

# ЭЛЕКТРОСИЛОВАЯ МИКРОСКОПИЯ НАНО- РАЗМЕРНЫХ ОБЪЕКТОВ

Д.Багров<sup>1</sup>, И.Яминский<sup>1</sup>, О.Шабурова<sup>2</sup>, А.Феофанов<sup>1</sup>, К.Шайтан<sup>1</sup>  
dbagrov@gmail.com

Электросиловая микроскопия (ЭСМ) – специальный режим атомно-силовой микроскопии (АСМ), позволяющий получать информацию о градиенте электрического поля над поверхностью образца, а также о величине и знаке локализованных на ней зарядов [1, 2]. ЭСМ может применяться для проверки качества контактов и поиска дефектов в электрических схемах, обнаружения связанных зарядов, чтения и записи информации посредством изменения расположения зарядов на поверхности [3, 4]. В данной работе режим ЭСМ использован для наблюдения особенностей отдельных наночастиц.

Обычно ЭСМ используется для исследований на масштабах ~100 нм – 1 мкм. Описаны лишь единичные примеры ее применения для изучения наноразмерных объектов [1, 2, 5, 6]. В частности, остается открытым вопрос о том, какую информацию об одиночных наночастицах на подложке можно получить, исходя из данных ЭСМ. В силу данного обстоятельства проверка применимости метода для определения свойств объектов нанометрового размера остается актуальной задачей, т.е. важно знать, насколько информативен сигнал, который можно зарегистрировать в режиме ЭСМ от отдельной наночастицы.

Две особенности ЭСМ осложняют поиск ответа на этот вопрос.

Во-первых, получение корректных данных в режиме ЭСМ требует аккуратного выбора настроек и параметров сканирования, поскольку общепринятого алгоритма для этих целей не существует. По этой причине необходима разработка протокола проведения эксперимен-

та, позволяющего получать корректные и воспроизводимые результаты.

Во-вторых, ЭСМ обычно используется как качественный метод, а получение количественных данных требует использования полуэмпирических расчетных моделей [1, 7, 8], которые, хотя и применимы для некоторых конкретных систем, не универсальны и очень сложны.

В ряде исследований, например, в нанoeлектронике и нанобиобезопасности, возникает необходимость идентифицировать одиночные наночастицы, причем часто определение их химического состава и структуры не так важны, как принципиальная возможность регистрации разницы между ними. Проведенные эксперименты свидетельствуют, что ЭСМ позволяет в некоторых системах различать нанобъекты одного размера из разных материалов.

В представленной работе исследована модельная система – бактериофаги и наночастицы серебра, имеющие одинаковый размер, находящиеся на одной подложке. На примере этой системы предложен способ оптимального

выбора параметров сканирования. Показано, что чувствительность ЭСМ достаточна, чтобы зарегистрировать разницу в электрических свойствах наночастиц из разных материалов.

## Методы и материалы

В работе использованы наночастицы серебра лекарственного препарата «Арговит» и бактериофаги *EL Pseudomonas aeruginosa*. Суспензия первых содержит наночастицы серебра с концентрацией 10 мг/мл, стабилизированные хитозаном [9], причем перед экспериментом суспензия разводилась дистиллированной водой в 10 раз. Бактериофаг *EL Pseudomonas aeruginosa* выделен из природного водоема в Московской области и относится к группе описанных ранее гигантских ФКЗ-подобных фагов семейства *Muoviridae* [10].

Бактериофаги и наночастицы серебра на графите исследованы методом АСМ по отдельности и в смеси. Для приготовления образца капля суспензии исследуемого материала объемом 20–30 мкл была помещена на графит на 1–2 мин, и затем жидкость удалась потоком воздуха. В случае

<sup>1</sup> МГУ им. М.В. Ломоносова.

<sup>2</sup> ГНЦ РФ «ГосНИИгенетика».



наночастиц серебра после их нанесения образец отмывался дистиллированной водой 5 мин, а для бактериофагов, чтобы избежать осмотического шока, – не более 10 с. Система из бактериофагов и наночастиц готовилась последовательным нанесением на одну и ту же графитовую подложку сначала наночастиц, а затем бактериофагов.

