

УДК 620.186:53.087.22

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ МЕТОДИКИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ИСТИННЫХ ТОПОГРАФИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ОБЪЕКТОВ ПО ИЗМЕРЕННЫМ АСМ-ИЗОБРАЖЕНИЯМ.

1. КОНТАКТНЫЕ ДЕФОРМАЦИИ ЗОНДА И ОБРАЗЦА

© 2000 г. М. О. Галлямов, И. В. Яминский

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
физический факультет, Москва, Россия*

Поступила в редакцию 29.11.99 г.

На основе предположения, что эффект занижения высот объектов исследования АСМ обусловлен контактными деформациями, и решения контактной задачи Герца, построено общее численное решение задачи. Для случая цилиндрического образца найдены приближенные аналитические решения, справедливые при определенных соотношениях параметров геометрии контакта. Найденные решения хорошо согласуются с экспериментальными результатами. Разработанный подход позволил определить упругие параметры отдельного микрообъекта, адсорбированного на поверхность твердой подложки.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на возможность достижения высокого пространственного разрешения, информация, получаемая методами зондовой микроскопии, в частности – атомно-силовой микроскопии (АСМ), в ряде случаев неадекватно отображает реальные особенности поверхности вследствие артефактов метода, обусловленных влиянием инструмента исследования на изучаемый объект. Эти артефакты, как правило, легко учитываются на качественном уровне при интерпретации АСМ-результатов, однако специфика ряда задач может потребовать количественных оценок и методов восстановления реальной геометрии объектов.

Мы проанализировали два основных артефакта АСМ, влияние которых особенно существенно при проведении исследований отдельных микрообъектов, адсорбированных на поверхность твердой подложки: эффекта уширения профиля [1] и эффекта занижения высот АСМ-изображений объектов исследования. Рассмотрение последнего эффекта с позиций анализа контактных деформаций зонда и образца излагается ниже.

КОНТАКТНЫЕ ДЕФОРМАЦИИ

С первых работ по АСМ-визуализации молекул нуклеиновых кислот [2] отмечалось, что высоты АСМ-изображений ДНК существенно занижены в сравнении с имеющимися модельными представлениями о структуре молекулы. В то же время для ряда других объектов (с близкими физическими свойствами, но отличными радиусами кривизны) эффект занижения высот не прояв-

лялся столь явно. Так, при визуализации вирусных частиц табачной мозаики (ВТМ) и молекул вирусной РНК было обнаружено [3, 4], что эффект занижения высот для вирусных частиц несущественен, а высота АСМ-изображений молекул РНК занижена более чем на 50%, несмотря на то, что объекты были, как правило, визуализованы на одном кадре при одной силе сканирования. Применение излагаемой ниже методики позволило количественно описать данный эффект и связать его с различием радиусов частиц ВТМ (~10 нм) и нуклеиновых кислот (<1 нм).

Следуя [5] мы предположили, что эффект занижения высот АСМ-изображений объектов связан с контактными деформациями. Действительно, в процессе сканирования зонд и образец взаимодействуют с силами порядка $(1-100) \times 10^{-9}$ Н и в силу малого радиуса кривизны зондирующего острия (~10 нм) оказывается, что контактное давление может составлять значительную величину и приводить к контактными деформациям.

КОНТАКТ ДВУХ ТЕЛ

Впервые задача о контактных деформациях двух тел была решена Г. Герцем [6] и мы будем исходить из этого решения [7]. Если два контактирующих тела сдавливаются некоторой силой F , то они будут деформироваться и сблизятся на некоторое расстояние h , при этом область соприкосновения уже будет не точка, а участок конечной площади S .

Анализ задачи включает рассмотрение суммарного тензора кривизны контактирующих по-

верхностей $\chi_{\alpha\beta} + \chi'_{\alpha\beta}$, главные значения которого A и B могут быть выражены через главные радиусы кривизны контактирующих поверхностей, соответствующие формулы для общего случая приведены в [7].

