биологических объектов. Для этого необходимо соблюдать определенные условия. АСМ позволяет исследовать биообъекты и также влиять на их структуры и некоторые свойства. Существуют возможности исследовать биологические объекты в жидкости при помощи АСМ и также при условиях изменения температуры от минусовой и до плюсовой шкалы. Такие уникальные возможности АСМ позволяют давать наиболее полную информацию о биологических объектах или дополнять АСМ-данными результаты, полученные с помощью других методик исследования подобных объектов.

Результаты и их обсуждение. В рамках данной исследовательской работы были исследованы различные биологические объекты с целью отработки методики исследования подобных микро- и нанообъектов и получение информации о структуре и свойствах биологических объектов для дальнейших исследований. Исследования проводились на атомно-силовом микроскопе Ntegra Theta (производитель: ЗАО «НТ-МДТ», г. Зеленоград, Россия) и на оптическом микроскопе DM 6000M (производитель: «Leica», Швеция). Изначально предварительные исследования осуществляли на оптическом микроскопе для того, чтобы подобрать области на биологических объектах, которые более подходили бы для дальнейших исследований на атомно-силовом микроскопе. Разрешение оптического микроскопа «Leica» составляет около 200 нм, что позволяет более подробно исследовать биологические объекты и подбирать из

их числа объекты для АСМ. Далее на атомно-силовом микроскопе подбирали методики, подходящие для исследования выбранных биологических объектов, а также осуществляли работы по предварительной подготовке проб образцов [4].

Из многочисленных биологических объектов для исследования с помощью АСМ были подобраны следующие объекты: крыло мотылька, корпус жука, спинка осы, глаз мухи, кровь человека и некоторые бактерии.

Для исследования корпуса жука, крови человека, бактерий и спинки осы была применена контактная АСМ (рис. 2), поскольку их поверхность была более устойчива для сканирования в контактном режиме постоянной силы. В режиме постоянной силы отклонение кантилевера используется в качестве входных данных для контура обратной связи, который перемещает образец вверх и вниз по оси Z , сохраняя при этом отклонение кантилевера постоянным. В этом случае изображение формируется исходя из перемещения сканера. При постоянном отклонении кантилевера, результирующая сила, действующая

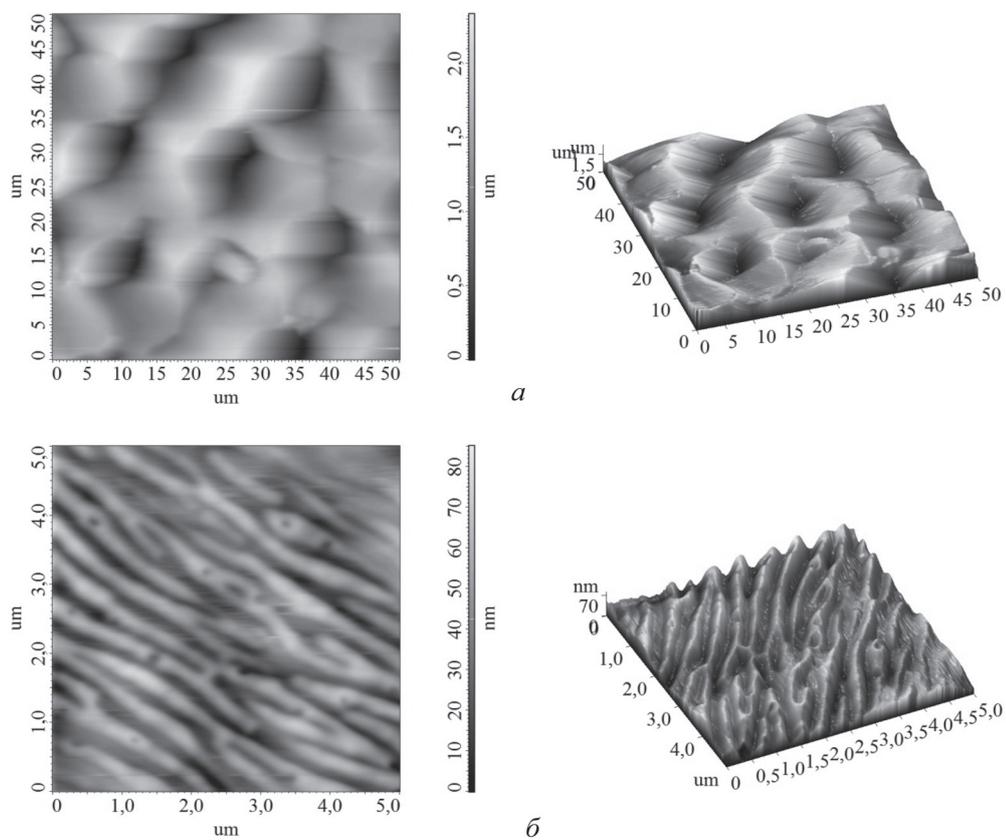


Рис. 2. 2D (слева) и 3D (справа) АСМ-изображение спинки осы размером: $a - 50 \times 50$ мкм; $b - 5 \times 5$ мкм

на образец, остается постоянной. Для данной методики применялись кантилеверы типа DCP и CSG11.

На рис. 2 представлены АСМ-изображения с площадью сканирования в 50 и 5 мкм. При уменьшении площади сканирования были заметны полосы, диаметры которых составляли 200–300 нм. На рис. 3 и 4 представлены АСМ-изображения человеческой крови и бактерий, площадь АСМ скана 50 и 10 мкм соответственно. Размер эритроцитов достигал 6 мкм по ширине и 10 мкм в длину. Данный объект исследования был предварительно высушен на стеклянной подложке и после предварительных измерений на оптическом микроскопе был изучен на АСМ. На рис. 4 размеры бактерий достигали 1 мкм, а их расположение зависело от предварительных работ по подготовке проб.

Далее в рамках данной работы были исследованы глаз мухи и крыло мотылька с помощью полуконтактного АСМ, в котором кантилевер совершает

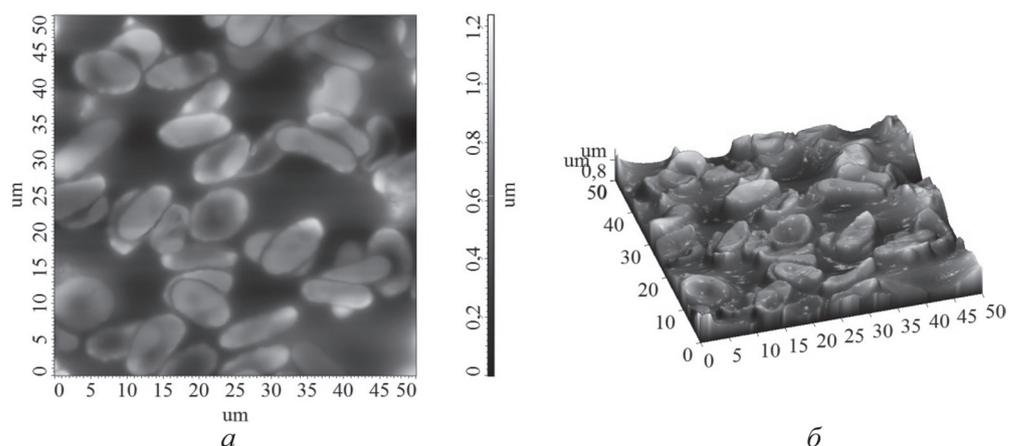


Рис. 3. 2D (а) и 3D (б) АСМ-изображение человеческой крови. 50 × 50 мкм

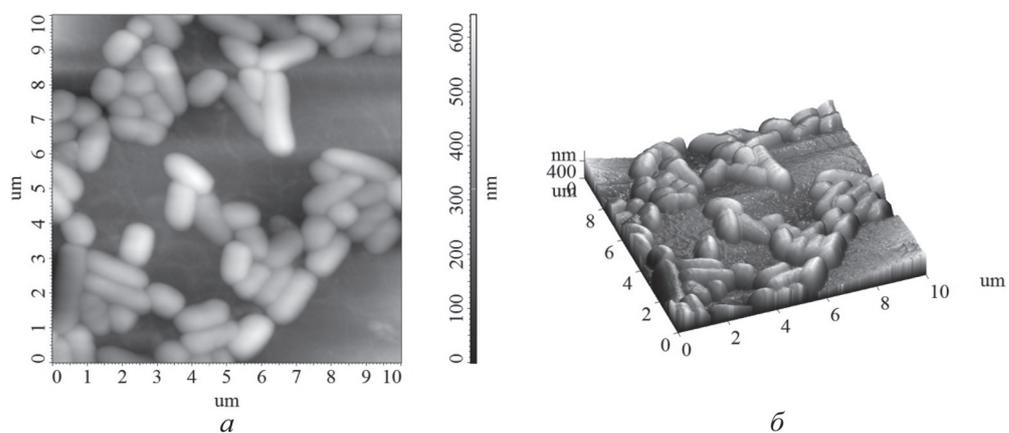


Рис. 4. 2D (а) и 3D (б) АСМ-изображение бактерий. 10 × 10 мкм

колебания с частотой, близкой к собственной резонансной частоте свободно-го кантилевера в плоскости, перпендикулярной образцу. В каждом периоде колебаний острие в нижней точке касается образца и при приближении кантилевера к поверхности резонансная кривая смещается. Резонансный пик удаляется от выбранной частоты, и амплитуда колебаний уменьшается и также сдвигается фаза колебаний. Амплитуда колебаний кантилевера зависит от расстояния до поверхности, и изменения амплитуды регистрируются системой оптического контроля. Чем ближе кантилевер к поверхности, тем больше градиент силы взаимодействия зонд/образец, следовательно, тем дальше сдвигается резонансная частота и сильнее уменьшается амплитуда колебаний. Система обратной связи отводит кантилевер от образца, поддерживая амплитуду колебаний постоянной. Для данной методики использовали кантилеверы типа NSG10 и DCP.

Таким образом, были получены следующие результаты, представленные на рис. 5 и 6. Из рис. 5 следует, что каждый глаз мухи был размером около 19–20 мкм. Однако при уменьшении размера сканирования были получены результаты, из которых видно: каждый глаз мухи устроен так, что существуют определенные извилины, также видны разные дефекты и результаты различных внешних воздействий. На рис. 6 представлены АСМ-изображения крыла мотылька,

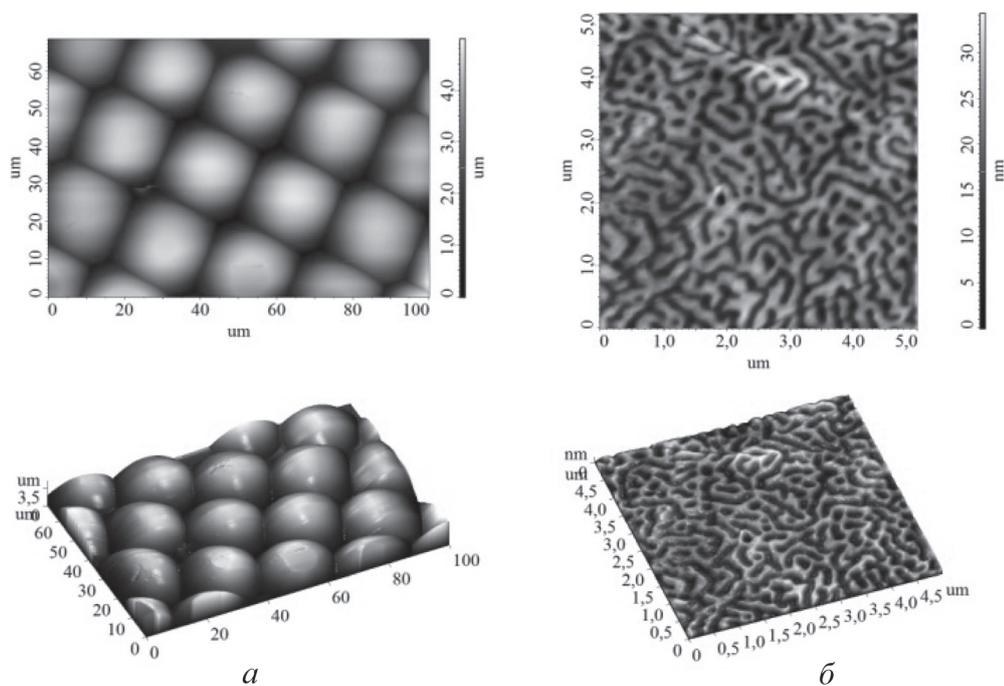


Рис. 5. 2D (сверху) и 3D (снизу) АСМ-изображение глаза мухи размером: *a* – 70 × 100 мкм; *б* – 5 × 5 мкм

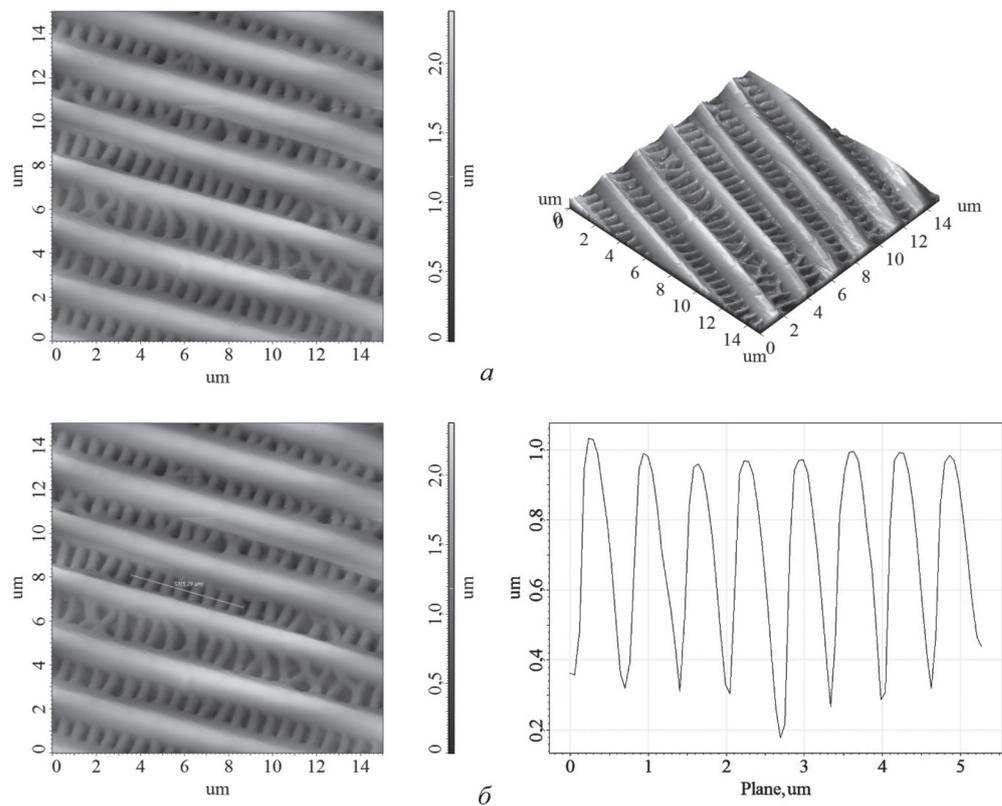


Рис. 6. 2D (слева) и 3D (справа) АСМ-изображение крыла мотылька размером 15×15 мкм (а) и размеры армирующих балок в конструкции крыла мотылька (б)

конструкция которого оказалась весьма сложной, и были видны армирующие балки, ширина которых достигала 450–500 нм.

Заключение. Проанализировав полученные данные можно дать подробную информацию о структуре биологических объектов, что позволит изучить их более глубоко. Некоторые данные получены впервые и могут изменить представление о структуре данных биообъектов. Подобранные методики исследования могут стать основой для исследования более сложных биологических объектов, которые в связи со своей конструкцией и определенными свойствами могут затруднить их исследования с помощью АСМ. С помощью АСМ можно не только исследовать морфологию, но и предоставить дополнительную информацию о размерах, распределении объектов на поверхности, их локальных свойствах и т. д. Также помимо описанных в данной статье исследований ведутся работы по изучению подобных биологических объектов с помощью АСМ в жидкости и опыты с целью выявления проводящих свойств некоторых биологических объектов.

Список использованных источников

1. Миронов, В. Л. Основы сканирующей зондовой микроскопии / В. Л. Миронов. – Нижний Новгород : Техносфера, 2005. – 116 с.
2. Carpick, Robert W. Scratching the Surface: Fundamental Investigations of Tribology with Atomic Force Microscopy / Robert W. Carpick // Chemical Reviews. – 1997. – Vol. 97, N 4. – P. 1163–1169.
3. Dawn, Bonnell Ed. Scanning Probe Microscopy and Spectroscopy : Theory, Techniques, and Applications / Bonnell Ed. Dawn. – Wiley-VCH. – 2nd ed. – 2000.
4. Gadegaard, N. Atomic force microscopy in biology: technology and techniques / N. Gadegaard // Biotechnic & Histochemistry. – 2006. – Vol. 81, N 2–3. – P. 87–97.

ATOMIC FORCE MICROSCOPY INVESTIGATION OF HUMAN MESENCHYMAL STEM CELLS

L. V. Kukhareno¹, Th. Schimmel², H. Fuchs³, M. Barczewski²,
T. V. Shman⁴, A. V. Tarasova⁴

¹Belorussian State Medical University, Minsk, Belarus

²Institute of Applied Physics, Karlsruhe Institute of Technology, Karlsruhe, Germany

³University of Munster, Munster, Germany

⁴Belarussian Center for Pediatric Oncology and Hematology, Minsk, Belarus

We report here about the mesenchymal stem cells investigations by combined fluorescence microscopy and atomic force microscopy. The pulsed force mode for atomic force microscope was used to determine mesenchymal stem cells mechanical properties (local stiffness and adhesion).

Introduction. The atomic force microscopy (AFM) has a great potential for high resolution imaging biological cells. Moreover using AFM opens up exciting new possibilities for investigating the mechanical properties (stiffness, elasticity, and hardness) of a wide variety of biological cells in relation with dynamic processes and cellular functions [1]. Here the actin cytoskeleton and mechanical properties of human mesenchymal stem cells (hMSC) were studied using fluorescence microscopy and atomic force microscopy.

Human bone marrow stromal cells, also referred as mesenchymal stem cells, are able to differentiate along multiple lineage such as chondrocytes, osteoblasts, adipocytes, myocytes and astrocytes. Mesenchymal stem cells are rare residents in the bone marrow, can be rapidly expanded ex vivo. Because of their ability to migrate to sites of tissue injury, mesenchymal stem cells have emerged as a promising therapeutic modality for tissue regeneration and repair. Moreover mesenchymal stem cells have immune suppression properties, therefore there are numerous clinical trials using mesenchymal stem cells to prevent and treat graft-versus-host disease after hematopoietic stem cells transplantation.

Detailed characterization of hMSC mechanical properties such as elasticity, adhesion and stiffness, cytoskeleton organization and cell shape is required to realize their promising potential for development of new therapies for regenerative medicine and stem-cell-based tissue engineering.

Experimental. To get bone marrow-derived mesenchymal stromal cells, we obtained mononucleated cells from bone marrow aspirates. Mononuclear cells were separated by gradient density centrifugation, washed three times in RPMI-1640. Then isolated cells were resuspended at $1-5 \cdot 10^6/\text{mL}$ in RPMI-1640 containing 10% FCS, L-Glutamine and antibiotics in 25 cm² flasks and placed in an incubator set at 37 °C and 5% CO₂ with 90% humidity. The cells were fed every 7 days by replacing 90% of the supernatant with fresh medium with additives. When a confluent layer of stromal cells had formed, the cells were detached by treatment with trypsin-EDTA solution, washed once in RPMI-1640 with 10% FCS, resuspended in fresh medium containing additives, and placed in an identical flask.

For AFM mesenchymal stromal cells were detached, resuspended in full medium and were seeded in Petri dishes with mica. After 20 hour of incubation cells were fixed with 2% glutaraldehyde for 30 min. Then mesenchymal stromal cells were washed five times in phosphate-buffered saline, dehydrated in a graded series of ethanol and air dried.

All data were obtained on a Nanoscope (R) IIIa MultiMode atomic force microscope (Digital Instruments/Veeco). Force modulation mode (FMM) was used to study mechanical properties (local stiffness and adhesion) of the hMSCs. The FMM is a non-resonant, intermediate contact mode of AFM. When working in FMM, an additional sinusoidal modulation to the cantilever with user-selectable frequency, which is far below the resonance frequency of the cantilever is applied while the tip scans the surface. The AFM capabilities can be extended by using FMM, which enables to obtain information about relative difference in cell surface elasticity with nanometer-scale resolution. The images were acquired by using silicon nitride cantilevers (NSC12/50) with a nominal force constant of 0.65 N/m (NT-MDT, Zelenograd, Russia). The measurements were performed in air at room temperature. SFM images were processed with the Nanoscope software (Digital Instruments/Veeco).

Results and Discussion. The SFM investigations of hMSC exhibited a considerable range of morphologies as well as spreading and the lengthened shape of cells. Fig. 1 shows spindle shaped and star shaped hMSC. As seen from Fig. 1 bright region of the nucleus is surrounded by bright areas of fibers. Cells possess irregularly shaped flat lamellipods. For the spindle shaped cell the height of the nuclear region varies from 400 nm to 1 μm, whereas lamellipodia thickness varies from 150 to 340 nm. For star shaped cell nuclear region height is about 400–800 nm with lamellipodia thickness from 180 to 300 nm. Lamellipodia contain orthogonally arranged actin networks at hMSC peripheries.

Zoomed area on the nucleus of star shaped cell is shown in Fig. 2, 3. The area around nucleus looks like a smooth fiber mesh. Zooming in on the nucleus the granular structure of elongated bundles of actin filament with granule size of from 20 to 70 nm is visualized.

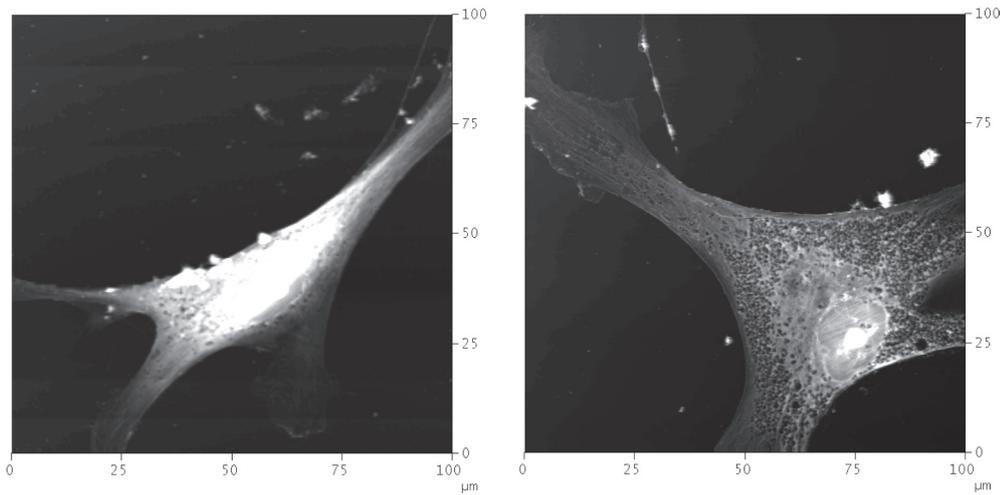


Fig. 1. AFM-images of human mesenchymal stem cells

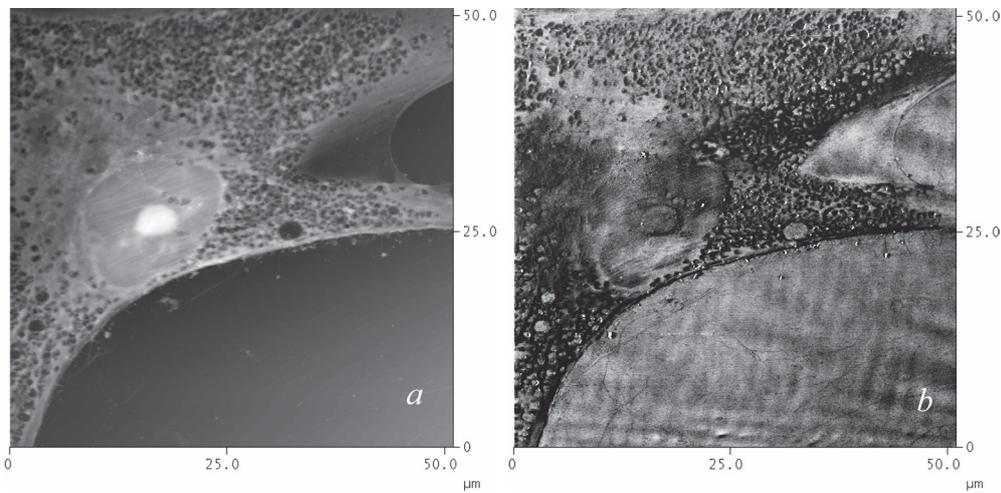


Fig. 2. AFM images of human mesenchymal stem cell: contact mode topography (a) and force modulation image (b)

The hMSCs were stained with Alexa Fluor 633 phalloidin to identify *F*-actin and anti- α -tubulin Alexa Fluor 488-MAT to identify tubulin (Fig. 4). According to the hMSC fluorescent images microfilaments are linear in form and mostly are localized over the nucleus. Microtubules more often appear curved in form and span large regions of hMSCs. Mechanical properties of hMSC most likely are regulated by the actin cytoskeleton, its structure and dynamics [2, 3].

The topographic and adhesion images of the area over nucleus are presented in Fig. 2, 3. AFM images demonstrate many parallel actin bundles extending throughout the nuclear region.

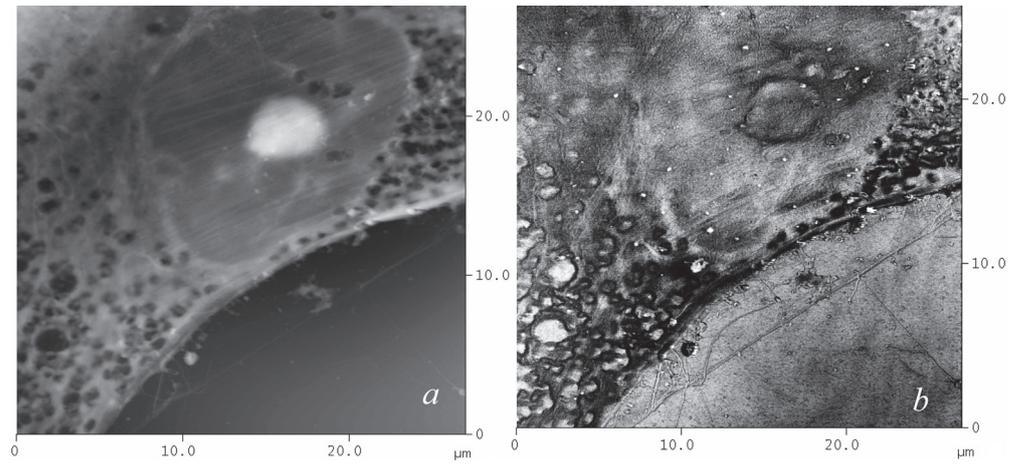


Fig. 3. AFM images of human mesenchymal stem cell: contact mode topography (*a*) and force modulation image (*b*)

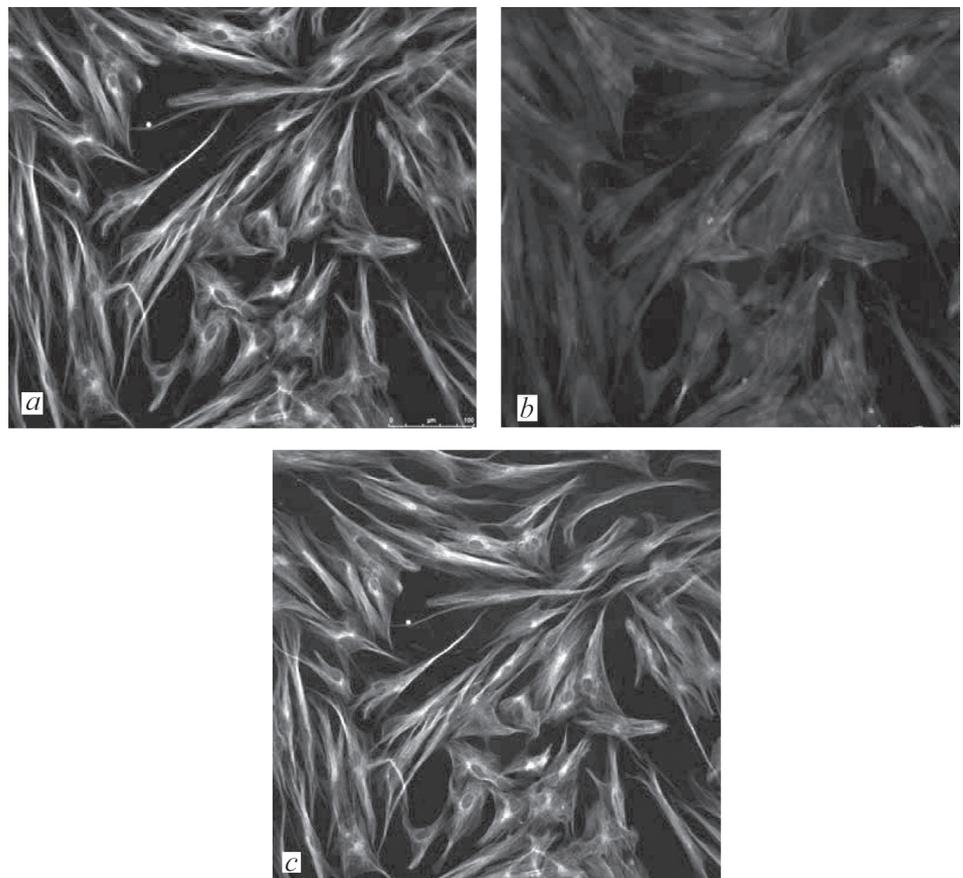


Fig. 4. Fluorescent images of the MSCs stained with Alexa Fluor 633 phalloidin to identify *F*-actin (*a*) and anti- α -tubulin Alexa Fluor488-MAT to identify tubulin (*b*); combination of two images (*a* and *b*) (*c*)

Darker parts in the adhesion image correspond to low adhesion value. The nucleus appears to be distinctly softer than the flat lamellipodia.

This study demonstrates that the pulsed force mode for atomic force microscope combined with fluorescence microscopy opens up possibilities for investigating the mechanical properties of hMSCs in relation with cytoskeleton organization.

References

1. Past, present and future of atomic force microscopy in life sciences and medicine / P. Parot [et al.] // J. Mol. Recognit. – 2007. – Vol. 20. – P. 418–431.
2. Titushkin, I. Modulation of cellular mechanics during osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells / I. Titushkin, M. Cho // Biophysical Journal. – 2007. – Vol. 93. – P. 3693–3702.
3. Monitoring of mechanical properties of serially passaged bovine articular chondrocytes by atomic force microscopy / M. Wozniak [et al.] // Micron. – 2009. – Vol. 40. – P. 870–875.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ АТОМНО-СИЛОВОЙ И РАСТРОВОЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ПОВЕРХНОСТЕЙ БИОЛОГИЧЕСКИХ СТРУКТУР И ХИРУРГИЧЕСКОГО ИНСТРУМЕНТА С ВНЕДРЕНИЕМ В УЧЕБНЫЙ ПРОЦЕСС В БЕЛОРУССКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ МЕДИЦИНСКОМ УНИВЕРСИТЕТЕ

**М. В. Гольцев, Л. В. Кухаренко, В. Г. Лещенко,
М. В. Гольцева, Д. В. Кудрицкий**

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Приведены примеры изучения процессов адгезии и агрегации тромбоцитов, функциональных перестроек при некрозе и апоптозе клеток, топографии поверхности микрохирургического инструмента с использованием атомно-силовой микроскопии (АСМ), растровой электронной микроскопии (РЭМ) в совокупности с рентгеноспектральным микроанализом (РСМА).

Введение. Состояние поверхности биологических объектов отражает протекание в них ряда физико-химических процессов, приводящих к изменению химического состава и собственно структуры. Физико-механические и эксплуатационные характеристики современных прогрессивных материалов и инструментов в медицине также в основном определяются структурой и фазовым состоянием рабочей поверхности. В последнее время для изучения топографии, морфологии и микрорельефа поверхности различных по природе структур, все чаще наряду с РЭМ-РСМА находит применение атомно-силовая микроскопия с возможностью трехмерного изображения, анализа профилей сечения поверхности и гистограммами элементов рельефа [1]. Анализ рельефа при этом можно проводить как контактным, так и бесконтактным методом

с использованием различных зондов, при этом в АСМ методиках имеется огромное преимущество перед РЭМ при подготовке образцов биологических объектов. Современные исследования биологических структур и перспективных материалов в медицине с применением новейшего оборудования и компьютерных комплексов основываются именно на результатах научных достижений в областях физики и биофизики и должны быть применены в научных исследованиях и учебном процессе в медицинском высшем учебном заведении. Экспериментальная база одного университета ограничена наличием указанной аппаратуры вследствие как высокой стоимости данной техники, так и высоких требований к обслуживанию научных экспериментов. Наша практика показала, что данная проблема может быть решена благодаря академическому сотрудничеству между отечественными и зарубежными университетами и научными учреждениями [2].

Инновации в системе высшего образования направлены на преобразование традиционного учебного процесса в проблемно-исследовательский с переходом от объяснительно-иллюстративного способа обучения к активно-деятельному, при котором студент из объекта превращается в субъект познавательной деятельности. В рамках этого процесса задача преподавателя – поставить перед студенческой аудиторией проблему, дать необходимые консультации и направления организации самостоятельной работы, начать постепенный отход от накопительно-консервативной модели формирования содержания учебных дисциплин и учебно-методических комплексов к креативному обучению.

Результаты и их обсуждение. При изучении биологических структур объектом исследования выступали процессы адгезии и агрегации тромбоцитов в норме. Исследования проводились с помощью атомно-силового микроскопа (DimensionTM 3000 и Nanoscope IIIa). Результаты исследований включены в учебно-методическое пособие «Метод атомно-силовой микроскопии в исследовании процессов адгезии и агрегации тромбоцитов в норме», где также рассмотрены общие характеристики и ультраструктура тромбоцитов и представлены современные представления о механизмах агрегации тромбоцитов и тромбообразования. На примере полученных АСМ-изображений активированных тромбоцитов при их соприкосновении с чужеродной поверхностью показывается, что адгезия тромбоцитов и их последующее распластывание на поверхности слюды приводят к образованию двух разных актиновых структур, филоподиям и ламеллоподиям, и приводятся их метрические характеристики на нанометровом уровне (рис. 1). Результаты исследований доступны для показа студентам в интерактивном режиме на электронном носителе.

Результаты АСМ-исследований также используются при изучении студентами апоптоза, когда в качестве его индуктора выступает окислительный стресс. В процессе изучения морфологических изменений, сопровождающих функциональные перестройки при некрозе и апоптозе, индуцированных окислительным стрессом, студенты смогут непосредственно работать с изображениями клеток, полученными с помощью АСМ. Использование АСМ позволяет

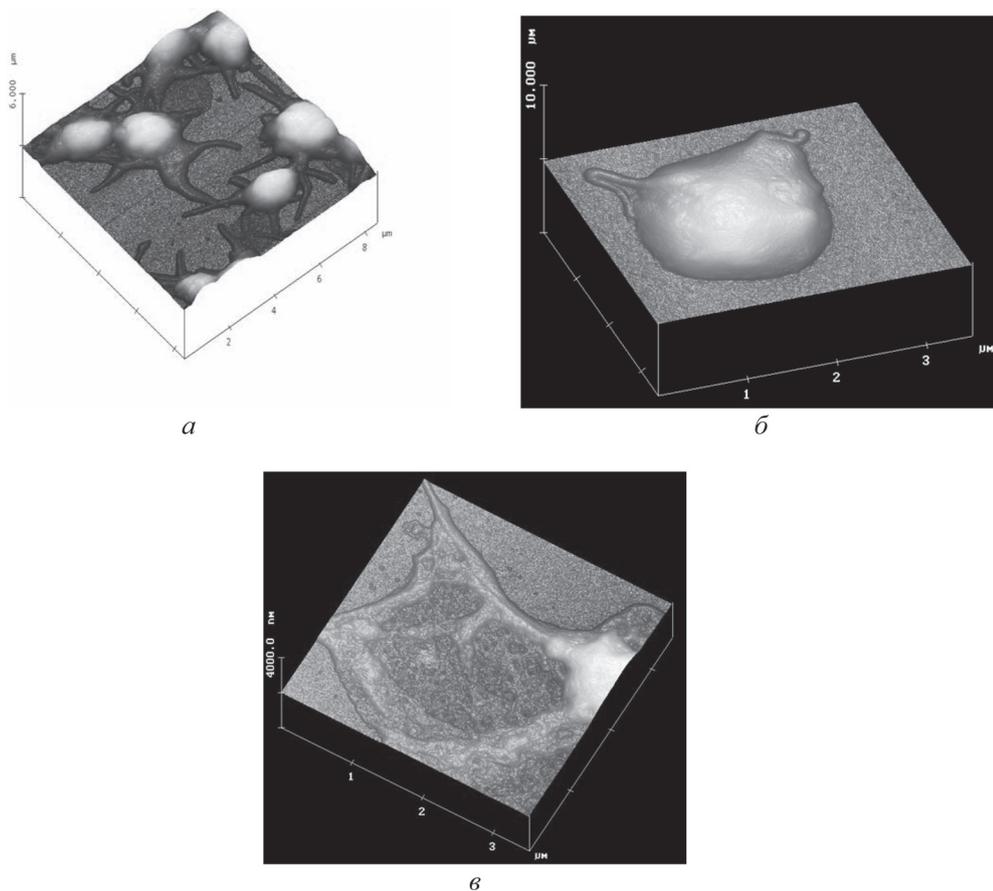


Рис. 1. Адгезия и распластывание тромбоцитов на поверхности слюды с образованием двух активных структур: *а* – адгезия и распластывание; *б* – филоподия; *в* – ламеллоподия

визуализировать характерные морфологические признаки апоптоза: сморщивание клетки и ее фрагментацию; локальные выпячивания наружной мембраны, под которыми находятся остатки фрагментированного ядра; образование апоптических телец (рис. 2).

Использование компьютерных технологий в лабораторном практикуме по медицинской и биологической физике позволяет знакомить студентов с АСМ-методами исследований в интерактивном режиме. АСМ-изображения исследуемого биообъекта в электронном виде передаются студенту, который обрабатывает их в зависимости от поставленной перед ним в данной лабораторной работе задачи через рабочее окно компьютерной программы WSxM, допускающей многооконный интерфейс. Программа предоставляет также широкий набор различных математических функций обработки и анализа данных АСМ-изображений, студент может выполнить усреднение по строкам, убрать точечные выбросы и средний наклон, осуществить подсветку изображения и выбрать цветовую палитру (рис. 3).

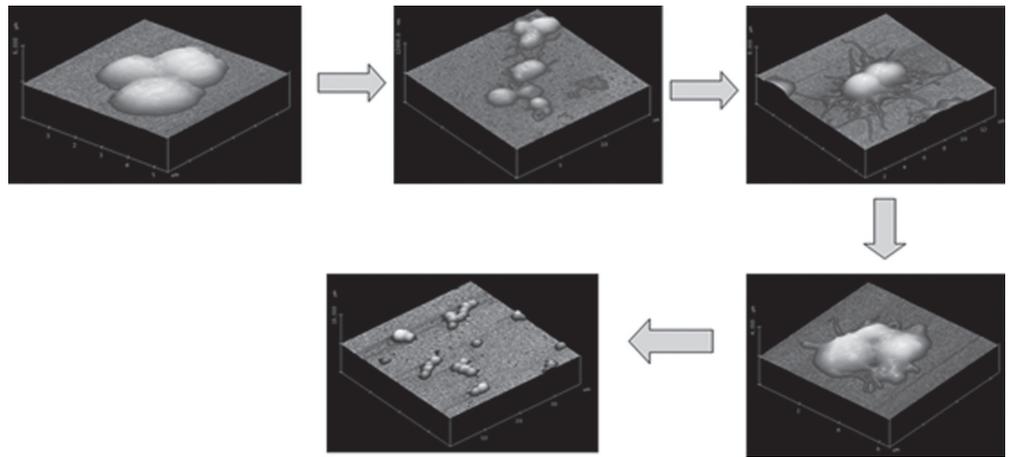


Рис. 2. АСМ-изображения морфологических признаков апоптоза: клетка; сморщивание клетки; фрагментация; локальные выпячивания наружной мембраны, под которыми находятся остатки фрагментированного ядра; образование апоптических телец

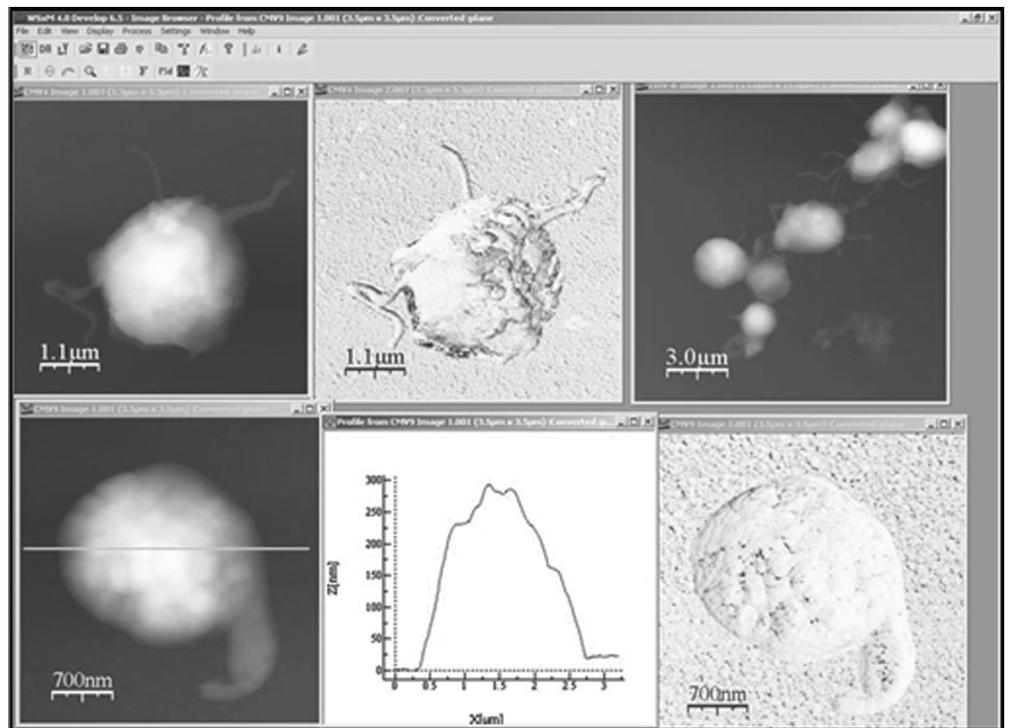


Рис. 3. Рабочее окно программы WSxM для математической обработки АСМ-изображений. В окне программы представлены АСМ-изображения тромбоцитов человека

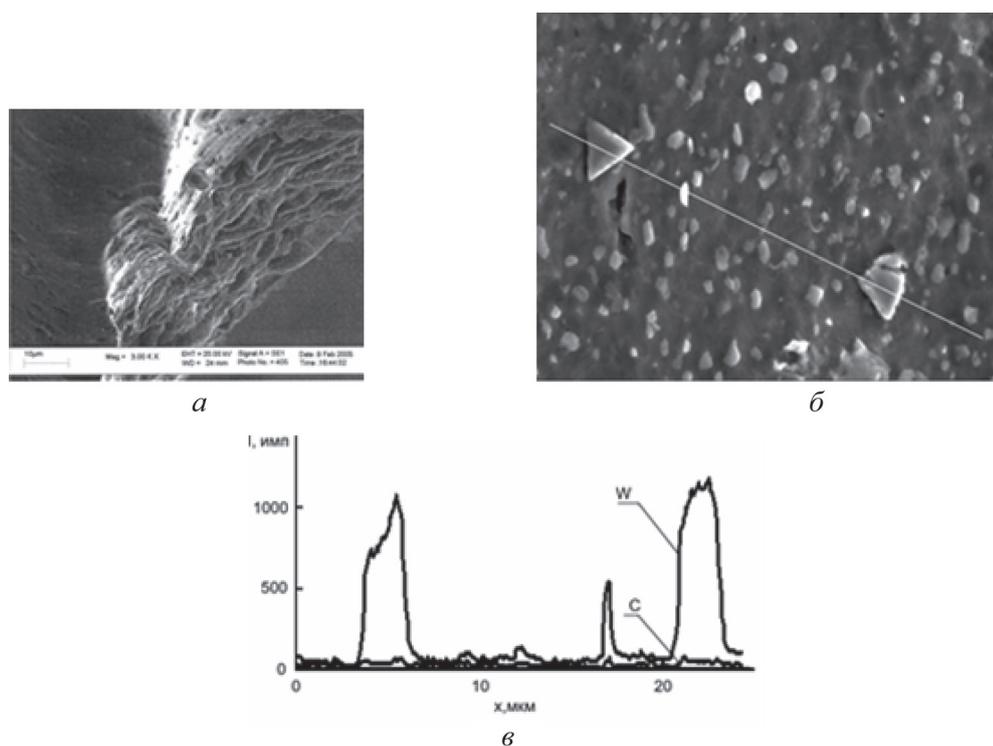


Рис. 4. Результаты РЭМ-РСМА исследований зубного бора из стали ХВ5 после имплантации ионами N^+ флюенсом $5 \cdot 10^{16}$ ион/см²: а – общий вид и топография поверхности бора; б – растровая микрофотография; в – распределение *W* и *C* вдоль линии

При создании современного медицинского хирургического инструментария вследствие его уникальности и поэтому высокой стоимости на первый план выходят технологии получения приповерхностных слоев, обладающих высокой твердостью, износостойкостью и химической инертностью. Методики АСМ и РЭМ также выступают здесь на передний план при исследовании структурно-морфологических изменений в поверхностном слое разнопланового хирургического инструмента, изготовленного из инструментальной легированной стали, при различных методах его модификации и упрочнения с целью возможного увеличения работоспособности.

С учетом все более широкого применения ионно-лучевой обработки поверхности микрохирургического инструмента вследствие таких преимуществ метода, как сохранение микрогеометрических параметров поверхности изделий и стерильности ионной обработки, упрочнение связывается с целым рядом структурно-фазовых превращений, происходящих в приповерхностных слоях, что было описано в работе [3]. В этом случае практический интерес представляют собой не только рельеф и профиль распределения элементов рельефа, что вкупе с возможностью демонстрации трехмерного изображе-

ния и гистограмм элементов рельефа удовлетворительно достигается АСМ-методами, например с использованием атомно-силового микроскопа марки NT-206 контактным методом зондом серии CSG-100, но и изучение структурно-фазового состоянием рабочей поверхности, что достигается применением РЭМ-РСМА методов с помощью растрового электронного микроскопа «LEO 1455 VP» с рентгеноспектральным микроанализатором «Röntec» (рис. 4).

Заключение. Применение современных компьютерных технологий при обработке данных АСМ и РЭМ позволяют создавать трехмерные изображения, представлять профили сечения поверхности и гистограммы элементов рельефа. Применение АСМ позволяет проводить анализ рельефа как контактным, так и бесконтактным методом с использованием различных зондов. Также, в отличие от РЭМ-РСМА методик, применение АСМ позволяет полностью исключить риск поражения ионизирующим излучением. У АСМ-методик имеются огромное преимущество перед РЭМ при подготовке образцов биологических объектов – не требуется создавать специальный подслон. Однако исследования методом РЭМ-РСМА в совокупности с вышеуказанными методами изучения поверхностных слоев показало актуальность при выявлении образования специфических видов топографии поверхности и профилей распределения компонентов в изучаемых структурах. Таким образом, применение АСМ в совокупности с РЭМ-РСМА, позволяет проводить комплексные исследования как биологических, так и твердотельных структур.

Использование результатов научных исследований поверхностей различного типа структур с применением АСМ и РЭМ-РСМА, применение компьютерных технологий в качестве симуляторов дорогостоящей физической аппаратуры в лабораторном практикуме по медицинской и биологической физике, внедрение возможностей межвузовского сотрудничества позволяют проводить процесс обучения студентов на качественно новом уровне, знакомить их с новыми современными методами изучения медико-биологических объектов [4].

