میکروسکوپ نیروی اتمی(Atomic Force Microscope - AFM)

میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) یکی از پیشرفته‌ترین ابزارهای تصویربرداری در مقیاس نانو است که در سال ۱۹۸۶ توسط بینیگ، کویت و گربر اختراع شد . این دستگاه با قدرت تفکیک در حد کسری از نانومتر (بیش از ۱۰۰۰ برابر بهتر از حد پراش نور) قادر به تصویربرداری سه‌بعدی از سطوح با جزئیات اتمی است.

۱.هدف و کاربرد(Purpose and Applications)

AFMبرخلاف میکروسکوپ‌های نوری، از نور استفاده نمی‌کند، بلکه با حس کردن نیروهای بسیار ضعیف بین یک نوک تیز (مشخصات اتمی) و سطح نمونه، تصویر ایجاد می‌کند . این فناوری امکان مطالعه مواد رسانا و غیررسانا را فراهم می‌کند.

کاربردهای اصلی در آزمایشگاه:

زمینه	کاربرد
علوم مواد	بررسی توپوگرافی سطح، زبری، مورفولوژی لایه‌های نازک و پلیمرها
نانوتکنولوژی	اندازه‌گیری نانوذرات (طلا، نقره، اکسیدها) با دقت بالا
زیست‌شناسی	تصویربرداری ازDNA ، پروتئین‌ها، غشای سلولی و ویروس‌ها
مکانیک نانو	اندازه‌گیری خواص مکانیکی (سختی، مدول الاستیک، چسبندگی) در مقیاس نانو
علوم اعصاب و پزشکی	بررسی تغییرات سطحی سلول‌های عصبی و تشخیص بیماری‌ها

۲. اصول عملکرد و اجزای اصلی(Working Principle & Components)

اصول فیزیکی

AFMبر اساس اندازه‌گیری نیروی برهمکنش بین یک نوک تیز واقع در انتهای یک بازوی انعطاف‌پذیر (Cantilever) و سطح نمونه کار می‌کند. هنگامی که نوک به نمونه نزدیک می‌شود، نیروهای جاذبه یا دافعه (نیروی واندروالسی، الکترواستاتیک، مغناطیسی و...) باعث خمیدگی بازو می‌شوند . میزان این خمیدگی توسط یک سیستم نوری (لیزر و آشکارساز فوتودیود) اندازه‌گیری می‌شود.

اجزای اصلی دستگاه

جزء	توضیح و عملکرد
Cantileverبازوی) اندازه‌گیری(	بازوی انعطاف‌پذیر (معمولاً از جنس سیلیکون یا سیلیکون نیتراید) به طول ۵۰۰-۱۰۰ میکرومتر و عرض ۵۰-۲۰ میکرومتر که نوک روی آن نصب شده است
AFM Tipنوک( )	نوک بسیار تیز با شعاع انحنا در حد ۲۰-۵ نانومتر که با سطح نمونه برهمکنش می‌کند
Laserلیزر( )	پرتو لیزر به پشت بازوی کانتیلور تابیده شده و منعکس می‌شود
Photodetector)آشکارساز نوری(	دیود حساس تقسیم‌شده به چهار بخش (Quadrant Photodiode) که جابجایی نقطه لیزر را تشخیص می‌دهد
Scannerاسکنر( )	محفظه پیزوالکتریک که نمونه یا نوک را با دقت زیرنانومتری در سه جهتX ، Yو Z جابجا می‌کند

Feedback Electronics	سیستم کنترلی که بازخورد را برای حفظ نیروی ثابت بین نوک و نمونه تنظیم می‌کند
Vibration Isolation	سیستم‌های جداسازی لرزش (هوایی یا فنری) برای جلوگیری از اثر لرزش‌های محیطی

۳. حالت‌های عملکرد(Operation Modes) AFM

AFMدر سه حالت اصلی کار می‌کند:

الف) حالت تماسی(Contact Mode)

در این حالت، نوک به طور مداوم با سطح نمونه در تماس است و در ناحیه دافعه (Repulsive Regime) کار می‌کند.