Решение контактной задачи, при условии малости деформаций в сравнении с соответствующими радиусами кривизны, показывает, что формой области контакта является эллипс с полуосями a и b , и позволяет выразить эти величины, а также сближение за счет деформации h , через известные параметры задачи: величину сдвигающей силы F , параметры геометрии контакта A и B , а также коэффициент D , обратный эффективно модулю упругости:

$$D = \frac{3}{4} \left(\frac{1 - \sigma^2}{E} + \frac{1 - \sigma'^2}{E'} \right), \quad (1)$$

здесь E, E', σ и σ' – модули Юнга и Пуассона материалов зонда и образца.

Однако в силу того, что конечные формулы решения контактной задачи являются системой нелинейных уравнений с неявными зависимостями от искомых параметров a и b [7], для удобства применения этих соотношений при интерпретации экспериментальных результатов необходимы либо реализация численного решения, либо дополнительный анализ с привлечением упрощающих предположений. Ниже рассмотрим применение решения Герца к анализу важных для прикладных задач частных случаев.

КОНТАКТ СФЕРИЧЕСКОГО ЗОНДА И СФЕРИЧЕСКОГО (ИЛИ ПЛОСКОГО) ОБРАЗЦА

Анализируемая задача актуальна при рассмотрении контактных деформаций, возникающих при сканировании микрообъектов, форма которых может быть аппроксимирована сферой (например, молекулы ряда белков и др.), а также плоских образцов, например, тонких пленок.

Если зонд и образец вблизи точки контакта описываются сферическими поверхностями и характеризуются радиусами кривизны R и R' , тогда:

$$A = B = \frac{1}{2} \left(\frac{1}{R} + \frac{1}{R'} \right),$$

откуда следует, что $a = b$ и соотношения, связывающие параметры задачи, существенно упрощаются. Легко показать, что область контакта будет представлять собой окружность радиуса a :

$$a = (FD)^{1/3} \left(\frac{1}{R} + \frac{1}{R'} \right)^{-1/3}. \quad (2)$$

Для величины h в этом случае справедлива формула:

$$h = (FD)^{2/3} \left(\frac{1}{R} + \frac{1}{R'} \right)^{1/3}. \quad (3)$$

Формулы (2), (3) используются, например, авторами работ [5] при проведении показательных оценок, весьма важных для адекватной интерпретации результатов АСМ-исследований (особенно биополимеров, характеризующихся невысокими значениями модуля Юнга: $E \sim 10^8 - 10^{10}$ Па).

Однако указанные формулы являются следствием решения контактной задачи для частного случая и не применимы, например, для анализа контактных деформаций зонда и цилиндрического образца.

КОНТАКТ СФЕРИЧЕСКОГО ЗОНДА И ЦИЛИНДРИЧЕСКОГО ОБРАЗЦА

Модель цилиндрического образца следует рассматривать при анализе деформаций (в АСМ-исследованиях) микрочастиц цилиндрической формы (вирусных частиц, различных линейных макромолекул и пр.).

Для случая контакта сферического зонда радиуса R и боковой поверхности цилиндра (образца) радиуса R' параметры A и B выражаются следующим образом:

$$A = \frac{1}{2} \left(\frac{1}{R} + \frac{1}{R'} \right), \quad B = \frac{1}{2R}. \quad (4)$$

Однако в этом случае соотношения, являющиеся решением контактной задачи, напрямую не упрощаются. Реализация численного решения возможна, но в силу сложности решаемой системы требует проведения предварительных аналитических преобразований. Поэтому мы провели дополнительные упрощения исходных соотношений и получили аналитические формулы для двух частных случаев (близких и различающихся значений параметров A и B), которые могут быть полезны для оценок при интерпретации экспериментальных результатов. Сравнение этих решений с общим численным решением показало хорошее совпадение (при выполнении соответствующих условий приближений).