Список использованных источников

1. Модификация структуры и механических свойств Al, Ni, Cu при облучении ионами аргона высокой энергии / М. В. Гольцев [и др.] // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : сб. ст. Междунар. научн. конф., Минск, 25–27 июня 2008 г. / редкол.: С. Н. Черенкевич [и др.]. – Минск : БГУ, 2008. – Ч. 2. – С. 358–360.
2. Гольцев, М. В. Концепция организации научно-исследовательской работы студентов в рамках международного академического сотрудничества университетов / М. В. Гольцев, Л. Ю. Герасимович, М. В. Гольцева // Актуальные проблемы бизнес образования : материалы 8-й Междунар. научно-практич. конф., Минск, 23–24 апр. 2009 г. / редкол.: В. А. Апанасович [и др.]. – Минск : БГУ, 2009. – С. 88–90.
3. Goltsev, M. Ion-plasma modification of microsurgery instrument in stomatology / M. Goltsev, N. Rudkova // Second International Scientific Conference of Med. Stud. And Yong Doctors, Bialystok, 27–28 apr. 2006. – Bialystok, Poland, 2006. – P. 63–64.
4. Гольцев, М. В. Об использовании результатов научных исследований в учебном процессе / М. В. Гольцев [и др.] // II Конгресс физиков Беларуси : материалы, Минск, 3–5 ноября 2008 г. / НАН Беларуси ; редкол.: П. А. Апанасевич [и др.]. – Минск, 2008. – С. 11.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ НАНОЧАСТИЦ НА МОРФОЛОГИЮ И УПРУГИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БИОЛОГИЧЕСКИХ КЛЕТОК

М. С. Судас¹, Е. С. Дрозд¹, А. Э. Станкуть², С. А. Чижик¹,
П. А. Красочко², М. С. Струк²

¹Институт тепло- и массообмена имени А. В. Лыкова НАН Беларуси,
Минск, Беларусь

²Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского,
Минск, Беларусь

Введение. В последнее десятилетие особое внимание уделяется изучению взаимодействия наночастиц с биологическими клетками. Наиболее перспективной и малоизученной областью применения наночастиц является медицина. Благодаря уникальным свойствам наночастицы серебра, цинка, меди и многие другие применяются против некоторых вирусов [1], для лечения ожогов [2], уничтожения опухолевых клеток [3], а также в качестве средств для доставки лекарственных препаратов к больному органу [4].

Известно, что наночастицы могут оказывать влияние на функциональное состояние клеток. Одним из методов, который может быть применен для оценки состояния клеток, является атомно-силовая микроскопия (АСМ) [5]. Она позволяет не только визуализировать, но и оценить изменения механических характеристик исследуемых объектов. В настоящее время в Институте экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского ведется работа по разработке комплексного препарата с иммуностимулирующим эффектом для профилактики и терапии инфекционных заболеваний животных на основе наночастиц биоэлементов.

Известно, что вирусы проникают в клетку за счет специальных молекулярных структур, находящихся на их поверхности, затем транслируют в клетку собственную генетическую информацию в виде макромолекул белков и нуклеиновых кислот и выходят из нее в межклеточное пространство, лимфу или кровь. Проникновение в клетку и репродукция вирусов зависят от интенсивности энергетического метаболизма клетки и биохимических изменений, происходящих в клеточной мембране и цитоскелете [6].

Разработчиками препарата предлагается использовать два типа наночастиц: серебро и оксид цинка, поскольку ранее было показано, что наночастицы серебра способны ингибировать все *E. coli*, *Coliforms* и *Fungi*, а также клетки *Vibrio cholerae* (холерного вибриона) [1]. Наночастицы оксида цинка способны к ингибированию процесса репликации вирусов [6]. Применение цинка в любой фазе вирусной репликации прекращает формирование нового вируса. Однако цинк обладает иммуностимулирующим эффектом, при небольших концентрациях этого вещества функции иммунной системы восстанавливаются [7]. Цинк участвует в регуляции процессов активации лимфоидных клеток, пролиферации и апоптоза [8].

Цель работы – оценить влияние наночастиц серебра и цинка на структуру поверхности и упругие характеристики клеток, в частности на культуру клеток MDBK (клетки почек быка).

Материалы и методы исследования. Для изучения влияния наночастиц на клетки использовали наночастицы нитрата серебра (AgNO_3) и наночастицы оксида цинка (ZnO). Культуру клеток MDBK на ростовой поверхности инкубировали с раствором наночастиц AgNO_3 и раствором наночастиц ZnO при комнатной температуре $22\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 15 мин. Затем клетки фиксировали 1,5%-ным глутаровым альдегидом в течение 30 мин, после чего двукратно отмывали раствором фосфатного буфера (PBS), а затем дважды – дистиллированной водой, и наносили на предметные стекла.

Оценку средних размеров клеток и локального модуля упругости клеток до и после их инкубации с наночастицами проводили при температуре $37\text{ }^\circ\text{C}$ с помощью атомно-силового микроскопа (АСМ) «НТ-206» («МикроТестМашины», Беларусь), в контактном режиме сканирования с использованием зонда CSC38 («MicroMash»), радиусом закругления 41 нм и жесткостью консоли 0,03 Н/м.

Результаты и их обсуждение. Исследование морфологии клеток линии MDBK показало, что в результате взаимодействия наночастиц AgNO_3 с клетками (рис. 1, а, б) наблюдаются структурные изменения их поверхности и увеличение линейных размеров на 30% по сравнению с контрольным образцом (рис. 2, а, б). Это может быть связано с проникновением наночастиц в клетки.

В результате взаимодействия наночастиц ZnO с клетками MDBK (рис. 1, в, г) наблюдаются изменения размеров, формы и структуры поверхности клеток. Поверхность клеток неоднородная, с ярко выраженными образованиями, что, возможно, связано с их повреждением. Значения диаметра клеток данного образца на 8% выше диаметра клеток контрольного образца.

Помимо исследования поверхности клеток была проведена оценка их упругих характеристик. Установлено, что наночастицы ZnO существенно не влияют на значение локального модуля упругости клеток (см. таблицу), а при воздействии наночастиц AgNO_3 имеет место снижение значения данного параметра.

Средние значения диаметров и модуля упругости клеток MDBK

Образец клеток	Средний диаметр, мкм	Модуль упругости, кПа
Контроль	3,4	150,17 ± 14,06
AgNO_3	4,5	117,53 ± 6,84
ZnO	3,7	142,10 ± 17,94

Эти изменения, возможно, связаны с окислительно-восстановительными свойствами, присущими благородным металлам. Было показано, что наночастицы серебра увеличивают концентрацию активных форм кислорода [6]. Активные формы кислорода, в свою очередь, инициируют процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ). Активация процессов ПОЛ, независимо от факто-

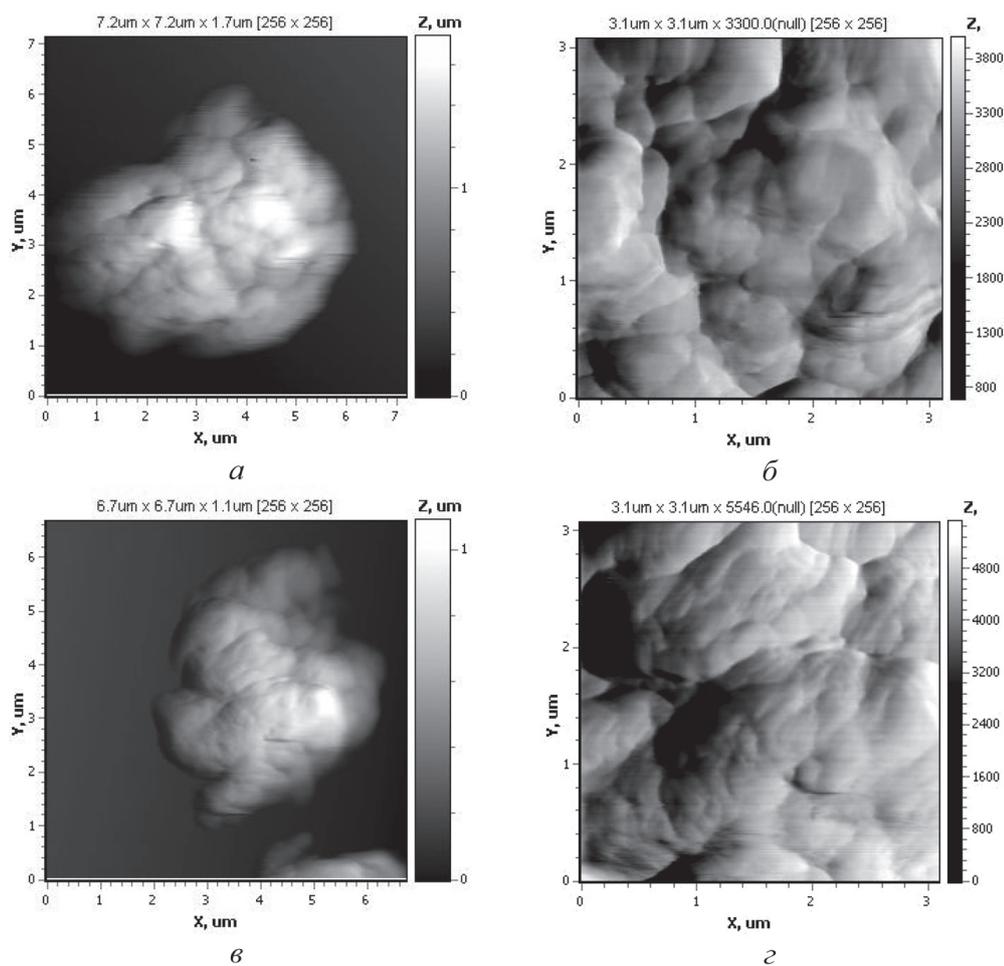


Рис. 1. АСМ-изображения поверхности клеток MDBK после инкубации с наночастицами AgNO₃ (*a*, *б*); после инкубации с наночастицами ZnO (*в*, *г*): *a*, *в* – топография поверхности; *б*, *г* – изображения в режиме латеральных сил. Область сканирования: *a* – 7,2 × 7,2 мкм²; *б* – 3,1 × 3,1; *в* – 6,7 × 6,7; *г* – 3,1 × 3,1 мкм²

ров индукции, может вести к деструктивным изменениям в клетках, что связано с накоплением продуктов, способных инактивировать мембранные ферменты, нарушать белок-липидные взаимодействия в мембранах, образовывать межмолекулярные шивки, изменять вязкость липидной фракции, что препятствует образованию фермент-субстратного комплекса [9]. Таким образом, воздействие наночастиц серебра может приводить к изменению в структуре мембраны, а в случае больших концентраций – даже к гибели клетки.

Таким образом, установлено, что наночастицы ZnO в отличие от наночастиц AgNO₃ оказывают более сильное влияние на морфологические и структурные особенности клеток. Однако их влияние на упругие характеристики клеток не столь велико, как наночастиц AgNO₃.

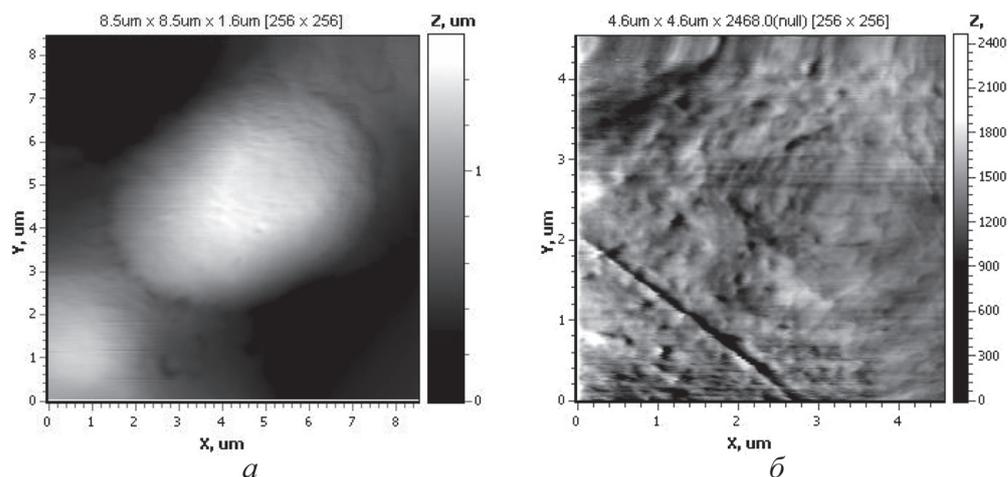


Рис. 2. АСМ-изображения поверхности клеток MDBK: *a* – топография поверхности (область сканирования $8,5 \times 8,5$ мкм²); *б* – изображение в режиме латеральных сил (область сканирования $4,6 \times 4,6$ мкм²)

Заключение. Проведенные исследования влияния наночастиц на клетки линии MDBK позволили установить, что в результате воздействия наночастицы AgNO_3 и ZnO модуль упругости клеток уменьшается. Изменения, вызванные взаимодействием наночастиц ZnO с клетками, затрагивают структуру поверхности мембраны и средний размер клеток. При этом наночастицы AgNO_3 оказывают воздействие как на структурные, так и на упругие характеристики клеток. Данные изменения связаны с усилением процессов перекисного окисления липидов.

На основании полученных результатов можно заключить, что наночастицы AgNO_3 могут быть рекомендованы для разработки противовирусных препаратов, а наночастицы ZnO – для разработки комплексного препарата с иммуностимулирующим эффектом для профилактики и терапии инфекционных заболеваний животных.

Список использованных источников

1. Some results in manufacturing of nanosilver and investigation of its application for disinfection / Nguyen Hoai Chau [et al.] // Sci. & Tech. – 2008. – P. 73–78.
2. Studies on manufacturing of topical wound dressings based on nanosilver produced by aqueous molecular solution method / Tran Thi Ngoc Dung [et al.] // J. Nanopart Res. – 2008. – N 7(5). – P. 1243–1245.
3. Preferential killing of cancer cells and activated human T cells using ZnO nanoparticles / C. Hanley [et al.] // Nanotechnology. – 2008. – № 19(29). – P. 295103.
4. Нанотехнологии в биологии и медицине. Полимерные мицеллы / под ред. Е. В. Шляхто // Просто о науке [Электронный ресурс]. – 2009. – Режим доступа : <http://prostonauka.com/nano/nanotechnology-i-v-biologii-i-medicine/nanomaterialy/nanochasticy/polimernye-micelly>. – Дата доступа : 06.03.2012.

5. Kirmizis, D. Atomic force microscopy probing in the measurement of cell mechanics / D. Kirmizis, S. Logothetidis // International Journal of Nanomedicine. – 2010. – N 5. – P. 137–145.
6. Титов, Л. П. Вирусы и эукариотические клетки: стадии взаимодействия, стратегии экспрессии геномов, репродукция и исходы вирусной инфекции / Л. П. Титов // Мед. журн. БГМУ. – 2011.
7. Thomas, J. Webster Safety of Nanoparticles / J. Thomas // Springer. – 2009. – 239 p.
8. Dardenne, M. Zinc and immune function / M. Dardenne // Eur. J. Clin. Nutr. – 2002. – N 56. – Suppl. 3. – P. 20–23.
9. Ленинджер, А. Биохимия. Молекулярные основы структуры и функций клетки / А. Ленинджер // Мир. – 1974. – 956 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА ЛИМФОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА

М. С. Судас¹, Е. С. Дрозд¹, С. А. Чижик¹, Е. В. Жорник²,
Л. А. Баранова², Нгуен Хоай Тьяу³

¹*Институт тепло- и массообмена имени А. В. Лыкова НАН Беларуси,
Минск, Беларусь*

²*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

³*Институт технологий окружающей среды Вьетнамской академии наук,
Ханой, Вьетнам*

Введение. В связи с применением наноматериалов в различных областях жизнедеятельности человека возникла необходимость изучения биологических эффектов различных наночастиц и нанокompозитных материалов, прежде всего их действия на организм человека и животных. Главная задача состоит в определении степени токсичности наночастиц для человека и, соответственно, потенциального риска использования наночастиц и препаратов на их основе. Наибольший интерес представляют исследования биологического действия металлических наночастиц, так как они наиболее часто служат объектом прикладных разработок в различных областях промышленности и медицины. За последнее десятилетие накоплены данные как о положительном (лечебный эффект), так и об отрицательном (стимуляция возникновения различных заболеваний) воздействии наночастиц металлов на живые организмы. Одним из наиболее популярных объектов исследований являются наночастицы серебра. Исследовательские работы проводятся, главным образом, на бактериях с целью определения антимикробной активности наночастиц [1–3]. Данные о действии наночастиц серебра (Ag) на высшие организмы весьма немногочисленны. Исследования на токсичность наносеребра показали, что жизнеспособность клеток при взаимодействии с наночастицами Ag зависит от типа клеток, размера наночастиц, их концентрации [4]. Известно, что при совместном воздействии наночастиц меди и серебра на микроорганизмы происходит усиление их антимикробных свойств [5].

Цель работы – провести оценку воздействия – наночастиц серебра на клетки иммунной системы – лимфоциты.

Материалы и методы исследования. Для исследования взаимодействия наночастиц серебра с лимфоцитами человека были выбраны наночастицы коллоидного раствора серебра (Ag), наночастицы нитрата серебра (AgNO_3) и раствор наночастиц меди и серебра (Cu + Ag).

Выделенные лимфоциты инкубировали с растворами наночастиц в течение одних суток, затем фиксировали в 1,5%-ном растворе глутарового альдегида в течение 30 мин, после чего двукратно отмывали раствором фосфатного буфера (PBS) (центрифугировали на 10 000 об/мин в течение 10 мин), затем дважды – дистиллированной водой, и наносили на предметные стекла.

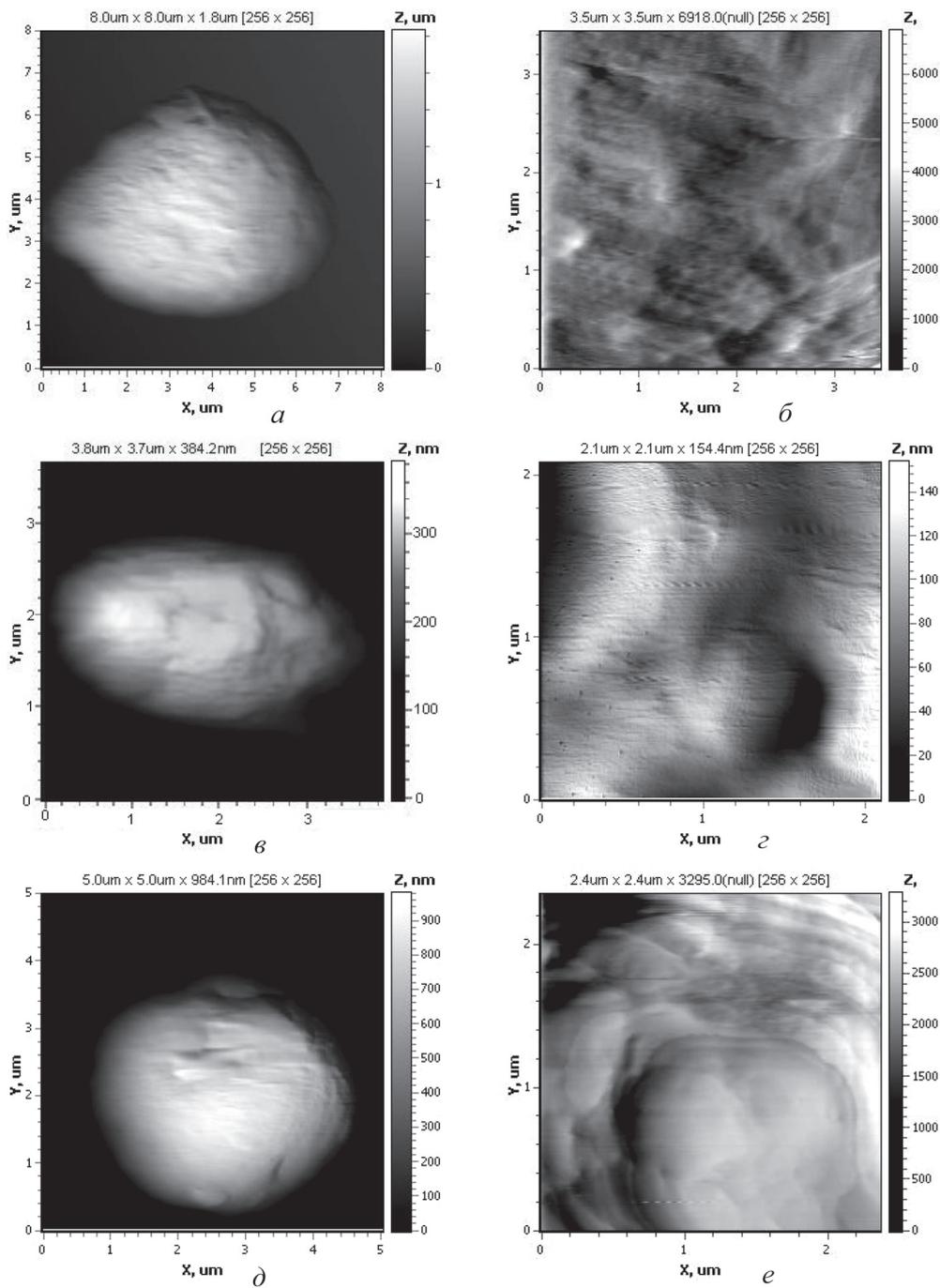
Оценку средних размеров клеток, структурных изменений поверхности мембран и упругих характеристик клеток до и после их инкубации с наночастицами проводили при температуре 37 °С с помощью атомно-силового микроскопа (АСМ) «НТ-206» («МикроТестМашины», Беларусь), в контактном режиме сканирования с использованием зонда CSC38 («MicroMash»), радиусом закругления 41 нм и жесткостью консоли 0,03 Н/м.

Результаты и их обсуждение. Исследование морфологии лимфоцитов показало, что в результате взаимодействия наночастиц Ag с клетками наблюдались незначительные изменения в структуре поверхности клеток и увеличение их размеров на 6% по сравнению с контрольным образцом (см. рисунок, а, б).

Иное действие оказывали на клетки наночастицы AgNO_3 (см. рисунок, в, г). При воздействии данного типа наночастиц на лимфоциты изменялась форма клеток и структура поверхности клеточной мембраны. Кроме того, клетки увеличивались в размере на 16% по сравнению с контролем.

При взаимодействии лимфоцитов с наночастицами Cu + Ag обнаружено сильное повреждение клеток. Можно предположить, что оно связано с воздействием большой концентрации наночастиц. Однако не все клетки подвергались разрушению. Часть клеток не имела выраженных морфологических изменений поверхности (см. рисунок, д, е). Размер неповрежденных клеток был на 8% больше по сравнению с клетками контрольного образца.

Помимо исследования поверхности проведена оценка локальных упругих характеристик клеток. Расчет модуля упругости лимфоцитов проводили по модели Герца [6–8]. Исследования показали, что в случае воздействия наночастиц серебра (Ag) значение модуля упругости (E) выше в 1,4 раза относительно контроля. При этом имеет место увеличение линейных размеров клеток (см. таблицу). Возможно, такие изменения связаны с повреждением клеток в результате воздействия коллоидного раствора наночастиц. Известно, что ионы тяжелых металлов (ртуть, серебро, свинец) связывают SH-группы белков, в том числе мембранных ферментов и ионных каналов, вызывая их инактивацию.



АСМ-изображения поверхности лимфоцитов человека при температуре после инкубации: *a, б* – с наночастицами Ag; *в, г* – с наночастицами AgNO₃; *д, e* – с раствором наночастиц Cu + Ag. Область сканирования: *a* – 8,0 × 8,0 мкм²; *б* – 3,5 × 3,5; *в* – 3,7 × 3,7; *г* – 2,1 × 2,1; *д* – 5,0 × 5,0; *e* – 2,4 × 2,4 мкм²

Значения модуля упругости клеток линии MDBK до и после инкубации с наночастицами

Образец	E, кПа
Контроль	244,67 ± 27,10
Ag	174,76 ± 18,14
AgNO ₃	155,19 ± 15,56
Cu + Ag	140,87 ± 18,98

Установлено также, что локальный модуль упругости лимфоцитов после инкубации их с наночастицами AgNO₃ в 1,57 раза, а после воздействия Cu + Ag в 1,74 раза ниже модуля упругости контрольного образца (см. таблицу).

Таким образом, установлен различный эффект от воздействия наночастиц серебра и его производных на клетки иммунной системы человека. Растворы Cu + Ag и AgNO₃ влияют как на морфологию, так и на упругие характеристики лимфоцитов. При этом наночастицы Cu + Ag оказывают более сильное воздействие на морфологию, структурные особенности клеток и модуль упругости, чем наночастицы AgNO₃.

Заключение. В результате проведенного комплексного анализа влияния наночастиц серебра на поверхностную структуру и физико-механические свойства лимфоцитов было установлено, что исследуемые наночастицы оказывают влияние на упругие свойства клеток. В результате воздействия клетки становятся более эластичными, кроме того, увеличиваются их линейные размеры. Эти изменения могут быть обусловлены повреждением клеток. При этом исследование влияния наночастиц коллоидного раствора серебра не выявило существенных изменений в значениях модуля упругости. Наибольшее влияние на клетки оказали наночастицы металлов Cu + Ag. Это позволяет предположить, что токсический эффект от воздействия наночастиц серебра зависит от того, в каком виде они находятся в растворе, коллоидный ли это раствор серебра, или соли серебра (нитраты серебра), или смесь металлов.

Список использованных источников

1. Some results in manufacturing of nanosilver and investigation of its application for disinfection / Nguyen Hoai Chau [et al.] // *Sci. & Tech.* – 2008. – С. 73–78.
2. Metal-Based Drugs / M. Oka [et al.] // *Langmuir.* – 1994. – N 1. – P. 511.
3. Studies on manufacturing of topical wound dressings based on nanosilver produced by aqueous molecular solution method / Tran Thi Ngoc Dung [et al.] // *J. Nanopart Res.* – 2008. – N 7(5). – P. 1243–1245.
4. Thomas, J. Webster Safety of Nanoparticles / J. Thomas // Springer. – 2009. – 239 p.
5. Мосин, О. В. Физиологическое воздействие меди на организм человека [Электронный ресурс] / О. В. Мосин // *NanoWeek.* – 2008. – № 22. – Режим доступа : <http://www.nanonewsnet.ru/blog/nikst/fiziologicheskoe-vozddeistvie-nanochastits-medi-na-organizm-cheloveka>. – Дата доступа : 02.03.2012.
6. Hertz, H. J. fuer die Reine Angewandte Mathematik / H. J. Hertz. – 1881. – Vol. 92. – P. 156.
7. Дрозд, Е. С. Атомно-силовая микроскопия структурно-механических свойств мембран эритроцитов / Е. С. Дрозд, С. А. Чижик, Е. Э. Константинова // *Рос. журн. биомеханики.* – 2009. – Т. 13. – № 4(46). – С. 22–30.
8. Mathur, A. B. Atomic force and total internal reflection fluorescence microscopy for the study of force transmission in endothelial cells / A. B. Mathur, G. A. Truskey, W. M. Reichert // *Biophys. J.* – 2000. – Vol. 78, N 4. – P. 1725–1735.

**НОВЫЕ МЕТОДИКИ СЗМ. МОДЕЛИРОВАНИЕ
МИКРО- И НАНОМАСШТАБНЫХ ПРОЦЕССОВ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СЗМ-ДААННЫХ**

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ ЗОНДОВ
В МИКРОСКОПИИ БЛИЖНЕГО ПОЛЯ**

Е. Г. Борщаговский¹, У. Фишер², Т. Шмид³, Р. Зеноби³

¹*Институт физики полупроводников им. В. Е. Лашкарева НАН Украины,
Киев, Украина*

²*Физический институт, Вестфальский университет Кайзера Вильгельма,
Мюнстер, Германия*

³*Лаборатория органической химии, Швейцарский федеральный
технологический институт, Цюрих, Швейцария*

В представленной работе рассматривается применение зондов, функционализированных дополнительными молекулами как новых Раман-активных зондов для микроскопии ближнего поля, а также реализация на их основе внутреннего стандарта для усиленного зондом комбинационного рассеяния.

Введение. Первое предложение использовать функционализированные зонды в сканирующей микроскопии ближнего поля (СМБП) было сделано вскоре после практической реализации ее как метода исследования [1, 2]. Целью помещения микрокристалла люминофора на острие зонда [3] была замена апертуры ярким «точечным» источником, так как светимость отверстия субволнового размера падает пропорционально четвертой степени его диаметра [4, 5].

Следующее предложение по функционализации зонда имело целью повысить разрешение за счет использования прямого Ферстеровского переноса энергии от молекулы-донора, помещенной на острие, к молекуле-акцептору, находящейся на поверхности исследуемой системы [6]. При таком переносе энергии появляется сигнал на частоте люминесценции акцептора, а разрешение ограничено Ферстеровским радиусом.

Предложение использовать специфические взаимодействия, вплоть до снятия запретов на излучательные переходы молекул, нанесенных на зонд, было высказано в работе [7], но практической реализации не получило. Реализация Ферстеровского переноса в СМБП в некоторой степени отвечает этой идее. Однако до использования разнообразных специфических взаимодействий, как

это реализуется в микроскопии атомных сил в силовой спектроскопии или при распознавании отдельных молекул [8], в СМБП дело еще не дошло.

Данная работа предлагает два подхода: с использованием функционализированных зондов в СМБП и с использованием усиленного зондом комбинационного рассеяния (УЗКР).

Результаты и их обсуждение. Возможность регистрации четкого сигнала комбинационного рассеяния от молекул, нанесенных на зонд [9], позволила вернуться к идее использования влияния специфических взаимодействий на регистрируемый в СМБП оптический сигнал. Очевидным требованием к реализации таких измерений является постоянство активных молекул, т. е. не только сохранение их количества, но и отсутствие их фотодеградация. Наилучшим вариантом являются молекулы хемисорбированные на зонде и возбуждаемые вне полос резонансов. Таким образом, люминесценция не является подходящим процессом для такого зонда в отличие от комбинационного рассеяния. В результате была предложена идея Рамановского зонда для СМБП, реализуемая на основе тиолов, адсорбированных на зонд [10].

Для демонстрации чувствительности такого зонда к окружающим условиям был проведен ряд измерений спектра комбинационного рассеяния тиофенола, нанесенного на зонд, находящийся в контакте с чистой поверхностью золота. Измерения проводились в нескольких разных точках и для контроля серии последовательных измерений в одной и той же точке (рис. 1).

Хорошо видно, что спектры, измеренные в разных точках свежееоторванной от слюды чистой золотой подложки, отличаются как наклоном, так и поведением

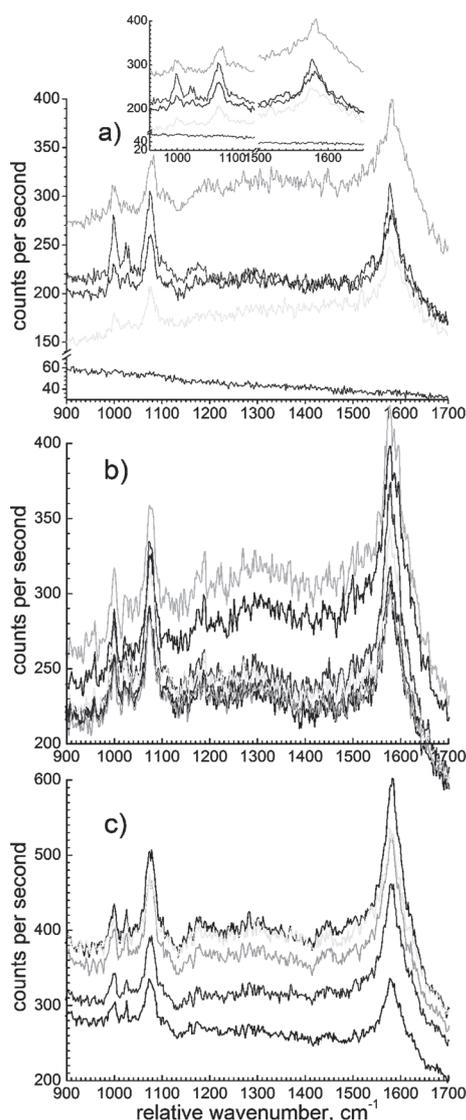


Рис. 1. Спектры комбинационного рассеяния тиофенола, адсорбированного на зонде: *a* – при контакте в разных точках чистой золотой подложки (нижняя черная кривая – без контакта), на вставке разное положение пиков; *b, c* – последовательные измерения в двух разных точках. Интенсивность меняется вследствие долговременных флуктуаций интенсивности возбуждения

мелких деталей в районе пика (спектральное разрешение меньше $1,5 \text{ см}^{-1}$). В то же время спектры, измеренные в одной и той же точке с интервалом в 5–10 мин, хорошо воспроизводят друг друга вплоть до мелких деталей, подтверждая, что несоответствие мелких деталей в разных точках не является артефактом.

Таким образом, если спектры комбинационного рассеяния отличаются при контакте в разных точках номинально одинаковой поверхности золота, можно ожидать гораздо большей разницы при появлении любых дополнительных взаимодействий.

Однако даже отсутствие данных взаимодействий может принести большую пользу при использовании таких зондов в УЗКР. Несмотря на относительно долгую историю и яркие результаты, полученные данным методом, УЗКР в таком виде не является аналитическим методом исследования распределения материалов на поверхности. Это связано с тем, что регистрируемый сигнал пропорционален не только количеству активного вещества, но и локальному усиливающему фактору, чье распределение неизвестно. Для регистрации этого распределения можно использовать реперный сигнал от дополнительного материала, присутствующего в постоянном количестве в каждой точке измерения. Для реализации такой возможности именно функционализированный этим реперным материалом зонд является лучшей, если не единственной возможностью.

Единственным условием для реализации этой схемы является совпадение или пропорциональность локального поля на поверхности и на острие зонда при их контакте. Хотя из-за кривизны зонда система не является плоским конденсатором с постоянным полем внутри, простые модели и даже размерный анализ показывают, что поле на поверхности и на зонде пропорционально и зависит от малого в стандартной ситуации параметра – отношения ширины зазора к радиусу кривизны зонда [11]. Остальные условия, касающиеся стабильности сигнала, те же, что и для реализации Рамановского зонда.



Рис. 2. Измеренные распределения интенсивности комбинационного рассеяния тиоафтола (линия 1381 см^{-1}) – числитель и тиофенола (линия 1002 см^{-1}) – знаменатель, а также результат нормализации, отвечающий за распределение тиоафтола

Для демонстрации работоспособности такого подхода был проделан эксперимент с помощью зонда, покрытого тиофенолом. Результат по нормализации карты распределения интенсивности комбинационного рассеяния тионафтола (линия 1381 см^{-1}) с помощью распределения интенсивности сигнала тиофенола (линия 1002 см^{-1}) показан на рис. 2.

Если распределения интенсивности разных линий тионафтола коррелируют между собой, распределение сигнала тиофенола существенно от них отличается. В результате нормированное распределение, которое соответствует распределению количества тионафтола, отличается от измеренного распределения интенсивности.

Заключение. В работе приведены примеры применения функционализированных зондов в СМБП. Показано, что регистрация сигнала комбинационного рассеяния от такого зонда несет дополнительную информацию о взаимодействии данного зонда с исследуемой системой а также позволяет регистрировать распределение локального усиливающего фактора, открывая путь для превращения УЗКР в аналитический метод исследования поверхности.

Список использованных источников

1. Pohl, D. W. Optical stethoscopy : image recording with resolution $\lambda/20$ / D. W. Pohl, W. Denk, M. Lanz // *Appl. Phys. Lett.* – 1984. – Vol. 44, N 7. – P. 651–653.
2. Development of 500 Å spatial resolution light microscope / A. Lewis [et al.] // *Ultramicrosc.* – 1984. – Vol. 13. – P. 227–232.
3. Lewis, A. A light source smaller than the optical wavelength / A. Lewis, R. Kopelman // *Science.* – 1990. – Vol. 247. – P. 59–61.
4. Bethe, H. A. Theory of diffraction by small holes / H. A. Bethe // *Phys. Rev.* – 1944. – Vol. 66, N 7–8. – P. 163–182.
5. Bouwkamp, C. J. On Bethe's theory of diffraction by small holes / C. J. Bouwkamp // *Philips Res. Rep.* – 1950. – Vol. 5, N 5. – P. 321–333.
6. Sekatskii, S. K. Single fluorescence centers on the tips of crystal needles : First observation and prospects for application in scanning one-atom fluorescence microscopy / S. K. Sekatskii, V. S. Letokhov // *Appl. Phys. B* – 1996. – Vol. 63. – P. 525–530.
7. The dependence of the symmetry (spin) forbidden photoluminescence of C60 molecules on their proximity to metal / I. Yurchenko [et al.] // *Ultramicrosc.* – 1995. – Vol. 61. – P. 259–263.
8. Chemical and biochemical analysis using scanning force microscopy / H. Takano [et al.] // *Chem. Rev.* – 1999. – Vol. 99, N 10. – P. 2845–2890.
9. Bortchagovsky, E. G. A tetrahedral tip as a probe for Tip-enhanced Raman Scattering and as a Near-Field Raman Probe / E. G. Bortchagovsky, U. C. Fischer // *J. Raman Spectrosc.* – 2009. – Vol. 40. – P. 1386–1391.
10. Bortchagovsky, E. G. The concept of a near field Raman probe / E. G. Bortchagovsky, U. C. Fischer // *Nanoscale.* – 2012. – Vol. 4. – P. 885–889.
11. Bortchagovsky, E. Internal standard for tip-enhanced Raman spectroscopy / E. Bortchagovsky, T. Schmid, R. Zenobi // *Nano Lett.* – В печати.

**УЧЕТ ТЕМПЕРАТУРЫ
ПРИ АНАЛИЗЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ШТАМПА
С ФУНКЦИОНАЛЬНО-ГРАДИЕНТНЫМ ПОКРЫТИЕМ**

С. М. Айзикович, Л. И. Кренив

Донской государственной технической университет, Ростов-на-Дону, Россия

В работе рассмотрено численно-аналитическое решение задачи о внедрении горячего кругового в плане штампа с плоской подошвой в функционально-градиентное покрытие однородного термоупругого полупространства. Исследовано влияние различных сочетаний законов изменения термомеханических характеристик покрытия по глубине на деформацию поверхности покрытия и на распределение контактных напряжений

1. Постановка задачи о воздействии горячего кругового штампа на непрерывно-неоднородное полупространство. На поверхность Γ неоднородного полупространства Ω воздействует жесткий круговой в плане штамп-теплоизолятор, который вдавлируется в полупространство силой P . На контактной площадке $0 \leq r < a$ поддерживается постоянная температура и образуется тепловой поток, направленный внутрь неоднородного полупространства.

Далее будем полагать, что коэффициенты Ламе $M(z)$ и $\Lambda(z)$, и коэффициенты теплопроводности $\lambda_T(z)$ и линейного расширения $\alpha_T(z)$ являются непрерывными функциями координаты z , такими, что

$$\begin{aligned} 1. \quad & M(z) = M(-H) = M^S, \quad \Lambda(z) = \Lambda(-H) = \Lambda^S, \quad -\infty \leq z \leq -H \\ & \lambda_T(z) = \lambda_T(-H) = \lambda_T^S, \quad \alpha_T(z) = \alpha_T(-H) = \alpha_T^S. \\ 2. \quad & M(z) = M^C(z), \quad \Lambda(z) = \Lambda^C(z), \quad \lambda_T(z) = \lambda_T^C(z), \quad \alpha_T(z) = \alpha_T^C(z) \quad -H \leq z \leq 0 \\ 3. \quad & M^C(-H) = M^S, \quad \Lambda^C(-H) = \Lambda^S, \quad \lambda_T^C(-H) = \lambda_T^S, \quad \alpha_T^C(-H) = \alpha_T^S, \end{aligned} \quad (1.1)$$

где H – толщина неоднородного слоя, индекс S соответствует подстилающему однородному полупространству, а C – неоднородному слою.

Под действием центрально приложенной силы P штамп переместится в направлении оси z на величину δ . Граничные условия при сделанных предположениях имеют вид

$$z = 0, \quad \tau_{zr} = \tau_{z\varphi} = 0, \quad \begin{cases} \sigma_z = 0, \quad \frac{\partial \theta}{\partial z} = 0, & r > a \\ w = -\delta(r) = -(\delta - \psi(r)), \quad \theta = \theta_0 & r \leq a \end{cases}. \quad (1.2)$$

На границе сцепления неоднородного слоя с однородным полупространством при $z = -H$ в силу непрерывности, должны выполняться условия сопряжения по смещениям, их производным, температуре и тепловому потоку.

На бесконечности при $(r, -z) \rightarrow \infty$ смещения, деформации и напряжения исчезают. Значения разности температур и теплового потока при этом также стремятся к нулю.

$$\begin{aligned} \lim_{z \rightarrow -\infty} (u, w, \varepsilon_r, \varepsilon_\varphi, \varepsilon_z, \varepsilon_{rz}, \sigma_r, \sigma_\varphi, \sigma_z, \tau_{rz}, \theta, \theta') &= 0, \\ \lim_{z \rightarrow \infty} (u, w, \varepsilon_r, \varepsilon_\varphi, \varepsilon_z, \varepsilon_{rz}, \sigma_r, \sigma_\varphi, \sigma_z, \tau_{rz}, \theta, \theta') &= 0. \end{aligned} \quad (1.3)$$

2. Общее решение системы интегральных уравнений задачи о воздействии горячего штампа на термоупругое неоднородное полупространство.

При построении системы интегральных уравнений осесимметричной смешанной задачи статической термоупругости воспользуемся преобразованием Ханкеля и методом моделирующих функций [1] и получим соотношения, выражающие зависимость величины смещения w и температуры θ через неизвестное распределение контактного давления $p(r)$ и теплового потока через контактную зону $\beta(r) = \left. \frac{\partial \theta(r, z)}{\partial z} \right|_{z=0}$.

$$\begin{cases} w(r, z) = \int_0^a p(\rho) \rho d\rho \int_0^\infty L_1^3(\gamma, z) J_0(\gamma \rho) J_0(\gamma r) e^{-\gamma z} d\gamma + \int_0^a \beta(\rho) \rho d\rho \int_0^\infty L_3^3(\gamma, z) J_0(\gamma \rho) J_0(\gamma r) e^{-\gamma z} d\gamma \\ \theta(r, z) = \int_0^a \beta(\rho) \rho d\rho \int_0^\infty L_3^5(\gamma, z) J_0(\gamma r) e^{-\gamma z} d\gamma \end{cases} \quad (2.1)$$

Здесь мы учли то, что контакт штампа с неоднородным основанием гладкий, т. е. $q(r) = 0, 0 \leq r \leq a$.

В рассматриваемой нами задаче упругие характеристики не зависят от температуры, поэтому решение системы (2.1) разобьем на два этапа.

На первом определим величину теплового потока и распределение температуры в неоднородном полупространстве.

После этого решим смешанную задачу о внедрении гладкого кругового штампа с плоской подошвой в неоднородное полупространство, деформированное воздействием найденного нами теплового потока через контактную зону.

Выражение для теплового потока имеет вид

$$\beta(r) = \frac{1}{\pi} \left\{ \frac{1}{L_3^5(0)} \frac{1}{\sqrt{1-r^2}} + C \left[\frac{\operatorname{ch} A\lambda^{-1}}{\sqrt{1-r^2}} - A\lambda^{-1} \int_r^1 \frac{\operatorname{sh} A\lambda^{-1} t dt}{\sqrt{t^2-r^2}} \right] \right\}. \quad (2.2)$$

Проанализируем деформацию поверхности неоднородного полупространства под действием локального статического нагрева. Согласно выражению (2.2), при отсутствии поверхностного механического воздействия получаем:

$$w_i(r, z) = \int_0^a \beta(\rho) \rho d\rho \int_0^\infty L_3^3(\gamma, z) J_0(\gamma \rho) J_0(\gamma r) e^{-\gamma z} d\gamma. \quad (2.3)$$

В случае однородного полупространства формула (2.3) позволяет выписать простые аналитические выражения для описания вертикального смещения поверхности полупространства при действии постоянной температуры. Мы рассматриваем установившийся процесс подвода тепла к полупространству при отсутствии его отвода через поверхность, поэтому форма поверхности описывается логарифмической функцией. Для определенности мы будем фиксировать некоторое значение r_0 на оси r , при котором $w_i(r_0, 0) = 0$.

$$w_i^S(r) = w_i^S(r, 0) - w_i^S(r_0, 0) = \int_0^1 \frac{1}{\sqrt{1-\rho^2}} J_0(\gamma\rho) \rho d\rho \int_0^\infty \frac{1}{\gamma} (J_0(\gamma r) - J_0(\gamma r_0)) d\gamma =$$

$$\begin{cases} \ln r_0/2 + \sqrt{1-r^2} - \ln(1 + \sqrt{1-r^2})/2 & r < 1 \\ \ln r_0/r & r > 1 \end{cases} \quad (2.4)$$

На рис. 1 представлено относительное изменение формы поверхности неоднородного полупространства под действием постоянной температуры, приложенной в пределах круга единичного радиуса. Обозначения кривых формируются следующим образом.

Последовательно описывается характер изменения модуля Юнга, коэффициента Пуассона, коэффициента теплопроводности и коэффициента линейного расширения в покрытии, при этом предполагается, что:

- значение 0 характеристики в покрытии не отличается от соответствующего значения в подложке;
- значение 3 характеристики на поверхности в 2 раза превышает значение в подложке и линейно убывает по всей толщине покрытия до значения в подложке;
- значение 4 характеристики на поверхности в 2 раза меньше значения в подложке и линейно возрастает по всей толщине покрытия до значения в подложке.

Таким образом, обозначение 0_0_0_0 соответствует однородному термупругому полупространству. Анализ рис. 1 показывает, что серьезное влияние на величину максимального выпора поверхности оказывает разнонаправленное изменение коэффициентов теплопроводности и линейного расширения в покрытии.

При построении замкнутого приближенного численно-аналитического решения смешанной задачи о внедрении жесткого штампа в неоднородное полупространство, нагретое источником с постоянной температурой в пределах круга радиуса a , рассмотрим парное интегральное уравнение вида

$$\begin{cases} \int_0^\infty P(\gamma) L(\lambda\gamma) J_0(r\gamma) d\gamma = \Theta_0 \delta(1 + f(r)), & r \leq 1 \\ \int_0^\infty P(\gamma) J_0(r\gamma) \gamma d\gamma = 0, & r > 1 \end{cases} \quad (2.5)$$

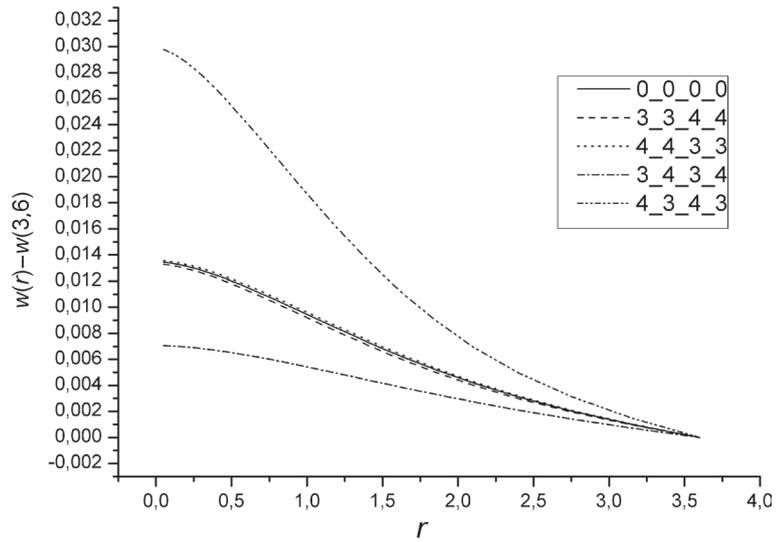


Рис. 1. Термоупругое искривление поверхности неоднородного полупространства для различных случаев изменения свойств в приповерхностном слое под действием равномерной температуры в пределах единичного круга. Толщина слоя равна радиусу круга

Функция $f(r)$ описывает деформацию поверхности под действием источника тепла с постоянной температурой. Ее можно представить в виде ряда Фурье–Бесселя:

$$f(r) = \sum_{k=1}^{\infty} b_k J_0(\mu_k r), \quad (2.6)$$

Используя численно-аналитический метод, изложенный в работе [1], получим выражение для контактных напряжений под горячим штампом:

$$p(r) = \frac{2\Theta_0\delta}{\pi} \left\{ L^{-1}(0) \frac{1}{\sqrt{1-r^2}} + \sum_{i=1}^N C_i \Psi(r, A_i \lambda^{-1}) + \sum_{j=1}^{\infty} b_j X(r, \mu_j) L_N^{-1}(\lambda \mu_j) \right\}. \quad (2.7)$$

Здесь введены обозначения

$$\Psi(r, A) = \frac{\operatorname{ch} A}{\sqrt{1-r^2}} - A \int_r^1 \frac{\operatorname{sh} A t dt}{\sqrt{t^2 - r^2}}; \quad X(r, \mu) = \frac{\cos \mu}{\sqrt{1-r^2}} + \mu \int_r^1 \frac{\sin t \mu dt}{\sqrt{t^2 - r^2}}.$$

Постоянные C_i определяются из системы линейных алгебраических уравнений

$$\sum_{i=1}^N C_i \alpha \left(\frac{A_i}{\lambda}, \frac{B_k}{\lambda} \right) + \frac{B_k^{-1} \lambda}{L_N(0)} + \sum_{j=1}^{\infty} b_j \beta \left(\mu_j, \frac{B_k}{\lambda} \right) = 0, \quad k = 1, 2, \dots, N, \quad (2.8)$$

где

$$\alpha(B, A) = \frac{B \operatorname{ch} A + A \operatorname{sh} A}{B^2 - A^2}; \quad \beta(B, \mu) = \frac{B \cos \mu - \mu \sin \mu}{L_N(\lambda \mu)(\mu^2 + B^2)}.$$

В данном случае связь между приложенной силой и осадкой штампа имеет вид

$$P = 4a^2 \delta \Theta_0 \left[L^{-1}(0) + \sum_{i=1}^N C_i A_i^{-1} \lambda \operatorname{sh} A_i \lambda^{-1} + \sum_{j=1}^{\infty} b_j L_N^{-1}(\lambda \mu_j) \mu_j^{-1} \sin \mu_j \right]. \quad (2.9)$$

На рис. 2 представлены значения контактных напряжений под поверхностью горячего штампа с плоской подошвой, внедряемого в непрерывно неоднородное полупространство. Обозначения кривых соответствуют законам изменения термоупругих характеристик, описанным в предыдущем параграфе. Максимальный уровень напряжений достигается в том случае, когда модуль Юнга и коэффициент Пуассона возрастают по глубине покрытия, а коэффициент теплопроводности и коэффициент линейного расширения убывают.