پارامتر	توضیح
نیروی غالب	نیروی دافعه بین اتم‌ها (فاصله نوک تا سطح ۰٫۵ > نانومتر(
کاربرد	سطوح سخت (مواد سرامیکی، فلزات، فیلم‌های نازک سخت)
مزایا	سرعت اسکن بالا، کیفیت تصویر عالی برای سطوح صاف
معایب	نیروهای جانبی بالا می‌تواند نمونه نرم را تخریب کند

ب) حالت غیرتماسی(Non-Contact Mode)

نوک در فاصله ۲۰-۵ نانومتری از سطح نوسان می‌کند و هرگز با آن تماس مستقیم برقرار نمی‌کند.

پارامتر	توضیح
نیروی غالب	نیروی جاذبه (نیروی واندروالسی)
کاربرد	نمونه‌های بسیار نرم (سلول‌های زیستی، مولکول‌های چسبنده ضعیف)
مزایا	عدم تخریب نمونه، عدم آلودگی نوک
معایب	وضوح کمتر نسبت به حالت تماسی، حساسیت به رطوبت

ج) حالت ضربه‌ای / تماس متناوب(Intermittent-Contact / Tapping Mode)

پرکاربردترین و بهترین گزینه برای اکثر کاربردها، به ویژه برای نمونه‌های نرم و نانوذرات.

پارامتر	توضیح
نیروی غالب	ترکیبی از جاذبه و دافعه
اصول عملکرد	کانتیلور با فرکانس تشدید خود نوسان می‌کند (معمولاً ۴۰۰-۷۰ کیلوهرتز). نوک به صورت متناوب به سطح برخورد می‌کند (می‌کوبد)
دامنه نوسان	معمولاً ۳۰۰-۱۰۰ نانومتر در هوا
Setpoint	دامنه هدف، معمولاً ٪۹۰-۷۰ دامنه آزاد
کاربرد	مواد نرم (پلیمرها، سلول‌ها، پروتئین‌ها)، نانوذرات، فیلم‌های زیستی
مزایا	حداقل نیروهای جانبی، عدم تخریب نمونه، وضوح بالا
معایب	نیاز به تنظیم دقیق فرکانس تشدید، کندتر از حالت تماسی

د) روش‌های مکانیکی نانو (نانومکانیک)

دو روش مکمل برای اندازه‌گیری کمی خواص مکانیکی:

روش	کاربرد	ویژگی
Nanomechanical Imaging	نقشه‌برداری کمی از مدول الاستیک، چسبندگی، اتلاف انرژی در سراسر سطح	نیاز به کالیبراسیون کامل (حساسیت انحراف، ثابت فنر، شعاع نوک)
Force Spectroscopy	اندازه‌گیری دقیق خواص مکانیکی نقطه‌ای (منحنی نیرو-فاصله)؛ تعیین مدول یانگ، چسبندگی، تغییر شکل پلاستیک	زمان طولانی برای نقشه کامل، مناسب برای مواد ناهمگن

۴. روش کار گام به گام(Step-by-Step Procedure)

این روش بر اساسSOP های استاندارد آزمایشگاه‌های دانشگاهی تهیه شده است.

مرحله ۰: نکات ایمنی

خطر	نکته ایمنی
نوک بسیار تیز	هنگام نصب نوک از دستکش استفاده کنید و با احتیاط رفتار کنید
برخورد نوک به سطح	باعث شکستن نوک گران‌قیمت و تخریب نمونه می‌شود. همیشه مرحله پایین آوردن نوک را با دقت و با کمترین سرعت انجام دهید
لیزر کلاس ۲	به طور مستقیم به لیزر نگاه نکنید
لرزش	از هرگونه ضربه زدن به میز یا دستگاه خودداری کنید

مرحله ۱: آماده‌سازی نمونه(Sample Preparation)

کیفیت تصویر AFM کاملاً به آماده‌سازی صحیح نمونه بستگی دارد.