Случай различающихся главных значений суммарного тензора кривизны контактирующих поверхностей. В случае контакта зонда и боковой поверхности цилиндра при условии, что радиус цилиндра меньше радиуса зонда, из формулы (4) следует, что главные значения суммарного тензора кривизны поверхностей различаются: $A > B$. Исходя из общих формул решения контактной задачи, можно показать, что в этом случае $a < b$. В случае, когда это различие составляет доста-

точную величину, мы можем упростить исходные нелинейные интегральные соотношения [7], воспользовавшись асимптотикой полного эллиптического интеграла, справедливой при условии $a^2 \ll b^2$, что не является жестким условием:

$$K(k) = \ln\left(\frac{4}{k'}\right) + \dots, \quad (5)$$

где $k' = \sqrt{1 - k^2}$.

Тогда для сближения за счет деформации h получим:

$$h = \left(\frac{4}{\pi^2 C}\right)^{1/3} (C + 1)(FD)^{2/3} B^{1/3}, \quad (6)$$

что по структуре совпадает с формулой (3) для сферического случая. Здесь безразмерный параметр C зависит от отношения параметров эллипса a и b :

$$C = \ln\left(\frac{4b}{a}\right) - 1 = \frac{Bb^2}{Aa^2}. \quad (7)$$

Из уравнения (7) при известном отношении B/A можно численно определить отношение b/a , и, соответственно, значение безразмерного параметра C . Численное решение показывает, что значение параметра C для многих задач лежит в диапазоне 1–3. В частности, при анализе контакта зонда ($R = 10$ нм) и молекулы нуклеиновой кислоты ($R' = 1$ нм) с достаточной точностью можно воспользоваться соотношением $C \approx 2$.

Формулы для параметров эллиптической области контакта a и b несколько громоздки и мы их не приводим, но по своей структуре они совпадают с уравнением (2). Таким образом, все искомые параметры могут быть непосредственно выражены через известные величины (F, D, A, B) и

Сравнительный анализ контактных деформаций для модели цилиндрического образца при разных значениях радиуса

R'	Область контакта	a, b , нм	$P, 10^9$ Па	h , нм	ε , %
1 нм	Зонд/образец	0.46; 2.2	1.6	0.36	18
	Образец/подложка	0.47; 2.4	1.5	0.34	17
	Суммарная деформация:			0.7	35
10 нм	Зонд/образец	1.1; 1.8	0.8	0.29	1.4
	Образец/подложка	1.3; 2.7	0.4	0.21	1
	Суммарная деформация:			0.5	2.5

Примечание. Параметры задачи: модуль Юнга образца $E' = 10^{10}$ Па, зонда $E = 10^{11}$ Па, величина сжимающей силы $F = 5 \times 10^{-9}$ Н, радиус кривизны кончика зонда $R = 10$ нм. ε – относительная деформация $(h/2R') \times 100\%$.

параметр C , который можно определить из соотношения (7) или воспользоваться оценкой $C \approx 2$.

Случай близких главных значений суммарного тензора кривизны контактирующих поверхностей. Случай близких значений величин A и B реализуется, например, для задачи контакта сферического зонда и боковой поверхности цилиндра при условии, что радиус цилиндра много больше радиуса зонда. Тогда, в силу соотношений (4), действительно $A \sim B$, и, можно показать, что $a \sim b$. В этом случае асимптотика (5) теряет применимость и следует воспользоваться асимптотикой полного эллиптического интеграла [8]:

$$K(k) = \frac{\pi}{2}(1 + m)[1 + \dots],$$

где $m = (1 - k')/(1 + k')$, $k' = \sqrt{1 - k^2}$.

И в этом случае для параметров области контакта a и b можно вывести зависимости, совпадающие по структуре с (2), но мы их не приводим. Для сближения зонда и образца за счет деформации получим:

$$h = (FD)^{2/3} \left(\frac{1}{4A} + \frac{1}{4B}\right)^{-1/3}, \quad (8)$$

что также имеет структуру, сходную с уравнениями (3) и (6).