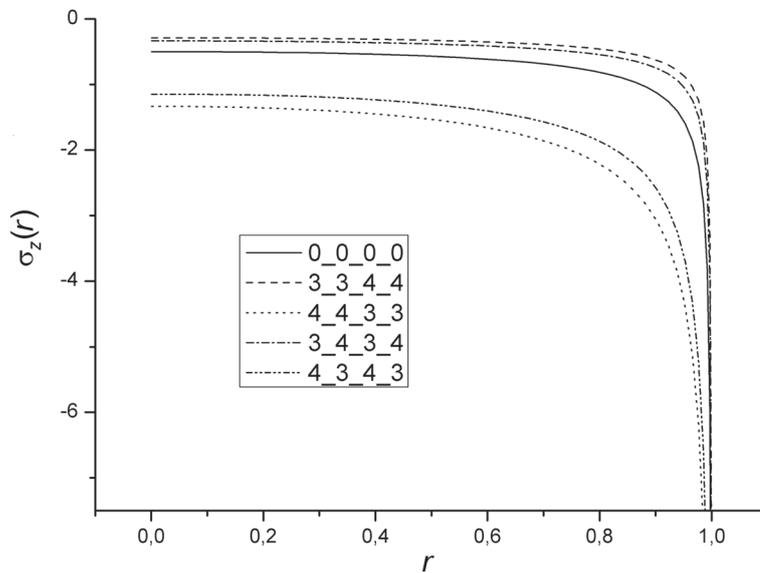


Рис. 2. Контактные напряжения под поверхностью горячего штампа, внедряемого в неоднородное термоупругое полупространство

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (11-08-91168-ГФЕН_a, 12-07-00639_a) ГК №11.519.11.3015, 11.519.11.3028, Р1107.

Список использованных источников

1. Аналитические решения смешанных осесимметричных задач для функционально-градиентных сред / С. М. Айзикович [и др.]. – М. : ФИЗМАТЛИТ, 2011. – 192 с.

ESTIMATION OF THE VISCOSITY PARAMETERS FOR ULTRA THIN LAYER OF LIQUID

A. Khudoley¹, S. Chizhik¹, K. Wierzcholski², A. Miszczak³,
V. Chikunov¹, D. Shasholko¹

¹*A. V. Lykov Institute of Heat and Mass Transfer of the NAS of Belarus, Minsk, Belarus*

²*Technical University of Koszalin, Koszalin, Poland*

³*Gdynia Maritime University, Gdynia, Poland*

Introduction. Behavior of liquids is different for large volumes and for thin layer [1, 2]. Generally, two types of liquids are distinguished: Newtonian and non-Newtonian. Non-Newtonian liquids can be time independent and time dependent (thixotropic and rheopectic) [3]. For comprehensive studies of the viscosity parameters and for recognition of the type of liquid it is necessary to have technique that will allow changing shear rate, time, height of fluid [2, 3]. In this case it is very promising to use combination of atomic force microscopy (AFM) and piezoelectric tuning fork (PTF) [4] for ultra thin layers of liquid.

The present work is focused on implementation of special technique that combines AFM and PTF and allows measuring of the viscosity parameters for Newtonian and non-Newtonian liquids that are presented as thin layer and ultra thin layer.

Viscosity measurements. Function «Viscosity» has been realized on commercial AFM unit (NT-206, Belarus) using PTF (Fig. 1) fixed in special holder. An oscillation of PTF has been done by AFM generator that is typically used for realization of dynamic mode. Feedback control for complex technique has been organized on the criteria of output amplitude of PTF. Laser system of AFM was not used for measurements.

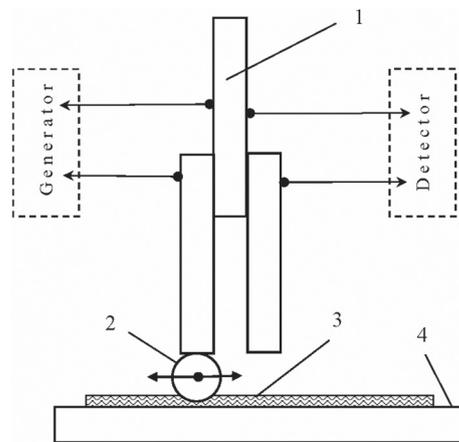


Fig. 1. General scheme of the viscosity measurements by tuning fork technique: 1 – PTF; 2 – probe; 3 – thin layer of liquid; 4 – solid substrate

Main window of viscosity control software is shown in Figure 2 and it consists from five panels.

Panel I includes the buttons *Load exp. settings...*, *Save exp. settings...*, and textual field *text*. Button *Save exp. settings...* allows saving all settings for viscosity measurements in special file for follow-up using. Button *Load exp. settings...* is used for loading of the saved settings.

Set up parameters of PTF. Panel II (Fig. 2) includes functions for adjusting the PTF before measurements. Parameters *Working frequency*, *In Amplitude* (A_{in}) and

Out Amplitude (A_{out}) are used to set up working properties of PTF. Button *Get Frequency* activates and loads a special panel *Frequency Sweep* (Fig. 3) to specify PTF frequency sweep. This graph is used for fixing of PFT resonance frequency in the same way as for AFM dynamic mode.

The slider *Amplitude* (Fig. 3) is used for set up input amplitude of PTF. User can also type the value in box below the amplitude indicator. Input amplitude should be in interval of *Frequency Sweep*.

The check-box *Legend* switches on/off descriptions of plotted parameters. Red line is output amplitude of PTF, green line – phase curve. Button *Save*  allows to save the current graph in BMP format or the data as TXT file.

Working frequency, *In Amplitude* and *Out Amplitude* (Fig. 2, panel II) are automatically set up after closing of the *Frequency Sweep* panel. After that system is ready for automatic or manual measurements.

Automatic measurements. Panel III *Automatic Mode* (Fig. 2) includes controls for presetting of measurements parameters. Parameter *Stop Set point (dA)* is the criteria of finding of set point. dA_{cur} is current amplitude in percentages of input amplitude. Parameter *Fast time* sets up the period of time for decreasing and increasing of the input amplitude (*In Amplitude*) on the fixed value (*Amplitude Range*) in percentages. Parameter *Delay* is the time that is used for measurements with the constant input amplitude.

Elapsed time – shows the time of measurements. *Remaining time* – shows the estimated time before ending of measurements.

Measurement starts after pressing the button  and can be interrupted at any instance of time by pressing the button *Stop*. At the beginning of measurement the system fixes AFM piezoscanner in the middle position for Z range. After that PTF approaches to the sample surface by AFM stepper motor with checking of amplitude decrease at each step. If the result of checking is

$dA_{cur} > \text{Stop Set point (dA)}$, then step motor realizes the next step for movement of PTF;

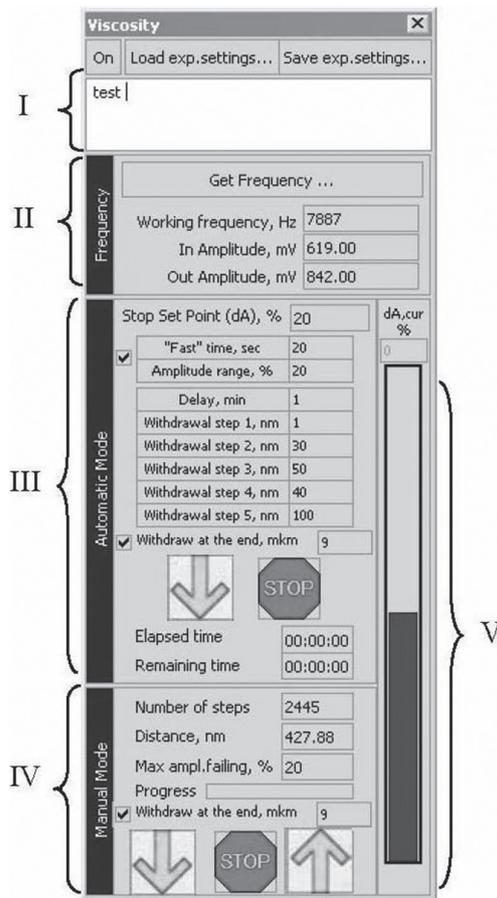


Fig. 2. Main window of viscosity control software: I – general content menu; II – tuning the PTF; III – automatic mode; IV – manual mode; V – panel of amplitude indicator

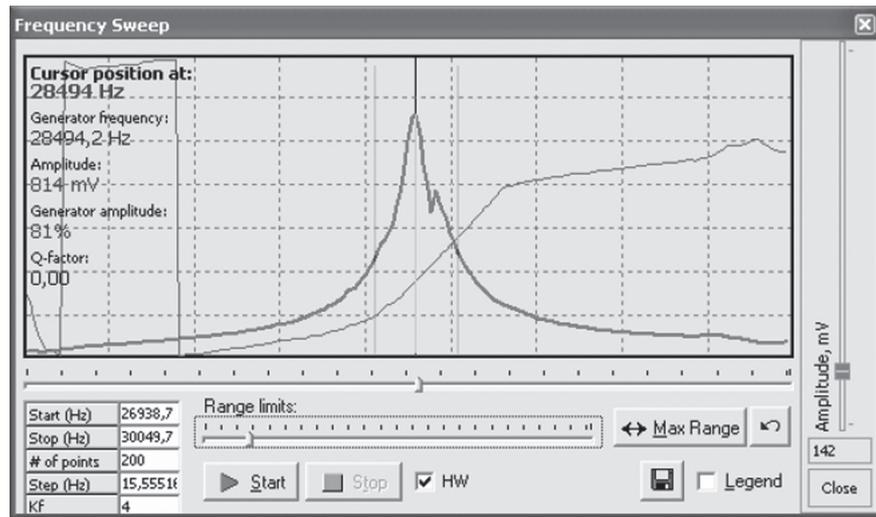


Fig. 3. Frequency sweep panel for tuning the PTF

$dA_{cur} = \text{Stop Set point } (dA)$, then system stops the step motor and starts the measurements;

$dA_{cur} < \text{Stop Set point } (dA)$, then system stops the step motor, switches off feedback of the piezoscanner and runs it for setting up $dA_{cur} = \text{Stop Set point } (dA)$ by withdrawal movement of PTF.

System shows the message for 5 seconds that PTF has reached the solid substrate. All further withdraw movements for automatic measurements will be done very precisely only by AFM piezoscanner. AFM step motor doesn't involve in this stage of the measurements. The piezoscanner starts *Withdrawal step 1*, and after completing of this step the system automatically decreases and increases *Input Amplitude* of PTF on value of *Amplitude Range* for time *Fast time*. Next stage of the measurements will be done with permanent input amplitude for time *Delay*. After that system repeats the same procedure for *Withdrawal step 2, 3, 4 and 5*.

The Results of measurements for glycerin layer are represented in visualization window *Viscosity graph* (Fig. 4). Dependence includes the next parameters: Input amplitude (A_{in}), Output amplitude (A_{out}), Z position of PTF (height of thin layer of the liquid) and time with step 0.1 second.

If check box *Withdraw at the end* is on then step motor will withdraw the PTF from sample on the distance in micrometers indicated in the section (Fig. 2, panel III) and measurements of the viscosity parameters in automatic mode will be completed.

Manual measurements. Panel IV *Manual Mode* contains the controls for manual measurements (Fig. 2, panel IV). All measurements are performed only via vertical moving of PTF by AFM step motor in the direction of approach. Main difference between the manual and automatic modes is that AFM piezoscanner doesn't use for the manual mode and all graphs and data are measured only in approach to surface of the sample.

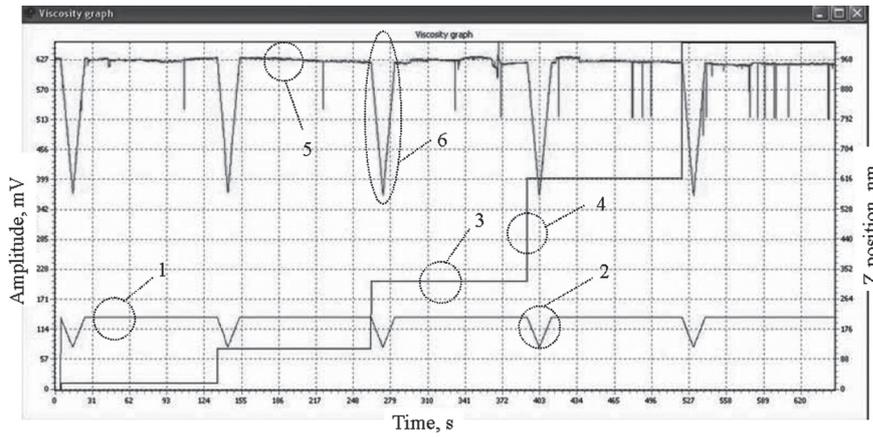


Fig. 4. Visualization window of viscosity measurements results: 1 – $A_{in} = \text{const}$; 2 – A_{in} is variable; 3 – Z position of PTF above the sample; 4 – Changing of Z position of PTF; 5 – A_{out} under $A_{in} = \text{const}$; 6 – A_{out} under variable A_{in}

The parameter *Number of steps* sets up the number of steps for step motor. *Distance, nm* is automatically calculated via number of steps. User can specify *Distance* or *Number of steps*. Parameter *Max ampl. falling* sets up the maximum value for decreasing of PTF amplitude. System will stop the approach moving of PTF after reaching of the maximum. This regime is mainly used for safety reason to prevent possible damage to the instrument. Measurements start by pressing the button  according to specified parameters (Fig. 2, panel II, IV). Indicator will show the progress for one cycle (number of steps). Indicator *Progress* visualizes the progress in measurements. The process of measurements can be interrupted at any moment by pressing button *Stop*. Withdraw of PTF from the sample starts by pressing the button . User can set up the distance of withdraw in micrometers (Fig. 2, panel IV).

Discussion. Shear rate depends on linear velocity of the probe that is moving into liquid. PTF vibrates and as the result the probe executes reciprocal motion into liquid. Increasing of the input amplitude leads to the increasing of linear velocity of the probe at the same frequency of PTF (Fig. 4, regime 2). The frequency influences on the value of linear velocity as well. Thus, the developed technique allows changing the shear rate via variation of the input amplitude and frequency of PTF.

Non-Newtonian time-dependent liquids can be characterized by measurements of the parameters over a period of time under permanent input amplitude and frequency of PTF (constant shear rate). Changes in behavior of the liquid can be recognized by the increasing or decreasing of output amplitude of PTF in time. In this way non-Newtonian liquids can be separated on two types: thixotropic and rheopectic fluids.

Atomic force microscopy has the unique possibilities for precise movements of the sample by build in piezoscanner with accuracy about 0.1 nm for Z coordinate that opens the great possibilities for exact changing of the thickness of liquid and investigation of layers with height even less than one nanometer.

Conclusions. It is proposed to use combination of atomic force microscopy and piezoelectric tuning fork for measurements of the viscosity parameters of ultra thin layer of Newtonian and non-Newtonian liquid. Algorithm and software have been developed and tested. Software has been incorporated in commercial AFM control software SurfaceScan. New function is available in version 210 or higher of SurfaceScan program and compatible with all AFM NT-206 scanning units (Microtestmachines Ltd., Belarus) without any changes in control unit.

We believe that proposed technique has very promising application for tribology, in the first place, for investigations of boundary and mixed lubrication regimes under micro contact interaction. There are many options to change roughness and texture of substrate and probe; substrate and probe materials can vary in rather broad range; the probe geometry can be sphere, cylinder, plate or wedge bar; sample can be studied in vacuum or under height pressure; the substrate material and liquid can be additionally heated and/or vibrated.

References

1. Myllerup, C. M. Local effects in thin films lubrication / C. M. Myllerup, B. J. Hamrock // Tribology Series. – 1993. – Vol. 25. – P. 39–57.
2. Wierzcholski, K. Bioandslidebearings: their lubrication by non-Newtonian fluids and application in non conventional systems / K. Wierzcholski. – Gdansk : Gdansk University of Technology, 2007. – Vol. III : Tribology process for cells, human joints and micro-bearing. – 150 p.
3. VISCOSITY OF LIQUIDS: Theory, Estimation, Experiment, and Data / D. S. Viswanath [et al.]. – B. : Springer, 2007. – 676 p.
4. Patent BY No 7274. Viscosity sensor (2011) / S. Chizhik, A. Khudoley, V. Chikunov. – u20100869, 19.10.2010.

PRECISION MEASUREMENTS OF SLIDING MICROBEARING RADIAL CLEARANCE AND GROOVES GEOMETRY

A. Khudoley¹, T. Kuznetsova¹, S. Chizhik¹, K. Wierzcholski², A. Miszczak³

¹*A. V. Lykov Institute of Heat and Mass Transfer of the NAS of Belarus, Minsk, Belarus*

²*Technical University of Koszalin, Koszalin, Poland*

³*Gdynia Maritime University, Gdynia, Poland*

Introduction. Fluid dynamic bearings (FDB) with grooves are widely used in hard disk drives (HDD) and ventilators since the beginning of the 2000's, as they have a better service performance compared with ball bearings [1, 2]. Hydrodynamic lubrications (HDL) can produce spherical or ring-like bubbles in oil that reduces the bearing stiffness. Radial clearance, number of grooves, and the groove geometry are substantially influence on the rate of bubble mixture and HDL condition of sliding bearing [2–4].

Radial clearance (RC) of bearing is formed by outer cylindrical surface of the journal and the inner cylindrical surface of the sleeve. In areas of grooves and chillers

RC is increased on value of the depth of the elements. RC of large-scale bearings is usually measured by contact methods using probes, removable strips, gauges and micrometers with maximal accuracy about 2 μm . Such resolution is not applicable for microbearings, as according to specifications mentioned in literature, the microbearings can have the following parameters:

RC 2.8 μm , radius of journal – 2 mm, 15000 RPM, groove angle 26°, groove type – herringbone, number of grooves – 8 [5];

RC 3.15 μm , radius of journal – 1.995 mm, 5000–10000 RPM, groove angle 26°, groove type – herringbone, number of grooves – 8 [4];

RC 5 μm and 15 μm , radius of journal – 2.5 mm, 20000 RPM, groove angle 15, 30 and 60°, groove type – herringbone, number of grooves – 8 and 16 [2].

In the present paper we utilized the methods of high-resolution control based on the use of various types of microscopy for geometric analysis of microbearing components.

Experimental procedure. Optical, scanning electron (SEM) and atomic force microscopy (AFM) have been utilized for RC measuring of microbearings. All measurements have been performed on metallographic samples that have been represented the cross sections of components. Metallographic samples have been prepared using standard procedure without any etching treatment of polished samples.

Two types of samples were produced for geometrical measurements: a) journal and sleeve separately, b) journal and sleeve assembled together. The first types of samples have been used for measurement of outer diameter of the journal and inner diameter of the sleeve with following calculation of RC. The second types of samples have been utilized for direct measurements of RC.

All tests have been done on optic microscope (Micro 200, Planar, Belarus) with magnification 200X and 400X; SEM (Mira, Oxford Instruments) and AFM (NT-206, Belarus). Commercial CSC38 silicon probes were used for AFM imaging under static regime.

Linear dimensions of component elements have been determined by geometrical analysis and using software «Distance Measurement» for optic microscopy and SEM. AFM measurements has been performed on the basis of 2D and 3D AFM-images, lateral force imaging (Torsion mode) and surface profiles of the components.

Two types of commercial sliding microbearings have been tested: a) extra long life ventilator with «V» shaped grooves onto sleeve surface (120 000 hrs, 2900 RPM, 80 mm case fan) and b) HDD fluid dynamic bearing (7200RPM, 80Gb, 3.5”).

Result and discussion. Measurement of outer diameter of the journal and inner diameter of the sleeve with following calculation of RC have been done by SEM (Fig. 1) and by optical microscopy under full observation of the component cross sections. It is established that SEM technique allows to see the cross sections of the sleeve more clearly than optical microscope in spite of the maximum difference of the diameter registered in four measurements was 40 μm even for SEM. AFM technique cannot be used for such type of measurements at all because it has very small scanning area (maximum 100 \times 100 μm) that does not allow complete observation of the component cross section.

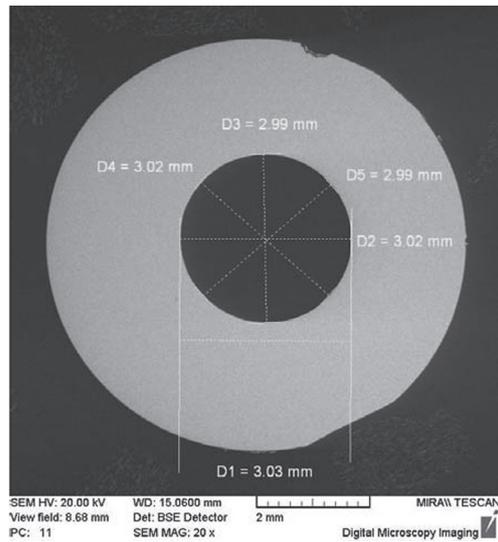


Fig. 1. SEM image of the cross section of ventilator sleeve with dimension data markers

Analysis of preparation procedure for metallographic samples showed that accuracy of cutting, press-fitting, grinding and polishing of the components result in deviation from the perpendicularity of sample cross-sections. The deviation can very easy reach 1–3 degree especially in consideration of small sizes of the components. In practice the real cross-section will be always not circle but oval and difference in diameter value will be occurring. For example inaccuracy of 2 mm diameter sample preparation can leads to 4 μm difference for one component (Fig. 2, *a*) and total 8 μm difference for microbearing (journal and sleeve) that is not permissible for RC measurements.

Preparation of samples that includes the journal and sleeve assembled together allows observing RC of microbearing directly (Fig. 3). Optical microscopy shows two types of RC: a) RC with groove depth (Fig. 3, *a*) and b) RC without groove (Fig. 3, *b*). SEM observation of full area of sample cross section gives the data on the quantity of the grooves manufactured into inner surface of sleeve (Fig. 4). Eight grooves are recognized for ventilator and HDD microbearings. Real value of ventilator groove width – 225 μm is determined on the basis of measurement of the groove width represented in cross-section (Fig. 4, *b*) taking into account the axial angle of the groove (26°).

RC dimension procedure should include opposite to each other measurements on diameter and subtraction of groove depth (if it is presented). The value of groove

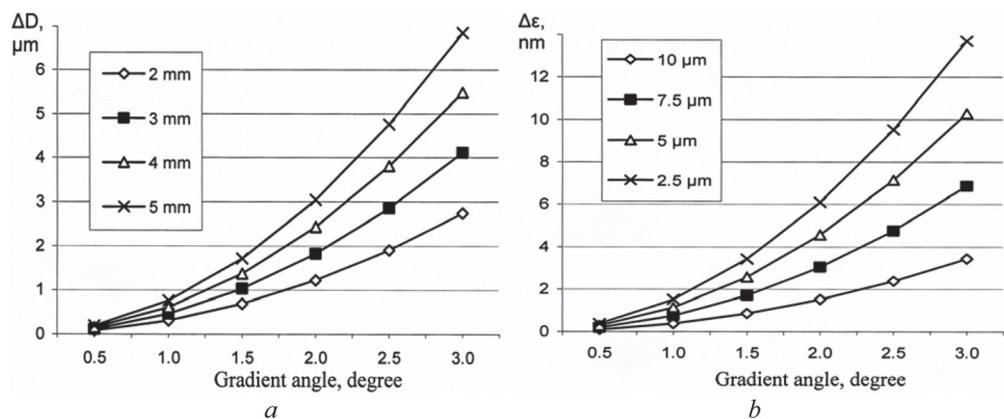


Fig. 2. Dependence of size deviation vs. sample surface slope: *a* – deviation of the diameter; *b* – deviation of the RC

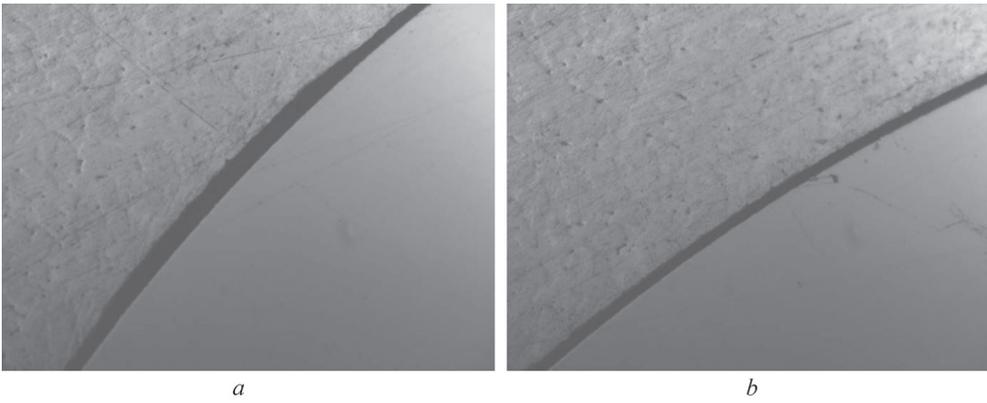


Fig. 3. Optic microscope image of the radial clearance between sleeve and journal, $\times 400$: *a* – groove clearance; *b* – clearance without groove

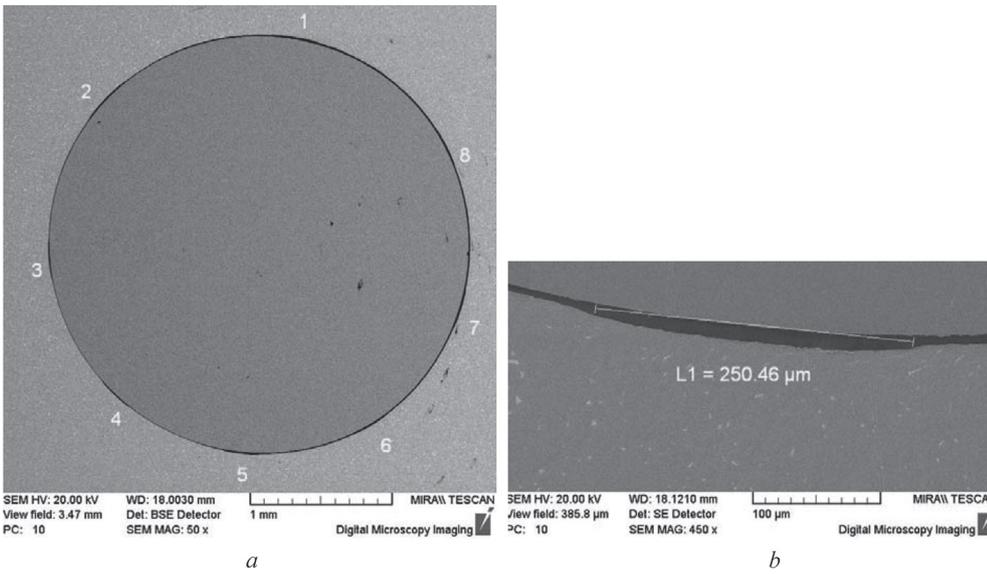


Fig. 4. SEM image of the cross section of assembled microbearing: *a* – RC with marked grooves; *b* – width of the groove

depth is determined according to two measurements: a) RC without groove, b) RC with groove. The main advantage this RC measurement method consists in high accuracy because sample preparation procedure not significantly affects the accuracy of measurement. For example inaccuracy of $5\ \mu\text{m}$ RC measurement is only $10\ \text{nm}$ (Fig. 2, *b*).

Optical microscopy measurements of the clearance and depth of groove have been done 20 times under magnification $400\times$ for each size (Fig. 3). Average values of the clearance are presented in Table.

SEM measurements have been done three times for each size under magnification $5,000\times$ – $10,000\times$ times (Fig. 5, 6). Average values of SEM data are presented in the Table.

Results of size measurements utilizing different techniques

Technique	Long Life Ventilator		3.5" HDD	
	RC, μm	Groove Depth, μm	RC, μm	Groove Depth, μm
Optic microscopy	6.90	5.40	2.60	3.10
SEM	7.23	7.62	2.55	2.90
AFM	6.70	5.90	2.70	–

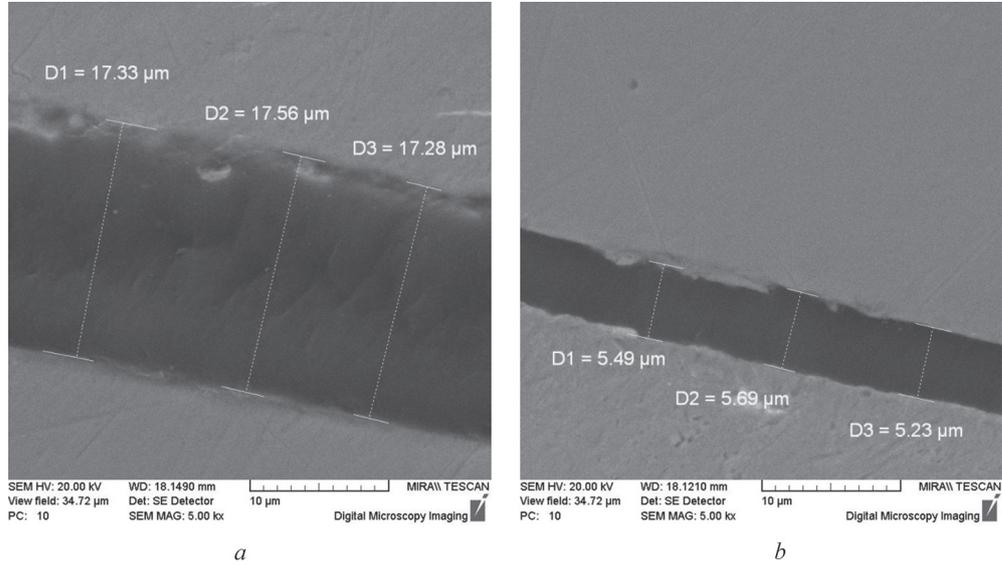


Fig. 5. SEM image of two opposite measurements of the clearance (ventilator microbearing):
a – clearance with groove; *b* – clearance without groove

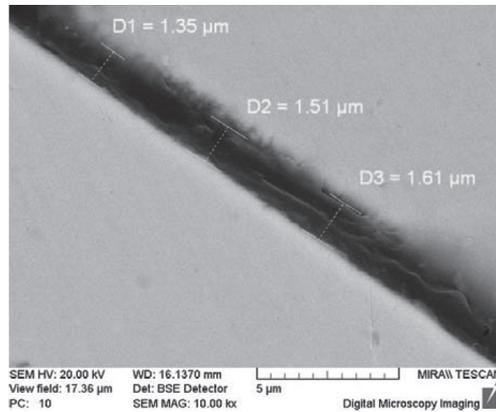


Fig. 6. SEM image of extremely low value of RC (HDD microbearing)

AFM technique has been utilized one time for each size (Fig. 7, 8). Values of AFM measured data are presented in Table.

Hard materials (metal base alloys used for journal and sleeve) are grinded and polished more slowly than soft material (glue) during preparation of the metallographic samples. As the result there occurs a step on the border of two materials. This step is not horizontal but has a radius of curvature that causes an error in the measurement while using different types of microscopy. Also softer

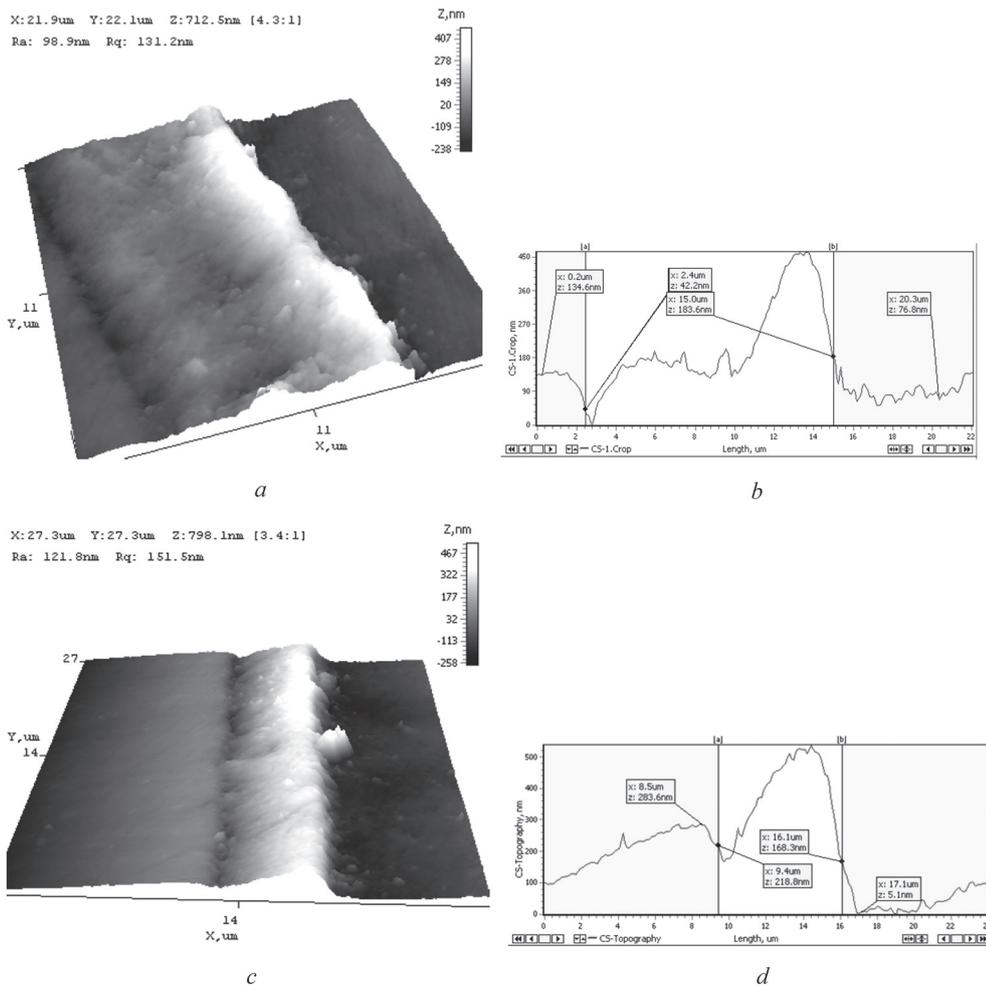


Fig. 7. AFM measurements of the clearance (ventilator microbearing): *a* – 3D AFM image of 12.6 μm clearance with groove; *b* – surface profile «*a*»; *c* – 3D AFM image of 6.7 μm clearance without groove; *d* – surface profile «*c*»

material can be partially rub onto interface of two materials that additionally creates difficulties of border recognizing.

We believe that AFM technique allows determining the interface (border) between two materials more accurately than optical and SEM microscopy. This is achieved by co-analysis of Topography profile, Torsion image and Torsion profile (Fig. 8).

According to [6, 7] RC and surface roughness are the main parameters for HDL. Surface roughness of microbearing components has been studied by AFM. Typical roughness profiles for microbearing component are represented in Figure 9. It is established that value of dimension tolerance for HDD and ventilator components is the same for all surfaces – about 320 nm (Fig. 9) and the arithmetical average of

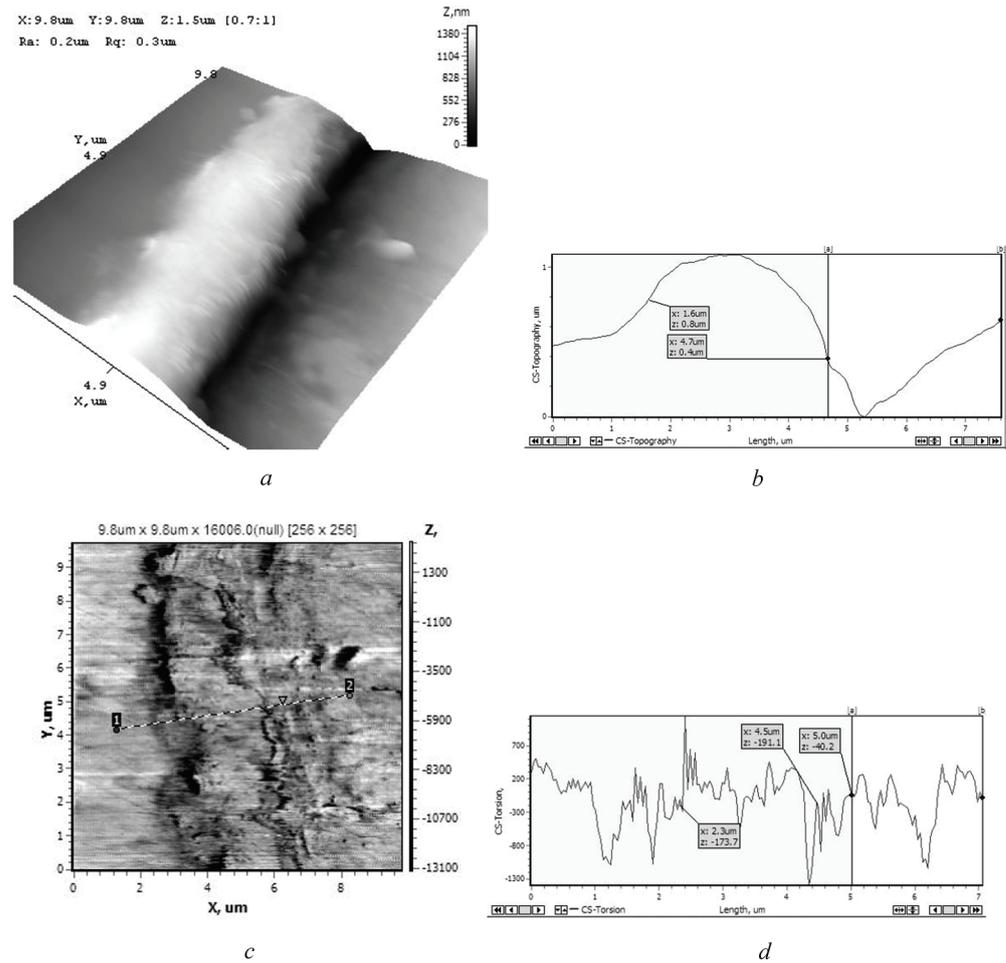


Fig. 8. AFM measurements of 3.1 μm clearance (HDD microbearing): *a* – 3D AFM image of the clearance without groove; *b* – surface profile «*a*»; *c* – 2D AFM Torsion image of the clearance «*a*»; *d* – Torsion profile «*c*»

the roughness profile Ra 12–48 nm. The maximum difference in clearance caused by the roughness of journal and sleeve surfaces can reach 640 nm. That additionally supported the difference in measured data (Table).

Checking of lubrication regimes has been done using the film parameter λ that is calculated through minimum film thickness and roughness of two components [7]. According to [7] $\lambda = 10$ is limit for HDL and elastohydrodynamic lubrication (EHL). EHL regimes are recognized when λ parameter is between 3.5 and 10, HDL – λ is more than 10, mixed lubrication – 1.5–3.5. Lubrication regimes are analyzed with assumption that measured value of RC (Table) is minimum film thickness and it means that we have used larger value of parameter λ than can be in real operation condition. Analysis of lubrication shows that the ventilator microbearing has HDL type

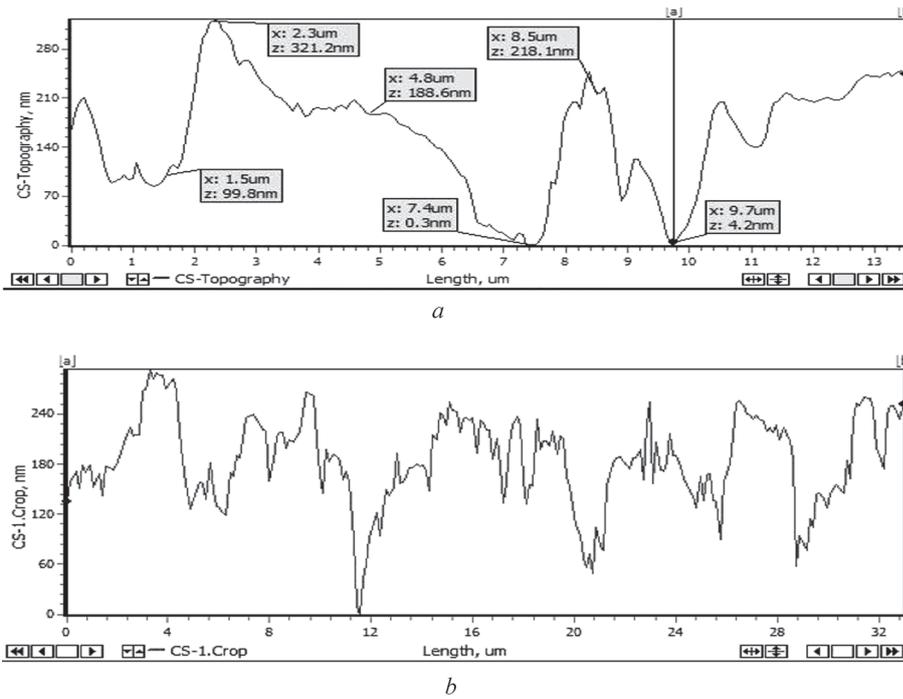


Fig. 9. Typical roughness profile for microbearing component: *a* – journal of ventilator; *b* – HDD sleeve

of lubrication with low coefficient of friction ($\lambda = 14.85$) and the HDD microbearing has EHL type of lubrication with middle coefficient of friction ($\lambda = 5.98$). The lowest value of RC – $1.35 \mu\text{m}$ was measured for the HDD microbearing (Fig. 6) with $\lambda = 2.99$ and mixed lubrication with high coefficient of friction.

Utilizing of optical microscopy requires statistic measurements that take a lot of time and that are rather routine procedure. Optical microscopy is useful technique on stage of samples preparation. SEM is very fast instrument but on the other hand AFM allows to do metrological testing of dimensions with traceability.

Conclusions. It is shown that measurements of the radial clearance of microbearings cannot be determined with the required accuracy for hydrodynamic calculations and wear analysis just through subtraction from internal diameter of sleeve to external diameter of the journal. It is proposed to measure clearance directly by high-resolution microscopy using metallographic sample of cross section of the assembly of sleeve and journal with the gap filled with glue.

Precision measurements of radial clearance and grooves depth have been done using optical, SEM and AFM technique for the ventilator and the HDD microbearings with journal diameter 3 and 4 mm, correspondingly. Radial clearance for the ventilator long life microbearing is $6.7 \dots 7.23 \mu\text{m}$, depth of groove is $5.40 \dots 7.62 \mu\text{m}$, for the HDD microbearing RC is $2.5 \text{--} 2.7 \mu\text{m}$ and groove – $2.90 \dots 3.10 \mu\text{m}$. The accuracy

of measurement is limited to the quality of the preparation of metallographic sample and the accuracy of alignment of the measuring markers.

Dimension tolerance of microbearing diameters is determined through analysis of roughness profiles for different components. It is established that value of dimension tolerance for the HDD and ventilator components is the same for all surfaces – about 320 nm and the arithmetic average of the roughness profile Ra 12–48 nm. It is shown that maximum difference in clearance caused by the roughness of the surface can reach 640 nm. Analysis of lubrication shows that the ventilator microbearing has hydrodynamic type of lubrication and HDD microbearing has elastohydrodynamic type of lubrication.

The proposed method can also be used for quality control of adhesive, soldered or welded joints, in which the thickness of the layer of solder or glue up to 40–70 microns, that is limited to the area of AFM scanning. Addition to the measurement of the gap can be collected on information about the continuity of the joint, the structural homogeneity, physic, mechanical and electrical properties of the adhesive or solder.

References

1. Development of FDB Spindle Motors for HDD Use / K. Matsuoka [et al.] // IEEE Transactions on Magnetics. – 2001. – Vol. 37, N 2. – P. 783–788.
2. Design of hydrodynamic bearings for high-speed HDD / T. Asada [et al.] // Microsystem Technologies. – 2002. – Vol. 8. – P. 220–226.
3. Lee, J. Robust optimal design of the FDBs in a HDD to reduce NRRO and RRO / J. Lee, G. Jang, H. Ha // Microsystem Technologies. – 2012. – DOI: 10.1007/s00542-012-1539-4.
4. Dynamic analysis of a HDD spindle system with FDBs due to the bearing width and asymmetric grooves of journal bearing / G. H. Jang [et al.] // Microsystem Technologies. – 2005. – Vol. 11. – P. 499–505.
5. Jang, G. H. Development of a highly efficient hard disk drive spindle motor with a passive magnetic thrust bearing and a hydrodynamic journal bearing / G. H. Jang, J. S. Park // J. of Appl. Phys. – 2005. – Vol. 97, N 10. – P. Q507–Q509.
6. Bhushan, B. Principles and applications of tribology / B. Bhushan. – New York : John Wiley and Sons, 1999. – 1001 p.
7. Sharma, S. Journal bearing performance and metrology issues / S. Sharma, D. Hargreaves, W. Scott // Journal of AMME. – 2009. – Vol. 32(1). – P. 98–103.

РАСЧЕТНАЯ МОДЕЛЬ ДЕФОРМИРОВАНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНО-ГРАДИЕНТНОГО КЛИНА

И. С. Трубчик

Донской государственной технической университет, Ростов-на-Дону, Россия

В качестве расчетной модели деформирования клинообразных градиентных покрытий, лежащих на недеформируемом основании, предлагается решение контактной задачи для неоднородного по толщине клина, жестко закрепленного по нижней грани. Получено замкнутое аналитическое решение контактной задачи для случая упругих модулей (модуль Юнга, коэффициент Пуассона, модуль сдвига), представляющих собой непрерывную дифференцируемую функцию по угловой координате. Иллюстрируется влияние градиентности клина на распределение контактных напряжений под штампом. Задача поставлена в связи с необходимостью прогнозирования явления отслаивания современных покрытий сложной структуры от недеформируемой подложки.

1. Постановка задачи. Рассматриваются статические контактные задачи для упругой клиновидной области с углом раствора α ($0 \leq \varphi \leq \alpha$). С областью связана цилиндрическая система координат (r, φ, z) . Считаем, что грань клина $\varphi = 0$ жестко закреплена, а на грань $\varphi = \alpha$ действует недеформируемый полосовой штамп. На единицу длины штампа действует сдвигающее усилие P_c , параллельное оси z , под действием которого штамп переместится в направлении оси z на величину ε , вызвав в клине деформацию чистого сдвига (задача 31); или штамп вдавливается силой P (здесь сила отнесена к единице длины штампа), приложенной на расстоянии H от вершины клина (задача 32). Предполагаем, что силы трения между штампом и поверхностью клина отсутствуют и вне штампа поверхность клина $\varphi = \alpha$ не нагружена. Ширина области контакта штампа с клином определяется неравенством $a \leq r \leq b$, а форма основания штампа в области контакта – функцией $\gamma(r)$.

Для обеих задач коэффициент Пуассона $\nu = \text{const}$, модуль сдвига и модуль Юнга клина изменяются по закону

$$G = G_\alpha f(\varphi), E = E_\alpha f(\varphi), \nu = \nu_\alpha f(\varphi), 0 \leq \varphi \leq \alpha, \quad (1.1)$$

где $f(\varphi)$ – произвольная, непрерывно дифференцируемая всюду в области определения, положительно определенная функция. Градиент изменения упругих свойств клина может быть положительным, отрицательным или менять знак в интервале $0 \leq \varphi \leq \alpha$.