اصول کلیدی:

- نمونه باید صاف باشد (زبری سطح باید بسیار کمتر از ویژگی‌های مورد نظر باشد)
- ضخامت نمونه باید حداقل ۱۰ برابر عمق نفوذ نوک باشد (فرورفتگی ٪۱۰ > ضخامت)
- نمونه باید به طور محکم روی زیرلایه چسبیده باشد (تا در حین اسکن حرکت نکند)
- سطح زیرلایه باید بسیار صاف و تمیز باشد (میکا، سیلیکون، طلای اتمی-صاف)

زیرلایه‌های استاندارد:

زیرلایه	ویژگی‌ها	روش آماده‌سازی
Mica (میکا)	اتمی صاف، ارزان، بهترین گزینه برای نمونه‌های زیستی	لایه‌برداری با چسب (Fresh Cleave)
Silicon (سیلیکون)	صاف، سخت، برای فیلم‌های نازک پلیمری	تمیز کردن با پلاسما و اتانول و خشک کردن با نیتروژن
Gold (111)	رسانا، مناسب برای اصلاح شیمیایی با تیول‌ها	تمیز کردن با اتانول (بدون سونیکاسیون)

برای نمونه‌های نانوذرات طلا (مرجع) :

- فعال کردن میکا با) Poly-L-Lysine 0.1% ۳۰ دقیقه غوطه‌وری(
- چکاندن ۲۵ میکرولیتر سوسپانسیون نانوذرات
- انکوباسیون در دمای اتاق (۶۰ نانومتر: ۱۰ دقیقه، ۳۰ نانومتر: ۵ دقیقه، ۱۰ نانومتر: ۳۰ ثانیه)
- شستشو با آب DI و خشک کردن با نیتروژن

مرحله ۲: نصب نمونه و نوک

۱. نمونه را در مرکز stage قرار داده و در صورت وجود، پمپ خلاء را روشن کنید تا نمونه ثابت شود
۲. Tip Holderرا از دستگاه خارج کنید (با احتیاط به نوک آسیب نرسانید)
۳. نوک جدید را با دقت در Tip Holder نصب کنید
۴. Tip Holderرا در جای خود قرار داده و محکم کنید

مرحله ۳: راه‌اندازی اپتیک و لیزر(Laser Alignment)

۱. نرم‌افزار AFM را اجرا کنید
۲. دکمه **Locate Tip** را کلیک کنید تا دوربین روی نوک فوکوس کند

۳. شدت نور را کم کنید (برای دیدن بهتر لیزر)
۴. با استفاده از پیچ‌های تنظیم لیزر، نقطه لیزر را دقیقاً روی نوک کانتیلور قرار دهید
۵. تصویر نقطه لیزر را روی Photodetector مشاهده کنید. با پیچ‌هایPhotodetector ، سیگنال را در مرکز (Vertical Deflection < 0.1 V)، (Horizontal Deflection < 0.1 Vتنظیم کنید

نکته :برای مشاهده نوک و نقطه لیزر، ممکن است نیاز باشد تصویر را بزرگنمایی کنید و focus را تنظیم نمایید.

مرحله ۴: نزدیک کردن نوک(Approach)

۱. از طریق نرم‌افزار، نوک را به سمت نمونه پایین بیاورید:
   - ابتدا سرعت ۱۰۰-۵۰ میکرومتر بر ثانیه
   - سپس ۲۵-۱۰ میکرومتر بر ثانیه در نزدیکی سطح
   - نهایتاً سرعت بسیار کم (۱۰-۲ میکرومتر بر ثانیه) تا زمانی که سیگنال Deflection نشان‌دهنده تماس باشد
۲. هرگز نوک را بیش از حد پایین نیاورید. ارتفاع هدف نهایی: زمانی که سیگنال فوتودیود به Setpoint هدف رسید) در حالتTapping Mode ، دامنه نوسان به ٪۹۰-۷۰ دامنه آزاد کاهش یابد (