Таким образом и для случая близких значений A и B могут быть получены приближенные соотношения, позволяющие найти искомые величины непосредственно по известным параметрам задачи.

Выше мы рассмотрели контактные деформации в области соприкосновения зонда и образца. Однако общая деформация, определяющая занижение высоты АСМ-профиля, включает еще и вклад деформаций в области контакта образца и подложки (имеется в виду модель, когда сверху на образец давит зонд). Для этого случая, нужно лишь соответствующим образом переопределить параметры A и B , рассмотрев геометрию контакта образца радиуса R' (на который сверху давит зонд радиуса R) и плоской подложки:

$$A = \frac{1}{2R'}, \quad B = \frac{1}{2} \left(\frac{1}{R + 2R'} \right). \quad (9)$$

Образец следует рассматривать как изогнутый цилиндр с радиусом изгиба поверхности, контактирующей с подложкой: $R + 2R'$. Анализ этого случая не отличается от проведенного выше для значений A и B , определяемых формулой (4).

ПРИМЕНЕНИЕ РАЗРАБОТАННОГО АЛГОРИТМА К СРАВНИТЕЛЬНОМУ АНАЛИЗУ ДЕФОРМАЦИЙ ОБРАЗЦОВ С РАЗЛИЧНЫМИ ЗНАЧЕНИЯМИ РАДИУСОВ

В качестве теста мы применили разработанный алгоритм для вычисления контактных деформаций в модельных случаях цилиндрического образца с радиусами 1 и 10 нм. Результаты численных расчетов приведены в таблице, где для удобства анализа используются одинаковые параметры задачи.

Расчеты по приближенным методикам дают следующие отличия от точного решения: для $R' = 1$ нм приближенное решение для различающихся A и B дает отличие в значениях a и b около 2%, и в значении h 0.5%; для $R' = 10$ нм приближенное решение для близких A и B дает отличие от точного решения для a и $b \sim 10\%$, для $h \sim 1\%$.

Основной вывод из таблицы тот, что, при прочих равных условиях, относительные деформации объектов с меньшим радиусом кривизны существенно выше. Таким образом мы объяснили упомянутый выше экспериментальный эффект, проявляющийся в том, что относительные деформации молекул нуклеиновых кислот существенно превышают относительные деформации частиц ВТМ.

СРАВНЕНИЕ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМИ ДАННЫМИ

С целью экспериментальной проверки закона “две третьих” (6), (8):

$$h \sim (FD)^{2/3} f(R, R'), \quad (10)$$

мы исследовали деформации частиц ВТМ и молекул ДНК при различных значениях нагружающей силы сканирования.

Для частиц ВТМ наблюдалось хорошее совпадение эксперимента с теорией (10) (рис. 1). Экспериментальные погрешности определены как стандартные отклонения средних арифметических при статистической обработке значений, полученных из анализа нескольких АСМ-изображений для конкретного значения силы сканирования.

Теоретическая зависимость получена по рассмотренной методике анализа контактных деформаций цилиндрического образца (точное решение), где использовались значения $R = 25$ нм и $E' = 3 \times 10^9$ Па (значения определены экспериментально). Из рис. 1 следует, что закон “две третьих” (10) справедлив для исследуемого случая в широком диапазоне сил, за исключением области минимальных воздействий. Это может быть связано с тем, что в эксперименте на воздухе присутствие капиллярных сил не позволяет миними-

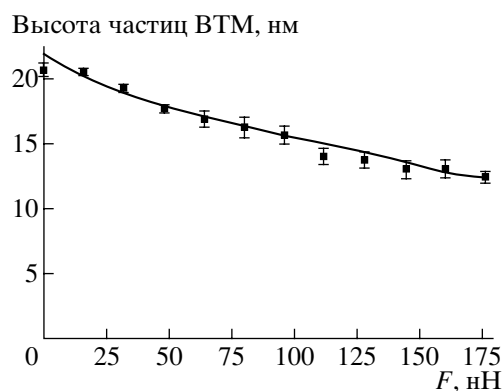


Рис. 1. Экспериментальная (точки) и теоретическая (линия) зависимости деформации частиц ВТМ от величины нагружающей силы при сканировании.