Граничные условия задачи при сделанных предположениях имеют вид

$$(31): w(r, 0, z) = 0; (32): u(r, 0) = v(r, 0) = 0, a \leq r \leq b, \varphi = 0. \quad (1.2)$$

$$\begin{aligned} 31: \tau_{\varphi z}(r, \alpha, z) = 0 (0 < r < a, r > b); w(r, \alpha, z) = \varepsilon (a \leq r \leq b); \\ 32: \tau_{r\varphi}(r, \alpha) = 0, \sigma_{\varphi}(r, \alpha) = 0 (0 < r < a, r > b); v(r, \alpha) = -\delta(r) (a \leq r \leq b). \end{aligned} \quad (1.3)$$

Требуется определить распределение контактных касательных (для 31) и нормальных (для 32) напряжений под штампом:

$$(31): \tau_{\varphi z}(r, \alpha, z) = -\tau(r); (32): \sigma_{\varphi}(r, \alpha) = -q(r) \quad (a \leq r \leq b). \quad (1.4)$$

Задачи (31) и (32) сводятся к решению интегрального уравнения Фредгольма с логарифмическим ядром

$$\int_{-1}^1 \varphi(\xi) k\left(\frac{\xi-x}{\lambda}\right) d\xi = 2\pi C_0 g(x'), \quad |x'| \leq 1, \quad k(t) = \int_0^{\infty} L(\alpha) \alpha^{-1} \cos(\alpha t) d\alpha, \quad (1.5)$$

где $k(t) = \int_0^{\infty} L_1(u, \alpha) u^{-1} \cos(ut) du$, $t = \ln(\rho/r)$, $\xi = \lambda \ln(\rho/a) - 1$, $x = \lambda \ln(r/a) - 1$, $\lambda = 2(\ln(b/a))^{-1}$, $\varphi(\xi)$ – функция распределения контактных напряжений; $\theta_{\alpha} = G_{\alpha}/(1-\nu)$, $G_{\alpha} = G(\xi)$, – модуль сдвига на верхней грани клина.

Здесь $\varphi(\xi) = \rho\tau(\rho)$, $g(x) = G_{\alpha}\lambda\varepsilon$ (для задачи 31), $\varphi(\xi) = \rho q(\rho)$, $g(x) = G_{\alpha}\lambda\varepsilon$ (для задачи 32). Безразмерный параметр λ ($0 < \lambda < \infty$) характеризует собой относительное положение штампа на грани клина. Если параметр λ велик (мал), то штамп расположен относительно далеко (близко) от вершины упругого клина. Заметим, что интегральное уравнение (1.5) при $\alpha \rightarrow 0$ и при фиксированном $H = ag\alpha$ вырождается в интегральное уравнение соответствующих контактных задач для упругого слоя (полосы) [1].

Для завершения постановки рассмотренных контактных задач для упругого неоднородного клина к интегральному уравнению (1.5) следует добавить условие равновесия штампа

$$(31): P_c = \int_a^b \tau(r) dr; \quad (32): P = \int_a^b q(r) dr,$$

которое (при $\alpha = \pi$ и $\alpha = 2\pi$) позволяет определить связь между сдвигающим усилием P_c и перемещением штампа ε (31) или вдавливающим усилием P и перемещением штампа δ (32). При корректной постановке должно выполняться условие $\tau(r) \geq 0$ или $\sigma(r) \geq 0$ при $a \leq r \leq b$.

2. Полуаналитический метод решения поставленных контактных задач.

Для численного построения трансформант ядер интегральных уравнений применяется метод интегральных преобразований и обобщение метода моделирующих функций для систем координат, отличных от декартовых [2].

Уравнения равновесия Ляме в цилиндрической системе координат представляем в перемещениях, учитывая закон Гука и уравнения Коши, связывающие деформации и перемещения. Решение полученной системы дифференциальных уравнений в частных производных второго порядка относительно перемещений ищем в форме интеграла Меллина

$$\bar{\mathbf{u}} = \frac{1}{2\pi i} \int_{c-i\infty}^{c+i\infty} \bar{\mathbf{x}}(s, \varphi) r^{-s} ds, \quad \bar{\mathbf{u}} = \begin{pmatrix} u(r, \varphi) \\ v(r, \varphi) \\ w(r, \varphi) \end{pmatrix}, \quad \bar{\mathbf{x}} = \begin{pmatrix} U(s, \varphi) \\ V(s, \varphi) \\ W(s, \varphi) \end{pmatrix}.$$

Поставленные задачи сводятся к решению обыкновенного дифференциального уравнения второго порядка (в антиплоской задаче 31) или системы дифференциальных уравнений второго порядка (в плоской задаче 32) относительно трансформант интегрального преобразования Меллина функций перемещений с переменными коэффициентами

$$\frac{d\bar{\mathbf{x}}(u, \varphi)}{d\varphi} = \mathbf{A}\bar{\mathbf{x}}(u, \varphi), \quad \varphi \in [0, \alpha]. \quad (2.1)$$

В задаче 31 ранг матрицы \mathbf{A} равен двум, а в задаче 32 – четырем. Коэффициенты матрицы являются переменными по z . Краевые условия для уравнения (2.1) выписываются из условий на верхних и нижних гранях клина. В частности, в задаче 31 матрица \mathbf{A} имеет вид

$$\mathbf{A} = \begin{pmatrix} 0 & 1 \\ s^2 & -\kappa(\varphi) \end{pmatrix}, \quad \bar{\mathbf{x}} = \begin{pmatrix} W(u, \varphi) \\ W'(u, \varphi) \end{pmatrix}, \quad \kappa(\varphi) = \frac{G'(\varphi)}{G(\varphi)},$$

где штрих означает производную по φ . Граничные условия: $z_1(u, \alpha) = 0$, $z_2(u, \alpha) = 1$.

В задаче 32:

$$\mathbf{A} = \begin{pmatrix} 0 & 1 & 0 & 0 \\ -\frac{2(1-\nu)}{1-2\nu}(s^2-1) & -F_1(\varphi) & (s+1)F_1(\varphi) & \frac{s+1}{1-2\nu}+2 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ F_2(\varphi) & \frac{s-3+4\nu}{2(1-\nu)} & -\frac{1-2\nu}{2(1-\nu)}(s^2-1) & -F_3(\varphi) \end{pmatrix}, \quad \bar{\mathbf{x}} = \begin{pmatrix} U(u, \varphi) \\ U'(u, \varphi) \\ V(u, \varphi) \\ V'(u, \varphi) \end{pmatrix},$$

где

$$F_1(\varphi) = \frac{E'}{E} - \frac{\nu'}{\nu+1}, \quad F_2(\varphi) = \frac{E'}{E} \left(s \frac{\nu}{1-\nu} - 1 \right) + \frac{\nu'}{1-\nu^2} \frac{s(1+2\nu^2) + 2\nu(\nu-2)}{1-2\nu},$$

$$F_3(\varphi) = \frac{E'}{E} - \frac{2\nu\nu'(\nu-2)}{(1-\nu^2)(1-2\nu)}, \quad \nu = \nu(\varphi), \quad E = E(\varphi).$$

Граничные условия для данной задачи получаем из условий в виде (1.2) и (1.3).

Далее решение системы дифференциальных уравнений представляется в виде линейной комбинации фундаментальных решений

$$\bar{x} = \sum_{i=1}^r C_i(u) \bar{\Psi}_i^F(u, \varphi), \quad (2.2)$$

где $\bar{\Psi}_i^F(u, \varphi) = \mathbf{T}_i(u, \varphi) \bar{\Psi}_i(u, \varphi)$, $\mathbf{T}_i(u, \varphi)$ – диагональные матрицы, на диагонали которых – компоненты векторов $\bar{\mathbf{t}}_i(u, \varphi) = (t_i^1(u, \varphi), t_i^2(u, \varphi), \dots, t_i^r(u, \varphi))$.

Векторы $\bar{\Psi}_i(u, \varphi)$ являются собственными векторами матриц \mathbf{A} для $k(\varphi) = 0$ (для однородной среды), $\bar{\mathbf{t}}_i(u, \varphi)$ – векторы моделирующих функций, связанных с неоднородностью среды, $C_i(u)$ – некоторые коэффициенты, не зависящие от φ и определяемые из решения системы линейных алгебраических уравнений, получающейся из граничных условий. Данный прием позволяет выделить в выражении (2.2) составляющие $\bar{\Psi}_i(u, \varphi)$, затрудняющие процесс численной реализации решения. Вид компонент приведен, например, в работе [3].

Векторы моделирующих функций $\bar{\mathbf{t}}_i(u, \varphi)$ определяются из задач Коши при фиксированных значениях u :

$$\frac{d\bar{\mathbf{t}}_i(u, \varphi)}{d\varphi} = \bar{\Psi}_i^{-1} \left(\mathbf{A} \bar{\Psi}_i - \mathbf{E} \frac{d\bar{\Psi}_i}{d\varphi} \right) \bar{\mathbf{t}}_i(u, \varphi) \quad (i = 1, \dots, r), \quad 0 \leq \varphi \leq \alpha. \quad (2.3)$$

Начальные условия $\bar{\mathbf{t}}_i(u, 0)$ определяются, исходя из вида решения уравнения (2.1) для однородного клина на их нижней грани.

Таким образом, получены следующие выражения для численного построения трансформант $L_1(u, \alpha)$:

$$(31): L_1(u, \alpha) = \text{th}(uA\alpha) t_1^1 / t_1^2;$$

$$(32): L_1(u, \alpha) = V(iu, \alpha) = a_1 t_1^3 l + a_2 t_2^3 k + a_3 t_3^3 n + a_4 t_4^3 m, \\ l = \cos(iu + 1)\alpha, \quad k = \sin(iu + 1)\alpha, \quad n = \cos(iu - 1)\alpha, \quad m = \sin(iu - 1)\alpha,$$

где $t_i^3 = t_i^3(u, \alpha)$ – решения задач Коши (2.4); $a_i = a_i(u)$ – решения системы алгебраических линейных уравнений, полученной из граничных условий задачи (32).

Исследованы свойства трансформант ядер $L_1(u, \alpha)$ интегральных уравнений. В частности, для функционально-градиентного клина трансформанты ядер парного интегрального уравнения обладают следующими свойствами:

$$L(u) = A|u| + Bu^2 + O(u^3), \quad u \rightarrow 0; \quad A = \lim_{u \rightarrow 0} L(u)u^{-1}; \\ L(u) = 1 + C|u|^{-1} + Du^{-2} + O(u^{-3}), \quad u \rightarrow \infty. \quad (2.4)$$

Установлено отличие свойств трансформант ядер интегральных уравнений, полученных для многослойного и однородного основания [1], от аналогичных свойств трансформант ядер интегральных уравнений, полученных для градиентного клина.

В работе [4] доказана теорема о том, что функцию $L_1(u, \alpha)$, обладающую свойствами (2.4), можно аппроксимировать выражениями вида

$$L(u) = L_N(u) = \text{th} Au \prod_{n=1}^N \frac{u^2 + \delta_n'^2}{u^2 + \gamma_n'^2}, \quad \delta_n' = \delta_n \lambda^{-1}, \quad \gamma_n' = \gamma_n \lambda^{-1}. \quad (2.5)$$

При численной реализации метода для определения коэффициентов δ_n, γ_n используется эффективный алгоритм, описанный в работе [3]. Интегральное уравнение (1.5) сводится к решению парного интегрального уравнения, решение которого для функции $L_1(u, \alpha)$ вида (2.5) найдено в случае, когда функция $g(x)$ может быть представлена в виде ряда Фурье, т. е. размер зоны контакта фиксирован и не зависит от нагрузки.

Используя метод работы [5], получен аналитический вид решения в виде, удобном для технических приложений [3], который выражается через присоединенные функции Лежандра $P_u^m \equiv P_u^m(\text{ch } \theta)$, $Q_u^m \equiv Q_u^m(\text{ch } \theta)$ и интегралы от них, $\theta = \pi / (A\lambda)$, A, δ_n, γ_n – коэффициенты аппроксимации трансформанты $L_1(u, \alpha)$ выражением (2.5) при $N = 1$.

$$\varphi(x) = C \left\{ \vartheta F_1 (2(\text{ch } \vartheta - \text{ch } \vartheta x))^{-0,5} (Q_{-0,5} L(0))^{-1} + \right. \\ \left. (F_2 \delta^2 \lambda^{-2} \text{sh}^{-1} \vartheta (\delta^2 F_3 + \gamma^2 F_4)^{-1} \right) I(x) \right\}, \quad (2.6)$$

где

$$\omega = -0,5 + \delta / (\lambda \vartheta), \quad \nu = -0,5 + \gamma / (\lambda \vartheta), \quad F_1 = 1 - h(\omega; 0,5),$$

$$F_2 = (\delta^2 - \gamma^2) Q_0, \quad F_3 = P_\omega G(-0,5; \nu), \quad F_4 = Q_0 h(\omega; -0,5),$$

$$h(a, b) = P_a(\text{ch } \vartheta) Q_b^1(\text{ch } \vartheta) - P_a^1(\text{ch } \vartheta) Q_b(\text{ch } \vartheta),$$

$$G(a, b) = Q_a(\text{ch } \vartheta) Q_b^1(\text{ch } \vartheta) - Q_a^1(\text{ch } \vartheta) Q_b(\text{ch } \vartheta),$$

$$I(x) = \int_x^1 P_\omega(\text{ch } \vartheta \tau) (2(\text{ch } \vartheta - \text{ch } \vartheta x))^{-0,5} \text{sh } \vartheta \tau d\tau.$$

Установлено [3], что построенные решения являются двухсторонне асимптотически точными решениями исходного интегрального уравнения как при малых, так и при больших значениях безразмерного геометрического параметра λ . Сравнение полученного аналитического приближенного решения с известными решениями для однородного клина из работы [1] показало погрешность менее 1% при $\lambda < 1$ и $\lambda > 2,8$. Наибольшие расхождения (более 10%) наблюдаются при $\lambda = 2$. Явный аналитический вид решений данной модели обеспечивает возможности их широкого использования для оценки как механических (функции жесткости), так и защитных свойств (термостойкости, износостойкости) функционально-градиентных покрытий сложной структуры.

3. Численные примеры построения трансформант ядер интегрального уравнения. Далее приведены численные результаты для ряда композитных покрытий, для которых при всех возможных типах законов неоднородности значение отношения модуля сдвига на поверхности покрытия к модулю сдвига в любой внутренней точке (обозначим ее n_a) находится в интервале $1/3,5 < n_a < 3,5$. Такими свойствами описывают, например композитные среды Al–Fe, Cr–Al, Ag–Au. Анализ проводится в случае закона изменения модуля Юнга по угловой координате клина, первая производная которого неоднократно меняет

знак для любого значения $\varphi \in [0; \pi/4]$. Для модуля Юнга вида (1.1) и коэффициента Пуассона $-1 < \nu < 0.5$ рассмотрим следующие типы неоднородности:

$$E/E_0 = f_a(\varphi) = 2.25 - 1.25 \cos(8a\varphi) \quad \text{или} \quad E/E_0 = g_a(\varphi) = 1/f_a(\varphi), \quad (3.1)$$

$$0 < \varphi < \pi/4.$$

На рис. 1 собраны в одной координатной плоскости кривые $F_a(u) = L_a(u)/L_0(u)$, соответствующие законам неоднородности клина (3.1) по отношению к транс-

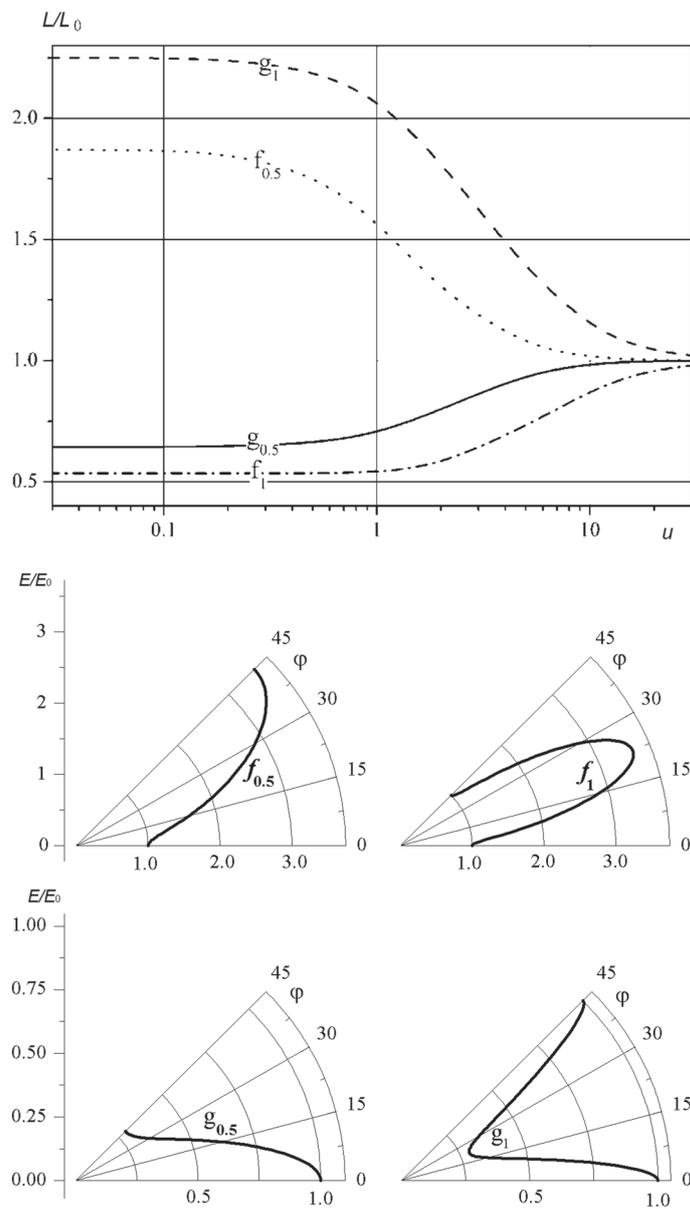


Рис. 1. Значения относительных трансформант $F_a(u)$ для законов неоднородности $f_a(\varphi)$ и $g_a(\varphi)$ для $a = 0,5$ и $a = 1$

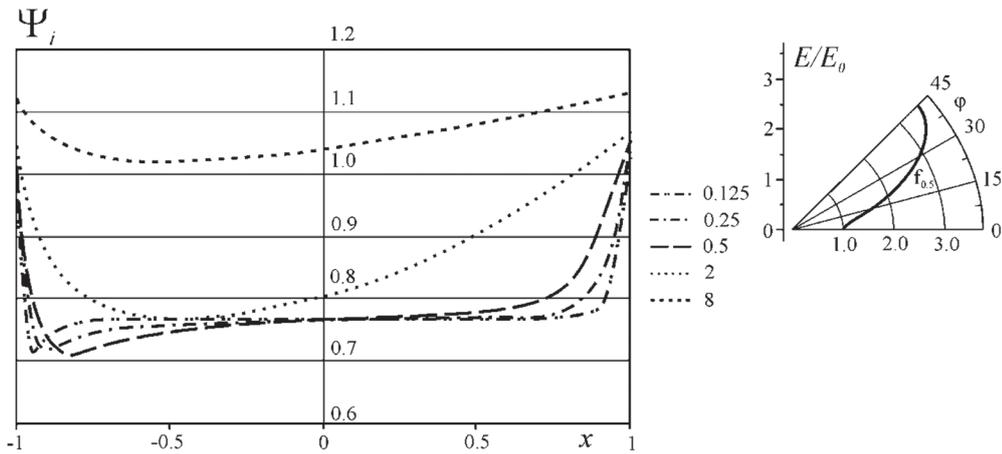


Рис. 2. Относительные контактные напряжения $\psi_i(x) = \varphi(x)/\varphi_0(x)$ для закона неоднородности $f_{0,5}(\varphi)$ для различных значений λ

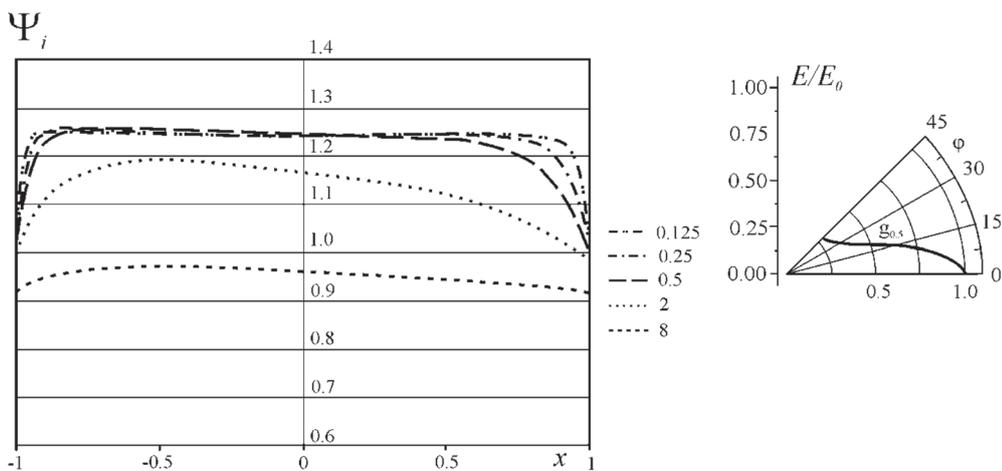


Рис. 3. Относительные контактные напряжения $\psi_i(x) = \varphi(x)/\varphi_0(x)$ для закона неоднородности $g_{0,5}(\varphi)$ для различных значений λ

форманте $L_0(u)$ для однородного слоя с модулем Юнга E_0 . Анализ кривых на рисунке показал, что тип (класс) трансформант, а следовательно, и вид решения контактных задач для неоднородного клина, определяется, главным образом, свойствами верхних слоев клина.

На рис. 2, 3 приведены графики относительной величины $\Psi_i(x) = \varphi(x)/\varphi_0(x)$, характеризующей распределение контактных нормальных напряжений $\varphi(x)$ под штампом, вдавливаемым единичной силой в неоднородное полупространство с модулем Юнга вида (1.1) при $a = 0,5$ и разных значениях $\lambda = 2(\ln(b/a))^{-1}$. Коэффициент Пуассона ν в данном примере равен 0,333. Величина $\varphi_0(x) = r q_0(r)$ – безразмерное распределение контактных напряжений под штампом для одно-

родного клина при $E(\varphi) = E_0$. Номер на кривых соответствует значению λ . Значения $\varphi(x)$ найдены по формуле (2.6).

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты 10–08–00839–а, 11–08–91168_ГФЕН–а), а также Российской государственной целевой программы ГК РФ № П1107 от 02.06.2010 г.

Выводы

1. Для знакопеременных законов в случае функционально-градиентного покрытия недеформируемого основания удалось построить простейшие аналитические решения контактной задачи, погрешность которых составляет менее 10%. Данные решения качественно отличаются от решений для слоистых материалов.

2. Получено приближенное аналитическое решение контактной задачи в виде, удобном для технических приложений (определяется тремя параметрами).

3. Явный аналитический вид решений данной модели обеспечивает возможности их широкого использования для оценки как механических (функции жесткости), так и защитных свойств (термостойкости, износостойкости) функционально-градиентных покрытий сложной структуры.

4. Численный анализ модели показывает, что определяющими для распределения контактных напряжений под штампом являются приповерхностные свойства клина. Однако существенное влияние на характер контактных напряжений оказывает также увеличение количества чередований мягкого и жесткого слоев при уменьшении раствора клина.

Список использованных источников

1. Александров, В. М. Контактные задачи в машиностроении / В. М. Александров, Б. Л. Ромалис ; под ред. О. Ф. Корсун. – М. : «Машиностроение», 1986. – 176 с.
2. Трубчик, И. С. Метод сведения к парным интегральным уравнениям контактных задач для полубесконечных областей / И. С. Трубчик, С. М. Айзикович // Экологический вестник научных центров Черноморского экономического сотрудничества. – 2006. – № 1. – С. 52–59.
3. Контактные задачи теории упругости для неоднородных сред / С. М. Айзикович [и др.] ; под ред. Н. Б. Бартошевич-Жагель. – М. : «Физматлит», 2006. – 240 с.
4. Айзикович, С. М. Асимптотические свойства приближенного решения одного класса парных интегральных уравнений / С. М. Айзикович, И. С. Трубчик // ПММ. – 1988. – Т. 52, вып. 5. – С. 850–856.
5. Зеленцов, В. Б. О решении одного класса интегральных уравнений / В. Б. Зеленцов // ПММ. – 1982. – Т. 46, вып. 5. – С. 815–820.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МЯГКОГО НЕОДНОРОДНОГО СЛОЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

С. С. Волков¹, Б. И. Митрин¹, И. Федотов², Е. С. Дрозд³

¹Донской государственный технический университет, Ростов-на-Дону, Россия

²Tshwane University of Technology, Претория, ЮАР

³Институт тепло- и массообмена имени А. В. Лыкова НАН Беларуси,
Минск, Беларусь

Введение. Развитие методов динамической атомно-силовой микроскопии (АСМ) представляет большой интерес для изучения механических свойств полимеров, биологических тканей, различного рода композиционных материалов и материалов сложной структуры. Так, в работе [1] методами АСМ были исследованы образцы материалов, модули Юнга которых менялись в диапазоне от 0,001 ГПа до 1 ГПа. Этот диапазон изменения упругих свойств как раз соответствует свойствам полимеров и биологических объектов. С другой стороны, используя сканирующий зондовый микроскоп «Наноскан», предназначенный для исследования механических свойств поверхности и измерения твердости сверхтвердых материалов и тонких пленок (покрытий), в работе [2] были исследованы материалы, модули упругости которых достигли значения 1050 ГПа.

Построение точной математической модели, взаимодействия индентора с реальным материалом, представляет большой интерес. Для адекватного описания процесса внедрения индентора в материал образца, необходимо учитывать целый ряд факторов, влияющих на этот процесс, в частности неоднородность материала, влияние механических свойств подложки (особенно это важно для мягких материалов), а также форму и размеры индентора по сравнению с толщиной исследуемого слоя материала.

Ранее был построен ряд математических моделей взаимодействия индентора (штампа) с плоской и параболической подошвой внедряющегося в однородный упругий слой, но эти модели не учитывали влияния упругих свойств подложки, причем построенные решения были эффективны только для узкого диапазона значений характерного геометрического параметра задачи (отношение толщины слоя к радиусу зоны контакта) [3, 4]. Некоторые решения для неоднородного слоя были построены для частных законов неоднородности в слое (экспоненциальный закон изменения модуля Юнга с глубиной [5] и показательный закон).

В данной работе развивается двусторонне-асимптотический метод решения контактных задач для неоднородных сред, разработанный С. М. Айзиковичем [6, 7]. Математическая модель, основанная на данном методе, позволяет получить решение осесимметричной контактной задачи для слоя, во всем диапазоне изменения характерного геометрического параметра задачи, учитывать широкий класс законов, изменения модуля Юнга с глубиной, а также влияние подложки на основные механические характеристики задачи.

Предлагается метод контроля законов изменения неоднородности материала по глубине, основанный на построении «функции жесткости». Метод позволяет использовать АСМ для контроля упругих свойств мягких биоматериалов.

Постановка и решение контактной задачи. Рассматривается осесимметричная контактная задача о вдавливании штампа с плоской, параболической или конической подошвой в непрерывно-неоднородный упругий слой, лежащий на упругом полупространстве (рис. 1). Слой считается жестко сцепленным с подложкой, на границе слоя и подложки задан скачок упругих свойств (модуль Юнга подложки может отличаться более чем на порядок от модуля Юнга слоя).

Недеформируемый круглый штамп вдавливается в верхнюю грань упругого полупространства с неоднородным покрытием силой P . С полупространством связана цилиндрическая система координат r, φ, z . Силы трения между штампом и полупространством предполагаются отсутствующими. Вне штампа полупространство не нагружено. Штамп представляет собой осесимметричное тело с поперечным сечением $\Omega(r \leq a)$ и поверхностью основания $z = \psi(r)$.

Коэффициенты Ламе Λ и M полупространства с глубиной изменяются по закону

$$\begin{aligned} 1) \quad & \Lambda = \Lambda_0(z), \quad M = M_0(z), \quad -H \leq z \leq 0; \\ 2) \quad & \Lambda = \Lambda_1, \quad M = M_1, \quad -\infty < z < -H. \end{aligned} \quad (1)$$

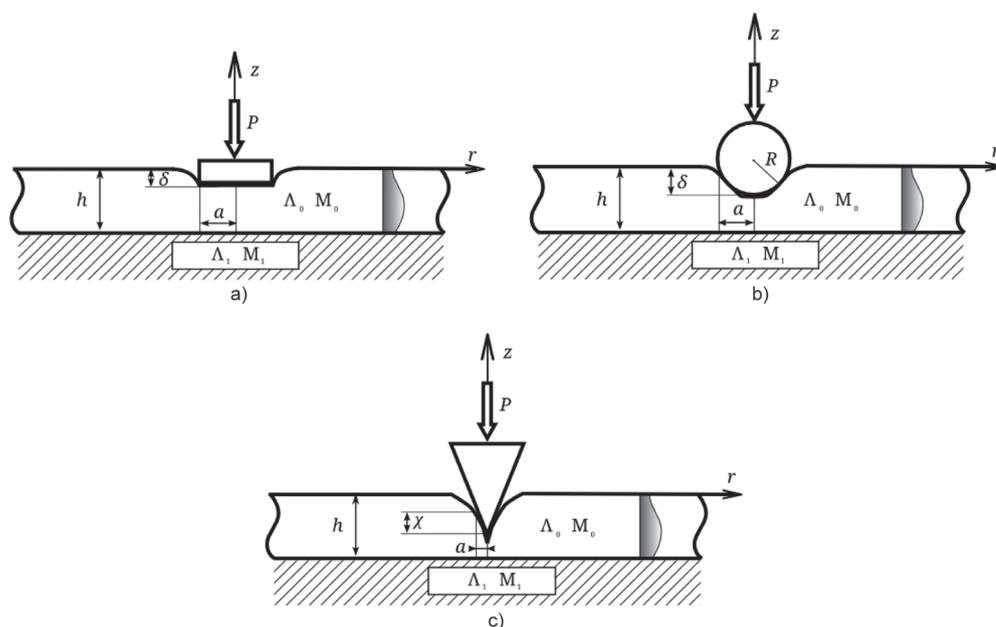


Рис. 1. Постановка задачи: a – индентер с плоской подошвой; b – сферический индентер; c – конический индентер

Под действием центрально приложенной силы P штамп переместиться в направлении оси z на величину δ . Граничные условия при сделанных предположениях имеют вид

$$z = 0, \tau_{zr} = \tau_{z\varphi} = 0, \begin{cases} \sigma_z = 0, & r > a \\ w = -\delta(r) = -(\delta - \psi(r)), & r \leq a \end{cases} \quad (2)$$

Предполагаем, что на границе покрытие–подложка имеют место условия сопряжения

$$z = -H, \begin{cases} \tau_{zr}^{(1)} = \tau_{zr}^{(2)}, \sigma_z^{(1)} = \sigma_z^{(2)} \\ w^{(1)} = w^{(2)}, u^{(1)} = u^{(2)} \end{cases} \quad (3)$$

При $(r; -z) \rightarrow \infty$ напряжения в полупространстве исчезают. Требуется определить перемещение штампа и распределение контактных нормальных напряжений под штампом:

$$\sigma_z^{(1)}|_{z=0} = -q(r), \quad r \leq a. \quad (4)$$

Поставленная контактная задача сводится к решению следующего интегрального уравнения:

$$\int_0^1 \tau(\rho) \rho d\rho \int_0^\infty L(u) J_0(ur\lambda^{-1}) J_0(u\rho\lambda^{-1}) du = \lambda \Theta_0(0) f(r), \quad r \leq 1. \quad (5)$$

Здесь $\Theta_0(0)$ параметр, связанный с коэффициентами Ламе на поверхности слоя; $q(\rho/a) = \tau(\rho)$; $\lambda = H/a$ — геометрический параметр задачи.

Для трансформанты ядра

$$L(u) = \prod_{i=1}^N \frac{u^2 + A_i^2}{u^2 + B_i^2} \quad (6)$$

в работах [6, 7] получено аналитическое выражение контактных напряжений для индентора с плоской и сферической подошвой соответственно:

$$\tau(r) = \frac{2\Theta_0(0)\delta}{\pi} \left\{ L^{-1}(0) \frac{1}{\sqrt{1-r^2}} + \sum_{i=1}^N C_i A_i \lambda^{-1} \int_r^1 \frac{sh(A_i t)}{t \sqrt{t^2 - r^2}} dt \right\}, \quad (7)$$

$$\tau(r) = \frac{2a\Theta_0(0)}{\pi R} \left\{ 2L^{-1}(0) \sqrt{1-r^2} + \sum_{i=1}^N C_i A_i \lambda^{-1} \int_r^1 \frac{sh(A_i t)}{t \sqrt{t^2 - r^2}} dt \right\}. \quad (8)$$

Метод определения констант A_i, B_i также описан в работах [6, 7]. Константы C_i определяются из системы линейных алгебраических уравнений. Для

контактных напряжений в случае конического индентора удается получить решение следующего вида:

$$\tau(r) = \Theta_0(0) \frac{\chi}{a} \left(L^{-1}(0) \left(\ln \frac{1 + \sqrt{1 - r^2}}{r} \right) + \sum_{i=1}^N A_i \lambda^{-1} \left(C_i \int_r^1 \frac{sh(A_i \lambda^{-1} t)}{\sqrt{t^2 - r^2}} dt + D_i \int_r^1 \frac{ch(A_i \lambda^{-1} t)}{\sqrt{t^2 - r^2}} dt \right) \right). \quad (9)$$

Формулы (7)–(9) эффективны во всем диапазоне значений параметра λ . Трансформанта ядра $L(u)$ вида (6) позволяет учитывать неоднородность слоя и влияние подложки.

Метод определения и контроля свойств неоднородного упругого слоя основан на построении и анализе свойств функции жесткости. Для однородного полупространства функция жесткости является константой и представляется в виде

$$E_w = \frac{E}{1 - \nu^2}, \quad (10)$$

где E – модуль Юнга; ν – коэффициент Пуассона однородного полупространства.

В случае если мы имеем слой с неоднородными упругими свойствами, функция жесткости является многопараметрической функцией и для штампа с плоской подошвой представляется в виде

$$E_w = \frac{1}{4a\Theta_0(0)} \frac{dP}{d\delta}. \quad (11)$$

Здесь P вдавливающая сила, аналитическое выражение которой имеет вид

$$P = 4a\delta\Theta_0(0) \left[L^{-1}(0) + \sum_{i=1}^N C_i A_i^{-1} \lambda sh A_i \lambda^{-1} \right]. \quad (13)$$

Рассмотрим два немонотонных закона изменения модуля Юнга с глубиной:

$$1) \varphi_1(z) = \frac{\varphi_0 + 1}{2} - \frac{\varphi_0 - 1}{2} \cos\left(2\pi \frac{z}{H} k\right); \quad 2) \varphi_2(z) = \frac{\varphi_0 + 1}{2\varphi_0} + \frac{\varphi_0 - 1}{2\varphi_0} \cos\left(2\pi \frac{z}{H} k\right).$$

На рис. 2 построена функция жесткости для законов 1 и 2 ($\nu = 0,3$; $\varphi_0 = 3,5$; модуль Юнга основания в 100 раз отличается от модуля Юнга слоя на границе слой–основание). По λ взята зона, на которой функции жесткости отличаются друг от друга, для разных значений параметра k .

Метод определения упругих свойств слоя заключается в следующем: штампы различной формы вдавливаются в материал, измеряя связь между осадкой и вдавливающей силой; получаем набор точек, который наносится на график. Затем строим функции жесткости для различного набора законов неоднород-

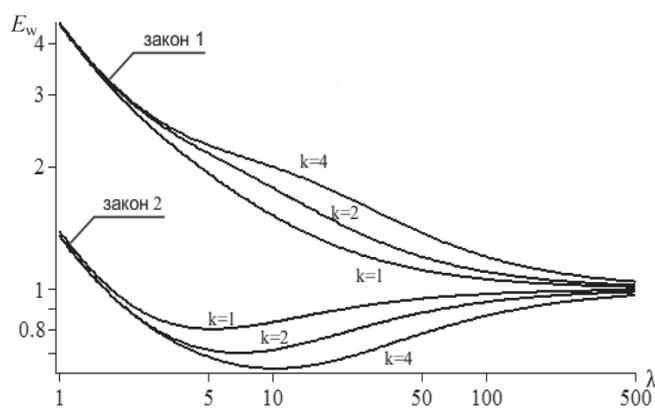


Рис. 2. Функция жесткости

ности и подбираем ту функцию жесткости, которая наиболее близка к полученному набору значений.

Определение закона неоднородности, таким образом, неоднозначно. В ряде случаев функции жесткости, полученные из экспериментальных данных, оказываются близкими друг к другу. Для более достоверного определения закона неоднородности при эксперименте в слое необходимо охватить как можно более широкий диапазон параметра λ .

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (11-08-91168-ГФЕН_а, 12-07-0639_а), ГК № P1107, ГК № 11.519.11.3015, 11.519.11.3028.

Список использованных источников

1. Погоцкая, И. В. Влияние физико-механических свойств «мягких» материалов на характеристики колебания зонда в динамической атомно-силовой микроскопии / И. В. Погоцкая, С. О. Абетковская, С. А. Чижик // Методологические аспекты сканирующей зондовой микроскопии : VIII Междунар. семинар, 2008. – С. 169–174.
2. Гоголинский, К. В. Измерение модуля упругости сверхтвердых материалов с помощью сканирующего силового микроскопа «Наноскан» / К. В. Гоголинский, А. С. Усеинов // БЕЛСЗМ-6. – 2004. – С. 47–53.
3. Ворович, И. И. Неклассические смешанные задачи теории упругости / И. И. Ворович, В. А. Александров, В. А. Бабешко. – М. : Наука, 1974. – 456 с.
4. Torskaya, E. V. The effect of interface imperfection and external loading on the axisymmetric contact with a coated solid / E. V. Torskaya, I. G. Goryacheva // Wear 254. – 2003. – P. 538–545.
5. Александров, В. М. Осесимметричная контактная задача для неоднородного по глубине полупространства / В. М. Александров, В. В. Клиндухов // МТТ. – № 2. – 2005. – С. 55–60.
6. Evaluation of the elastic properties of a functionally-graded coating from the indentation measurements / S. Aizikovich [et al.] // ZAMM. – 2011. – P. 1–23.
7. Analytical solution of the spherical indentation problem for a half-space with gradients with the depth elastic properties / S. Aizikovich [et al.] // International Journal of Solids and Structures. – 2002. – Vol. 39. – P. 2745–2772.

РАЗВИТИЕ МАТЕМАТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ КОЛЕБАНИЙ ЗОНДА В ДИНАМИЧЕСКОМ ПОЛУКОНТАКТНОМ РЕЖИМЕ РАБОТЫ АТОМНО-СИЛОВОГО МИКРОСКОПА

С. О. Абетковская, С. А. Чижик

*Институт тепло- и массообмена имени А. В. Лыкова НАН Беларуси,
Минск, Беларусь*

Характер взаимодействия зонда с образцом в динамическом режиме работы атомно-силового микроскопа (АСМ) определяет получаемый результат. Для интерпретации экспериментальных данных необходимо выявить механизм этого взаимодействия. Поэтому важен выбор модели взаимодействия зонда с образцом, которая позволяет наиболее полно объяснить экспериментальные результаты.

В 1987 г. Y. Martin, C. C. Williams и H. K. Wickramasinghe из компании IBM опубликовали работу о модифицированном атомно-силовом микроскопе, в котором АСМ-зонд совершал вынужденные колебания в режиме амплитудной модуляции [1]. Новый метод предлагался авторами для измерения сил взаимодействия зонда и образца как функции расстояния.

В 1993 г. компания Digital Instruments запатентовала АСМ, работающий в динамическом полуконтактном режиме TappingMode™ [2]. В этом же году авторами Q. Zhong, D. Inniss, K. Kjoller и V. B. Elings опубликована первая известная работа о результатах использования режима TappingMode™ [3]. В 1994 г. J. Chen, R. K. Workman, D. Sarid и R. Нёрер предложили математическую модель колебаний зонда АСМ для полуконтактного режима [4]:

$$m \frac{d^2 z}{dt^2} + m \frac{\omega_0}{Q} \frac{dz}{dt} + k [z(t) - z_1 - A \sin(\omega t)] - F[z(t)] = 0; \quad (1)$$

$$F[z(t)] = \begin{cases} f_0 R \left[-(\sigma/z)^2 + \frac{1}{30} (\sigma/z)^8 \right], & z > z_0; \\ g_0 (z - z_0)^{3/2}, & z < z_0; \end{cases}$$

$$g_0 = \frac{8\sqrt{2}}{3\pi(\kappa_1 + \kappa_2)} \sqrt{R}; \quad \kappa_i = \frac{1 - \nu_i^2}{\pi E_i}.$$

Здесь f_0 – параметр в выражении притягивающих сил взаимодействия; σ – межатомное расстояние; R – радиус кривизны острия зонда; ν_i – коэффициенты Пуассона и модули Юнга материалов острия ($i = 1$) и образца ($i = 2$); z_0 – расстояние, при котором силы взаимодействия уравниваются; z – координата острия; t – время; m – масса зонда; Q – добротность зонда; k – его жесткость; z_1 – расстояние от точки закрепления консоли зонда до поверхности образца; A – амплитуда колебаний закрепленного конца консоли зонда; ω_0 и ω –

собственная и рабочая частоты колебаний зонда, соответственно. Модель основана на уравнении движения острия зонда как гармонического осциллятора и учитывает как ван-дер-ваальсово взаимодействие зонда с образцом, так и их упругий контакт согласно модели Герца [5].

Обзор значимых работ по моделям взаимодействия зонда и образца в динамической полуконтактной атомно-силовой микроскопии (ДПАСМ), выполненных до 2002 г., приведен в работе [6]. Здесь представлено уравнение движения зонда как двумерного объекта и приведены ссылки на попытки его решения. Далее на основе анализа многочисленных работ предлагается уравнение вынужденного движения пружины точечной массы с учетом трения и сил взаимодействия острия и образца в общем виде как наиболее перспективное для описания движения острия зонда в динамической АСМ. Ключевым членом уравнения является взаимодействие острия и образца, которое в общем случае может включать целую группу взаимодействий, как неконтактных (межмолекулярных, электростатических и магнитных), так и контактных (упругих, вязкоупругих, пластических, адгезионных, капиллярных). Эти взаимодействия различной природы имеют одно общее свойство – обратную пропорциональность от расстояния между острием и образцом. Данная нелинейная зависимость является препятствием для нахождения аналитического решения уравнения, поскольку расстояние острие–образец зависит от координаты острия, являющейся интегралом уравнения. Поэтому различные авторы предлагают численное моделирование при выборе одного из взаимодействий острие–образец, либо комбинирования двух из них. В первую очередь предлагается учитывать контактные взаимодействия как наиболее подходящие для большинства практических случаев. Так, наилучшим первым приближением является модель Герца контакта сферы и плоскости. Моделирование движения зонда, сочетающее теорию Герца с неконтактными взаимодействиями Ван-дер-Ваальса и отталкивающими взаимодействиями ближнего действия, прекрасно описал D. Sarid в работе [7].

N. A. Vignham и соавторы [8] выполнили моделирование при учете контактного взаимодействия согласно модели Можи [9, 10] и ван-дер-ваальсово взаимодействие при выходе острия зонда из контакта с образцом. Модель Можи комбинирует модель Джонсона–Кенделла–Робертса (ДКР) и модель Дерягина–Муллера–Топорова (ДМТ) с помощью безразмерного параметра, разделяющего области применения этих двух теорий: для «мягких» тел (с малым модулем упругости, большим радиусом закругления и значительной поверхностной энергией) применяется теория ДКР, для «жестких» – теория ДМТ [11].

В работе [12] моделирование с учетом поверхностной адгезии продолжено. Предложена модель, построенная по аналогии с моделью D. Sarid [7] и использующая теорию ДКР вместо теории Герца. Модель (1)–(2) учитывает гистерезис адгезии и позволила разделить влияние на колебания острия зонда упругих и адгезионных свойств образца, объяснить причину переключения между двумя устойчивыми режимами колебаний зонда в динамической АСМ, заклю-

чающуюся в преобладании на определенном сближении зонда и образца притягивающего либо отталкивающего взаимодействий в зависимости от высокой либо низкой адгезионности контакта (рис. 1).

$$F[z(t)] = \begin{cases} F_{LJ}[z(t)], & z > z_0 \\ F_{JKR}[z(t)], & z \leq z_0 \end{cases}, \quad (2)$$

$$F_{LJ}[z(t)] = -\frac{HR}{6} \left(\frac{1}{z^2} - \frac{\sigma^6}{4z^8} \right),$$

$$F_{JKR} \left(\frac{z(t)}{z_c} \right) = \left(\frac{z}{z_c} \left(\frac{F_{JKR}}{P_c} \right) \right)^{-1},$$

$$\frac{z(t)}{z_c} = \begin{cases} -\left(3\sqrt{\frac{F_{JKR}}{P_c} + 1} - 1 \right) \left[\frac{1}{9} \left(\sqrt{\frac{F_{JKR}}{P_c} + 1} + 1 \right) \right]^{1/3}, & \frac{z}{z_c} \leq 3^{-2/3} \\ \left(3\sqrt{\frac{F_{JKR}}{P_c} + 1} + 1 \right) \left[\frac{1}{9} \left(1 - \sqrt{\frac{F_{JKR}}{P_c} + 1} \right) \right]^{1/3}, & 3^{-2/3} \leq \frac{z}{z_c} \leq 1 \end{cases},$$

$$z_c = \frac{1}{3R} \left(\frac{3RP_c}{k_s} \right)^{2/3}, \quad P_c = \frac{3}{2} \pi R \Delta \gamma, \quad k_s = \frac{4}{3\pi} \frac{1}{\kappa_1 + \kappa_2}.$$

Здесь $\Delta \gamma$ – удельная поверхностная энергия, H – постоянная Гамакера образца.

До сих пор остается актуальной работа J. P. Cleveland и соавторов [13], выполненная в 1998 г. Авторы предложили соотношение для определения энергии диссипации зонда в процессе взаимодействия с поверхностью образца

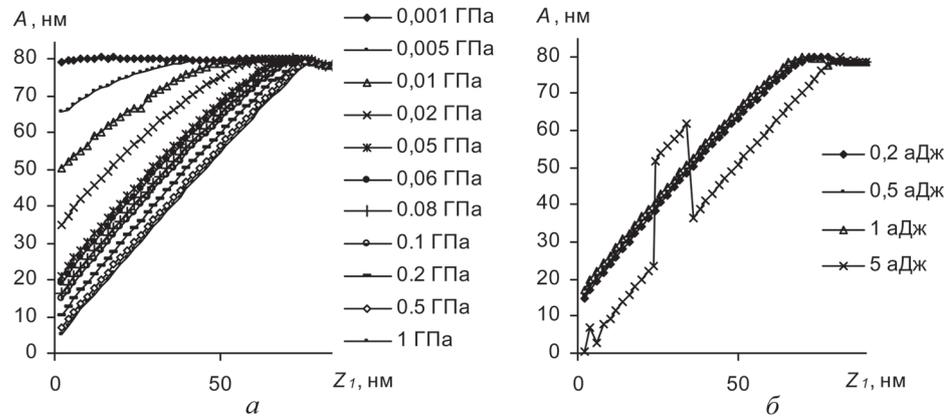


Рис. 1. Зависимости амплитуды колебаний АСМ-зонда от расстояния зонд–образец: а – варьирование Юнга образца (при $H = 0,2$ аДж); б – варьирование постоянной Гамакера образца (при $E = 0,1$ ГПа)

и показали, что при отсутствии потерь энергии острием амплитуда и фаза его колебаний не являются независимыми, а также доказали взаимосвязь амплитуды и сдвига фазы колебаний острия с диссипацией энергии. Работы в этом направлении продолжались и значительно позднее [14].

В работе [15] 2003 г. R. W. Stark, G. Schitter и A. Stemmer выполнили численное моделирование с учетом ван-дер-ваальсового взаимодействия и модели ДМТ, показав влияние выбора рабочей частоты колебаний зонда вблизи резонанса на изменение характера взаимодействия с притягивающего на отталкивающее. При этом зонд рассматривался как пружина точечной массы. Полученные данные сопоставлены с экспериментом.

Сравнение двух моделей: пружины точечной массы и консоли с распределенной массой, – можно найти в работе [16] 2002 г. Показано, что для последней вторая гармоника имеет амплитуду колебаний в 1700 раз меньшую, чем первая гармоника. Авторы предложили аппроксимацию для пружины точечной массы, объясняющую факт меньшего вклада низших гармоник в колебания зонда при более высоких частотах колебаний. В любом случае вклад высших гармоник в амплитуду колебаний зонда не превышает порядка 0,1 нм.

В том же 2002 г. авторами A. San Paulo и R. García выполнен анализ влияния притягивающих и отталкивающих взаимодействий и обобщение резонансных кривых для пружины точечной массы при начальных амплитудах колебаний в диапазоне 9,0–12,4 нм [17]. В работе [18] выполнено моделирование зонда как пружины точечной массы, испытывающей притягивающие ван-дер-ваальсовы взаимодействия, отталкивающее контактное взаимодействие по модели ДМТ, а также притягивающие капиллярные силы. Развитие математических моделей, учитывающих взаимодействия Ван-дер-Ваальса и капиллярные силы, можно найти в работе [19].