مرحله ۵: تنظیم پارامترهای اسکن وTuning

۱. دکمه **Auto Tune** را بزنید تا نرم‌افزار فرکانس تشدید کانتیلور را پیدا کند
۲. نمودار را بررسی کنید: قله آمپلیتود باید متقارن گاوسی باشد و نمودار فاز باید یک "S" معکوس (سیگموئید) داشته باشد
۳. پارامترهای اسکن اولیه) برایTapping Mode ، روی نمونه صاف مثل میکا یا سیلیکون: (
   - **Scan Size:**۱۰-۵ میکرومتر (آغازین)
   - **Scan Rate:** 0.5-1.0 Hz
   - **Samples/Line:**۲۵۶) برای شروع)، ۵۱۲ (برای کیفیت بالا)
   - **Integral Gain:** 0.4-0.6
   - **Proportional Gain:** 0.8-1.2
   - **Amplitude Setpoint:**۰٫۸-۰٫۶ ولت (٪۸۰-۶۰ دامنه آزاد)

مرحله ۶: اجرای اسکن و ثبت تصویر

۱. دکمه **Engage** را بزنید
۲. پس از تماس، خطوط Trace و Retrace را در پنجره Height Error یا Amplitude کنترل کنید. آنها باید کاملاً منطبق باشند

۳. با تغییرAmplitude Setpoint ، این انطباق را بهینه کنید Setpoint) کمتر = نیروی بیشتر روی نمونه = ردیابی بهتر سطح (
۴. کیفیت تصویر را در Real-time بررسی کنید و در صورت نیاز، Gainsو Setpoint را تنظیم کنید
۵. برای شروع ذخیره‌سازی داده‌ها، **Capture** را انتخاب کنید و نام فایل (ترجیحاً شامل تاریخ، کاربر، نمونه و حالت) را انتخاب کنید
۶. پس از اتمام اسکن، دکمه **Withdraw** یا **Disengage** را بزنید تا نوک از سطح خارج شود

مرحله ۷: خاموش کردن و جمع‌آوری

۱. نوک را با دکمه) Up Arrow موتور (Z حداقل ۵۰۰ میکرومتر بالا بیاورید
۲. stageرا با کنترل‌های XY به بیرون حرکت دهید تا نمونه خارج شود
۳. درب محفظه را ببندید
۴. نرم‌افزار را ببندید و کامپیوتر را خاموش کنید
۵. چراغ لیزر و منبع نور را خاموش کنید
۶. نمونه را خارج کنید (در صورت نیاز)

مرحله ۸: پردازش تصویر

پردازش اولیه:(Flattening)

- از ابزار Flatten (Steamroller) برای حذف کانتور نامنظم سطح و بهبود نمایش توپوگرافی استفاده کنید
- معمولاً Flatten مرتبه اول (□□□□□ □□۱) کافی است

اندازه‌گیری کمی:

ابزار	کاربرد	روش
Roughness (Roughness Analysis)	اندازه‌گیری زبری سطح RMS (Rq)و میانگین(Ra)	محدوده‌ای از تصویر را انتخاب کنید، = Rqانحراف معیار ارتفاعات
Step Height (Section Analysis)	اندازه‌گیری ارتفاع پله‌ها، ضخامت فیلم یا قطر نانوذرات	خط Section را بکشید و اختلاف ارتفاع را اندازه بگیرید
Particle Analysis	تجزیه و تحلیل آماری نانوذرات (اندازه، توزیع)	نرم‌افزارهای تخصصی) مانندGwyddion ، SPIP، (Nanoscope Analysis

۴. عیب‌یابی مشکلات رایج(Troubleshooting)