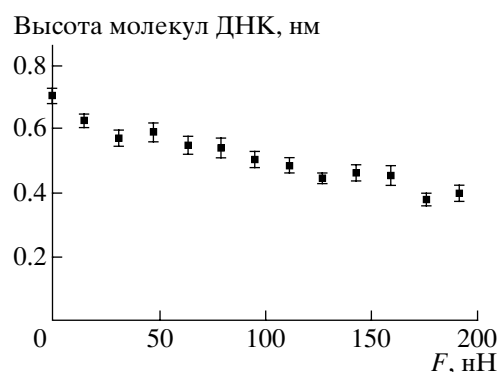


Рис. 2. Экспериментальная зависимость деформации молекул ДНК от величины нагружающей силы.

зировать силу воздействия зонда на образец до величины, меньшей нескольких наноньютонов.

Для молекул ДНК соответствующая экспериментальная зависимость изображена на рис. 2. Эксперимент проводился по той же схеме и в тех же условиях, что и для случая анализа деформаций ВТМ. Однако в рассматриваемом случае деформации, по-видимому, не могут быть описаны законом “две третьих” (10). Вместо этого мы наблюдаем обычную линейную зависимость, т.е. закон Гука, что объясняется невыполнением в этом случае условия малости деформаций, при котором справедливы выводы контактной теории. То, что для случая молекул ДНК экспериментально измеренные относительные деформации велики даже при малых силах воздействия зонда, объясняется присутствием капиллярных сил (капиллярного мостика), не позволяющих минимизировать силу сканирования на воздухе до значений меньших, чем несколько наноньютонов.

Работа была поддержана РФФИ, грант № 97-03-32778а. Авторы выражают глубокую благодарность Ю.Ф. Дрыгину за приготовление образ-

цов ВТМ, а также В.В. Прохорову и Д.В. Клинову за любезно предоставленный образец ДНК.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреева А.С., Галлямов М.О., Пышикина О.А. и др. // Ж. физ. хим. 1999. Т. 73. № 11. С. 2062.
2. Bustamante C., Vesenka J., Tang C.L. et al. // Biochemistry. 1992. V. 31. P. 22.
3. Drygin Yu.F., Bordunova O.A., Gallyamov M.O., Yaminsky I.V. // FEBS Letters. 1998. V. 425. P. 217.
4. Галлямов М.Ю., Дрыгин Ю.Ф., Яминский И.В. // Поверхность. 1999. № 7. С. 104.
5. Shao Z., Mou J., Czajkowsky D.M. et al. // Adv. Phys. 1996. V. 45. № 1. P. 1.
6. Herz H. // J. Reine Angew. Math. 1882. V. 92. P. 156.
7. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теория упругости. М.: Наука, 1987. 246 с.
8. Двайт Г.Б. Таблицы интегралов. М.: Наука, 1973. 228 с.

Quantitative Methods For Deconvolution of True Topographical Properties of Object on the Basis of Measured AFM-Images.

1. Contact Tip-Sample Deformations

M. O. Gallyamov, I. V. Yaminsky

We assume that the sample height measured using AFM is reduced due to contact deformation. The Herz contact theory is applied for the quantitative description. General numerical solution is found. Analytical approximations for specific contact geometry are derived for the case of cylindrical sample. It is found that theoretical description are consistent with experimental data. The developed approach has allowed to determine elastic parameters of individual microobjects adsorbed on a surface of solid substrate.