В 2003 г. R. Dianoux и соавторы выполнили моделирование ДПАСМ в присутствии сил Ван-дер-Ваальса и электростатических сил [20].

В работе [21] 2003 г. проведен аналитический анализ колебаний острия зонда как пружины точечной массы в присутствии ван-дер-ваальсовых сил. Применен метод вариационного исчисления с помощью уравнения Эйлера–Лагранжа. В работе 2011 г. [22] выполнен анализ аналогичного взаимодействия для пружины точечной массы и численное моделирование для консоли распределенной массы.

В работе 2004 г. R. W. Stark и соавторы [23] рассмотрели физическую систему «микроконсоль зонда и нелинейное взаимодействие зонд–образец» как линейную систему с многими степенями свободы (где время – инвариант) и нелинейной обратной связью. Для описания контактного взаимодействия зонда и образца взята модель ДМТ. Неконтактное взаимодействие также учтено. Авторами показано, что для малых расстояний острие–образец (от одного до нескольких нанометров) при больших амплитудах колебаний зонда необходимо принимать во внимание высшие гармоники.

Описанные выше модели кратко рассмотрены также в одном из разделов обзорной работы [24] в 2004 г.

В работе 2004 г. U. Gysin с соавторами [25] выполнили эксперименты и теоретический анализ зависимости резонансной частоты колебаний зонда от температуры. Выявлены закономерности изменения добротности зонда и минимальной силы взаимодействия от температуры в диапазоне от 0 до 300 К. Обзор моделирования туннельных токов и магнитных туннельных переходов приведен в работе [26] 2003 г.

В 2006 г. Y. Song и B. Bhushan [27] выполнили конечно-элементное моделирование динамики зонда в режиме ДПАСМ, где консоль зонда была представлена десятью трехмерными конечными элементами, учтены также параметры острия. В рассмотрение включены неконтактные отталкивающие взаимодействия ближнего действия и контактные силы по моделям ДМТ и Герца.

В 2007 г. O. Sahin и соавторами [28] предложен прибор и два новых метода для ДПАСМ с использованием *T*-образного зонда и записью не только его вертикальных, но и крутильных колебаний. Новые методы, названные Harmonix™ и Peak Force Tapping™, явились прорывом в ДПАСМ, позволяющим при использовании математического аппарата строить количественные карты локальных механических свойств материалов. Это привело к появлению ряда работ, где получены карты модуля упругости и поверхностной адгезии материалов. Например, в работах [29, 30] такие карты построены на основе модели ДМТ для полимеров, ультратонких полимерных пленок, слюды.

В работе 2009 г. [31] авторами Sh. C. Feng, Ch. B. Joung и Th. V. Vorburger выполнено конечно-элементное моделирование ДПАСМ. В предложенной модели зонд рассматривается как балка с конусообразным острием, которое заканчивается прямоугольным элементом (моделирует нанотрубку на острие зонда). Учтены межмолекулярные силы взаимодействия зонда и образца, вводимые с помощью потенциала Леннарда–Джонса.

ЗАО «НТ-МДТ», крупнейший российский производитель АСМ, предлагает некоторые аналитические решения для описания колебаний зонда как пружины точечной массы вблизи поверхности [32]. Применены два подхода: в случае линейных колебаний, когда отклонения зонда от положения равновесия малы, силу взаимодействия зонд–образец раскладывают в ряд Тейлора; для нелинейных колебаний зонда используется теория возмущений. Для первого случая получены, с некоторыми ограничениями, достаточно простые приближенные соотношения, связывающие сдвиг фазы, резонансную частоту и изменение амплитуды колебаний зонда с градиентом силы взаимодействия:

$$\Delta\varphi \cong -\frac{Q}{k} F'_{ts}; \quad \Omega_A = \omega_0 \sqrt{1 - \frac{1}{k} F'_{ts}} \left(1 \pm \frac{1}{\sqrt{8Q}} \right); \quad \Delta A \approx -\left(\frac{2\tilde{Z}_{\max} Q}{3\sqrt{3}k} \right) F'_{ts}.$$

Здесь ΔA – максимальное изменение амплитуды, происходящее из-за сдвига частоты благодаря ненулевому градиенту силы; Ω_A – резонансная частота, при

которой достигается это максимальное изменение амплитуды; Q – добротность зонда; k – его жесткость; ω_0 – собственная частота зонда; F'_{is} – градиент силы взаимодействия зонда и образца; \tilde{Z}_{\max} – амплитуда колебаний зонда при новой резонансной частоте зонда в присутствии ненулевого градиента силы.

В рамках теории возмущений предложены соотношения для амплитуды и фазы колебаний зонда при условии небольших амплитуд колебаний зонда для любой силы взаимодействия с образцом. Однако выражения имеют неявный вид и применимы для численного моделирования. Если условие малых колебаний не выполняется и сила взаимодействия зонда и образца значительно изменяется в процессе колебаний, то возможно существование нескольких устойчивых колебательных состояний. Сравнение амплитудно-частотных характеристик, полученных в рамках теории возмущений и путем интегрирования уравнения движения зонда, для случая ван-дер-ваальсового взаимодействия зонда и образца приведены на рис. 2.

В русском издании «Справочника по микроскопии для нанотехнологии» 2011 г. англоязычной версии 2005 г. отмечено, что до сих пор «теппинг-мода» остается самым распространенным режимом АСМ, а проблемы локальных измерений физико-механических свойств и создания подходящего теоретического описания взаимодействия зонд–образец, сформировавшиеся с момента возникновения АСМ, все еще актуальны, равно как и проблема выбора зонда: «Перед началом эксперимента бывает сложно определить, какой минимальной жесткости должен быть зонд для успешных измерений данного конкретного образца» [33, 34].

Заключение. В работе кратко охарактеризованы основные математические модели, применяющиеся для описания динамического взаимодействия зонда АСМ с исследуемыми образцами в полуконтактном режиме работы АСМ. Перечень значимых работ в данной области является далеко не полным, однако дает представление о направлениях развития понимания динамики системы зонд–образец.

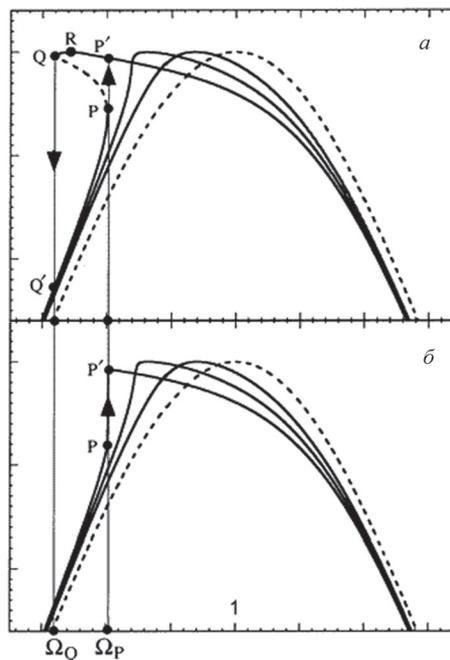


Рис. 2. Амплитудно-частотные характеристики системы зонд–образец, вычисленные в рамках теории возмущений (а) и путем численного интегрирования уравнения движения пружины точечной массы (б) [32]

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Martin, Y. Atomic force microscope-force mapping and profiling on a sub 100-Å scale / Y. Martin, C. C. Williams, H. K. Wickramasinghe // *J. Appl. Phys.* – 1987. – Vol. 61, N 10. – P. 4723–4729.
2. Jumping probe microscope : pat. 5266801 USA, H01J 3726 / V. B. Elings, J. A. Gurley ; Digital Instruments. – 26.01.93 ; 30.11.93 // US Patent and Trademark Office.
3. Fractured polymer/silica fiber surface studied by tapping mode atomic force microscopy / Q. Zhong [et al.] // *Surf. Sci. Lett.* – 1993. – Vol. 290. – P. L688–L692.
4. Numerical simulations of a scanning force microscope with a large-amplitude vibrating cantilever / J. Chen [et al.] // *Nanotechnology.* – 1994. – Vol. 5. – P. 199–204.
5. Джонсон, К. Механика контактного взаимодействия / К. Джонсон ; пер. с англ.; под ред. П. В. Гольдштейна. – М. : Мир, 1989. – 510 с.
6. García, R. Dynamic atomic microscopy methods / R. García, P. Pérez // *Surface Sci. Rep.* – 2002. – Vol. 47. – P. 197–301.
7. Sarid, D. Exploring Scanning Probe Microscopy with Mathematica / D. Sarid. – New York : John Wiley & Sons, Inc., 1997.
8. How does a tip tap? / N. A. Burnham [et al.] // *Nanotechnology.* – 1997. – Vol. 8. – P. 67–75.
9. Maugis, D. Adhesion of spheres: The JKR–DMT transition using a dugdale model / D. Maugis // *J. Coll. Interface Sci.* – 1992. – Vol. 150 (1). – P. 243–269.
10. Maugis, D. JKR–DMT transition in the presence of a liquid meniscus / D. Maugis, B. Gauthier-Manuel // *J. Adhesion Sci. Technol.* – 1994. – Vol. 8 (11). – P. 1311–1322.
11. Свириденко, А. И. Механика дискретного фрикционного контакта / А. И. Свириденко, С. А. Чижик, М. И. Петроковец. – Минск : Наука і тэхніка, 1990. – 272 с.
12. Абетковская, С. О. Модель движения зонда в режиме полуконтактной атомно-силовой микроскопии / С. О. Абетковская, С. А. Чижик // *Инженерно-физический журнал (ИФЖ).* – 2007. – Т. 80, № 2. – С. 173–179.
13. Energy dissipation in tapping-mode atomic force microscopy / J. P. Cleveland [et al.] // *Appl. Phys. Lett.* – 1998. – Vol. 72, N 2. – P. 2613–2615.
14. Material anisotropy revealed by phase contrast in intermittent contact atomic force microscopy / M. S. Marcus [et al.] // *Phys. Rev. Lett.* – 2002. – Vol. 88, N 22. – P. 226103.
15. Stark, R. W. Tuning the interaction forces in tapping mode atomic force microscopy / R. W. Stark, G. Schitter, A. Stemmer // *Phys. Rev. B* 68. – 2003. – P. 085401.
16. Rodríguez, T. R. Tip motion in amplitude modulation (tapping-mode) atomic-force microscopy : comparison between continuous and point-mass models / T. R. Rodríguez, R. García // *Appl. Phys. Lett.* – 2002. – Vol. 80, N 9. – P. 1646–1648.
17. San Paulo, A. Unifying theory of tapping-mode atomic-force microscopy / A. San Paulo, R. García // *Phys. Rev. B* 66. – 2002. – P. 041406.
18. Zitzler, L. Capillary forces in tapping mode atomic force microscopy / L. Zitzler, S. Herminghaus, F. Mugele // *Phys. Rev. B* 66. – 2002. – P. 155436.
19. Feedback-induced instability in tapping mode atomic force microscopy: theory and experiment / O. Payton [et al.] // *Proc. R. Soc. A.* – 2011. – Vol. 467, N 2130. – P. 1801–1822.
20. Detection of electrostatic forces with an atomic force microscope : Analytical and experimental dynamic force curves in the nonlinear regime / R. Dianoux [et al.] // *Phys. Rev. B* 68. – 2003. – P. 045403.
21. Noncontact atomic force microscopy: Stability criterion and dynamical responses of the shift of frequency and damping signal / G. Couturier [et al.] // *Rev. Sci. Instr.* – 2003. – Vol. 74, N 5. – P. 2726–2734.
22. Zhang, Wen-Ming. Nonlinear dynamic analysis of atomic force microscopy under bounded noise parametric excitation / Wen-Ming Zhang, Guang Meng, Zhi-Ke Peng // *IEEE/ASME Transactions on Mechatronics.* – 2011. – Vol. 16, N 6. – P. 1063–1072.
23. State-space model of freely vibrating and surface-coupled cantilever dynamic in atomic force microscopy / R. W. Stark [et al.] // *Phys. Rev. B.* – 2004. – Vol. 69. – P. 085412.
24. Jalili, N. A review of atomic force microscopy imaging systems: application to molecular metrology and biological sciences / N. Jalili, K. Laxminarayana // *Mechatronics.* – 2004. – Vol. 14. – P. 907–945.

25. Temperature dependence of the force sensitivity of silicon cantilevers / U. Gysin [et al.] // *Phys. Rev.* – 2004. – Vol. B 69. – P. 045403.
26. Hofer, W. A. Theories of scanning probe microscopes at the atomic scale / W. A. Hofer, A. S. Foster, A. L. Shluger // *Reviews of modern physics.* – 2003. – Vol. 75. – P. 1287–1331.
27. Song, Y. Simulation of dynamic modes of atomic force microscopy using a 3D finite element model / Y. Song, B. Bhushan // *Ultramicroscopy.* – 2006. – Vol. 106. – P. 847–873.
28. An atomic force microscope tip designed to measure time-varying nanomechanical forces / O. Sahin [et al.] // *Nat. Nanotechnology.* – 2007. – Vol. 2. – P. 507–514.
29. Sahin, O. High-resolution and large dynamic range nanomechanical mapping in tapping-mode atomic force microscopy / O. Sahin, N. Erina // *Nanotechnology.* – 2008. – Vol. 19. – P. 445717.
30. Quantitative mapping of elastic moduli at the nanoscale in phase separated polyurethanes by AFM / P. Schön [et al.] // *European Polymer Journal.* – 2011. – Vol. 47, N 4. – P. 692–698.
31. Feng, Sh. C. Characterization of probe dynamic behaviors in critical dimension atomic force microscope / Sh. C. Feng, Ch. B. Joung, Th.V. Vorburger // *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.* – 2009. – Vol. 114. – P. 201–214.
32. NT-MDT. Application notes [Электронный ресурс] / ЗАО «НТ-МДТ». – Зеленоград, 1998–2012. – Режим доступа : <http://www.ntmdt.ru/spm-basics/view/sfm>. – Дата доступа : 05.07.2012.
33. Справочник по микроскопии для нанотехнологии / под ред. Нан Яо, Чжун Лин Ван ; пер. с англ. – М. : Научный мир, 2011. – 712 с.
34. Handbook of microscopy for nanotechnology / ed. by Nan Yao, Zhong L. Wang. – Springer. – 2005. – 742 p.

LAYER-BY-LAYER ANALYSIS OF MULTILAYERED MATERIALS

A. Alyamani¹, A. Khudoley², T. Kuznetsova², S. Alfihed¹, M. Alotaibi¹

¹King Abdulaziz City for Science and Technology, Riyadh, Saudi Arabia

²A. V. Lykov Institute of Heat and Mass Transfer of the NAS of Belarus,
Minsk, Belarus

Introduction. Multilayered materials (MLM) are widely used in engineering because they allow combining different types of functional layers and creating unique custom design. First of all MLM should have required mechanical strength and adhesion between layers after that meet the electric, magnetic and optic properties. Atomic force microscopy (AFM) is efficient technique for precise measurements at micro/nanoscale. Authors [1] were announced the complex method of AFM SEM TEM studies of wear process using a diamond tip at a normal force and one scan cycle on Si surface. According [2] micromachining can be done using even commercial AFM silicon tip and overload regime. Technique [2] was developed in [3] for soft thin layers with analysis using of AFM torsion regime (lateral microscopy imaging).

The present work is focused on studies of properties inside soft and hard thin layer(s) under overload AFM regime.

Experimental. Scheme of MLM is presented in Fig.1. This material consists of substrate, deposited the 1st layer (under layer) and the 2nd layer located on the top of MLM. Complete studies of MLM should include: *a*) tests for face of the substrate, face of the 1st layer, face of the 2nd layer, separately and *b*) measurements of the

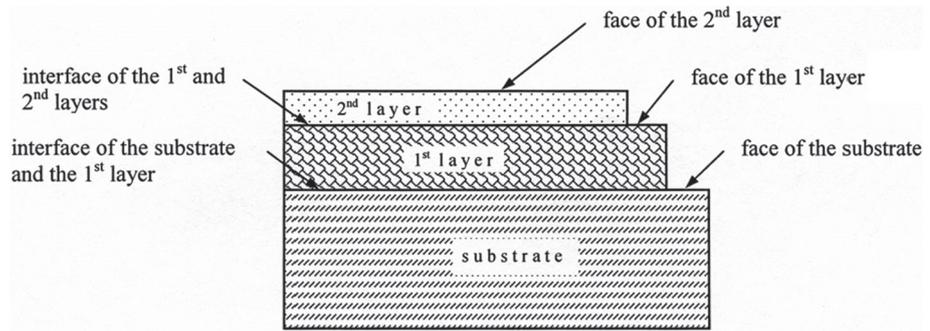


Fig. 1. Scheme of multilayered material

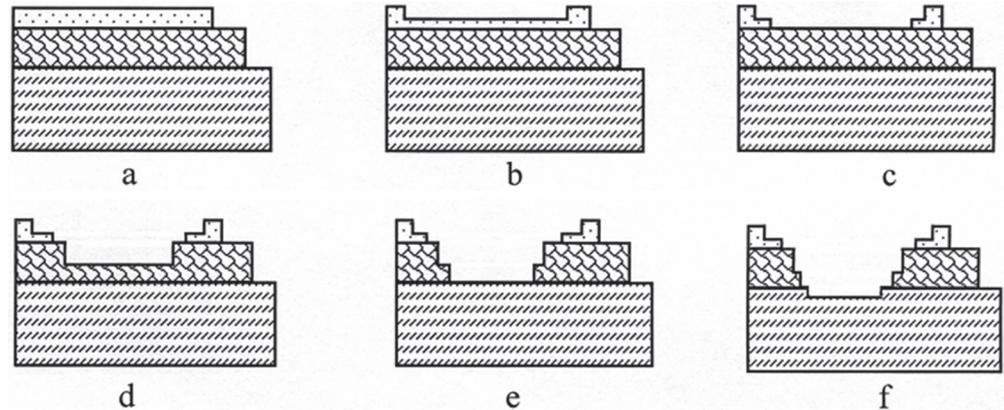


Fig. 2. General stages of the layer-by-layer analysis (a-f)

internal structure of the substrate, the 1st layer, the 2nd layer and *c*) examination of the interface of the substrate, the interface of the 1st layer, the interface of the 2nd layer and *d*) comparison and analysis of all results. Measurements inside the material of thin layers and studies of interfaces are the most difficult procedure especially for MLM with the thickness of layers less than 100 nm because it requires using unique methods and equipment with ultra-high resolution.

The main idea of the layer-by-layer (LBL) analysis consists in successive removing of material and generation of new surface(s). This destructive procedure allows to organize the step by step access to under layers and to investigate the internal structure of MLM over its volume by AFM or other methods. General stages of the LBL analysis are shown in Fig. 2. Realization of different stages of LBL analysis provides access to:

- a* – face of the 2nd layer, face of the 1st layer and face of the substrate;
- b* – face of the 2nd layer, face of the 1st layer, face of the substrate and *plus* the internal structure of the 2nd layer;
- c* – face of the 2nd layer, face of the 1st layer, face of the substrate and *plus* the interface of the 1st and 2nd layers;

d – face of the 2nd layer, face of the 1st layer, face of the substrate and *plus* the internal structure of the 1st layer;

e – face of the 2nd layer, face of the 1st layer, face of the substrate and *plus* the interface of the substrate and the 1st layer;

f – face of the 2nd layer, face of the 1st layer, face of the substrate and *plus* the internal structure of the substrate.

Such manipulation inside the MLM using AFM requires monitoring of load that will apply on a probe.

Proposed technique have been tested on two types of MLM: *a*) «soft» polyvinylpyridine (PVP) film of thickness 33 nm on a silicon substrate and *b*) «hard» film of WS₂ and ZnO on a sapphire substrate. Trilaminar PVP film was created by Langmuir–Blodgett (LB) deposition method. Pulsed laser deposition (PLD) technique [4] was utilized to deposit the 42 nm Indium doped ZnO layer (under layer) and 60 nm WS₂ top layer on the sapphire substrate.

AFM probe with a diamond tip and steel cantilever was utilized for creating of new surfaces in PLD film by multi scanning. Tip radius was 100 nm, stiffness of cantilever – 2240 N/m. Areas of scanning have been placed symmetrically relative to center of the first scan. Size of rectangle areas has been variable from 14 × 18 μm to 0.5 × 3.0 μm. Micromachining has been done by single-pass scanning with «Set point» parameter equal to 40 percent, which allows to create stable contact under scanning and to remove material with regular thickness. AFM imaging of new created surfaces in PLD film have been done by diamond tip with «Set point» parameter 30 percents.

Natural diamond sample was used for calibration of the load parameters of steel cantilever with diamond tip. Calibration coefficient was determined as $k = Defl/z\ poz$ ($k = 0.3187$) for calculation bending value of the cantilever in nanometers. «Static force spectroscopy in point» function was utilized for receiving of force versus indentation depth curves. Load occurred under scanning process was specified through real deflection of the cantilever – 3.4–3.5 N.

AFM commercial probe NSC 11 was utilized for creating and imaging of new surfaces in PVP film by multi scanning. Silicon tip radius was 10 nm, cantilever shape – triangular (*V*-type), stiffness of the short cantilever of «*B*» type – 48 N/m. Micromachining and imaging have been done by single-pass scanning with «Set point» parameter – 40 percents. Load in scanning process was $3.4 \cdot 10^{-3}$ N. The same probe was used for imaging of PLD film after LBL removing of material by diamond tip. Silicon wafer was used for calibration of load parameters of the NSC 11 probe and the obtained calibration coefficient was 5.8211. «Static force spectroscopy in point» function was utilized for receiving of force versus indentation depth curves.

Results and discussion. Realization of the LBL method is shown in Fig. 3 for soft trilaminar PVP LB film. At first sight, AFM Topography image (Fig. 3, *a*) gives a view of surface with region of fully removed thin layer and view of the silicon substrate. But Torsion image (Fig. 3, *b*) – Lateral force microscopy – shows the same color for the face of LB film and new generated surface. It means that physical,

chemical and mechanical properties of the materials in the two regions are the same. The conclusion of qualitative analysis is also proved by measurement of the depth of generated surface – 20–22 nm that is less than thickness of all LB film – 33 nm. Thus PVP thin film can be characterized by the LBL and AFM qualitative analysis.

It should be noted that process of micro/nanomachining of the material depends on many parameters: shape and sharpness of the tip; load and speed of the probe; cohesion, adhesion and self-organization of the material; hardness and elasticity of the material etc., that is why precession removing of monomolecular and nanolayers in practice requires routine finding of optimal parameters and, in some cases, cannot be done at all. For example, it was observed that the layers with thickness less than 22 nm of PVP can't be removed by NSC 11 probe with regularly depth because decreasing of the load result in unstable contact and partly micromachining of LB film.

Results of the LBL analysis by diamond tip for double layered PVD thin film are shown in Fig. 4, step 1 (Fig. 4, a) is not completely removed top layer and it represents an internal material of WS₂ film, steps 2, 3 are ZnO material and steps 4–6 belong to sapphire substrate according to data presented in Table 1.

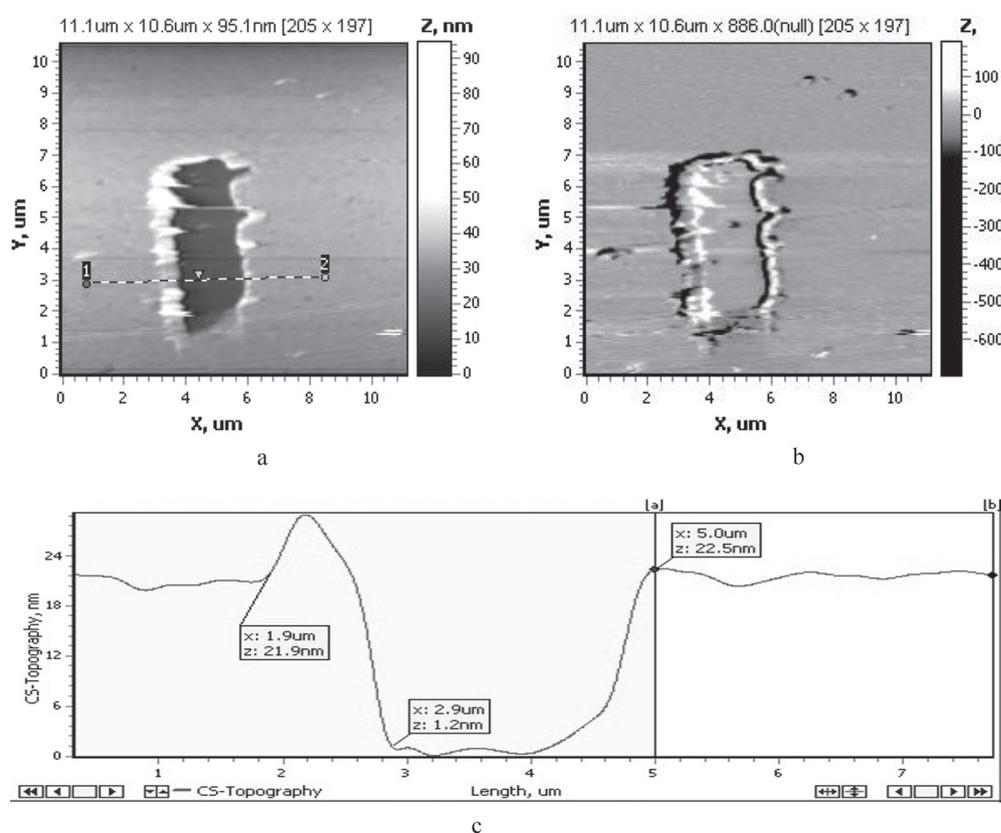


Fig. 3. 2D AFM data for trilaminar PVP LB film: a – topography; b – torsion regime; c – surface profile (1, 2)

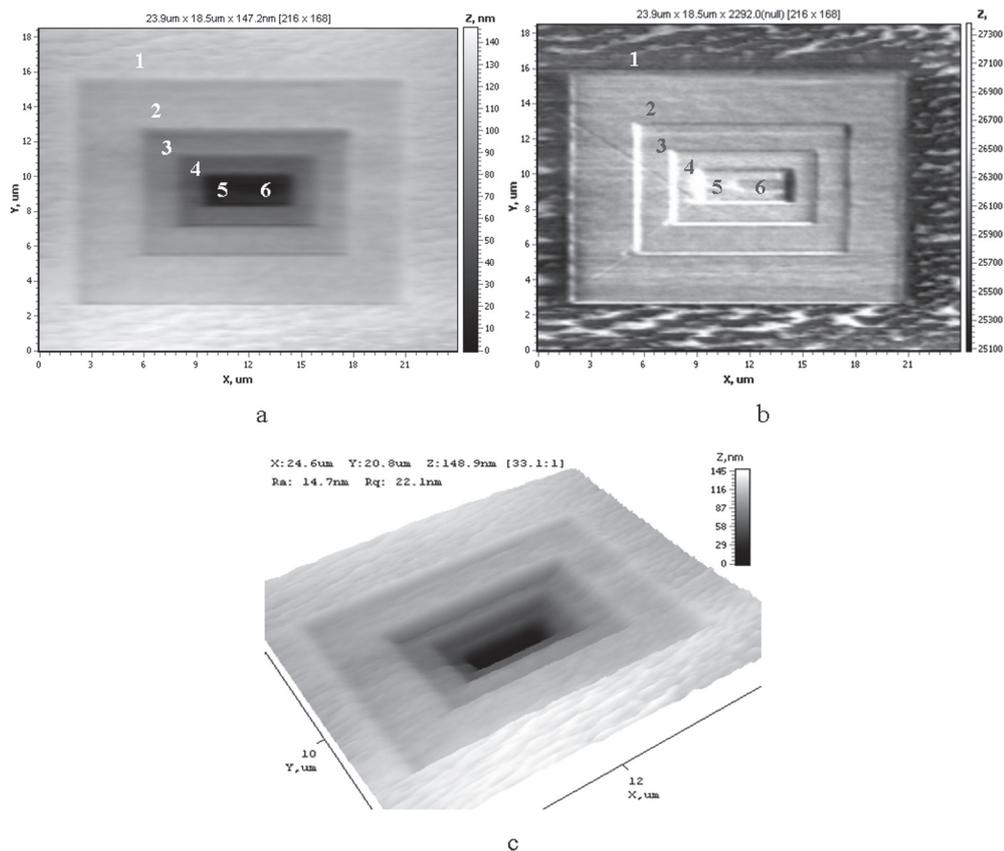


Fig. 4. Results of the LBL analysis for PVD MLM: 1–6 – steps

Table 1. Generalized data of the LBL analysis for Fig. 4

Material	Thickness	Step Number	Depth of the step, nm	Depth in the material, nm	Total Depth, nm
WS ₂ top layer	42 nm	1	28	28	28
Indium doped ZnO under layer	60 nm	2	18	4	46
		3	37	41	83
Sapphire substrate	1 mm	4	28	9	111
		5	50	59	161
		6	10	69	171

Friction forces map for PVD MLM is presented in Fig. 4, *b*. Difference in friction data are observed between step 1 and steps 2–6. This result can be explained through comparison of friction properties of WS₂ and ZnO materials. Tungsten disulphide is common dry lubricant with low friction coefficient. Darker zone on the map indicates material with low friction coefficient – WS₂ material; light grey represents ZnO and substrate materials. Torsion regime can not detect the difference

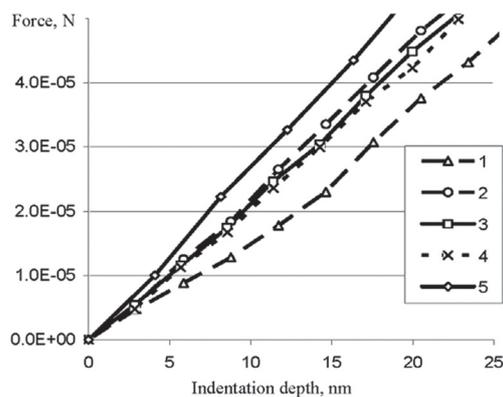


Fig. 5. Force versus indentation depth curve (Fig. 4, steps 1–5)

behavior is registered for WS_2 and substrate materials (Fig. 5, step 1, 5). Indentation of ZnO material (Fig. 5, step 2, 3) gives the same result for all sublayers. Step 4 (9 nm depth into the substrate) belongs to substrate material but shows the same mechanical behavior as ZnO layer that can be explained by indentation not exactly of the substrate but of the particles from destroyed MLM which may be present onto the surface of step 4.

Results of the LBL analysis using diamond and silicon tips for double layered PVD thin film are shown in Fig. 6. The diamond tip was used only for micromachining and NSC 11 silicon tip – for imaging of the topography (Fig. 6, a) and friction forces mapping (Fig. 6, b). Step 1 (Fig. 6, a) is top layer (WS_2 film) without any removing of the material, Steps 2–5 are ZnO material and Steps 6, 7 belong sapphire substrate according to data expressed in Table 2. Torsion regime (Fig. 6, b) detects the particles with low friction coefficient (dark spots) for Step 2–6. Surface of Step 7 is clean and free of particles.

Table 2. Generalized data of the LBL analysis for Fig. 6

Material	Thickness	Step Number	Depth of the step, nm	Depth in the material, nm	Total Depth, nm
WS_2 top layer	42 nm	1	0	0	0
Indium doped ZnO under layer	60 nm	2	51	9	51
		3	5	14	56
		4	17	31	73
		5	12	43	85
Sapphire substrate	1 mm	6	20	3	105
		7	35	38	140

Mechanical properties analysis of the data represented in Fig. 5, 7 shows that using of common silicon tip (Fig. 7) gives more accurate difference between materials of PVD MLM in comparison with diamond tip (Fig. 5). Significant difference in mechanical

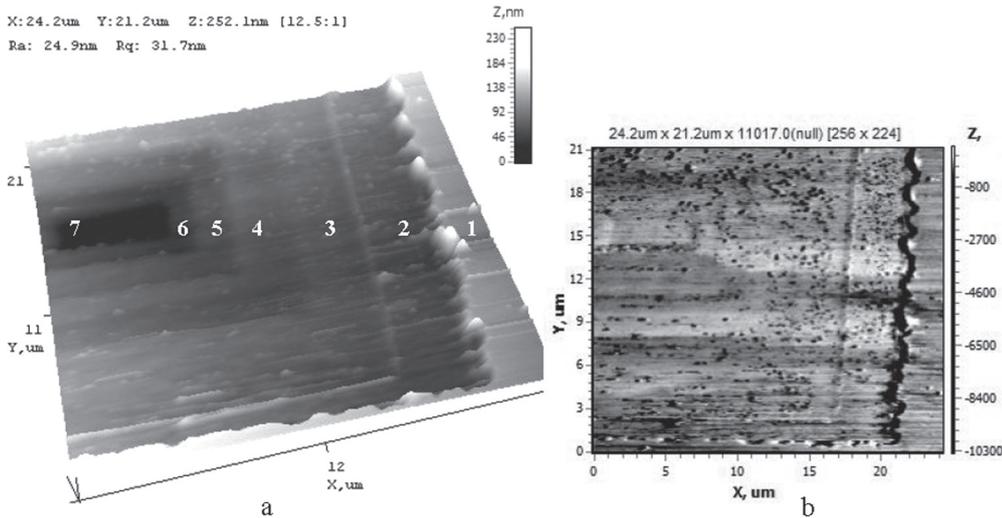


Fig. 6. The LBL analysis for double layered PVD thin film: *a* – AFM image of topography; *b* – torsion regime; 1–7 – steps

behavior is registered for top layer and substrate materials (Fig. 7, step 1, 7). Indentation of ZnO material (Fig. 7, step 2–5) gives the same result for all layers. A small decrease of stiffness is also observed for substrate material located very nearly (3 nm) under the interface of the substrate and ZnO layer, which can have an effect on PVD treatment of the substrate material under deposition of ZnO layer.

Access to interface surfaces of MLM can be easily organized when there is a significant difference between the properties of the layers. Other way, it is not easy to reach the interface surface.

The main advantages of the proposed method against to focused ion beam (FIB) technique [5] are that the LBL analysis by AFM can be done on air without any contamination by spattered Ga ions and it allows to study organic MLM with monomolecular layers and biological samples as well.

Conclusions. AFM micromachining method for layer by layer analysis is developed for thin film and multilayered material. Main steps of layer-by-layer analysis are described and sample preparation procedure is characterized. Soft and hard types of MLM materials are studied by diamond and silicon AFM tips.

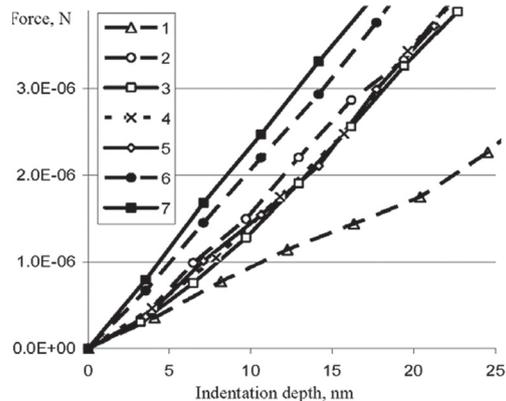


Fig. 7. Force versus indentation depth curve (Fig. 6, steps 1–7)

It is shown that new surfaces in thin film and multilayered material can be generated by AFM scanning under overload regime. Uncovered surfaces have been analyzed qualitatively using AFM Torsion mode and quantitatively utilizing AFM force spectroscopy regime.

References

1. Bhushan, B. Micro/nanoscale Friction and Wear Mechanisms of Thin Films Using Atomic Force and Friction Force Microscopy / B. Bhushan, S. Sundararajan // *Acta Materialia*. – 1998. – Vol. 46, N 11. – P. 3793–3804.
2. Chizhik, S. The behavior of different types of materials under AFM overload regime / S. Chizhik, A. Khudoley, T. Kuznetsova // *NANOSTRUCTURES: Physics and Technology. Proceedings of 17th International symposium, Minsk, Belarus, June 22–26, 2009*. – Minsk, 2009. – P. 40–141.
3. Patent of Belarus N. 13751, G01N 13/10 (2010): Control Method of physic and chemical properties constancy of thin film on its volume / S. Chizhik, A. Khudoley, T. Kuznetsova. – № u 20080778, 03.10.2008.
4. Morphology of Al-doped ZnO nanocrystalline thin films obtained by the pulsed laser deposition method using different gases / A. Khudoley, A. Alyamani, T. Kuznetsova, S. Chizhik, V. Chikunov, Y. Alshetwee, M. Al-Owairdini // *Materials, Technologies, Tools*. – Vol. 15, N 2. – 2010. – P. 33–38.
5. Volkert, C. Focused Ion Beam : Microscopy and Micromachining / C. Volkert, A. Minor // *Materials Research Society Bulletin*. – 2007. – Vol. 32. – P. 389–395.

ВЛИЯНИЕ ТОПОГРАФИИ ПОВЕРХНОСТИ ПЕРЕДНЕГО КОНТАКТА НА ПРОЦЕССЫ РАССЕЯНИЯ И ПОГЛОЩЕНИЯ СВЕТА В ТОНКОПЛЕНОЧНОМ КРЕМНИЕВОМ СОЛНЕЧНОМ ЭЛЕМЕНТЕ

**О. В. Сергеев, Ю. Лакомбе, К. Чаканга, Ш. Гейзендорфер,
К. Майдель, К. Агерт**

*Научно-исследовательский центр технологий энергосбережения «NEXT ENERGY»,
Ольденбург, Германия*

Введение. Высокая эффективность современных тонкопленочных фото-вольтаических элементов во многом достигается за счет применения светорассеивающих структур для оптимизации светопоглощения [1]. Общий подход заключается в текстурировании переднего контакта на основе прозрачного проводящего оксида (ППО). Шероховатости поверхности приводят к увеличению рассеяния падающего света и многократному переотражению фотонов на границе контакт–поглощающий слой. Эффективность генерации носителей заряда при этом возрастает, что дает возможность уменьшить толщину поглощающего слоя. Это приводит не только к общему снижению себестоимости продукта, но также позволяет значительно снизить влияние эффекта деградации ячейки, особенно актуального при больших толщинах поглощающих слоев.

Для лучшего понимания влияния топографии поверхности на распространение света внутри солнечной ячейки необходимо применить объемное моделирование. Современные исследования вследствие высоких требований к аппаратному обеспечению в основном ограничиваются анализом периодических двумерных структур [4]. Наша работа впервые посвящена трехмерному моделированию произвольно текстурированных структур. Все расчеты произведены без использования каких-либо подгоночных параметров и соотнесены с экспериментальными результатами.

Цель работы – получить объективную картину усиления эффекта фотоэлектрического преобразования при увеличении рассеяния света на текстурированных подложках. Реальная топография поверхности светорассеивающей подложки была получена средствами АСМ и использована в моделировании процессов распространения света в тонкопленочной кремниевой солнечной ячейке методом конечных разностей во временной области.

Эксперимент. Коммерческие образцы ППО на стекле $\text{SnO}_2 : \text{F}$ (толщина слоя 887 нм), текстурированные в процессе роста, а также химически [2] текстурированные образцы $\text{ZnO} : \text{Al}$ на стеклянной подложке (толщина слоя 816 нм) были использованы при определении входных параметров для моделирования солнечной ячейки. Топографию поверхности определяли методом атомно-силовой микроскопии в полуконтактном режиме на площади $10 \times 10 \text{ мкм}^2$. Среднеквадратичная шероховатость составила порядка 40 нм для образцов $\text{SnO}_2 : \text{F}$, 47 нм для $\text{ZnO} : \text{Al}$. Значения показателя преломления в зависимости от длины волны измеряли методом спектральной эллипсометрии. Оптические свойства интерфейса стекло/ППО, а именно полное и диффузное светопропускание и полное отражение, измеряли в диапазоне волн от 300 до 1500 нм с использованием спектрофотометра. Поглощение и коэффициент матовости поверхности рассчитывали на основе этих данных.

Моделирование. Метод конечных разностей во временной области (КРВО) был применен для решения уравнения Максвелла, что позволяет рассчитать электромагнитное поле во временном пространстве [3, 4]. Для описания оптических свойств материалов использовался комплексный показатель преломления. Источником возбуждения служила монохроматическая, гармоническая плоская волна с длиной λ и s -поляризацией, падающая перпендикулярно поверхности подложки. На пространственных краях структуры предполагаются периодические граничные условия. Результаты моделирования, такие, как напряженность электромагнитного поля, плотность потока и интенсивность фотогенерации, отображены в предопределенной xy -плоскости сечения через всю структуру. Более того, сенсоры, интегрированные в плоскость сечения, суммировали интенсивность потока на протяжении всего времени расчета. Это позволило рассчитать значения величин пропускания и отражения.

На первом этапе была создана модель границы стекло/ППО для всех образцов. Для постройки структуры модели применялся редактор Sentaurus

Structure Editor. Это программа способна экспортировать АСМ-изображение и на его основе создавать модели трехмерных приборных структур. Слева на рис. 1 показана реальная топография поверхности переднего контакта на основе текстурированного ППО, полученная методом АСМ-сканирования, справа – соответствующая ей компьютерная модель топографии. Размер скана уменьшен до $1\ \mu\text{m} \times 1\ \mu\text{m}$ для уменьшения времени моделирования. Толщина ППО слоя в модели установлена на основе данных, полученных методами профилометрии и эллипсометрии.

На рис. 2 представлена смоделированная структура. Система состоит из подложки плоского, гладкого стекла с нанесенным текстурированным передним контактом на основе ППО. Оба слоя окружены сверху и снизу воздушной прослойкой. Структура смоделирована с помощью тензорной сетки $10\ \text{nm} \times 10\ \text{nm} \times 5\ \text{nm}$ (xyz).

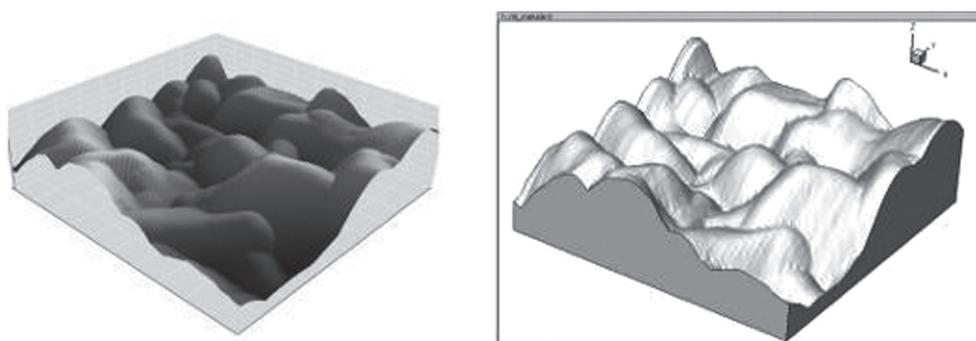


Рис. 1. Перенос топографии поверхности ППО из АСМ-скана (слева) в программу моделирования (справа)

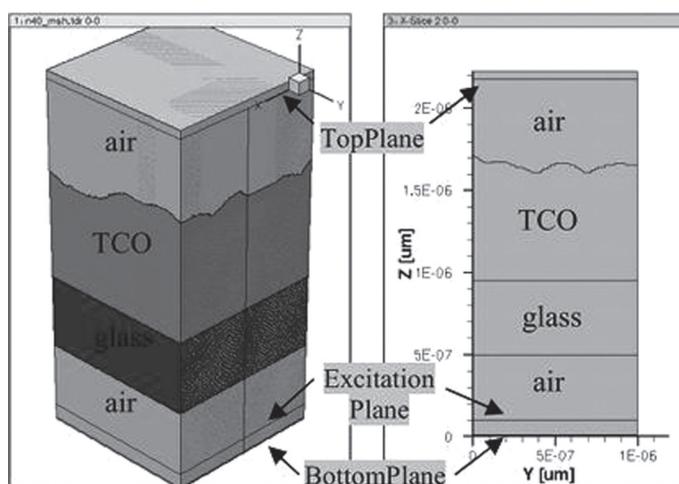


Рис. 2. Структура модели «Стекло/ППО» в трехмерном представлении (слева) и двумерном сечении (справа)

Одной из основных проблем является эффект стоячих волн внутри стеклянной подложки. Для минимизации эффекта толщина стекла варьировала однородно в пределах толщин, соответствующих конструктивной и деструктивной интерференции. Результаты вариаций затем суммировались и усреднялись. Длины волн падающего излучения выбраны как $\lambda = 450$ нм и $\lambda = 700$ нм.

На рис. 3 представлены результаты моделирования распределения интенсивности света по верхней и нижней границам ППО на основе $\text{SnO}_2 : \text{F}$ для $\lambda = 450$ нм. Однозначно отмечается неоднородность распределения, вызванная рассеянием на границе ППО/воздух.

Если интенсивность источника света известна, то можно определить общее пропускание и отражение – на рис. 4 сравниваются расчетные и фактически полученные значения.

Эффективное рассеяние света на текстурированном переднем контакте приводит к значительному усилению фотогенерации в поглощающем слое по сравнению с ячейкой на нетекстурированном контакте. Особенно важен такой эффект как для длин волн, близких к запрещенной зоне, где коэффициент поглощения сравнительно мал, так и для тонких поглощающих слоев, где вероятность поглощения фотона низка, но вследствие рассеяния изменяется направление распространения света и увеличивается длина пробега фотона.

На рис. 5 представлена структура модели. Слой аморфного кремния толщиной 300 нм сформирован на поверхности переднего контакта $\text{SnO}_2 : \text{F}$.

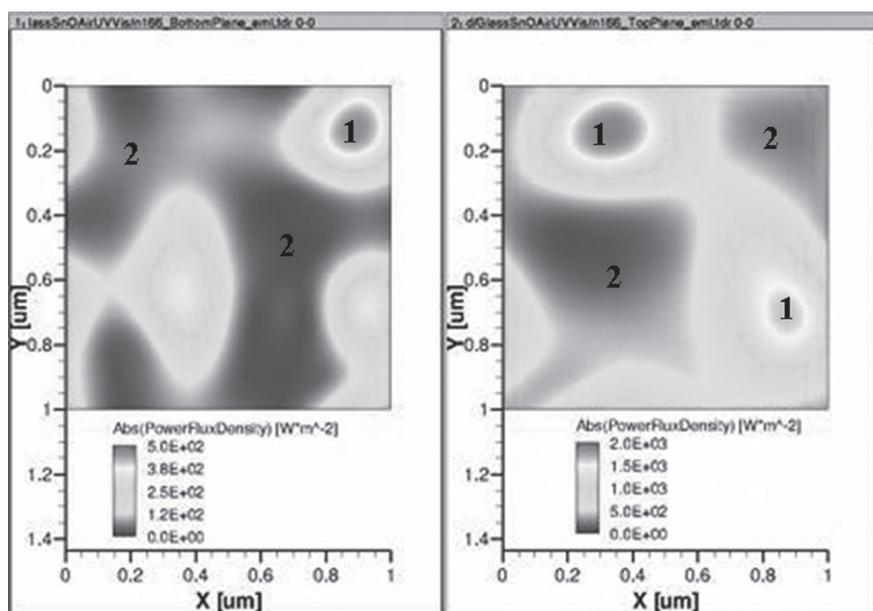


Рис. 3. Распределение интенсивности света по нижней (слева) и верхней плоскостям (справа) ППО на основе $\text{SnO}_2 : \text{F}$ и $\lambda = 450$ нм. Плотность энергии светового потока: 1 – высокая; 2 – низкая. Для ППО на $\text{ZnO} : \text{Al}$ аналогично

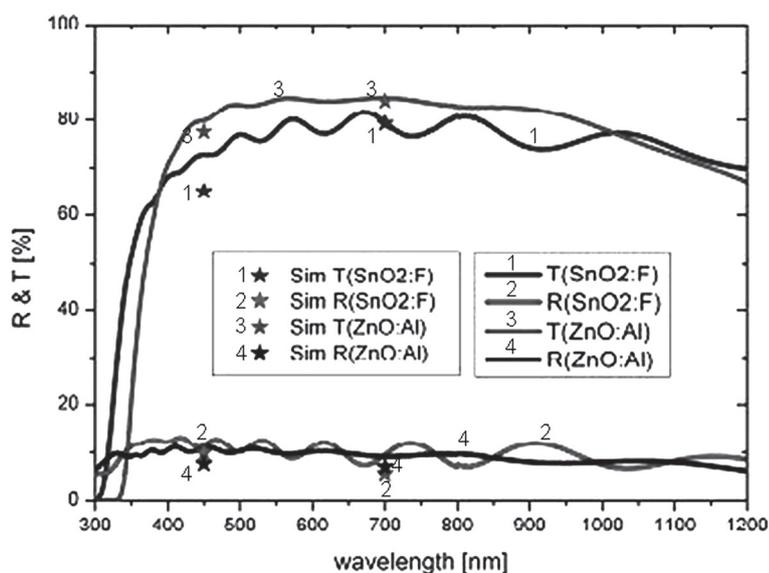


Рис. 4. Сравнение измеренных и вычисленных значений величин полного отражения и пропускания для ППО на основе SnO₂ : F и ZnO : Al

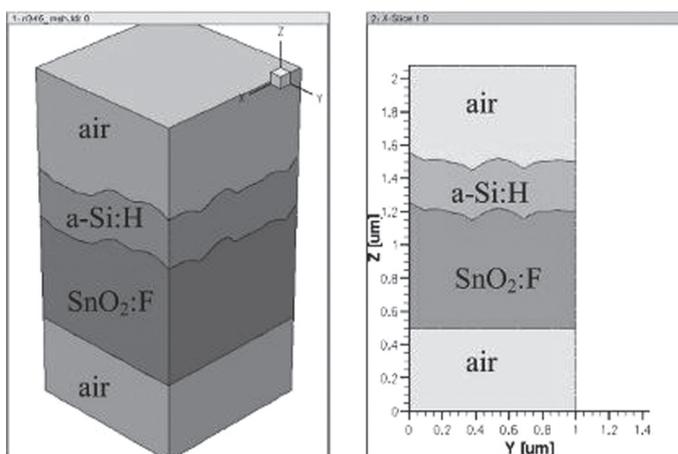


Рис. 5. Структура модели «ППО/аморфный кремний» в трехмерном представлении (слева) и двумерном сечении (справа)

Система опять же ограничена воздушной прослойкой. Оптические константы взяты из литературы [5]. Спектр излучения варьировал от 300 до 700 нм с шагом 50 нм. Также угол освещения изменялся от 0° до 60° с шагом 15°. Интенсивность оптической генерации в поглощающем слое аморфного кремния для $\lambda = 600$ нм показан на рис. 6. Вследствие развитой поверхности раздела ППО/кремний отмечаются локальные максимумы и минимумы интенсивности.