مشکل	علت احتمالی	راه‌حل
تصویر نویزی/پریشان	لرزش محیطی، نوک کثیف، پارامترهای Gains بالا	سیستم جداسازی لرزش را بررسی کنید. نوک را تمیز یا تعویض کنید Gains .را کاهش دهید
عدم تطابق Trace و Retrace	Setpointخیلی بالا (نیروی کم) یا خیلی پایین (نیروی زیاد)	Amplitude Setpointرا تنظیم کنید تا خطوط کاملاً منطبق شوند
نمودار Auto Tune غیرعادی (پهن، دو قله)	نوک خراب، کثیف یا نادرست نصب شده است	کامپیوتر Q (Quality Factor) را محاسبه کنید Q .باید در محدوده اعلام شده روی جعبه نوک باشد. در غیر این صورت، نوک را تعویض کنید
سیگنال Vertical Deflectionنوسان دارد	لیزر در مرکز فوتودیود نیست	Photodetector Knobرا دوباره برای صفر کردن Deflectionتنظیم کنید
تصویر کاذب Artifact /)تکرار الگو(	نوک دو قلو (Double Tip)یا کثیف است	نوک را تعویض کنید
عدم تماس نوک با سطح	نمونه خیلی کثیف است، یا ارتفاع Stage نادرست است	نمونه را تمیز کنید. مرحله Approach را دوباره شروع کنید

۶. جدول جمع‌بندی حالت‌های عملکرد

حالت	کاربرد	نیروی تماس	سرعت اسکن	تخریب نمونه	وضوح	توصیه برای
Contact	مواد سخت (سرامیک، فلز)	بالا (دافعه)	سریع	زیاد (برای نمونه نرم)	بالا	فیلم‌های سخت و صاف
Non-Contact	نمونه‌های بسیار نرم	بسیار کم (جاذبه)	کند	خیلی کم	متوسط	بررسی اولیه بدون تخریب
Tapping	**پلیمرها، سلول‌ها، نانوذرات **)پیشنهادی**(**	متوسط (متناوب)	متوسط	بسیار کم	**بالا**	**اکثر کاربردها (محبوب‌ترین)**
Force Spectroscopy	اندازه‌گیری کمی خواص مکانیکی	متغیر	بسیار کند	کم	نقطه‌ای	آنالیز دقیق نقطه‌ای (Modulus, Adhesion)

۷. نکات کلیدی برای موفقیت(Key Principles)

قانون	توضیح
✅**نمونه صاف و تمیز**	زبری سطح باید بسیار کمتر از اندازه ویژگی مورد نظر باشد. آلودگی باعث ایجاد آرتیفکت می‌شود
✅**انتخاب حالت مناسب**	برای نمونه نرم و نانوذرات: از Tapping Mode استفاده کنید. برای مواد سخت: از Contact Mode
✅**نوک تیز و تمیز**	نوک معیوب شایع‌ترین منبع آرتیفکت در AFM است. در صورت مشاهده تصاویر غیرعادی، نوک را تعویض کنید
✅**پارامترهای بهینه**	با Setpoint پایین (نیروی کم) شروع کنید و به تدریج افزایش دهید تا بهترین وضوح بدون تخریب نمونه حاصل شود
✅**کاهش لرزش و نویز**	از میز ضد لرزش استفاده کنید. کابل‌ها را مرتب کنید. از حرکات ناگهانی در اتاق خودداری کنید

✨جمع‌بندی نهایی

میکروسکوپ نیروی اتمی یک ابزار قدرتمند برای تصویربرداری و آنالیز در مقیاس نانو است. با رعایت اصول زیر می‌توانید تصاویری با کیفیت و داده‌های قابل اعتمادی بدست آورید:

۱. 🎯**انتخاب بهترین حالت برای نمونه خود** – برای نمونه‌های نرم و زیستی .Tapping Mode :برای نمونه‌های سخت Contact Mode :
۲. 🔧**تنظیمات بهینه‌ی پارامترها**Setpoint – ، Gains، Scan Sizeو Rate را با توجه به نمونه و نوک تنظیم کنید
۳. **تمیزی و آماده‌سازی دقیق نمونه** – نمونه باید محکم روی زیرلایه صاف و تمیز چسبیده باشد
۴. ⚙**کالیبراسیون منظم** – حساسیت انحراف (Deflection Sensitivity) و ثابت فنر (Spring Constant) را ماهانه بررسی کنید