ности. Соответствие интенсивности оптической генерации и геометрической формы поверхности раздела рассмотрено при помощи двумерного поперечного сечения. Очевидно, что максимальная интенсивность поглощения фотонов и генерация носителей заряда происходит в области над нижними экстремумами поверхности, что объясняется законами геометрической оптики.

На рис. 7 в двумерном виде представлена зависимость интенсивности оптической генерации от угла падения солнечного излучения. В случае больших углов падения корреляция между экстремумами поверхности и интенсивностью теряется и генерация «размывается» по объему поглощающего слоя.

Спектральные зависимости величин общих пропускания и отражения от угла падения показаны на рис. 8. Общее отражение возрастает при больших углах: с 15% при 0° до 30% при 60° на длине волны 450 нм и приводит к уменьшению общего поглощения с 85 до 75%, что объясняется недостаточно эффективным захватом света в такой структуре солнечной ячейки.

На рис. 9 показаны спектральные зависимости относительных величин пропускания и поглощения от угла падения без учета эффекта отражения. Вследствие высокого коэффициента поглощения для длин волн менее 500 нм солнечное излучение поглощается при любых углах падения. При увеличении длины волны относительное поглощение усиливается при больших углах: с 79% при 0° до 90% при 60° ($L = 650$ нм), соответствующим образом с 21 до 10% уменьшается относительное пропускание. Это объясняется увеличением оптического пути фотона и вероятности его поглощения.

Этот факт подтверждает, что поглощающая способность ячейки высока и при угловом освещении.

Заключение. Трехмерная оптическая модель тонкопленочной кремниевой солнечной ячейки была разработана с использованием реальной топографии текстурированной поверхности переднего контакта, полученной методом

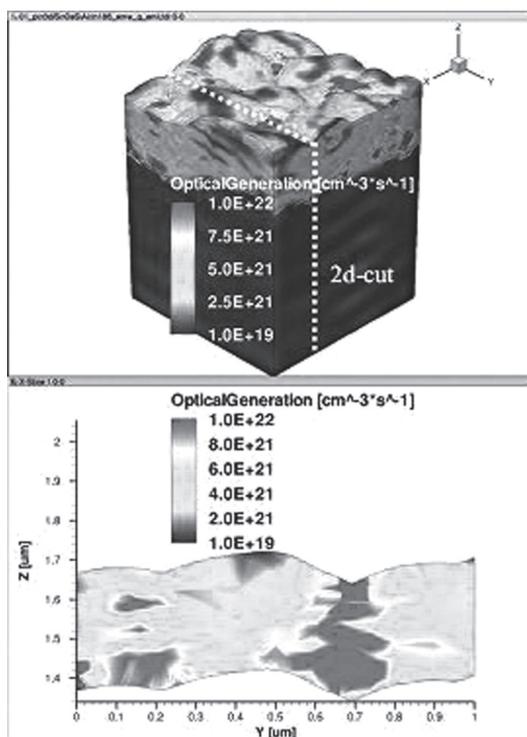


Рис. 6. Распределение интенсивности фотогенерации в поглощающем слое кремния на $\lambda = 600$ нм (вверху – 3d, внизу – 2d-сечение)

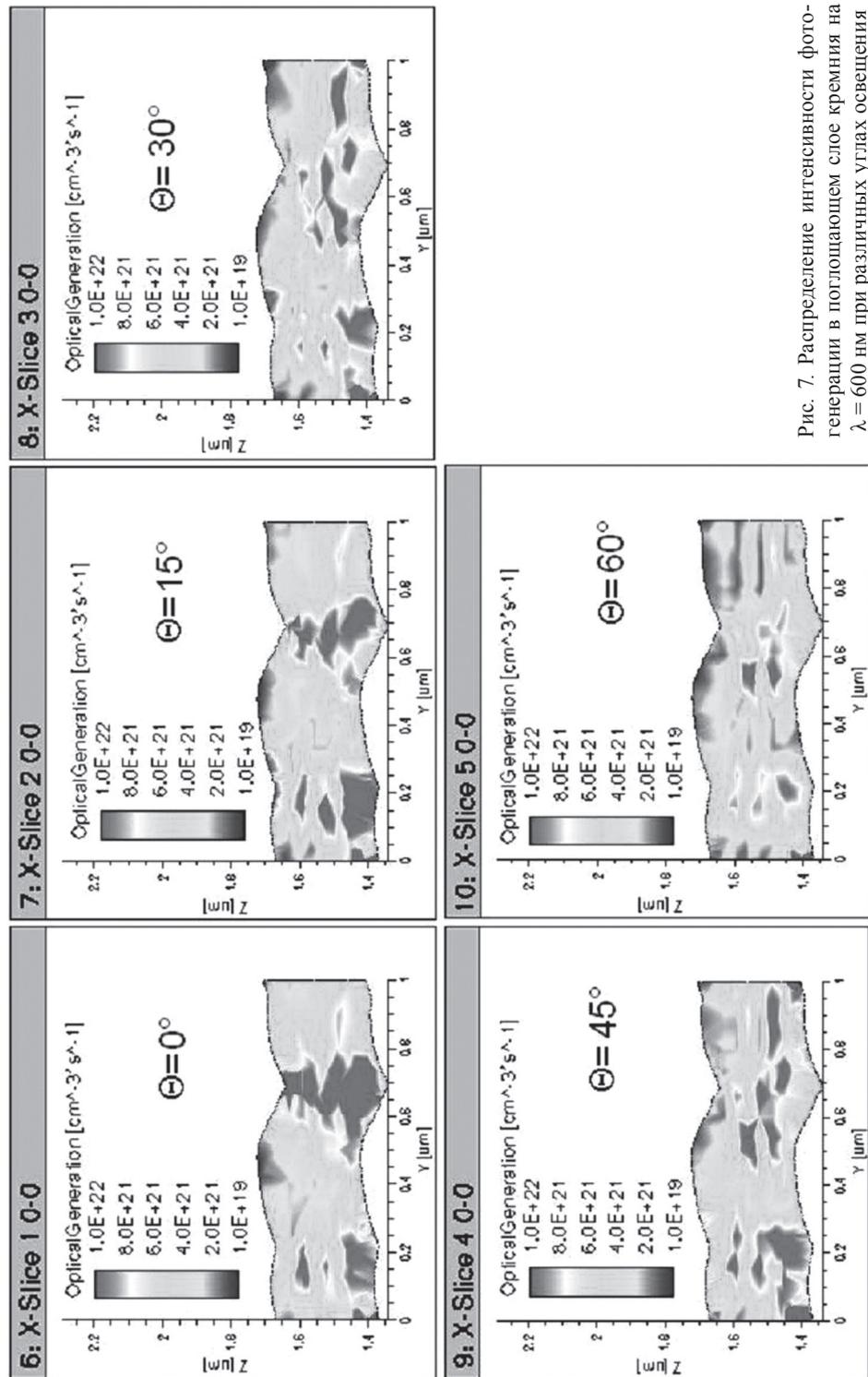


Рис. 7. Распределение интенсивности фотогенерации в поглощающем слое кремния на $\lambda = 600$ нм при различных углах освещения

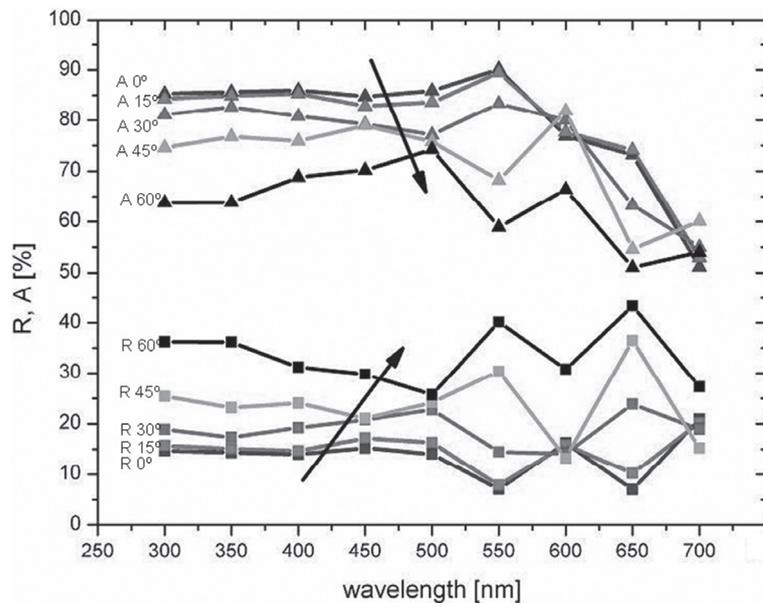


Рис. 8. Спектральные зависимости полного отражения и поглощения при различных углах освещения

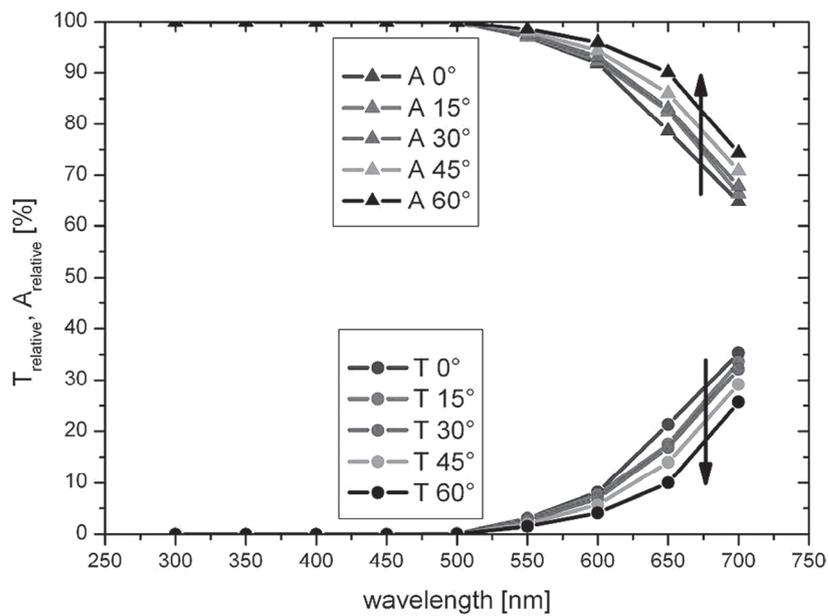


Рис. 9. Спектральные зависимости относительного пропускания и поглощения при различных углах освещения

АСМ-сканирования. В результате впервые исследованы процессы фотогенерации, протекающие в объеме ячейки. Установлены спектральные зависимости интенсивности оптической генерации от формы поверхности и угла падения солнечного излучения. Показано, что такие тонкопленочные солнечные элементы эффективно функционируют при различных углах освещения, т. е. в различное время суток и года, что является серьезным преимуществом перед другими типами солнечных элементов.

Список использованных источников

1. Potential of amorphous and microcrystalline silicon solar cells / J. Meier [et al.] // *Thin Solid Films*. – 2004. – N 451–452. – P. 518–524.
2. Chakanga, K. Texturing ZnO : Al Films on Glass for the Use as a Light-Scattering Layer in Micromorph Silicon Thin Film Solar Cells / K. Chakanga // *Master thesis*. – 2010.
3. Computational Electrodynamics: The Finite Difference Time-Domain Method / A. Taflovie [et al.] // *Artech House*. – 1995.
4. Manual for Sentaurus TCAD [Electronic resource]. – Synopsys, 2012. – Mode of access : <http://www.synopsys.com>. – Date of access : 14.05.2012.
5. Amorphous and Microcrystalline Silicon Solar Cells : Modeling, Materials and Device Technology / R. Schropp [et al.] // *Springer Verlag*. – 1998.

РАЗВИТИЕ АППАРАТНЫХ
И ПРОГРАММНЫХ СРЕДСТВ СЗМ

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЙ СКАНИРУЮЩИЙ
ЗОНДОВЫЙ МИКРОСКОП
С ЛАЗЕРНЫМ ИНТЕРФЕРОМЕТРОМ «НаноСкан-3Di»

К. С. Кравчук¹, К. В. Гоголинский¹, А. С. Усеинов¹,
А. П. Кузнецов², В. Н. Решетов², С. С. Голубев³

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Технологический институт сверхтвердых и новых углеродных материалов»,
Троицк, Московская обл., Россия

²Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва, Россия

³Федеральное государственное унитарное предприятие
«Всероссийский научно-исследовательский институт метрологической службы»,
Москва, Россия

Введение. Определение метрологических характеристик сканирующих зондовых микроскопов и обеспечение достоверности осуществляемых ими измерений линейных размеров в нанометровом диапазоне является в настоящее время ключевым вопросом при использовании СЗМ для технологических применений, а также сертификации и контроля продукции nanoиндустрии.

Применение тех или иных рельефных мер длины (TGZ, МШПС и др.) сегодня остается единственным возможным способом передачи единицы длины СЗМ конечных пользователей. Для осуществления поверки и калибровки линейных мер необходима привязка их метрологических характеристик к определению единицы длины через длину волны лазерного излучения. Такая привязка может быть обеспечена лазерным интерферометром.

В ФГБНУ ТИСНУМ совместно с НИЯУ МИФИ создан измерительный сканирующий зондовый микроскоп на базе СЗМ «НаноСкан-3D» [1, 2] с интегрированным трехкоординатным лазерным гетеродинным интерферометром.

Приборы серии «НаноСкан». Отличительной особенностью приборов серии «НаноСкан» от традиционных СЗМ является применение пьезорезонансного датчика-кантилевера камертонной конструкции с высокой изгибной жесткостью консоли (~ 20 кН/м) [3], а также алмазных наконечников (зондов). Контроль контакта острия зонда с поверхностью осуществляется по двум параметрам: изменение амплитуды или частоты колебаний зонда. Резонансный режим работы обеспечивает высокую чувствительность при контакте с поверхностью,

в то время как высокая изгибная жесткость консоли зонда позволяет проникать сквозь вязкий слой до упругого контакта с твердой поверхностью в процессе сканирования рельефа (рис. 1).

Перемещение исследуемых объектов в процессе измерений осуществляется с помощью трехкоординатного пьезоэлектрического наноманипулятора (сканера). Контроль перемещения проводится с помощью емкостных датчиков, интегрированных в наноманипулятор. Конструкция зонда позволяет использовать наконечники разных типов, в том числе токопроводящие.

Применяются инденторы с разным углом заострения (рис. 2): пирамида Берковича с углом при вершине 65° , угол куба с углом при вершине 35° , пирамида с углом при вершине 20° . Применение алмазных инденторов с малым углом заточки чрезвычайно перспективно с точки зрения исследования рельефа и механических свойств объемных материалов и тонких пленок на малых масштабах линейных размеров. Причин этому несколько: такие наконечники дают высокое разрешение при работе в режиме сканирующей зондовой микроскопии; при механических испытаниях они обеспечивают более ранний переход к пластической деформации, позволяя проводить измерения при значительно меньшей глубине внедрения. Последний факт позволяет применять такие инденторы для измерения механических свойств очень тонких пленок с минимальным влиянием подложки [4].

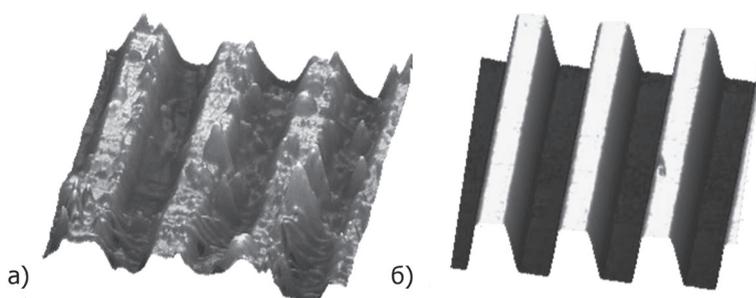


Рис. 1. СЗМ-изображение рельефной меры, полученное сканированием: *а* – по амплитуде; *б* – по частоте

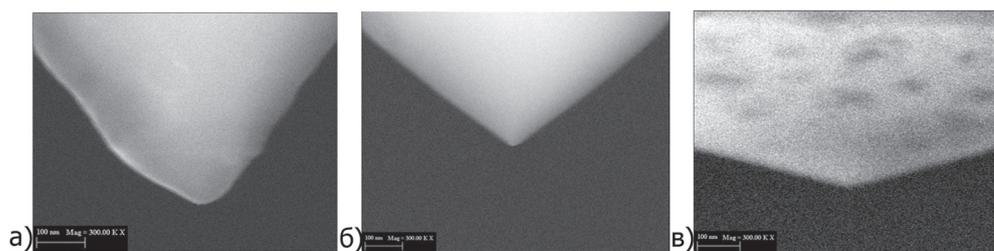


Рис. 2. Синтетические алмазные инденторы с различным углом заострения наконечника: *а* – 20° ; *б* – 35° (угол куба); *в* – 65° (Беркович)

Основным источником погрешности в СЗМ является неточность определения положения объекта во время сканирования. Сигнал емкостных датчиков несет косвенную информацию о величине измеряемого перемещения и, следовательно, требует калибровки независимым способом. Также для емкостных датчиков характерна систематическая погрешность из-за наличия паразитных емкостей в соединительных проводах и конструкции датчика [5].

В отличие от емкостных датчиков при измерениях, осуществляемых лазерным интерферометром, имеет место привязка измеряемых геометрических размеров к определению единицы длины через длину волны лазерного излучения. Современные частотно стабилизированные He-Ne лазеры имеют относительную нестабильность оптической частоты (длины волны в вакууме) не хуже чем $1 \cdot 10^{-8}$. Метрологические лазеры калибруются по He-Ne/ J_2 -лазерам, стабилизированным по пикам йода, с относительным среднеквадратичным отклонением $2 \cdot 10^{-11}$. Поэтому лазерная интерферометрия в настоящее время становится основным средством передачи единицы длины в нанометровом диапазоне перемещений с абсолютной привязкой к Первичному эталону метра.

Интерферометр разработан как компактная встраиваемая система для проведения измерений в реальном времени и состоит из двух модулей: оптического блока, размещенного на раме микроскопа, и электронного блока, вынесенного за пределы термостатирующего и виброизолирующего бокса. Оптические элементы интерферометра собраны на массивной плите и защищены от пыли и механического повреждения съемной крышкой. В состав оптического блока входят: одночастотный стабилизированный He-Ne-лазер мощностью 1 мВт (длина волны $\lambda = 632,991084$ нм, относительная нестабильность оптической частоты за 8 ч работы не более $3 \cdot 10^{-9}$), акустооптический модулятор (АОМ), юстируемые оптические элементы (зеркала, триппель призмы, оптоволоконные коллиматоры). Юстировка зеркал осуществляется прецизионными угловыми подвижками с точностью выставления угла 30 угл. с. He-Ne-лазер заключен в алюминиевый радиатор и удален от интерферометра для предотвращения влияния на измерения воздушных конвекционных потоков.

В основу системы обработки сигналов положена квадратурная схема прямого аналого-цифрового преобразования фазомодулированного сигнала с последующей цифровой обработкой информативных отсчетов в программируемой логической интегральной схеме (ПЛИС, Cyclone III фирмы Altera).

Основные технические характеристики интерферометра и обеспечивающего его работу блока электроники:

Диапазон измерений по осям XY, не менее	± 500 мкм
Диапазон измерений по оси Z, не менее	± 50 мкм
Разрешение по всем трем осям, не хуже	0,01 нм
Уровень собственных шумов интерферометра,	
СКО в полосе частот от 1 Гц до 1 кГц, не более	1 нм
Неортогональность осей измерения перемещений	0,01 радиана

Диапазон измеряемых сдвигов фаз	$\pm 1 \cdot 10^4$ радиан
Разрешение системы измерения сдвига фазы	$1 \cdot 10^{-4}$ радиан
Временное разрешение измерений	1 мс
Максимальная скорость сканирования	300 мкм/с
Тепловыделение в рабочей области, не более	5 Вт

Для изучения метрологических характеристик созданного измерительного комплекса были исследованы тестовые решетки TGZ1, TGZ2, TGZ3 [6]. Полученные результаты сравнивали с аналогичными данными, полученными при калибровке этих же экземпляров мер РТВ (Physikalisch-Technische Bundesanstalt, Германия) на метрологическом зондовом микроскопе [7]. Сравнение данных, полученных на отечественном измерительном зондовом микроскопе «НаноСкан-3Di» и результатов измерений РТВ приведено в таблице. Для всех трех мер значения, измеренные на СЗМ «НаноСкан-3Di», попали в 95%-ный доверительный интервал, приведенный РТВ. СКО измеренных на СЗМ «НаноСкан-3Di» значений высот ступенек составило менее 1 нм.

Сравнение результатов измерений мер серии TGZ

Мера	Высота ступеней, нм	
	НаноСкан-3Di	РТВ
TGZ1	$18,1 \pm 0,2$	$18,4 \pm 1,0$
TGZ2	$100,0 \pm 0,4$	$101,1 \pm 1,6$
TGZ3	$488,0 \pm 0,9$	$489,0 \pm 1,8$

Заключение. Результаты, представленные в данной работе, демонстрируют, что разработанный измерительный комплекс на базе СЗМ «НаноСкан-3D» и трехкоординатного гетеродинного интерферометра обеспечивает точность и стабильность измерений, не уступающую лучшим мировым образцам.

Работа проводилась при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, ГК № 16.523.12.3003.

Список использованных источников

1. Применение сканирующих зондовых микроскопов и нанотвердомеров для изучения механических свойств твердых материалов на наноуровне / К. В. Гоголинский [и др.] // Заводская лаборатория. – 2007. – Т. 73, № 6. – С. 28–36.
2. Метрологический комплекс для измерения параметров рельефа и шероховатости поверхностей в нанометровом диапазоне / В. В. Соловьев [и др.] // Законодательная и прикладная метрология. – 2010. – № 5. – С. 30–37.
3. Расчет напряженно-деформированного состояния зонда при статических измерениях СЗМ НаноСкан / Е. О. Баранова [и др.] // Датчики и системы. – 2010. – № 3(130). – С. 49–52.
4. Усеинов, А. С. Применение алмазных наконечников с малым углом заострения для исследования физико-механических свойств поверхности / А. С. Усеинов, К. В. Гоголинский, С. В. Прокудин // Механика микронеоднородных материалов и разрушение: тез. докл. VII Рос. конф., Екатеринбург, 2012 г. – Екатеринбург, 2012. – С. 13.

5. Измерительные схемы для емкостных датчиков систем нанопозиционирования сканирующих зондовых микроскопов / В. В. Мешеряков [и др.] // Датчики и системы. – 2010. – № 3(130). – С. 46–48.

6. Прослеживаемость результатов измерений в нанометровом диапазоне к единицам Международной системы единиц физических величин / С. С. Голубев [и др.]. // Измерительная техника. – 2010. – № 11. – С. 13–17.

7. Metrological Large Range Scanning Probe Microscope / G. Dai [et al.]. // Rev. Sci. Instr. – 2004. – Vol. 75, N 4. – P. 962–969.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА ДЕФОРМАЦИИ ИЗМЕРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ АТОМНО-СИЛОВОГО МИКРОСКОПА И РАСЧЕТ ДОПУСТИМЫХ РЕЖИМОВ ЕЕ РАБОТЫ

С. А. Билоконь, И. А. Рева, М. А. Бондаренко, М. П. Рудь

Черкасский государственный технологический университет, Черкассы, Украина

Введение. Как известно из работы [1], основные причины недолговечности кремниевых зондов для АСМ заключаются в слабой изученности механизмов взаимодействия этих зондов с исследуемыми поверхностями, отсутствии информации об оптимальных режимах сканирования и рекомендаций относительно условий исследования поверхностей различных материалов такими зондами. Поэтому основной задачей данной работы является изучение процессов взаимодействия зондов с исследуемыми поверхностями, а также механизмов разрушения зондов.

К основным механизмам взаимодействия зондов АСМ с исследуемыми поверхностями можно отнести следующие: электростатическое взаимодействие, магнитное взаимодействие, а также взаимодействия посредством капиллярных сил, сил адгезии, сил Ван-дер-Ваальса и сил упругости.

В данной работе рассмотрено механическое взаимодействие зонда с поверхностью, исходя из предположения, что взаимодействующие поверхности сплошные, однофазные, изотропные и негигроскопические. Поэтому нами учтены только сила Ван-дер-Ваальса и силы упругости.

Цель работы – рассчитать допустимые режимы работы измерительной системы АСМ путем моделирования процесса взаимодействия кремниевого зонда с исследуемыми поверхностями, используя метод конечных элементов и разделы физики упругих сред. Для аналитического решения задачи механического взаимодействия применены методы сопротивления материалов и известные решения задач механического взаимодействия.

Постановка и решение задачи моделирования. Моделирование задачи механического взаимодействия проводили в следующей последовательности: аналитическое решение задачи взаимодействия, численное моделирование

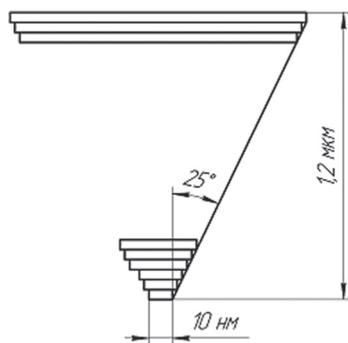


Рис. 1. Разбитый на n частей конический зонд

процесса механического воздействия исследуемой поверхности на зонд АСМ, сравнение результатов численного моделирования с результатами эксперимента.

Для начала рассчитаем критическую нагрузку на зонд. Для простоты решения задачи конический зонд разобьем на n частей (рис. 1) и рассчитаем силу, которую можно приложить к острию зонда при условии, что эксплуатация зонда будет производиться до тех пор, пока значения радиуса острия зонда не превысит 20 нм.

Согласно работе [2], в случае сжатия зонда находят опасные сечения, в которых напряжение достигает наибольших по модулю значений, и для

этих сечений записывают условие прочности

$$\sigma_{\max} = \left| \frac{N_{\max}}{F} \right| \leq [\sigma],$$

$$\sigma_{\max} = 2300 \text{ МПа.}$$

Исходя из этого, получаем, что критическая сила, приводящая к разрушению зонда, составляет $P_{\text{кр}} = 14 \cdot 10^{-8} \text{ Н}$.

Далее найдем критическую силу консоли, из чего можно вычислить критическое расстояние изгиба консоли ω .

Для решения этой задачи представим консоль, как балку прямоугольного сечения с жестким закреплением на одном конце (со стороны крепления консоли к пьезочипу) и с приложенной критической силой P на другом конце (рис. 2).

Небезопасными точками в балке будут верхняя и нижняя точки сечения в месте закрепления, условие прочности для которых записывается следующим образом:

$$\sigma_{\max} = \frac{M_{\max}}{W} = \frac{Pl}{W} \leq [\sigma].$$

Отсюда

$$P \leq [P] = \frac{[\sigma]W}{l} = 4,7 \cdot 10^{-4} \text{ Н},$$

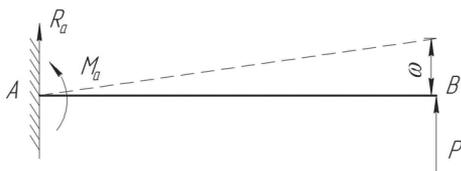


Рис. 2. Консоль АСМ

где σ_{\max} – предел прочности кремния на изгиб; W – осевой момент сопротивления; l – длина балки.

Зная критическую силу, действующую на консоль, можно вычислить максимальный прогиб балки:

$$\omega(0) = \Theta_0 \cdot 0 + \frac{1}{EI} \left(\frac{Pl^3}{6} - \frac{Pl^3}{2} \right) = \frac{Pl^3}{3EI},$$

где I – момент инерции.

Подставляя значения, соответствующие критической силе консоли, $P_{кр} = 4,7 \cdot 10^{-4}$ Н, находим, что $\omega_{консоль} = 4,4$ мкм.

Таким образом, можно заключить, что при исследовании поверхности с максимальной высотой пиков 4,4 мкм кремниевый зонд может выдержать внешнее усилие $P_{кр} = 14 \cdot 10^{-8}$ Н.

Далее рассмотрим силы межмолекулярного взаимодействия, действующие на зонд [3]. Сила Ван-дер-Ваальса – это сила межмолекулярного взаимодействия, которая имеет три составляющие, обладающие несколько различной физической природой, но по значению зависящие от расстояния между молекулами. Соответственно, сила равна производной по расстоянию r :

$$f = \frac{6A_3}{r^7},$$

где A_3 – константа Гамакера.

Исходя из этого микроскопического описания, можно оценить силу, возникающую между зондом и образцом в целом [4]. Эта сила будет одинакова для всех точек, расположенных по окружности радиусом ρ , поэтому в ходе дальнейших вычислений получаем:

$$F_1 = n_2 \int_0^\infty 2\pi\rho d\rho \int_{x_0}^\infty dx \frac{z}{\sqrt{\rho^2 + x^2}} \frac{6A_3}{(\sqrt{\rho^2 + x^2})^7} = \frac{\pi A_3 n_2}{2x_0^4}.$$

Дальнейшие вычисления необходимо проводить для конкретной модели зонда.

В качестве примера, рассмотрим модель конического зонда с закругленным концом (рис. 3), которая была взята с расчетного приложения компании НТ-МДТ [4].

Для этого зонда сила, возникающая между зондом и образцом соответственно, может быть определена из соотношения

$$F = \frac{\pi^2 n_1 n_2 A_3}{6h} \left(\frac{\operatorname{tg}^2 \varphi}{1 - \beta \frac{1 - \sin \varphi}{\sin \varphi}} \left(1 - \beta^3 \frac{\sin^6 \varphi}{\cos^6 \varphi (\beta(1 - \sin \varphi) + 1)^3} \right) + \beta^3 \frac{(\beta - 1)(1 - \sin \varphi)^3 + 3(1 - \sin \varphi)^2}{(\beta(1 - \sin \varphi) + 1)^3} \right),$$

где $\beta = \frac{R}{h}$; $R = 10$ нм – радиус закругления; $h = 0,5$ нм – расстояние между зондом и образцом; n_1 – концентрация молекул зонда; n_2 – концентрация молекул образца; A_3 – постоянная Гамакера; $\varphi = 25^\circ$ – угол конуса зонда.

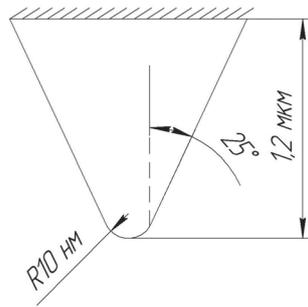


Рис. 3. Модель конического зонда с закругленным концом

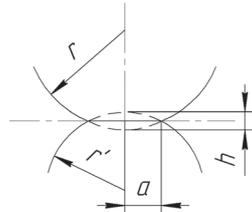


Рис. 4. Контакт зонда и образца

Упругие взаимодействия. При контакте зонда и образца вступают в действие силы упругости. Нахождение деформации при локальном соприкосновении тел под воздействием нагрузки F составляет задачу Герца.

При воздействии нагрузки соприкасающиеся тела деформируются так, что вместо точки касания образуется некоторая контактная площадка (рис. 4), которая будет иметь форму круга. Его радиус обозначаем a .

Введем удобные в расчетах величины: $\frac{1}{R} = \frac{1}{r} + \frac{1}{r_1}$, а также эффективный модуль Юнга для заданной пары материалов:

$$\frac{1}{K} = \frac{3}{4} \left(\frac{1-\mu_1^2}{E_1} + \frac{1-\mu^2}{E} \right).$$

При малых деформациях выполняется следующее геометрическое соотношение между глубиной проникновения h и радиусом контактного круга a :

$$h = \frac{a^2}{R}.$$

Решение задачи Герца дает следующее соотношение между силой вдавливания F и глубиной проникновения h :

$$F = \frac{Ka^3}{R} = Kh^{\frac{3}{2}} R^{\frac{1}{2}}.$$

Таким образом, можно вычислить суммирующую силу, которая действует на острие зонда при исследовании различных материалов (см. таблицу).

Основные механические характеристики и результаты расчета сил взаимодействия зонда CSC-12 с различными материалами

Тип материала	Плотность, кг/м ³	Молярная масса, · 10 ⁻³ кг/моль	Сила Ван-дер-Ваальса, · 10 ⁻¹² Н	Модуль Юнга, ГПа	Коэффициент Пуассона	Сила упругости, · 10 ⁻⁸ Н
Стекло	2500	60	13,870	56	0,25	7,7
Свинец	11 300	207	7,505	18	0,44	3,1
Алюминий	2700	26	14,290	70	0,34	9,8
Медь	8200	63	17,910	110	0,35	14,0
Сталь	7900	67	16,230	210	0,28	21,4
Вольфрам	15 000	183	11,280	350	0,29	28,8

Как видно из приведенных выше данных, сила Ван-дер-Ваальса намного меньше силы упругости, поэтому ее можно не учитывать.

Заключение. В результате аналитического расчета критической нагрузки на зонд со стороны поверхности было показано, что при исследовании поверхности с высотой пиков 4,4 мкм критическая нагрузка, действующая на кремниевый зонд, составляет $P_{кр} = 14 \cdot 10^{-8}$ Н.

Проведен аналитический расчет процесса взаимодействия зонда с разными поверхностями, и показана зависимость такого взаимодействия от механических свойств материала исследуемого образца.

При сравнении критических нагрузок, действующих на зонд, и реальных сил взаимодействия было показано, что кремниевые конические зонды марки CSC-12 при эксплуатации их в контактном режиме значительно быстрее выходят из строя при сканировании ими материалов с модулем Юнга выше 110 ГПа, что соответствует такому материалу, как медь.

Список использованных источников

1. Дедков, Г. В. Электростатические и Ван-дер-Ваальсовы силы в воздушном контакте зонда атомно-силового микроскопа с проводящей поверхностью / Г. В. Дедков, А. А. Канаменов, Е. Г. Дедков // Журнал технической физики. – 2009. – Т. 79, вып. 12. – С. 79–85.
2. Ланин, А. Г. Циклическая трещиностойкость хрупких материалов при нагружении сжатием / А. Г. Ланин // Проблемы прочности. – 2009. – № 1. – С. 83–87.
3. Гаришин, О. К. Моделирование контактного режима работы атомно-силового микроскопа с учетом немеханических сил взаимодействия с поверхностью образца / О. К. Гаришин // Вычислительная механика сплошных сред. – 2012. – Т. 5, № 1. – С. 61–69.
4. Ван-дер-Ваальсовское притяжение конического зонда к образцу. Приложения [Электронный ресурс] / Официальный сайт NT-MDT. – М., 1998. – Режим доступа : www.nt-mdt.ru. – Дата доступа : 12.03.2012.

МЕТОДИКИ ИЗУЧЕНИЯ НАНОРАЗМЕРНЫХ ПОВЕРХНОСТНЫХ СТРУКТУР МЕДИ

О. М. Комар, А. В. Бондаренко, Д. А. Котов

*Белорусский государственный университет информатики и радиэлектроники,
Минск, Беларусь*

Введение. В данное время значительный интерес представляет исследование поверхности наноразмерных структур с помощью атомно-силовой микроскопии. Точность проводимых измерений во многом определяется выбором и проработанностью используемых методик. Причем в каждом конкретном случае на определенном типе оборудования, процесс измерения имеет свои особенности, требующие учета и отдельной проработки. Поэтому подготовка и отработка методик измерения и обработки результатов необходима для получения качественного результата исследований наноразмерных структур.

Результаты и их обсуждение. Для исследования использовали образцы, полученные коррозионным осаждением меди на поверхности кремниевой пластины. Подложки для осаждения были очищены методом травления в растворе хромпика, затем в 5%-ном растворе HF для снятия естественного окисла. Коррозионное осаждение проводили в растворе 100 мл H_2O + 2мл HF и 0,624 г $CuSO_4 \cdot 5H_2O$.

Образец, предназначенный для исследования на приборе, размещается на предметном столике атомно-силового микроскопа (АСМ). Предметный столик АСМ NT-206 оснащен магнитным держателем, поэтому для закрепления образца его необходимо предварительно зафиксировать на магнитопроводящем подложкодержателе. Размеры образца выбираются в пределах диаметра 30 мм и высоты 8 мм. Для получения высококачественного АСМ-изображения исследуемая поверхность образца должна быть параллельна основанию. При установке образца необходимо помнить, что область на поверхности, которую планируется сканировать, должна находиться по возможности ближе к центру предметного столика. В этом случае искажения на полученном АСМ-изображении, вызываемые сферическим характером движения сканера, будут минимальными [1].

Исследования проводили с помощью атомно-силового микроскопа NT-206 в конфигурации с открытой измерительной «головой» в статическом режиме (рис. 1), согласно методике изложенной в работе [2].

Полученные с помощью АСМ изображения первоначально обрабатывали с помощью программы SurfaceXplorer (рис. 2), которая позволяет устранить искажения изображения, связанные с наклоном образца, сдвигом нуля, неидеальностью пьезосканера, шумами, связанными с внешними вибрациями и шумами аппаратуры, а также нестабильностью контакта зонд–образец.

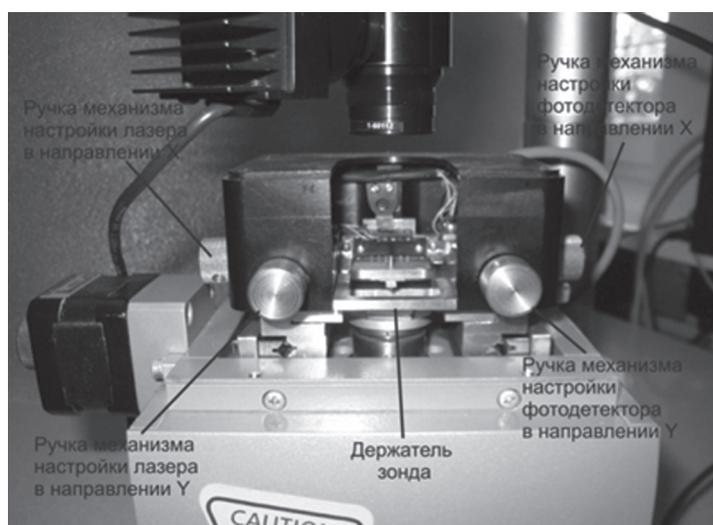


Рис. 1. Внешний вид АСМ NT-206 в конфигурации с открытой измерительной «головой»

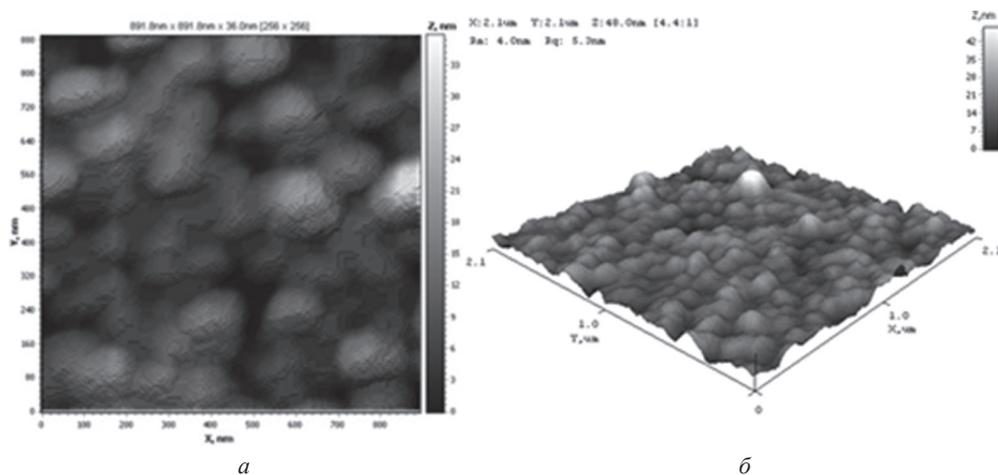


Рис. 2. Двумерное (а) и трехмерное (б) изображение поверхности образца, полученного коррозионным осаждением меди

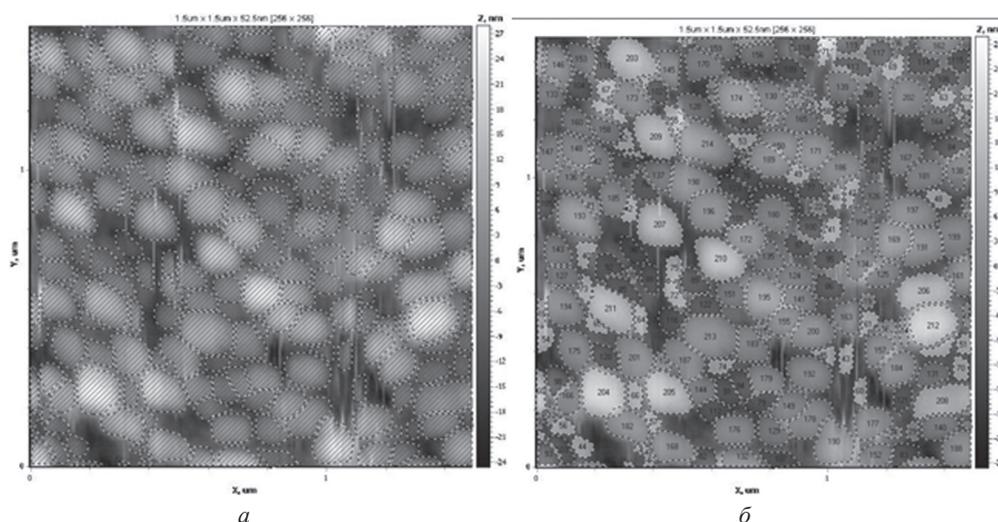


Рис. 3. Изображения с определением структуры зерен (а) и цветовым распределением (б) с помощью программного комплекса «AutoscanStudio»

Дальнейшую обработку и анализ изображений проводили с помощью программного комплекса «AutoscanStudio» (рис. 3), в котором на основе изменения контраста двумерного изображения определяли геометрические параметры зерен [3].

Используя полученные данные, были построены гистограммы распределения по эквивалентному диаметру, площади, периметру и процентному составу (рис. 4) с разбиением общего количества зерен на классы с их цветовой индикацией.

Эти результаты были использованы для определения кинетики роста зерен в зависимости от времени осаждения меди.

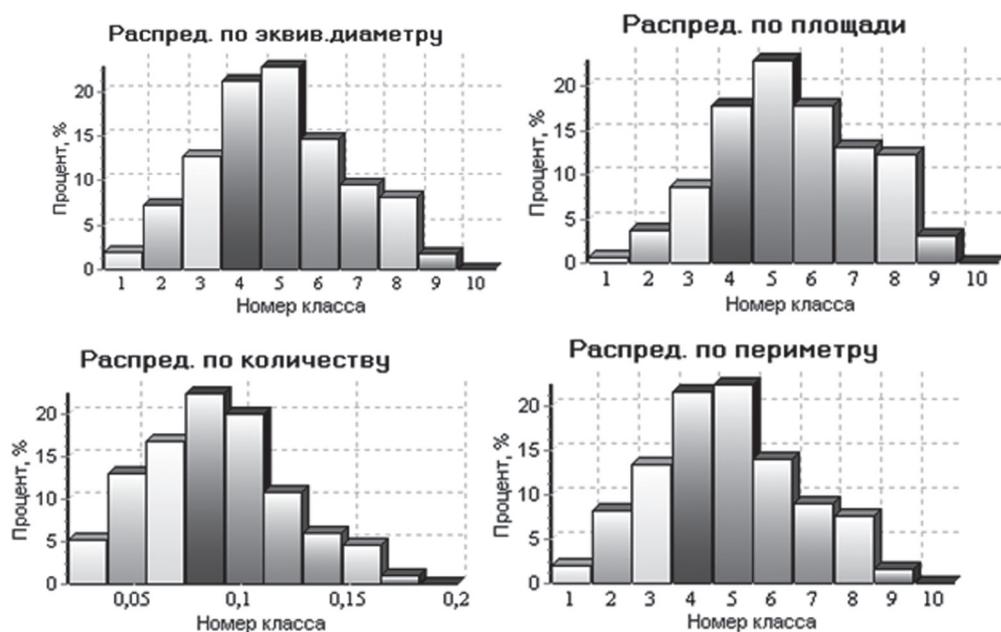


Рис. 4. Гистограммы распределения зерен по характерным параметрам

Заключение. Представленные в работе методики подготовки образцов, проведения измерений и обработки полученных результатов на АСМ NT-206 позволили измерить основные качественные и количественные параметры наноразмерной структуры поверхности образцов меди, осажденной коррозионным методом, начиная с шероховатости поверхности и заканчивая получением статистических распределений геометрических параметров зерен покрытия. Это, в свою очередь, обеспечило определения кинетики роста зерен в зависимости от времени осаждения меди.

Список использованных источников

1. Сулов, А. А. Сканирующие зондовые микроскопы (обзор) / А. А. Сулов, С. А. Чижик // *Материалы, технологии, инструменты*. – 1997. – № 3. – С. 78–79.
2. Characterization of Copper Nanostructures Grown on Porous Silicon by Displacement Deposition / H. Bandarenka [et al.] // *220th ECS Meeting and Electrochemical Energy Summit Boston, MA*. – 2011. – 234 p.
3. AutoscanStudio. Программный комплекс обработки и анализа изображений. – Минск : ЗАО «Спектроскопические системы», 2009. – 254 с.

STUDY OF DNA RELAXATION ON MICA WITH FURTHER AUTOMATIC TRACING

A. Mikhaylov, J. Notz-Pekkanen, G. Dietler

Laboratoire de Physique de la Matière Vivante, EPFL, Lausanne, Switzerland

Introduction. DNA molecules bound on the surface are broadly studied by different techniques including AFM [1, 2]. One of the typical sample preparation procedures is to deposit molecules in solution with divalent ions on freshly cleaved mica and after to dry the surface with airflow [3]. For this type of sample preparation it was shown that the molecules tend to adopt 2-dimensional conformation rather than 3D-2D projection [4]. The goal of our research was to proof the fact that under these conditions the molecules can relax and estimate the characteristic time constant for this process.

In such experiments it is important to obtain a high number of processed molecules [5, 6]. As it is challenging to work on huge set of images, we created a software which permits to treat images easily and quickly. Our program *DNA Trace* can open raw images from the microscope and has a broad range of useful options to work with them. This software also includes several algorithms to do a fully- or semi-automatic tracing of polymers.

This study explores not fully understood interactions between a negatively charged DNA chain and mica. Multivalent ions will be used to bind DNA on the surface. As it is known, the worm-like chain (WLC) will fail to describe mid-range interactions, where the self-avoiding walk (SAW) theory exhibits close results from those of the experiments [7, 8]. It is proposed to observe the time relaxation of a DNA chain out-of equilibrium deposited on a surface, from its 2 dimensional projected state towards equilibrium. For weak interaction cations, the chain still conserves some freedom and is not kinetically trapped on the surface [9, 10].

Sample preparation. The samples of the fragments of λ -DNA molecules were deposited on freshly cleaved mica in presence of Mg^{2+} ions (0.5–10.0 mM concentration) [11]. After some deposition time (varying from 10 seconds to 5 minutes according to the experiment) the samples were rinsed with UHQ water and dried with air. Images were obtained using AFM in tapping mode in air.

Image processing. After scanning the images were processed using homemade software *DNA Trace* (fig. 1). This multiplatform program written in *Java* permit us to trace polymer molecules semi- or fully-automatically and get their coordinates. The ways to process the images can be described as the following.

1. Fully automatic tracing of all molecules on an image: user has to press one button. It works well for clear images of short and separated molecules.
2. Automatic tracing of each molecule: user has to click on one point of each molecule and the program finds the rest of it. The algorithm suits for relatively short molecules with zero or few crossings.

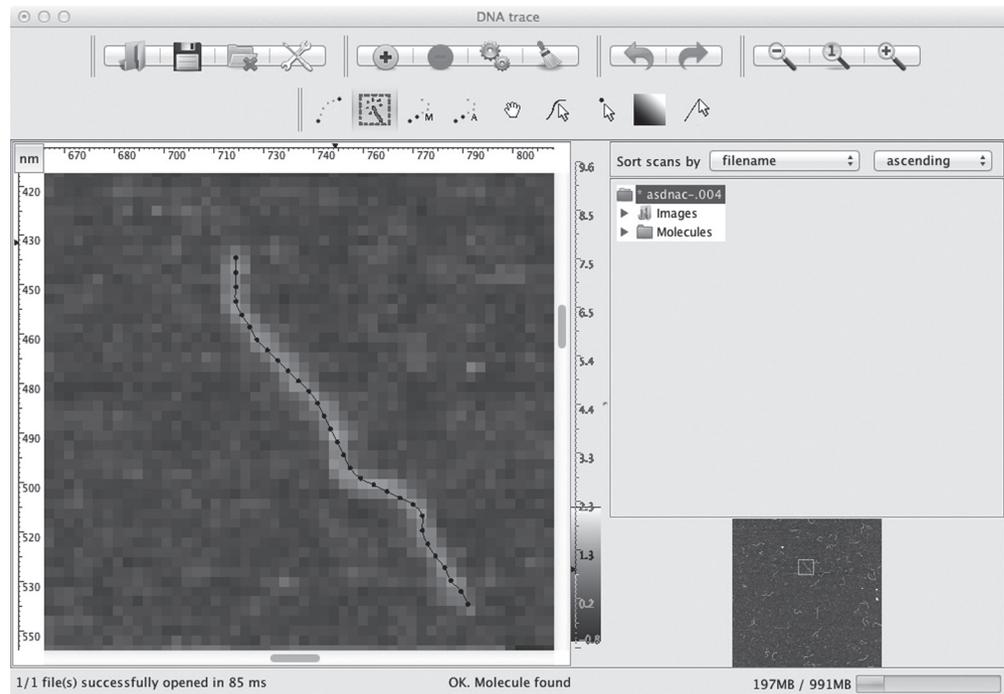


Fig. 1. A screenshot of *DNA Trace* with traced fragment of a DNA molecule

3. Automated searching of the part of the molecule between two points: user has to do consequent clicks along the molecule and the program traces an image between them. The algorithm is the most used and can be applied for every image. The clearer the image is, the fewer clicks the user has to perform. For most of images the user has to point the ends of the molecule and the crossings.

4. Semi-automatic further tracing: if the molecule is already partly traced the program is going forward along it while the user presses the button.

5. Manual tracing: the user manually shows the direction of the molecule to the program.

The state of the polymer molecule can be described with the dependence of the end-to-end distance $\langle R_{ee}^2 \rangle$ on the contour length s . For the (infinitely) long molecules one can use the formula

$$\langle R_{ee}^2 \rangle = s^{2\nu},$$

where ν is the scaling exponent. To extract this parameter one can obtain the data of $\langle R_{ee}^2 \rangle(s)$ and plot it according to the following formula

$$\frac{1}{2} \frac{d \ln \langle R_{ee}^2 \rangle}{ds} = \nu(s).$$

Results. The results exhibit an apparent time dependent relaxation process. Indeed, if we observe the images, (fig. 2), it can be noticed that between 10 seconds and 5 minutes, DNA will make a transition from a compact state towards the more relaxed one. On fig. 3 it is shown that the original configuration (10 seconds deposition time) is related by the scaling exponent of the 3D to 2D quasi-projection state ($\nu = 0.58$), following SAW theory. Final state will then be reached after a smooth transition, and system is defined in the 2D relaxation state ($\nu = 0.75$). To achieve these results, the tuning of different parameters has been done. First, the concentration of the Mg^{2+} ions should be chosen accurately in order not to have too strong binding of the molecules and to leave them a possibility to relax. DNA concentration was adjusted depending the relaxation time for this experiment, because the

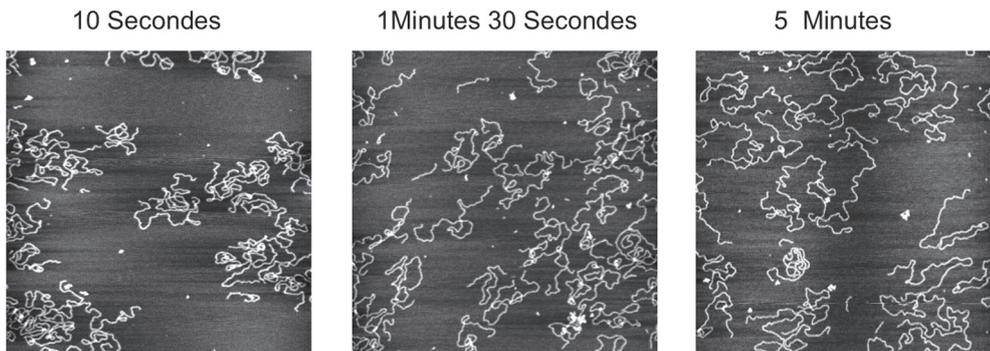


Fig. 2. Several examples of scans used for current study with relaxation time varying from 10 seconds (left) to 5 minutes (right). All samples are λ -DNA (fragments) on mica, scan size is $5 \mu m$

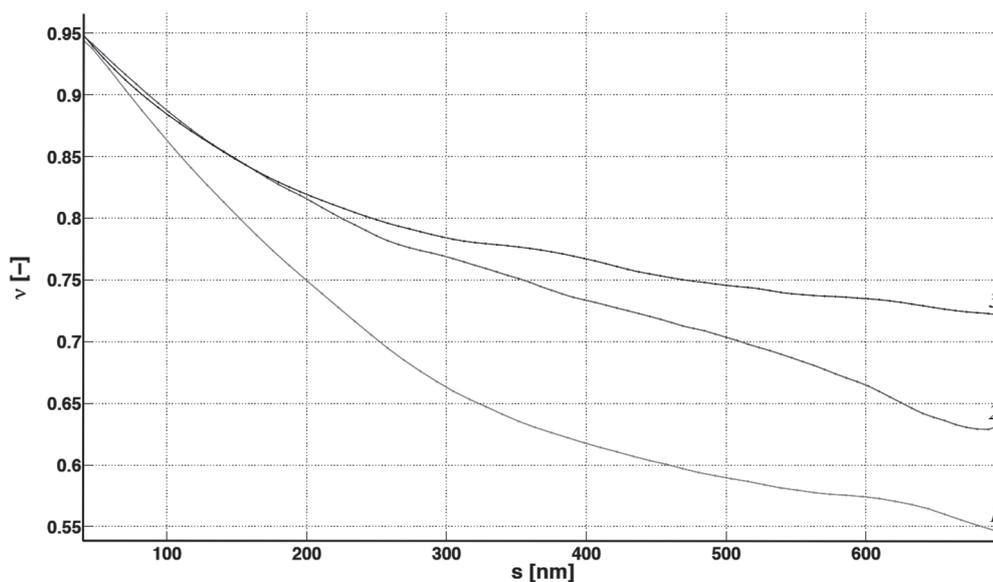


Fig. 3. Plot of the scaling exponent ν versus contour length s for samples with different relaxation time: 1 – 10 seconds Relaxation; 2 – 40 seconds Relaxation; 3 – 5 minutes Relaxation

concentration deposited on the surface scales as \sqrt{t} , where t is the deposition time (a diffusion process), so the concentration used for 5 minutes is not sufficient to have enough amount of DNA molecules on the surface after 10 seconds, and the concentration used for 10 seconds relaxation samples leads to the condensed state of the molecules with 5 minutes deposition time.

Discussion. In the current study the relaxation of the double-stranded DNA on mica surface was investigated. The results show that first the molecules are adsorbed on the surface as a 3D to 2D quasi-projection, so the scaling exponent ν is equal to 0.59. If one waits certain time before rinsing the sample and drying it (that apparently freezes the molecules on the surface), the molecules tend to relax in the direction to the 2D-equilibrium with $\nu = 0.75$ (that could be achieved only for infinitely long molecules after infinite time).

It is difficult to determine whether the surface concentration or binding molecule (Mg^{2+}) creates segregation of the DNA on some samples. It is overall observable that samples never exhibit a homogenous DNA repartition. This implies that there is no defined state for the sample as the local concentration changes. From this hypothesis one can usually select regions where concentration is low enough to calculate statistics. That being said, as sample preparation depends of many parameters, a high difficulty to reproduce results was encountered.

Conclusions. Finally, accurate calculation of the statistical parameters require high number of processed molecules. The software *DNA Trace*, that was designed for this purpose, helps to treat a big number of scans in reasonable time, giving the possibility to have precise numbers.

References

1. Observation of single-stranded dna on mica and highly oriented pyrolytic graphite by atomic force microscopy / J. Adamcik [et al.] // FEBS letters. – 2006. – Vol. 580, N 24. – P. 5671–5675.
2. Determination of DNA persistence length by cryo-electron microscopy. Separation of the static and dynamic contributions to the apparent persistence length of DNA / J. Bednar [et al.] // Journal of molecular biology. – 1995. – Vol. 254, N 4. – P. 579–594.
3. Adsorption of dna to mica, silylated mica, and minerals: characterization by atomic force microscopy / M. Bezanilla [et al.] // Langmuir. – 1995. – Vol. 11, N 2. – P. 655–659.
4. Fractal dimension and localization of DNA knots / E. Ercolini [et al.] // Physical review letters. – 2007. – Vol. 98, N 5:58102.
5. Automated DNA fragments recognition and sizing through AFM image processing / E. Ficarra [et al.] // Information Technology in Biomedicine, IEEE Transactions on. – 2005. – Vol. 9, N 4. – P. 508–517.
6. Interactive measurement and characterization of DNA molecules by analysis of AFM images / J. Marek [et al.] // Cytometry Part A. – 2005. – Vol. 63, N 2. – P. 87–93.
7. AFM imaging in solution of protein–DNA complexes formed on DNA anchored to a gold surface / O. Medalia [et al.] // Ultramicroscopy. – 2002. – Vol. 90, N 2. – P. 103–112.
8. Accuracy of afm measurements of the contour length of DNA fragments adsorbed on mica in air and in aqueous buffer / A. Sanchez-Sevilla [et al.] // Ultramicroscopy. – 2002. – Vol. 92, N 3. – P. 151–158.
9. Scaling exponents and probability distributions of DNA end-to-end distance / F. Valle [et al.] // Physical review letters. – 2005. – Vol. 95, N 15. – P. 158105.
10. High flexibility of DNA on short length scales probed by atomic force microscopy / Paul A. Wiggins [et al.] // Nature Nanotechnology. – 2006. – Vol. 1, N 2. – P. 137–141.
11. Conformation of Circular DNA in Two Dimensions / Guillaume Witz [et al.] // Physical Review Letters. – 2008. – Vol. 101, N 14. – P. 148103.

SCANNING NEAR-FIELD OPTICAL MICROSCOPY OF THE LUMINESCENCE OF THE NV-CENTERS IN NANODIAMOND

D. S. Filimonenko, D. I. Pustakhod, V. N. Chizhevsky, V. M. Yasinskii

B. I. Stepanov Institute of Physics of the NAS of Belarus, Minsk, Belarus

Introduction. Scanning near-field optical microscopy (SNOM) is currently used in a large number of different disciplines, where the possibility of optical imaging with subwavelength resolution combined with simultaneously obtained topography is of significant importance. SNOM provides ample opportunities for imaging, emission spectroscopy, fluorescence lifetimes and fluorescence resonance energy transfer measurements. One of the most interesting and promising application of SNOM is the detection of single-photon sources. Such sources are considered as cornerstone for experimental quantum informatics as well as one of the key elements in a variety of rapidly developing scientific fields such as quantum optics and cryptography, optical engineering, and plasmonics. Ideal single-photon sources should generate a train of indistinguishable photons and emit a photon with required certainty at particular moment of time as well as operate at room temperature and provide an exceptional photostability.

At the present time different light sources are used as the single-photon sources, which are usually only partially satisfy these requirements. The most famous and first implemented source of single photons was based on the individual color centers in diamond «nitrogen-vacancy» (NV-centers) [1–3]. In a variety of applications, where single-photon sources are used, is it important not only to get the photostable single-photon source, but also to have the possibility of nanopositioning of single-photon source in all 3 spatial directions. In this regard, it seems promising to attach single-photon source to the fiber tip of SNOM probe. This makes it possible to simply manipulate by the single-photon source while maintaining high accuracy of positioning, typical for scanning probe microscopy. Such functionalized probes could be widely used, because for certain SNOM applications they possess several advantages over conventional probes, such as increase in the optical resolution of SNOM, because the size of the minimum observable object is no longer depends on the radius of curvature of the tip (50–100 nm), but to the size of the nanodiamond attached to the tip. The technology allows to produce nanocrystals of diamond with sizes up to 5 nm [4].

Another major advantage of functionalized probes – the possibility of their use as nanoscale chemical and biological sensors and realization of Forster resonance energy transfer (FRET) SNOM [5]. Until now, the application of FRET is limited primarily by photochemical destruction of fluorophore. The use of fluorescent nanodiamonds with NV-centers attached to the tip of the probe as fluorophores will significantly increase the resistance to photobleaching and chemical degradation for FRET SNOM measurements.

Experimental. Aqueous colloidal solution of chemical vapour deposition (CVD) nanodiamonds with preliminarily formed NV-centers was used for this work. The nanodiamonds were spin-coated on the surface of pure silica cover glass and then air dried.

Fig. 1 is a schematic of the collection mode SNOM implementation used for observation of nanodiamonds fluorescence.

The NV-center emission was excited with continuous (for SNOM-imaging) 20 mW Nd : YAG laser generating the second harmonic of 532 nm and pulsed (for luminescence kinetics measurements) Nd : YAG laser which provides 0.5 ns 532 nm pulses with energy of 0.2 mJ at a repetition frequency of 100 kHz. To increase the power surface density of the laser irradiation laser beam was focused with inverted microscope lens. To control the alignment of the lens focal plane with the plane of the sample and for real time observation of the approach of the probe to the surface the long-focus microscope Navitar with digital camera was used.

Radiation passing through the sample was collected using a fiber probe and sent to id100-MMF50 APD by idQuantique. A FiberBench from Thorlabs with slots for mounting filters and fiber-optic collimators provides the filtering of the optical signal collected by the SNOM probe and efficient input of this signal in APD. The excitation line of 532 nm was suppressed by using three successively established dichroic mirrors, a notch-filter and a long-pass filter (>610 nm). The mirror 4 can be moved to provide surface observation with conventional inverted microscope (for the needs of identification of the areas of greatest interest).

The electrical signal from APD with duration of 9–15 ns was digitized and transferred to the PC by the time measuring system B-471 by Auris, which is in-

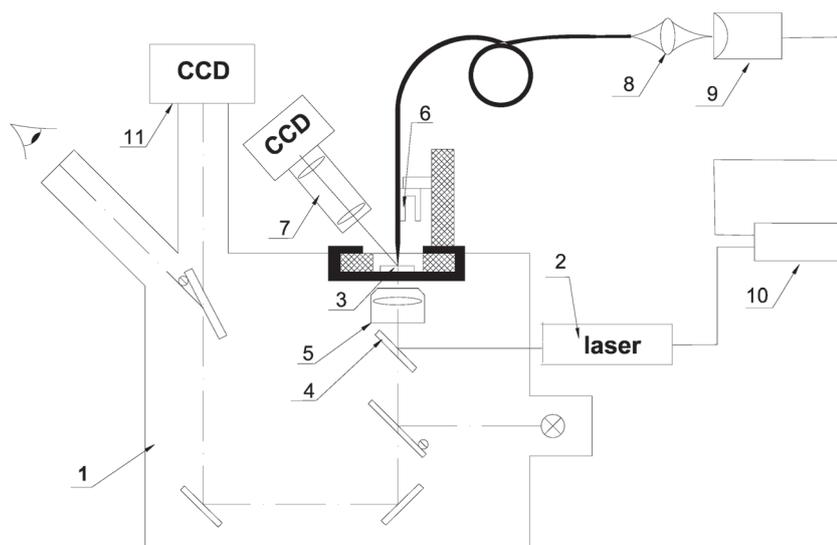


Fig. 1. SNOM scheme for the registration of the luminescence of nanodiamonds: 1 – inverted microscope; 2 – laser; 3 – sample; 4 – mirror; 5 – microscope lens; 6 – fiber optic probe; 7 – long-focal lens with a digital camera; 8 – FiberBench with a system of filters and collimators; 9 – APD; 10 – time measuring system B-471; 11 – digital camera

tended for measurement of time intervals between successive electrical pulses with resolution of 2.5 ns. For the purpose of characterization of luminescence kinetics a synchronizing pulse from the pulsed laser power supply unit was fed to the second input of the time measuring system. Such a setup allows one to measure the delay of luminescence pulses t_L from the corresponding laser pulses. Statistical sampling gives a probability density $P(t_L)$, which represents a luminescence decay curve.

Results and discussion. The results of SNOM-measurements are shown in Fig 2. As seen from the topographical and optical images from approximately of 60 particles presented in the topography only 8 particles show luminescence, thus not every nanodiamond crystal contains NV-centers with luminescence brightness sufficient for registration. It should be noted that due to the probe-sample interaction simultaneously obtained topographic and optical SNOM-images of nanodiamond samples reveal some interesting features.

Fig. 2 (b) and (f) presents the topography and the optical image of a particular area of the surface of the sample with nanodiamonds. It is noticeable that in the process of scanning an interaction occurred between the probe and large agglomerate of nanodiamonds. As a result the probe seized a part of this cluster that in turn leads to an increase in an optical background signal. Subsequently, there was a seizure of another particle, which is however not visible in the topographic image.

Fig. 2 (c) and (g) shows that nanodiamond attachment to the tip of the probe was preceded by the gradual displacement of the particles from left to right (in the direction of scanning) from position 1 to position 2, which occurred during the forward scan over the surface. The trajectory of particles can be traced back by the trail left on the optical image. Finally, the capture of nanodiamond occurred, which resulted in the increase of the background signal, and then at position 3, it detached from the probe, and the optical background signal immediately returned to the original level. But during the next passage the particle was again attached to the probe, the final separation occurred only at position 5.

SNOM-image shown in Fig. 2 (d) and (h) reveals the heterogeneity of the single particle luminescence. Separate light and dark spots suggest that the luminescence centers within the same particles are unevenly distributed. Topographical image shows no variation of relief that could explain the granular structure of the particle luminescence.

For the characterization of the particles luminescence, measurements of luminescence kinetics were carried out. While measuring, the SNOM-probe was placed directly above the luminescent particle. Fig. 3 displays measured luminescence decay curves for luminescent nanodiamond particle in comparison with pure cover glass luminescence and pure SNOM-probe luminescence.

Due to rather weak luminescence intensity the useful optical signal can compete with the background Raman scattering of the fiber and cover glass. The high rate of registered pulses with small delay from the laser pulses ($t_L < 25$ ns) is caused by Raman scattering in the fiber and cover glass. We didn't consider these pulses during calculation of characteristic time of luminescence. Luminescence processes on the

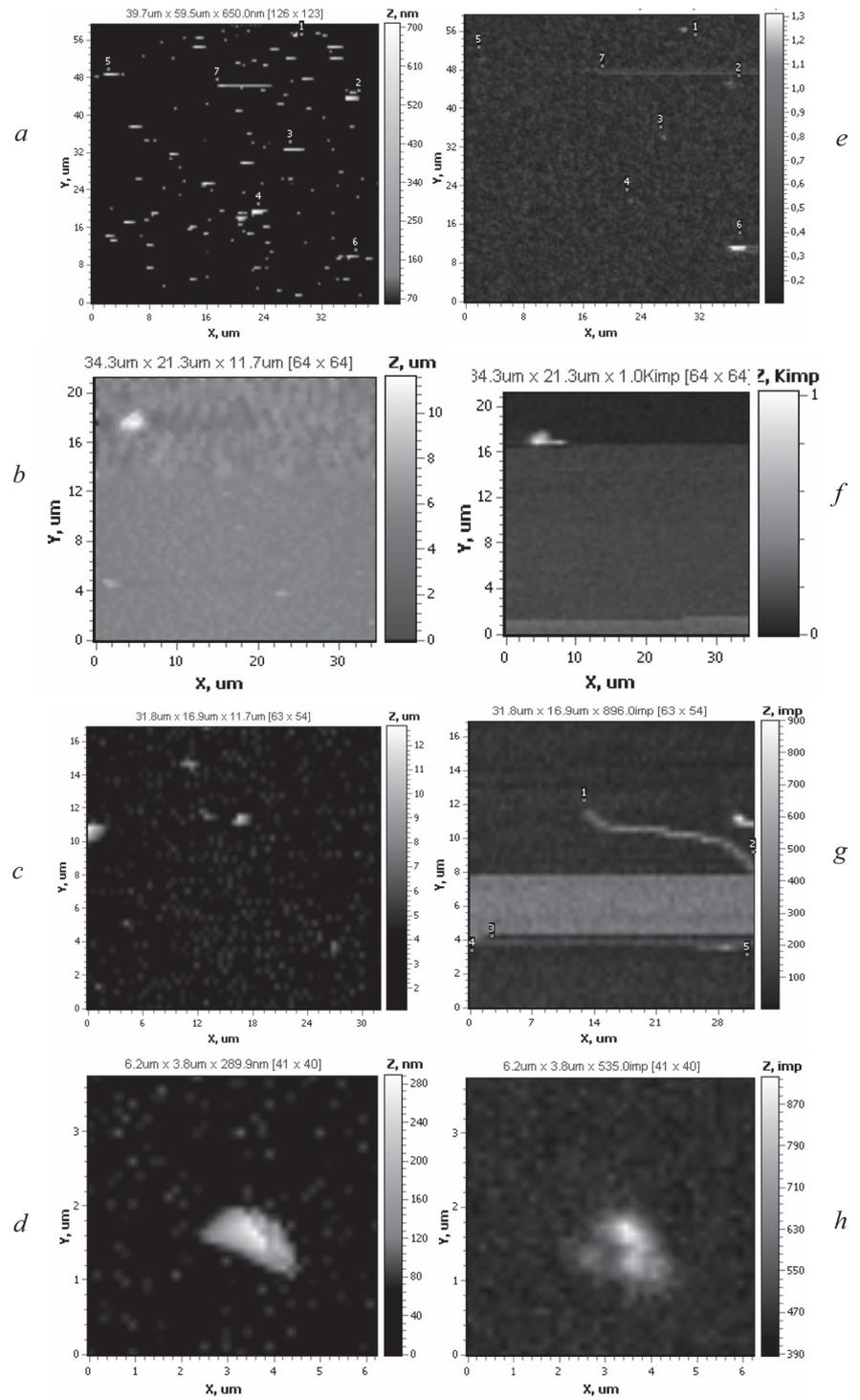


Fig. 2. SNOM images of nanodiamond samples: *a-d* – topography; *e-h* – fluorescence images

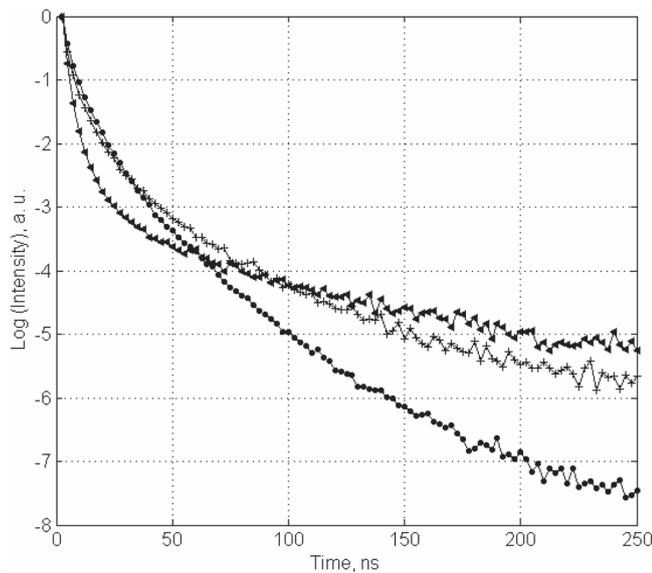


Fig. 3. Luminescence decay curves of pure probe without glass (*triangles*), pure cover glass (*pluses*), and nanodiamond film applied on the cover glass (*dots*)

25–150 ns timescale for probe and pure cover glass have characteristic time of 87 ns and 50 ns respectively. Measurements of luminescence kinetics for nanodiamond particle give a characteristic time of 33 ns in the same time interval which agrees with the lifetime of NV-center of 25 ns [3]. We can conclude, that although both fiber probe with cover glass and NV-centers in nanodiamond emit luminescence, in the latter case luminescence from NV-centers in nanodiamonds could be revealed by choosing a proper time interval and thus eliminating the luminescence contribution from impurities in cover glass and optical fiber.

References

1. Stable Solid-State Source of Single Photons / C. Kurtsiefer [et al.] // Phys. Rev. Lett. – 2000. – Vol. 85. – P. 290.
2. Photon antibunching in the fluorescence of individual colored centers in diamond / R. Brouri [et al.] // Opt. Lett. – 2000. – Vol. 25. – P. 1294.
3. Nonclassical radiation from diamond nanocrystals / A. Beveratos [et al.] // Phys. Rev. – 2001. – Vol. A 64. – P. 061802(R).
4. Five-nanometer diamond with luminescent nitrogen-vacancy defect centers / B. R. Smith [et al.] // Small. – 2009. – Vol. 5. – P. 1649–1653.
5. Sekatskii, S. K. Single fluorescence centers on the tips of crystal needles : First observation and prospects for application in scanning one-atom fluorescence microscopy / S. K. Sekatskii, V. S. Letokhov // Appl. Phys. B. : Opt. Lasers – 1996. – Vol. 63, N 5. – P. 525–530.

ANALYSING TOPOGRAPHY DATA FROM ATOMIC FORCE MICROSCOPY USING COMSOL MULTIPHYSICS

**Vo Thanh Tung¹, Nguyen Trong Tinh², Nguyen Hoang Yen¹,
Nguyen Dai Thach¹, Dang Anh Tuan¹**

¹*Hue University of Sciences, Vietnam*

²*Institute of Applied Physics and Scientific Instrument of Vietnamese Academy of Science and Technology, Vietnam*

This paper focuses on analysis of the image data representing 2D-material distributions and on identification of regions with different materials by their color or gray scale by using the Finite Element simulations performed with COMSOL Multiphysics. Topographic data from AFM images can be imported with a new Digital Elevation Map (DEM) interpolation function feature. An imported image is made available as a general COMSOL interpolation function that can be used for any modeling purposes.

Since its invention in 1986 by Binnig, Quate, and Gerber [1], the atomic force microscope (AFM) has become an indispensable tool for researchers in the physical, material, and biological science. The AFM quickly gained acceptance in these fields due to its ability to capture topographical maps of surfaces in either air or liquid with sub-angstrom (in Z) and nanometer (in XY) resolution. Today, extensive imaging modalities have been implemented on the AFM under the umbrella of scanning probe microscopy (SPM). In addition to topographical imaging, SPM has been used to measure magnetic fields, friction gradients, potentials, capacitance, current flow, piezo response, and temperature (to name a few) across a diverse array of samples [2–6]. Wider commercial availability of user-friendly instrumentation has put the AFM into the hands of more researchers, not only pushing the boundaries of its application in particular fields, but also bringing together scientists at the interfaces between disciplines.

In many applications of SPM, analysis of topography data from the SPM image is also an interested problem. In this present study, we use the Finite Element simulations performed with COMSOL Multiphysics to analyze topographic data from AFM images. In COMSOL Multiphysics, topographic data from AFM images (*JPG, JPEG, BMP, PNG, GIF image formats are supported*) can be imported with a new Digital Elevation Map (DEM) interpolation function feature. An important application of image import is the easy computation of equivalent volume – averaged material properties for highly inhomogeneous or porous materials. This means that the full power of COMSOL Multiphysics is available for DEM geometry representations and can be applied to any single physics or multiphysics simulation such as sub-surface flow, electromagnetics, acoustics, and structural mechanics. Furthermore an important application of image import is for easy computation of equivalent volume-averaged material properties for highly inhomogeneous or porous materials. This includes properties such as conductivity, permittivity, elasticity, or porosity and allows for converting spatially distributed values to a single representative averaged value.

It also brings greatly simplified meshing, less memory usage, and shorter computation times – this can be particularly important when the same type of analysis needs to be repeated many times for different images. Further, this paper will discuss the comprehensive solution adopted for converting the 3D digital images directly into the computational model. Some examples of tools for image processing and data segmentation with a unique algorithm for multipart marching cubes supported by a special multipart smoothing technique will be presented.

We designed the lab experiments on the development of atomic force microscope (AFM). Based on the described quartz tuning fork [7–10], the scanning probe microscope has been developed in our laboratory. Topography image data is received from the Fork-AFM (an applications of scanning probe microscopy that the tuning fork as a force sensor and connect it to atomic force microscopy NT-206 (Microtest-machines Co., Belarus) [11]). The results images of erythrocytes and amphiphilic polymer (poly-4-vinyl pyridine) are presented in Fig. 1. They then transferred these images to BPM files, which they finally imported into COMSOL Multiphysics.

Using COMSOL Multiphysics, image data is easily converted to represent 2D-material distributions or to identify regions with different materials by their color or gray scale. An imported image is made available as a general COMSOL interpolation function that can be used for any modeling purposes. Certain 3D-analyses are made possible by importing multiple images representing sections of a 3D-structure (Fig. 2, *b, d*). Further, an important application of image import is for easy computation and analyzing such equivalent material properties can then be used for simulations of larger structures avoiding detailed microscopic information. This modeling approach has several advantages such as avoiding the often difficult operations of image segmenting and image-to-geometry conversion. It also brings greatly simplified meshing, less memory usage, and shorter computation times – this can be par-

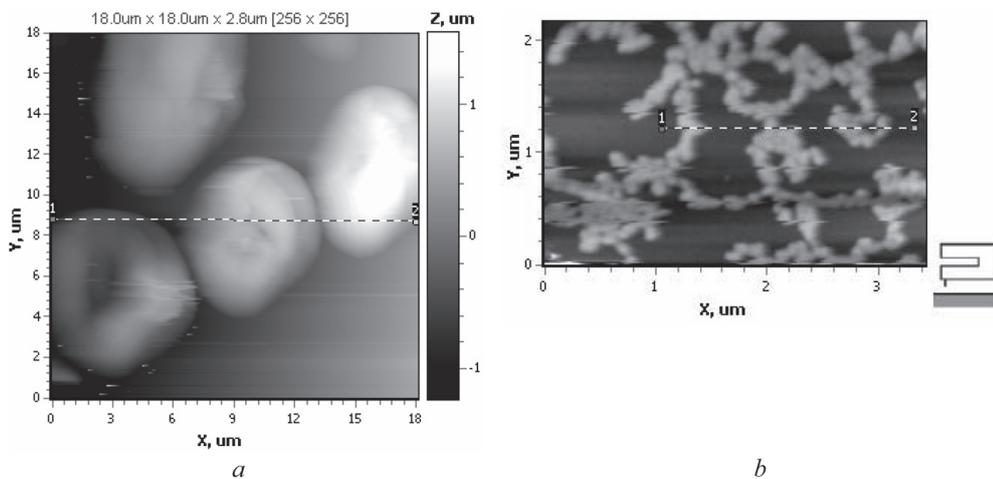


Fig. 1. Intermittent contact mode topographical images of erythrocytes (*a*) and Shear force mode topographical images of amphiphilic polymer (poly-4-vinyl pyridine, PVP) (*b*). The dimension of images is noted in the figure

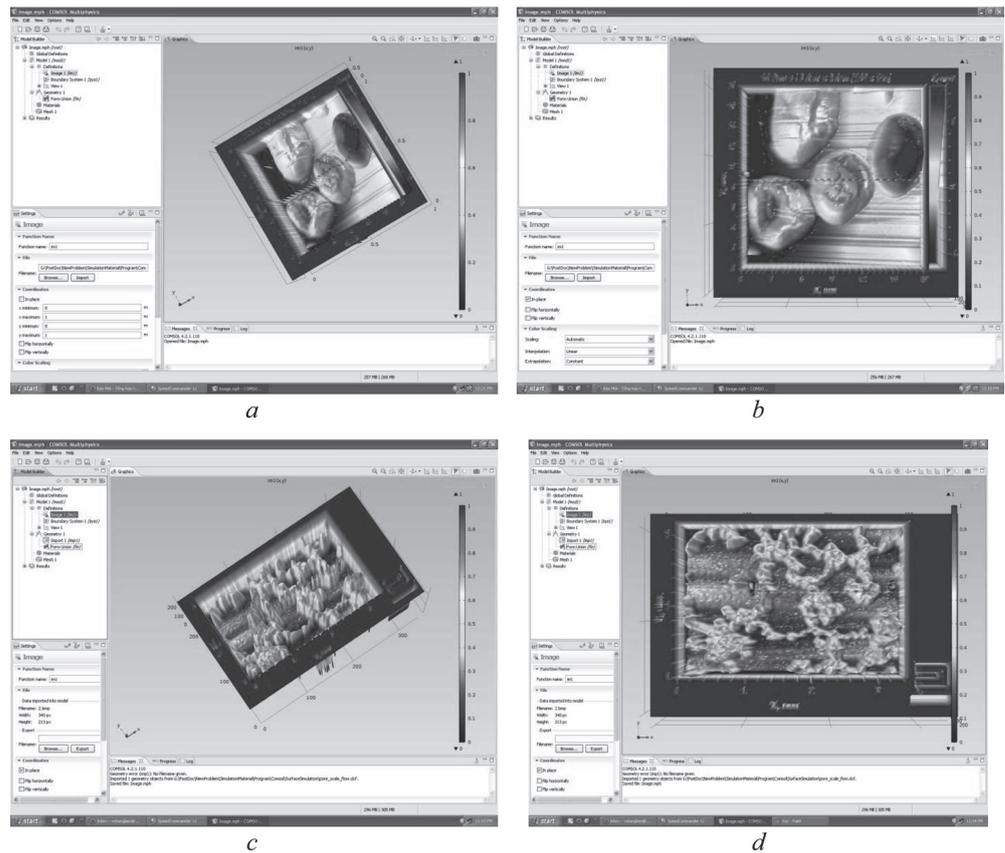


Fig. 2. FEM solution in COMSOL Multiphysics of the converted topography data of erythrocytes and amphiphilic polymer from Fig.1 (a–d)

ticularly important when the same type of analysis needs to be repeated many times for different images.

In conclusions, the finite element method performed by COMSOL Multiphysics is a well proved computational technique to investigate physical phenomena where an analytical approach is not possible. It showed already lots of applications in researching of the surface properties as well as the other information of materials. Further, from the received results, we thus suggest the combination of the using the simulation method in researching the properties of new materials to shorten time as well as money.

References

1. Binnig, G. Atomic force microscope / G. Binnig, C. F. Quate, C. Gerber // Phys. Rev. Lett. – 1986. – Vol. 56. – P. 930.
2. Imaging globular and filamentous proteins in physiological buffer solution in tapping mode atomic force microscopy / M. Fritz [et al.] // Langmuir. – 1995. – Vol. 11, N 9. – P. 3529–3535.
3. Protein tracking and observation of protein motion using atomic force microscopy / N. H. Thomson [et al.] // Biophys. J. – 1996. – Vol. 70, N 5. – P. 2421–2431.

4. High-resolution atomic-force microscopy of DNA: the pitch of the double helix / J. Mou [et al.] // FEBS Letters. – 1995. – Vol. 371. – P. 279–282.
5. *In situ* surface adsorption of the protein C hordein using atomic force microscopy / T. J. McMaster [et al.] // Langmuir. – 2000. – Vol. 16, N 4. – P. 1463–1468.
6. AFM review study on pox viruses and living cells / F. M. Ohnesorge [et al.] // Biophys J. – 1997. – Vol. 73, N 4. – P. 2183–94.
7. Forrer, M. P. A flexure-mode quartz for an electronic wrist-watch / M. P. Forrer // Proceedings 23rd ASFC. – 1969. – P. 157–162.
8. Yoda, H. Low power crystal oscillator for electronic wrist watch / H. Yoda, H. Ikeda, Y. Yamabe // Proceedings 26th ASFC. – 1972. – P. 140–147.
9. Rossing, T. D. On the acoustics of tuning forks / T. D. Rossing, D. A. Russel, D. E. Brown // Am. J. Phys. – 1992. – Vol. 60. – P. 620–626.
10. Ong, P. P. Little known facts about the common tuning fork / P. P. Ong // Phys. Educ. – 2002. – Vol. 37. – P. 540–542.
11. Многофункциональный сканирующий зондовый микроскоп NT-206 (атомно-силовой микроскоп) // ОДО «Микротестмашины» [Электронный ресурс]. – 2011. – Режим доступа : <http://microtm.com/nt206/nt206r.htm>. – Дата доступа : 10.05.2012.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ ФРАКТАЛЬНОЙ ГЕОМЕТРИИ ДЛЯ АНАЛИЗА ИЗБЫТОЧНОСТИ ДАННЫХ, ПОЛУЧЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АТОМНО-СИЛОВОГО МИКРОСКОПА

**С. М. Аракелян¹, С. В. Кутровская¹, А. О. Кучерик¹, Д. П. Троицкий¹,
В. А. Быков², С. И. Леесмент²**

¹Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Владимирский государственный университет», Владимир, Россия

²Закрытое акционерное общество «НТ-МДТ», Зеленоград, Россия

Методы атомно-силовой микроскопии (АСМ) получают все большее распространение в задачах исследования нанообъектов и наноструктур. Используемые подходы позволяют получать с высоким разрешением карту свойств поверхности. Для многих измерений принципиален вопрос об избыточности проводимых измерений и возможности управления качеством получаемой информации. В данной работе на основе методов фрактальной геометрии предложены, на примере одномерных зависимостей, методы управления качеством и точности получаемого информационного массива на основе АСМ-измерений.

Введение. Методы фрактальной геометрии, основанные на вычислении фрактальных размерностей [1] для изображений, полученных с применением растровых электронных и сканирующих атомно-силовых микроскопов, получают все большее распространение в задачах анализа наноразмерных объектов. Данные методы позволяют получать численные характеристики микро-

геометрии исследуемого объекта и дают возможность сравнения различных объектов по степени упорядоченности и подобия [1–3].

Однако в большинстве работ при расчете фрактальной размерности используются стандартные методы, основанные на методе покрытия Минковского [4–6]. Такой подход требует дополнительной обработки анализируемых данных. В данной работе предложен метод расчета фрактальной размерности, основанный на скейлинг-эффекте [5]. На основе анализа полученных зависимостей предложены методы оценки избыточности измерений и предложен метод программного улучшения качества проведенных измерений в аспекте повышения их информативности.

Процедура измерения фрактальной размерности и избыточность/достаточность измерений. Измерения проводили с использованием сканирующего зондового микроскопа (СЗМ) Интегра Аура производства компании НТ-МДТ. В качестве исследуемого объекта использовали калибровочную решетку TGZ 02 и полупроводниковую пленку PbSe толщиной 2 мкм с сильно развитым рельефом поверхности. Данные были получены методом контактной силовой микроскопии, в котором система обратной связи зондового микроскопа поддерживает через изменение длины пьезопривода постоянную величину прогиба кантилевера, что определяет тем самым постоянную силу взаимодействия в системе зонд–образец.

В процессе сканирования поверхности образца формирование СЗМ-изображения происходит следующим образом: пьезопривод передвигается в плоскости XY (плоскость изображения) в рамках прямоугольного поля, разбитого на ячейки раstra. В каждой точке заданного раstra происходит регистрация высоты рельефа (координата Z), а также других характеристик поверхности образца.

Для анализа проводили сканирование рельефа одного и того же участка соответствующего образца с различным пиксельным разрешением, определяемым программно. В качестве непосредственно анализируемых данных брали характерные профили измеренных двумерных карт рельефа.

Для расчета фрактальной размерности полученных таким образом зависимостей используются различные подходы, среди которых наибольшее распространение получил ряд методов, в частности подсчет ячеек, определение высот-высотной корреляции, нахождение структурной функции, расчет дисперсии высоты [1]. Данные методы достаточно чувствительны к изменению структуры рельефа, представляемого в виде определенного числового ряда, и позволяют количественно оценивать его топологическую сложность. Однако применение подобных методов требует дополнительной обработки анализируемых данных. Действительно, при использовании метода подсчета количества ячеек (наиболее распространенного в настоящее время) расчет фрактальной размерности D производится в соответствии с выражением [5, 6]

$$D = -\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \frac{\log N(\varepsilon)}{\log \varepsilon}, \quad (1)$$

где $N(\varepsilon)$ – количество ячеек покрытия; ε – радиус одной ячейки. Это предполагает, что для $N(\varepsilon)$ реализуется следующая зависимость:

$$N(\varepsilon) \approx \varepsilon^{-D}. \quad (2)$$

Очевидно, что ее вид зависит от начального радиуса ячейки покрытия и способа его изменения. Конкретизация соотношения (2) требует введения некоторой нормировочной константы, так как осуществить предельный переход в выражении (1) корректным образом для большинства выборок, длина которых не превышает нескольких сотен отсчетов, не представляется возможным.

Однако возможен другой подход, при котором используется определение фрактала как некоторого множества, отдельная часть которого несет в себе, в силу свойства подобия, информацию обо всем множестве [6]. Это позволяет на базе скейлинг-эффекта [5] производить непосредственный расчет длины ряда, характеризующего рельеф.

Процедура проведения такого анализа заключается в следующем. Определим подобие длины отдельных участков рельефа в виде соотношения

$$L(\delta) = L_0 \delta^{1-D}, \quad (3)$$

где L_0 – начальная длина ряда; $L(\delta)$ – длина ряда при его аппроксимации с выбранным шагом δ . Далее для непосредственного расчета фрактальной размерности используем следующий алгоритм.

Из всего массива данных выбираем 10% отсчетов, включающих в себя начальную, конечную и промежуточные точки, которые, в свою очередь, содержат максимальное и минимальное значения, расположенные по возможности на равном удалении друг от друга. Для полученной кривой рельефа рассчитываем длину $L(\delta)$. На следующем шаге в выборку добавляем еще 10% от общего количества значений и для полученной уточненной кривой рельефа снова рассчитываем длину $L(\delta)$. Такую последовательность вычислений продолжаем до полного насыщения ряда. Таким образом, с каждым расчетным шагом мы поэтапно аппроксимируем исходную кривую рельефа аналогично методу расчета в задаче определения длины береговой линии [4, 5].

Как видно из рис. 1, в целом зависимости длины рельефа ведут себя близким образом (для двух отмеченных методов расчета), расчет фрактальной размерности дает для первого случая значение 1,3, а для второго 1,4. В структуре зависимостей можно выделить различия.

Первое – для зависимости (1) заметно изменение длины рельефа ступеньками (что соответствует подбору некоторой эффективной меры множеств покрытия); при этом не достигается насыщение (т. е. предполагается, что исследуемое множество фрактально во всем диапазоне длин множеств покрытия).

Второе – при последовательной аппроксимации [выражение (3)] явно выделяется участок равного наклона, на котором и возможно корректное определение фрактальной размерности.

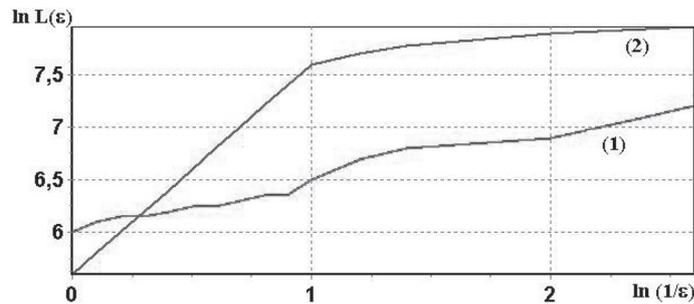


Рис. 1. График измерения длины кривой рельефа: 1 – методом подсчета ячеек; 2 – предлагаемым методом аппроксимации длины

Предлагаемый нами метод был протестирован на известных фрактальных множествах: кривая Кох, чертова лестница, пыль Кантора и т.д.

Для самоподобных фракталов значения размерностей, рассчитанных различными способами, отличаются не более чем на 0,05 от литературных данных о размерностях данных объектов [5, 6]. Однако при добавлении стохастичности в структуру фрактального множества второй способ более точно отражает изменение структуры по сравнению с самоподобной структурой.

Анализируя зависимость изменения длины фрактального множества при изменении точности аппроксимации, можно получить информацию об избыточности проводимых измерений.

Для более точного определения характера изменения длины измеряемой кривой рельефа исследуемых структур от точности аппроксимации процедура вычисления зависимости была изменена следующим образом: по оси ординат откладывалось отношение вычисленных длин кривой на разных шагах $\ln\left(\frac{L_i}{L_{i-1}}\right)$, а по оси абсцисс – отношение средних расстояний между соседними точками при различных шагах аппроксимации $\ln\left(\frac{\epsilon_{i-1}}{\epsilon_i}\right)$.

При выходе вычисляемой зависимости на насыщение изменение длины становится незначительным. Это означает, что регистрируемые изменения рельефа являются неинформативными. При данном значении отношения сигнал–шум, по всей видимости, невозможно говорить о точности проводимых измерений. Таким образом, появляется возможность управления качеством получаемой информации путем избавления от избыточности измерений.

Тестирование предложенного алгоритма было проведено на калибровочной решетке TGZ 02 [7]. Рассмотрим особенность измерения рельефа полупроводниковой пленки PbSe с различным пиксельным разрешением (рис. 2).

Выход на асимптотическое насыщение в зависимости от относительного изменения длины измеряемого ряда был выявлен в диапазоне 820–920 точек (рис. 2, б). При этом для количества измеряемых точек не менее 920 оказывается возможным передать как крупномасштабные, так и мелкомасштабные

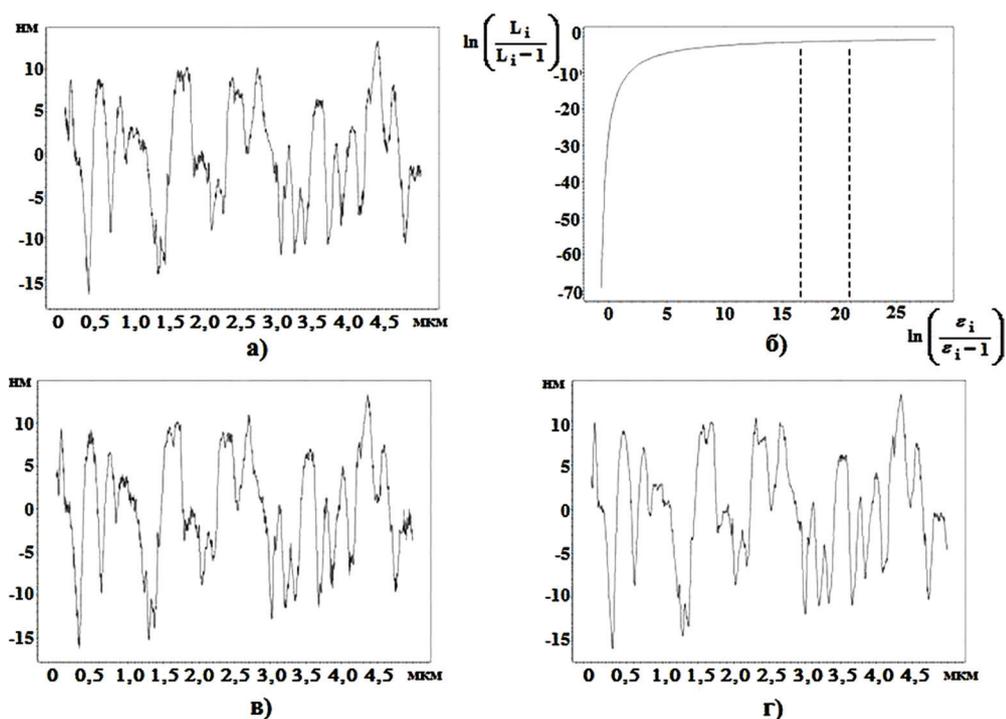


Рис. 2. Анализ рельефа полупроводниковой пленки: *а* – исходный рельеф (разрешение 1024 пикселя); *б* – график изменения длины кривой (разрешение 1024 пикселя) при расчете фрактальной размерности; *в* – измерение рельефа (разрешение 920 пикселей); *г* – измерение рельефа (разрешение 820 пикселей)

изменения рельефа. При уменьшении количества измерений до 820 пикселей структура измеряемого объекта сглаживается: происходит потеря высокочастотных пространственных компонент, но можно говорить об общем улучшении качества изображения.

Заключение. Определение фрактальных характеристик комплексных изображений позволяет проводить сравнение различных объектов по структурной сложности. Такой подход в особенности оправдан при решении задачи определения свойств нанобъектов в сканирующей зондовой микроскопии.

Для определения фрактальной размерности в этом случае предложен новый подход, основанный на применении скейлинг-эффекта, позволяющего существенно уменьшить необходимое для расчета характеристик получаемого изображения машинное время (сравнение показало увеличение эффективности до 50%). Определение фрактальных свойств структуры позволяет также управлять качеством получаемых изображений за счет избавления от избыточности измерений. В дальнейшем планируется расширить область применения предлагаемых методов анализа и обработки данных для произвольной размерности исследуемых объектов.

Список использованных источников

1. Определение фрактальной размерности поверхности эпитаксиального *n*-GaAs в локальном пределе / Н. А. Торохов [и др.] // Физика и техника полупроводников. – 2009. – Т. 43, вып. 1. – С. 38–46.
2. The Use of scanning probe microscopy for diagnostics of laser-induced surface instabilities Laser / A. O. Kuhcerik [et al.] // Physics. – 2005. – Vol. 15, N 7. – P. 1–4.
3. Fractal character of cold-deposited silver films determined by low-temperature scanning tunneling microscopy / C. Douketis [et al.] // Physical Review B. – 1995. – Vol. 51, N 16. – P. 51.
4. Zahn, W. The dependance of fractal dimension on measuring conditions of scanning probe microscopy / W. Zahn, A. Zösch // Fresenius J Analen Chem. – 1999. – Vol. 365. – P. 168–172.
5. Мандельброт, Б. Б. Фрактальная геометрия природы / Б. Б. Мандельброт. – М. : Институт компьютерных исследований, 2002.
6. Федер, Е. Фракталы / Е. Федер. – М. : Мир, 1991.
7. Использование методов фрактальной геометрии для анализа морфологических свойств и управления качеством получаемого информационного массива по результатам измерений наноразмерных объектов с использованием атомно-силового микроскопа / С. М. Аракеяня [и др.] // Нано- и микросистемная техника. – 2011. – № 4. – С. 8–13.

АНАЛИЗ РАЗМЕРОВ КРИСТАЛЛИТОВ В ТОНКИХ ПЛЕНКАХ ZnO НА ОСНОВЕ ЦИФРОВЫХ ДАННЫХ СКАНИРУЮЩЕГО ЗОНДОВОГО МИКРОСКОПА

А. А. Локтионов, А. Х. Аргынова, К. А. Мить, Д. М. Мухамедшина

Физико-технический институт, Алматы, Казахстан

Off-line анализ матриц данных сканирующего зондового микроскопа (СЗМ) методами непрерывного вейвлет-преобразования и самоорганизованной классификации позволил оценить корреляции размеров кристаллитов с морфологическими характеристиками тонких оксидных пленок. На этой основе нанокластерная структура образцов исследована с точностью, соответствующей результатам работы СЗМ с десятикратно более острым наконечником кантилевера. Полученные выводы хорошо согласуются с данными стандартного рентгеноструктурного анализа и исследованиями оптических спектров пропускания пленок. В результате открывается возможность оперативного управления технологическими процессами синтеза и модификации пленок на основе данных СЗМ.

Введение. Анализ результатов технологических процессов синтеза и модификации свойств тонких пленок металлооксидов требует исследований электрофизических, оптических, морфологических и структурно-размерных характеристик пленок, т. е. использования совокупности различных измерительных платформ, и, следовательно, значительных затрат времени и средств. Оценка размерно-морфологических корреляций открывает путь для реали-

зации математико-компьютерными средствами плодотворной идеи создания нанолaborатории на одной измерительной платформе [1], в которой можно было бы получать набор и морфологических, и размерно-структурных характеристик пленок. Действительно, размерные параметры кристаллитов в тонких пленках (в пределе – двумерных структурах) должны проявляться в морфологических свойствах поверхности. Обнаружение очень слабых искомым корреляций требует прецизионных измерений и анализа. В настоящей работе высокоточный набор цифровых XYZ-матриц координат пленок получен на сканирующем зондовом микроскопе JEOL-5200, а оценка корреляций осуществлена на основе эффективных методов спектрального и классификационного анализа данных. Все компьютерные подходы и разработки выполнены на основе исследований в области сканирующей зондовой микроскопии [2, 3], нейросетевого компьютеринга [4], вейвлет-анализа [5] в среде международной программной платформы MATLAB [5].

Воздействие водородной плазмой является эффективным средством модификации структурно-размерных параметров оксидов и свойств синтезированных пленок. В данной работе размерные характеристики кристаллитов изучали в зависимости от времени воздействия водородной плазмой на синтезированные золь-гель методом пленки оксида цинка.

Исходные данные. Пленки оксида цинка с хорошей химической однородностью были получены осаждением из раствора дигидрата ацетата цинка ($Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$), растворенного в изопропанолe (C_3H_7OH) с добавлением концентрированного гидроксида аммония (NH_4OH). Осаждение на стеклянную подложку осуществляли центрифугированием. Для исследования влияния времени обработки в плазме исходную пленку разрезали на четыре части. Первую часть оставляли неизменной в качестве контрольного образца, а три остальные обрабатывали в плазме тлеющего разряда водорода в течение 5, 10, 15 мин соответственно. Частота генератора составляла $27,12 \text{ МГц} \pm 0,6\%$, мощность плазмы – около 12,5 Вт. Температура образцов пленок при плазменной обработке не превышала $100 \text{ }^\circ\text{C}$.

Матрицы измерений всех образцов на СЗМ имели размерность по X , Y координатам 512×512 .

Анализ размеров кристаллитов по морфологическими характеристиками тонких пленок. Размерные характеристики пленок на наномасштабах оценены [6] на основе вейвлет-анализа измеренного ряда высот $f(z)$ на заданном линейном интервале изучаемой поверхности. Алгоритмы непрерывного вейвлет-преобразования [7, 8] выполняют декомпозицию данных нестационарных процессов с помощью набора хорошо локализованных «маленьких волн» – вейвлетов. Вклад каждой вейвлетной волны $W(a, b)$ зависит от масштаба волны a и ее координаты b . Результат анализа наглядно представляется в виде вейвлет-спектра – поверхности в трехмерном пространстве: $W(a, b)$ – амплитуда, a – масштаб и b – точка локализации. Такой подход позволяет изучать мельчайшие детали масштабного образа сигнала с расчетом относительного вклада каждой компоненты. Точность выделения кластерных структур при

этом соответствует результатам работы СЗМ с десятикратно более острым наконечником кантилевера. Схема процедуры оценки размеров кристаллитов представлена в левой части рис. 1. Результаты анализа для пленки с 10-минутной обработкой плазмой имеют двухмодальное распределение по размерам с отчетливым узким пиком в районе 5 нм и широким плато в районе нескольких десятков нанометров, – правая часть рис. 1. Подчеркнем, что во всех других вариантах обработки плазмой указания на малоразмерные кластеры отсутствуют.

Анализ сильных флуктуаций по Z-координате изучаемой поверхности.

Обнаружение и выделение характерных сильных флуктуаций по Z-координате изучаемой поверхности выполнено на основе методов самоорганизованной нейросетевой классификации Кохонена, – Self-Organizing Maps, – SOM [9], обеспечивающих важное условие поиска естественных группировок без априорных условий. Для выявления сложных, иерархически связанных между собой структур данных развита модель иерархически растущих самоорганизующихся карт, – Growing Hierarchical Self-Organizing Maps, – GHSOM [10]. Высокая точность классификации этого анализа открывает широкие возможности в проведении исследований по морфологии тонких пленок.

Схема работы алгоритма представлена на рис. 2, левая часть которого показывает классификационную GHSOM-карту. На представленном уровне анализа GHSOM-карта содержит четыре классификационные ячейки (2, 3, 4, 5) для выделенных кластеров максимальных, минимальных и промежуточных толщин пленки. Области максимальных толщин соответствует четвертая ячейка, минимальных толщин – третья ячейка. Правая часть рисунка содержит карты (Map2, Map3, Map4, Map5) распределения высот кластеров на пленке,

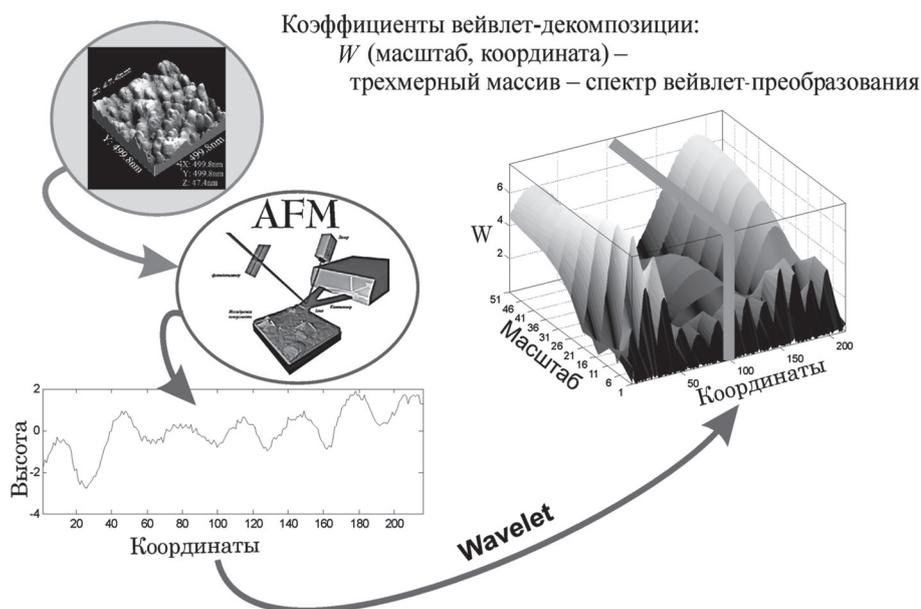


Рис. 1. Схема и результаты работы вейвлет-анализа

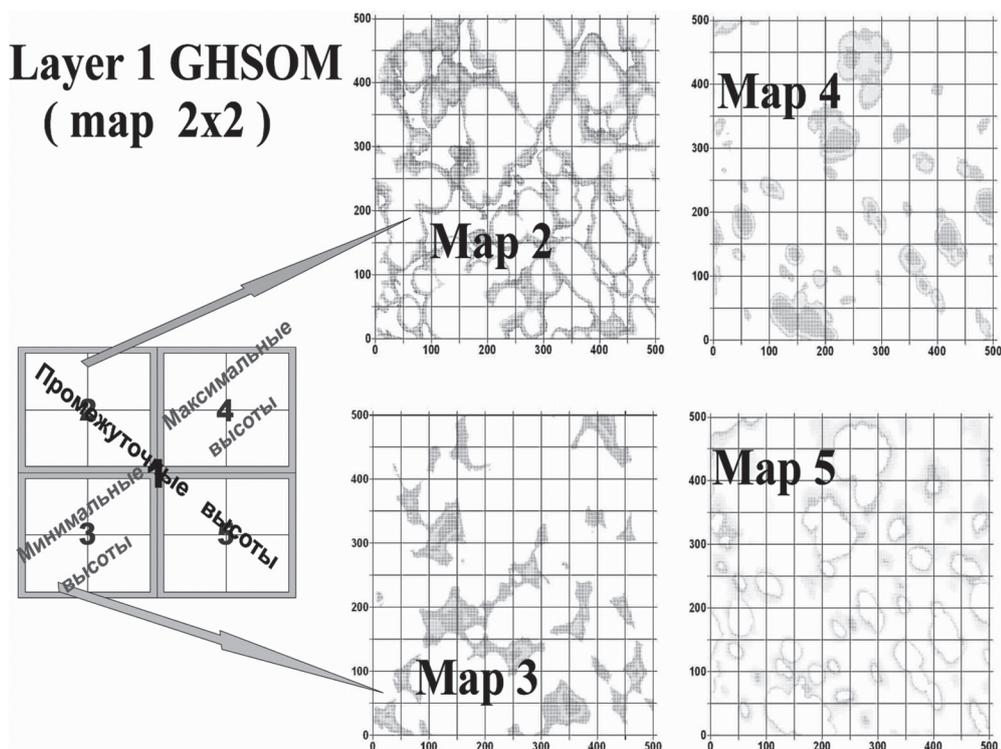


Рис. 2. Схема анализа сильных Z-флуктуаций на основе GHSOM

полученные «развертыванием» соответствующих GHSOM-данных с учетом X-, Y-координат кластеров.

Результаты анализа, представленные в таблице, показывают, что морфологические параметры пленок ZnO, в зависимости от времени последующей обработки плазмой, образуют отчетливую параболическую зависимость с резко выделяющимся минимальным значением (13,7 нм) для пленки, обработанной плазмой в течение 10 мин. Полученный результат открывает возможность оперативного управления элементами технологического процесса [11] для достижения заданных характеристик пленок.

Максимальные высоты кластеров

ZnO	AV_Z
00	39,5
05	34,5
10	13,7
15	24,4

Результаты анализа и размерно-структурные фазовые переходы. Компьютерный анализ структуры флуктуаций по Z-координате и масштабным характеристикам кристаллитов показывает характерное отличие для пленки

ZnO при 10-минутной обработке плазмой: только у этой пленки проявляются малоразмерные кластеры и наблюдается резкое уменьшение высот морфологических структур. Совокупность полученных результатов проинтерпретирована с позиций размерно-структурных фазовых переходов [12]. Действительно, сильные флуктуации являются характерной особенностью систем при приближении к точке фазового перехода. В точке фазового перехода, т. е. в точке минимума флуктуаций по Z -координате, обнаружены малоразмерные (5 нм) кристаллиты. Как уже было отмечено, на пленке контрольного образца и пленке, обработанных в течение 10 и 15 мин плазмой, указания на малоразмерные кластеры отсутствуют.

Сравнение аналитических результатов с прямыми рентгеновскими и оптическими измерениями. Измерение рентгеновских и оптических спектров пропускания создает исчерпывающие возможности для выполнения полного структурно-размерного анализа достаточно сложной гексагональной структуры пленок ZnO типа вюрцит. Результаты такого анализа оксидных пленок в зависимости от времени последующей обработки плазмой показали отличие пленки, обработанной в течение 10 мин, от остальных исследуемых образцов. Рентгенограмма только этой пленки на рис. 3 имеет высокую интенсивность пика новой фазы с индексом Миллера (103), соответствующую малоразмер-

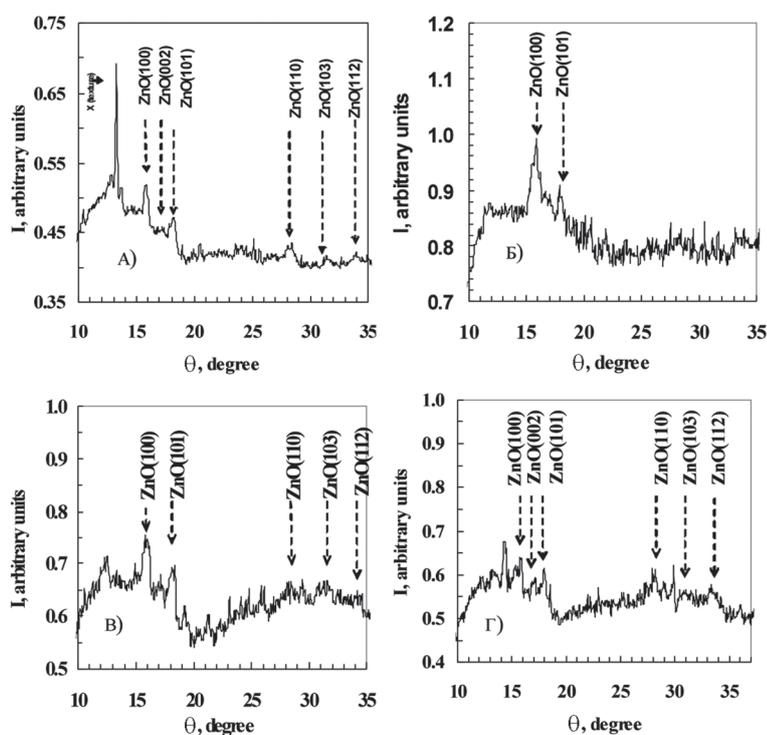


Рис. 3. Рентгенограммы интенсивности пленок ZnO: *a* – полученных золь-гель методом; *б-г* – модифицированных обработкой в водородной плазме в течение 5 (*б*), 10 (*в*), 15 мин (*г*)

ным кристаллитам. Аналогичным образом набор спектров пропускания на рис. 4 показывает, что именно 10-минутная обработка плазмой дает максимум прозрачности на длине волны ~ 500 нм и минимум на длине волны ~ 1000 нм. В целом результаты рентгеновских исследований (рис. 3) всех пленок показывают наличие линий поликристаллической фазы ZnO с хорошо сформированными кристаллитами. При этом две линии отражения от плоскостей с индексами Миллера (100) и (101) наблюдаются на всех исследуемых пленках, показывая стабильность определенных структурных параметров оксида цинка.

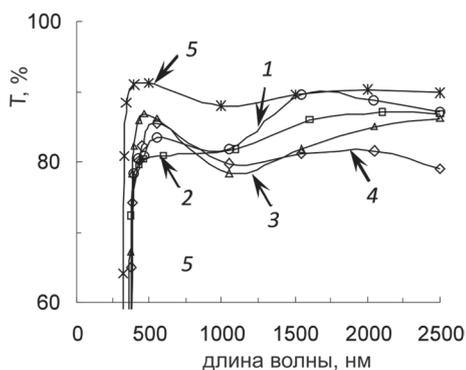


Рис. 4. Оптические спектры пропускания пленок ZnO: 1 – после синтеза; 2–4 – модифицированных обработкой в водородной плазме в течение 5 (2), 10 (3), 15 мин (4); 5 – стекло (подложка)

Выводы. Установлены корреляции размеров кристаллитов с морфологическими характеристиками тонких оксидных пленок на основе off-line анализа матриц данных сканирующего зондового микроскопа методами непрерывного вейвлет-преобразования и самоорганизованной классификации. Прямые рентгеноструктурные и оптические измерения подтвердили этот вывод. Точность выделения кластерных структур в корреляционном подходе соответствует результатам работы СЗМ с десятикратно более острым наконечником кантилевера.

Совокупность полученных результатов по модификации параметров оксидов под воздействием водородной плазмы проинтерпретирована с позиций размерно-структурных фазовых переходов. Показана возможность на основе данных СЗМ оперативно управлять элементами технологического процесса для получения заданных характеристик пленок.

Список использованных источников

1. NT-MDT. Application notes [Электронный ресурс] / ЗАО «НТ-МДТ». – Зеленоград, 2009–2012. – Режим доступа : www.ntmdt.com/platform/ntegra. – Дата доступа : 05.07.2012.
2. WSXM : a software for scanning probe microscopy and a tool for nanotechnology / R. Fernández Horcas [et al.] // Rev. Sci. Instrum. 78. – 2007. – P. 013705-1–013705-8.
3. Company JEOL. Scanning probe microscope [Electronic resource] / International company for electron optics instruments. – Tokyo, Japan. – 1988–2011. – Mode of access : <http://www.jeol.co.jp/jeol>. – Date of access : 05.07.2012.
4. SOM_PAK : the self-Organizing Map Program Package / T. Kohonen [et al.]. – Technical Report A31, Helsinki University of Technology. – 1996.
5. Mathworks [Electronic resource] / Software company for engineers and scientists. – Massachusetts, U.S.A. – 1984–2012. – Mode of access : www.mathworks.com. – Date of access : 05.07.2012.
6. Компьютерные методы поиска наноструктур в тонких пленках / А. Х. Аргынова [и др.] // Ядерная и радиационная физика : 7-я Междунар. конф. ICNRP' 09, НЯЦ РК, 8–11 сент. 2009 г. / ред. К. К. Кадыржанов. – Алматы, 2010. – С. 231–234.

7. Астафьева, Н. М. Вейвлет-анализ: основы теории и применения / Н. М. Астафьева // УФН. – 1996. – № 11. – С. 1145–1170.
8. Lee Fugal, D. Conceptual wavelets in digital signal processing / D. Lee Fugal // Space&Signals Techn. Pub. – 2009. – P. 374.
9. Kohonen, T. Self-Organizing Maps / T. Kohonen // Springer. – 3-rd ed. – 2001. – Vol. 30. – P. 501.
10. Pampalk, E. A new approach to hierarchical clustering and structuring of data with Self-Organizing Maps / E. Pampalk // Intelligent data Analysis Journal. – 2004. – N 8(2). – P. 131–149.
11. Расширение возможностей сканирующей зондовой микроскопии на основе аналитических подходов / А. Х. Аргынова [и др.] // Перспективные технологии, оборудование и аналитические системы для материаловедения и наноматериалов : 8-я Междунар. науч. конф., КазНУ, Алматы, 9–10 июня 2011 г. – Алматы, 2011. – В печати.
12. Плазменная модификация структурно-размерных параметров оксидных пленок / А. Х. Аргынова [и др.] // Современное состояние химии и технологии неорганических веществ и материалов : междунар. конф., КазНУ, Алматы, 20–21 окт. 2011 г. – Алматы, 2011. – В печати.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ ФРАКТАЛЬНОЙ ГЕОМЕТРИИ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ КАЧЕСТВА ИЗОБРАЖЕНИЙ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Д. С. Ногтев¹, С. В. Кутровская¹, А. О. Кучерик¹, В. А. Быков²,
С. И. Леесмент²

¹Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Владимирский государственный университет», Владимир, Россия

²Закрытое акционерное общество «НТ-МДТ», Зеленоград, Россия

В данной работе на основе методов фрактальной геометрии предложены, на примере одномерных зависимостей, методы управления качеством и точности получаемого информационного массива на основе АСМ-измерений.

Введение. Методы фрактальной геометрии, основанные на вычислении фрактальных размерностей [1] или определении показателя Херста [2, 3] для изображений, полученных с применением растровых электронных и сканирующих атомно-силовых микроскопов, получают все большее распространение в задачах анализа наноразмерных объектов. Данные методы позволяют получать численные характеристики микрогеометрии исследуемого объекта и дают возможность сравнения различных объектов по степени упорядоченности и подобия [4, 5].

Расчет показателя Херста и улучшение качества изображений. Измерения проводили с использованием сканирующего зондового микроскопа (СЗМ) Интегра Аура производства компании НТ-МДТ. В качестве исследуемого объекта использовали полупроводниковую пленку PbSe толщиной 2 мкм с сильно развитым рельефом поверхности. Данные были получены методом контактной силовой микроскопии, в котором система обратной связи зондового ми-

кроскопа поддерживает через изменение длины пьезопривода постоянную величину прогиба кантилевера, что определяет тем самым постоянную силу взаимодействия в системе зонд–образец.

В процессе сканирования поверхности образца формирование СЗМ-изображения происходит следующим образом: пьезопривод передвигается в плоскости XU (плоскость изображения) в рамках прямоугольного поля, разбитого на ячейки раstra. В каждой точке заданного раstra происходит регистрация высоты рельефа (координата Z), а также других характеристик поверхности образца. В качестве непосредственно анализируемых данных брали характерные профили измеренных двумерных карт рельефа (рис. 1).

Для возможности сравнения фрактальных множеств между собой в настоящее время широко применяют метод расчета показателя Херста [2, 6–8]. В общем случае, для самоподобных множеств на плоскости, фрактальная размерность D и показатель Херста H связаны между собой отношением

$$D = 2 - H. \quad (1)$$

Однако для стохастических фрактальных структур, к которым ближе результаты многих измерений [1–4], данное отношение не всегда является верным. Поэтому расчет показателя Херста, является отдельной и актуальной задачей, дающей возможность получить дополнительную информацию о структуре исследуемого множества.

Для расчета показателя Херста нами был использован стандартный метод нормированного размаха, основанный на следующем эмпирическом отношении:

$$\frac{R(\Delta x)}{S(\Delta x)} \approx \Delta x^H, \quad (2)$$

где $R(\Delta x)$ – размах накопленного на участке Δx отклонения, $S(\Delta x)$ – среднеквадратичное отклонение высот на данном участке. Возможность определения показателя H указывает на наличие корреляции высот в выбранной области.

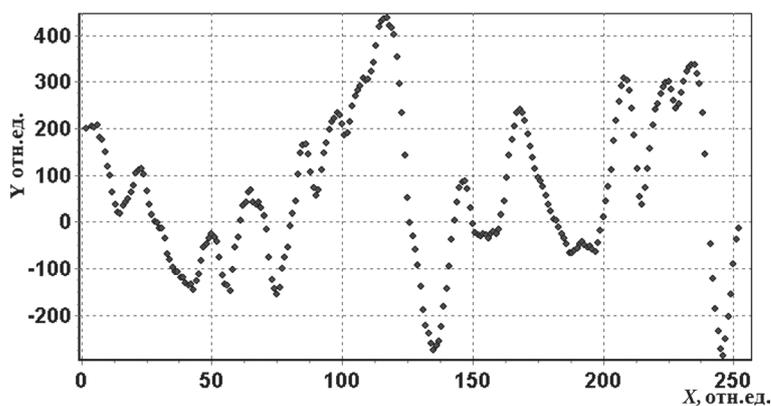


Рис. 1. Пример профиля исследуемого рельефа поверхности

Используя показатель Херста, рассчитанный по формуле (2), можно определить коэффициент корреляции высот в указанной области:

$$C(\Delta x) = 2^{2H-1} - 1. \quad (3)$$

Таким образом, при $H = \frac{1}{2}$ имеется гауссово распределение; в других случаях в распределении высот имеется определенный тренд.

Если $\frac{1}{2} < H < 1$, говорят о «персистентности» распределения, т. е. имеет место «поддержка» тенденции; чем ближе значение показателя Херста к единице, тем более монотонным будет поведение зависимости [7].

Если $\frac{1}{2} > H > 0$, говорят об «антиперсистентности», т. е. на исследуемом участке происходит частая смена тенденции; чем ближе значения показателя Херста к нулю, тем более периодическим становится поведение исследуемой зависимости.

В настоящее время обсуждается возможность достижения показателем Херста значения больше единицы, в этом случае говорят о так называемом полете Леви, т. е. имеется множество разрывов производной, а распределение также является антиперсистентным [8].

При проведенных нами тестовых измерениях на известных фрактальных множествах достигалось выполнение равенства (1). При анализе результатов измерений на реально полученных структурах в большинстве случаев было обнаружено отклонение от равенства (1) на от $\pm 0,1$ до $\pm 0,3$. Отклонение было тем большим, чем менее однородным и подобным становилась структура фрактального множества. И чем больше значение показателя отдалается от $\frac{1}{2}$, тем более предсказуемым становится распределение высот в исследуемой области. Данный факт открывает возможность использования показателя Херста для улучшения качества получаемых изображений [9]. Для этого можно использовать так называемый алгоритм случайных сложений Фосса [8–10]. Суть метода заключается в том, что, имея некоторую произвольную зависимость, можно построить случайный рельеф, используя следующий рекурсивный алгоритм.

Между исходными точками последовательности (рис. 2), путем случайного сложения добавляют новые точки последовательности (итог представлен в виде ломаной кривой, проведенной между круглыми маркерами); начальное значение точки соответствует среднеарифметическому значению двух соседних измерений (треугольники на графике). К этому значению случайным образом добавляют независимые приращения; при этом на каждом шаге генерации дисперсия ведет себя по закону

$$\sigma^2(d_i) = r^{2H} \sigma^2(d_{i-1}), \quad (4)$$

где $\sigma^2(d_i)$ – дисперсия приращений для i -го шага; r – коэффициент разбиения.

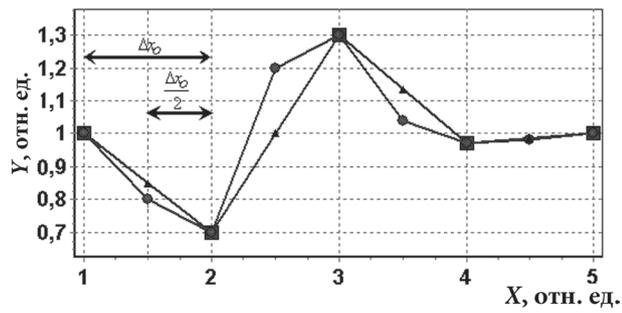


Рис. 2. Демонстрация примера построения фрактальной кривой методом случайного сложения Фосса

В этом случае показатель Херста выбирается произвольным образом, как и шаг разбиения. Для нашего случая показатель Херста рассчитан и поэтому мы можем дополнить последовательность измерений, не изменяя корреляцию в распределении высот.

На рис. 3 показан пример такого улучшения качества. Рис. 3, *а* представляет кривую рис. 1, из которой последовательно удалена каждая вторая из-

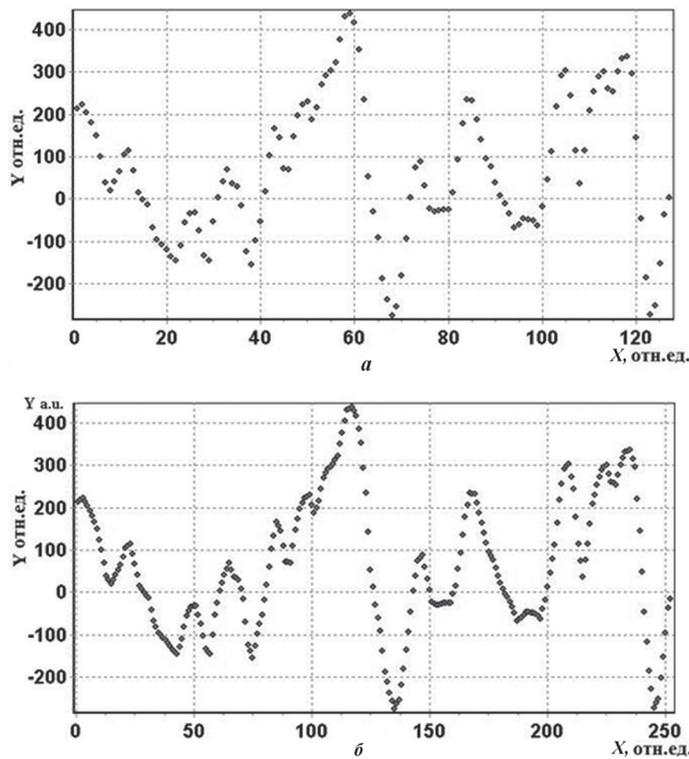


Рис. 3. Улучшение качества изображений: *а* – прореженная последовательность; *б* – восстановленная последовательность

меренная высота. После чего, определив начальную дисперсию и показатель Херста по алгоритму случайных сложений Фосса, проведено добавление новых точек. Результат восстановления представлен на рис. 3, б. Для представленной зависимости относительная ошибка восстановления составила около 101%. Это связано с тем, что в выбранном примере имеются как мелкомасштабные, так и крупномасштабные изменения. При восстановлении более «однородных» зависимостей ошибка достигала не более 4%.

Выводы. В данной работе на основе метода нормированного размаха реализован расчет показателя Херста для результатов АСМ-исследований. С использованием метода модифицированного алгоритма Фосса предложен метод программного улучшения качества проведенных измерений в аспекте повышения их информативности. Показано, что возможно улучшение разрешения результатов сканирования с относительной ошибкой не более 10%. Предлагаемый метод планируется использовать для обработки результатов исследовательских методов, требующих значительного количества времени для получения качественных данных, с целью ускорения работы атомно-силового микроскопа.

Список использованных источников

1. Определение фрактальной размерности поверхности эпитаксиального *n*-GaAs в локальном пределе / Н. А. Торохов [и др.] // Физика и техника полупроводников. – 2009. – Т. 43, вып. 1. – С. 38–46.
2. Герасименко, Н. Н. Фрактальные методы анализа степени упорядоченности наноструктур / Н. Н. Герасименко, С. А. Апрелов // Российские нанотехнологии. – 2007. – Т. 2, № 1–2. – С. 136–139.
3. Будаев, В. П. Фрактальная нано- и микроструктура осажденных пленок в термоядерных установках / В. П. Будаев, Л. Н. Химченко // Вопросы атомной науки и техники. – 2008. – Сер. Термоядерный синтез, вып. 3. – С. 34–61.
4. Fractal character of cold-deposited silver films determined by low-temperature scanning tunneling microscopy / C. Douketis [et al.] // Physical Review B. – 1995. – Vol. 51, N 16. – P. 51.
5. Zahn, W. The dependance of fractal dimension on measuring conditions of scanning probe microscopy / W. Zahn, A. Zösch // Fresenius J Analen Chem. – 1999. – Vol. 365. – P. 168–172.
6. Мандельброт, Б. Б. Фрактальная геометрия природы / Б. Б. Мандельброт. – М. : Институт компьютерных исследований, 2002. – 656 с.
7. Федер, Е. Фракталы / Е. Федер. – М. : Мир, 1991. – 254 с.
8. Потапов, А. А. Фракталы в радиофизике и радиолокации: Топология выборки / А. А. Потапов. – М. : Университетская книга, 2005. – 847 с.
9. The Use of scanning probe microscopy for diagnostics of laser-induced surface instabilities / A. O. Kuhcerik [et al.] // Laser Physics. – 2005. – Vol. 15, N 7. – P. 1–4.
10. Шитов, В. В. О модификации алгоритма Фосса при моделировании внутренней структуры пористой среды / В. В. Шитов, П. В. Москалев // ЖТФ. – 2005. – Т. 75, вып. 2. – С. 1–5.

АТОМНО-СИЛОВАЯ МИКРОСКОПИЯ ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ И ПРОЧНОСТНЫХ СВОЙСТВ ОКСИДНЫХ И АДСОРБЦИОННЫХ СЛОЕВ

С. О. Абетковская¹, В. В. Чикунов¹, И. В. Погоцкая¹, С. А. Чижик¹,
Нгуен Тронг Тинх², Во Тхан Тунг³

¹*Институт тепло- и массообмена имени А. В. Лыкова НАН Беларуси,
Минск, Беларусь*

²*Институт прикладной физики и научного инструмента
Вьетнамской академии наук и технологий, Ханой, Вьетнам*

³*Университет г. Хуэ, Хуэ, Вьетнам*

Введение. Развитие микро- и нанoeлектроники, разработка микроэлектромеханических систем, сенсоров, биоимплантантов подразумевает использование тонких пленок и слоев, наноструктурированных покрытий [1].

Оптимальное проектирование и использование наноструктурированных материалов сдерживается отсутствием знаний о механических и электрических свойствах данных структур, которые качественно и количественно отличаются от свойств материалов в макрообъемах. Атомно-силовая микроскопия является эффективным инструментом для определения локальных электрических свойств наноструктурированных материалов [2, 3].

Цель работы – измерить электрические и прочностные свойства адсорбционных и оксидных слоев, образующихся на поверхности металлов, с целью учета их влияния при проектировании прецизионных узлов трения.

Материалы и методы исследования. Исследование выполнено с помощью атомно-силового микроскопа (АСМ) «НТ-206» (ОДО «Микротестмашины», Беларусь) с дополнительной функцией, позволяющей прикладывать напряжение на электропроводящий зонд и электропроводящий образец. Использовали динамические зонды с платиновым покрытием («Micromash Co.», Эстония). Посредством пикоамперметра осуществляли подачу напряжения на зонд. В обычном динамическом режиме АСМ зафиксировать протекающий ток между зондом и образцом не удалось даже при приложении максимально возможной нагрузки. Это объясняется кратковременным прерывистым контактом зонда и образца. Дополнительное нагружение зонда образцом путем сближения с данным образцом приводило к подавлению колебаний зонда.

В этой связи в конструкцию АСМ внесены изменения (рис. 1). Блоком управления выполняется генерация механических колебаний предметного столика АСМ, который, в свою очередь, возбуждает механические колебания зонда при контакте с ним. Рабочая частота колебаний пьезоэлемента составила 4,2–4,4 кГц. Значительно более массивный по сравнению с микрозондом пьезоэлемент совершает незатухающие вынужденные вертикальные колебания, что позволяет задать нагрузку, необходимую для продолжительного контакта зонда и образца. Регистрация движения зонда происходит с помощью фотодетектора, изменение силы тока производится пикодетектором.

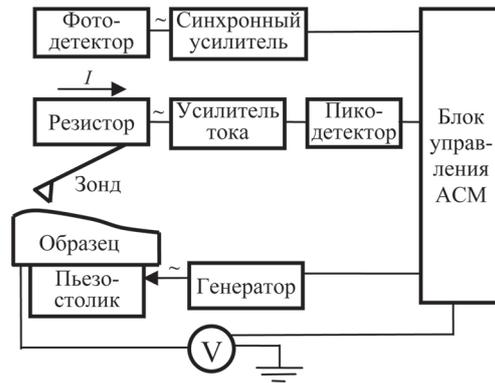


Рис. 1. Схема измерений параметров при электромеханическом взаимодействии зонда с поверхностью образца

Для испытаний прочностных и электрических свойств оксидных и адсорбционных слоев подобраны следующие образцы:

- слой титана толщиной 100 нм, нанесенный на кремниевую подложку. С течением времени на поверхности титана при контакте с воздухом образуется адсорбционный слой;
- слой алюминия толщиной 200 нм, нанесенный на кремниевую подложку. При контакте образца с воздухом образуется окисная пленка. Слои металлов сформированы на кремнии магнитронным распылением в высоком вакууме.

Результаты и их обсуждение. Топографии поверхностей алюминия и титана получены в статическом режиме АСМ (рис. 2). Размер зерна пленки алюминия значительно больший, чем пленки титана.

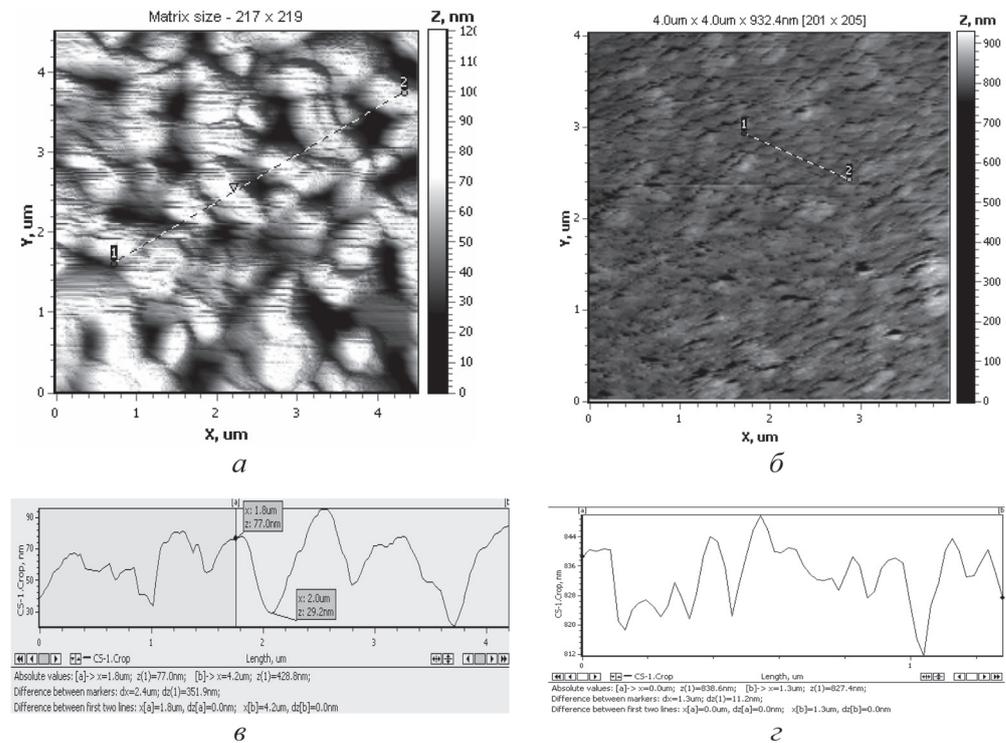


Рис. 2. АСМ-изображения поверхностей слоев алюминия (а, в) и титана (б, г): а, б – топографии, в, г – профили сечений. Размер площадок поверхности 4 × 4 мкм

Схема электрического воздействия следующая: осуществляли подачу напряжения в статическом режиме, затем в динамическом и снова в статическом. Затем напряжение повышали и схему повторяли. С помощью пикоамперметра регистрировали изменения во времени усредненного значения силы тока, протекающего от зонда к образцу. Измеряли также силу тока в статическом режиме до и после динамического воздействия. Ток регистрировался, пока не наступало некоторое «насыщение», после чего увеличение ни напряжения, ни механической нагрузки уже не приводило к протеканию тока через данную точку поверхности. Под отсутствием тока в данных экспериментах понимается наличие некоего отрицательного туннельного тока порядка -10 нА, в том числе при отсутствии напряжения.

Для алюминиевого покрытия использование только статического режима с подачей напряжения оказывалось недостаточным для возникновения силы тока при высоком прижатии зонда к образцу и напряжениях до $+10$ В. В динамическом режиме зонд испытывает дополнительную нагрузку со стороны колеблющегося образца, что позволило пробивать оксидный слой при напряжениях $+5$ В и выше. Это подтверждается наличием положительной силы тока после выключения динамического режима. При подаче напряжения $+10$ В в динамическом режиме положительная сила тока зарегистрирована в 100% случаев. Значения силы тока составляли порядка нескольких пикоампер.

Для титанового покрытия зарегистрирована значительно большая сила тока (от десятков наноампер до нескольких микроампер) при напряжениях от $+0,4$ до $+2$ В. Это свидетельствует о меньшей прочности адсорбционного слоя на поверхности титана по сравнению с оксидным слоем на алюминии. Графики зависимости усредненной силы тока, измеренной в динамическом режиме для образцов алюминия и титана, от напряжения, поданного на зонд, приведены на рис. 3.

Предположительно, необратимое «насыщение» следует связывать с формированием на поверхности металла «островков» в местах локального электрического воздействия (рис. 4). Так, в точке *A* поверхности титанового покрытия подавали напряжение от $+0,001$ до $+3$ В. Максимальное достигнутое значение электрического тока составило $+3,4$ мкА, а общая продолжительность электрического воздействия – 18 мин. После этого было записано изображение (рис. 4, *a*). В точке *B* напряжение задавали от $+0,001$ до $+10$ В, а также -10 В. Максимальное значение электрического тока при положительном напряжении составило $+45,9$ мкА. Продолжительность воздействия – 9 мин. Далее было записано еще одно изображение (рис. 4, *b*).

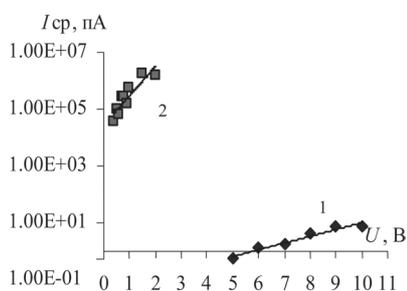


Рис. 3. Зависимости усредненной силы переменного тока от напряжения, измеренной при динамическом электро-механическом взаимодействии АСМ-зонда и образцов покрытий: 1 – алюминия; 2 – титана

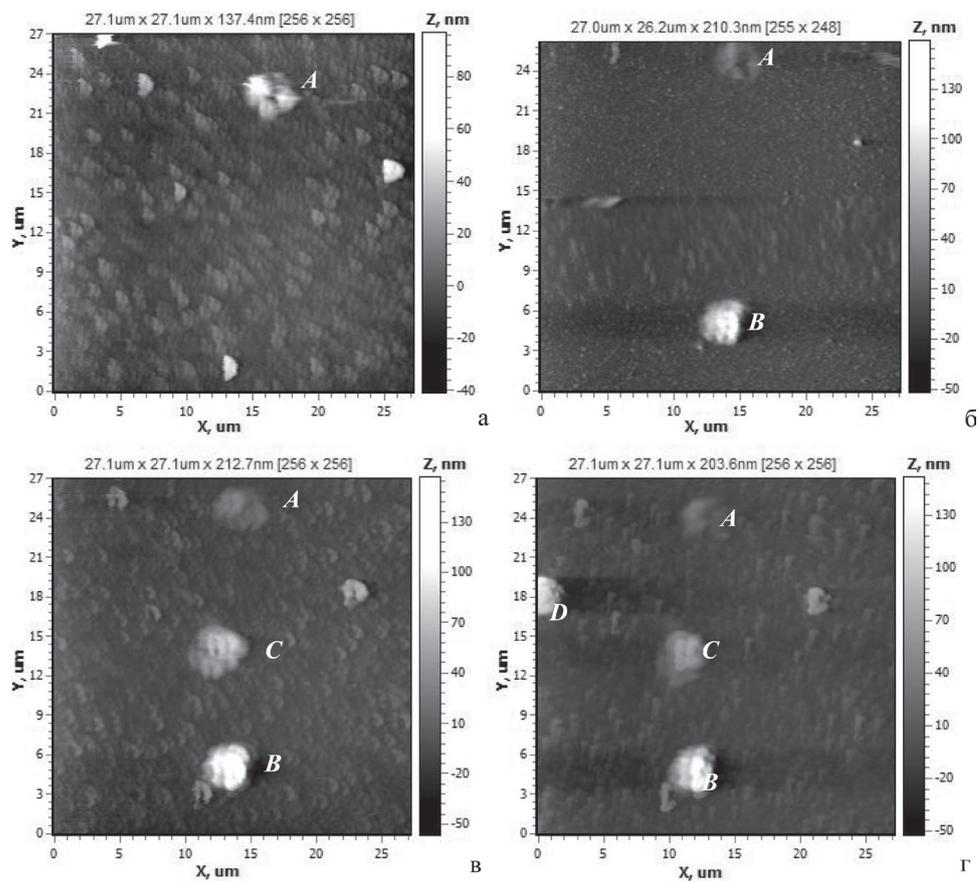


Рис. 4. Изображения (а–г) наростов на поверхности титана (А–D) после локального электрического взаимодействия с зондом

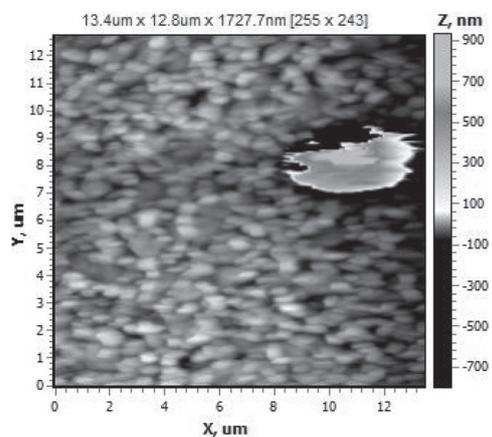


Рис. 5. Образование в месте электрического взаимодействия зонда и образца на поверхности алюминия

В точке С (рис. 4, в) подавали напряжение от +0,01 до +10 В и –10 В. Максимальное значение тока при положительном напряжении составило +34,1 мкА. В точке D (рис. 4, г) подавали только отрицательное напряжение –10 В в течение 50 с. Был зарегистрирован ток до –61 мкА в статическом режиме.

Изменение формы зерен на изображениях поверхности титана говорит об изменении формы острия зонда в процессе электрического взаимодействия.

На образце алюминия после экспериментов по оценке прочностных

и электрических свойств оксидного слоя в месте воздействия также обнаружен нарост (рис. 5).

Заключение. Таким образом, представлен новый подход, реализованный на базе АСМ и разработанный для измерения электрических и прочностных свойств оксидных и адсорбционных слоев на поверхностях проводников, в том числе тонких проводящих покрытий. Подход апробирован на покрытии титана толщиной 100 нм и на покрытии алюминия толщиной 200 нм на кремниевых подложках. При динамическом электромеханическом взаимодействии АСМ зонда и образцов удается пробить оксидный слой на поверхности алюминия при значении подаваемого на зонд напряжения от +5 В. Адсорбционный слой на поверхности титана пробивается при подаче напряжения +0,4 В и выше. Значения усредненной силы тока, измеренные в динамическом режиме взаимодействия, составили от +0,5 до +7,9 пА при напряжениях от +5 до +10 В на алюминии, и от +38 нА до +1,6 мкА при напряжениях от +0,4 до +2 В на титане. На поверхности титана обнаружены наросты размером около 3 мкм в местах локального электрического взаимодействия с зондом, образующиеся при подаче как положительного, так и отрицательного напряжения к зонду.

Работа выполнена в рамках проекта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований и Вьетнамской академии наук и технологий от 15.04.2011 г. № Ф11В-011.

Список использованных источников

1. Штыков, С. П. Наноматериалы и нанотехнологии в химических и биохимических сенсорах: возможности и области применения / С. П. Штыков, Т. Ю. Русанова // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева). – 2008. – Т. LII, № 2. – С. 92–100.
2. Миронов, В. Л. Основы сканирующей зондовой микроскопии / В. Л. Миронов. – Нижний Новгород : РАН, Ин-т физики микроструктур, 2004. – 110 с.
3. Суслов, А. А. Сканирующие зондовые микроскопы / А. А. Суслов, С. А. Чижик // Материалы, технологии, инструменты. – 1997. – Т. 2, № 3. – С. 73–89.