Образцы исследовались на ACM Solver PRO (ЗАО «Нанотехнология МДТ») в конфигурации «сканирование образцом» при диапазоне перемещения сканера  $3 \times 3 \times 1,3$  мкм<sup>3</sup>. Для получения изображений микро-рельефа использовались кантилеверы NSG01S, а для измерений в электросиловом режиме – кантилеверы NSG01/Pt с проводящим покрытием из платины, и в последнем случае подложка заземлялась.

Перед получением изображения измерялась абсолютная амплитуда колебаний кантилевера, а также проводилась калибровка фазы. Для этого обратная связь размыкалась и устанавливалась фаза, равная  $90^\circ$ . Такая калибровка выполнялась для АСМ и ЭСМ.

Для выбора оптимальных параметров сканирования осуществлялась следующая процедура. Сначала проводилось сканирование поверхности в полуконтактном режиме и режиме фазового контраста. Затем микроскоп переводился в режим ЭСМ, однако подаваемое на кантилевер напряжение выбиралось равным нулю ( $V=0$ ). После этого была получена серия изображений при постепенном увеличении расстояния  $z$  между зондом и образцом с шагом 10–15 нм.

При малом  $z$  возникало неконтролируемое механическое взаимодействие между кантилевером и образцом, приводившее к появлению фазового контраста. При постепенном увеличении  $z$  подбиралось его минимальное значение, когда фазовый сигнал, регистрируемый над лежащими на подложке объектами, оказывался на уровне шума ( $0,1^\circ$ ). Обычно это зна-

чение  $z$  оказывалось около  $\sim 30$ – $50$  нм. Затем снималась серия изображений при фиксированном значении  $z$  и разных величинах напряжения  $V$ .

### Результаты

Перед тем как проводить измерения в режиме ЭСМ, наночастицы серебра и бактериофаги были охарактеризованы независимо. На рис.1 представлено АСМ-изображение наночастиц серебра на графите. По серии изображений измерен средний диаметр наночастиц, составивший  $22 \pm 12$  нм (среднее  $\pm$  среднее квадратичное отклонение результата наблюдения).

Получены также АСМ-изображения бактериофагов EL *Pseudomonas aeruginosa*. У каждого из них хорошо различимы головка и хвост: типичный диаметр головки фага (высота над подложкой) от 30 до 55 нм, диаметр хвоста  $19 \pm 3$  нм, а его длина – от 150 до 190 нм (рис.2). Головка бактериофага имеет латеральный размер 150–200 нм, у некоторых бактериофагов удавалось различить базальную пластинку.

На смеси бактериофагов с наночастицами на графите проводились измерения в режиме ЭСМ. На рис.3 представлено изображение бактериофага и нескольких наночастиц. Видно, что бактериофаг и частица, через которую проведено сечение, имеют одинаковую высоту. На графике сечения, полученном при втором проходе, видно, что сдвиги фазы колебаний кантилевера над наночастицей и бактериофагом различ-

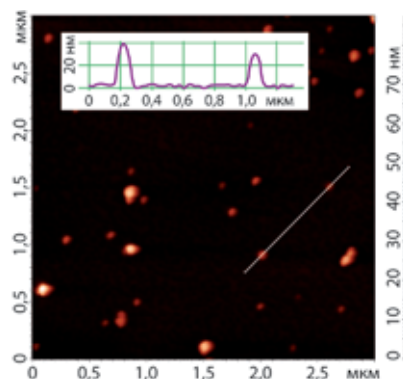


Рис.1. АСМ-изображение наночастиц из препарата «Арговит» (график сечения, проведенного вдоль белой линии)

ны. Чтобы исключить влияние конкретного зонда и проверить воспроизводимость результата, регистрация эффекта осуществлялась четырьмя кантилеверами в разных точках образца.

Разница в величине сдвига фаз над бактериофагом и наночастицей связана с различием в их электрических свойствах. Хотя абсолютная величина сдвигов фазы менялась вне зависимости от особенностей конкретного кантилевера, над бактериофагами такой сдвиг всегда оказывался меньше, чем над наночастицами того же размера.

Фазу колебаний над конкретными объектами удобно измерять относительно сдвига фазы над подложкой. Например, на сечении (рис.3) сдвиг фазы над бактериофагом  $\varphi_1 = -0,6^\circ$ , а над наночастицей –  $\varphi_2 = -1^\circ$ . Было исследовано, как эти величины зависят от прикладываемых

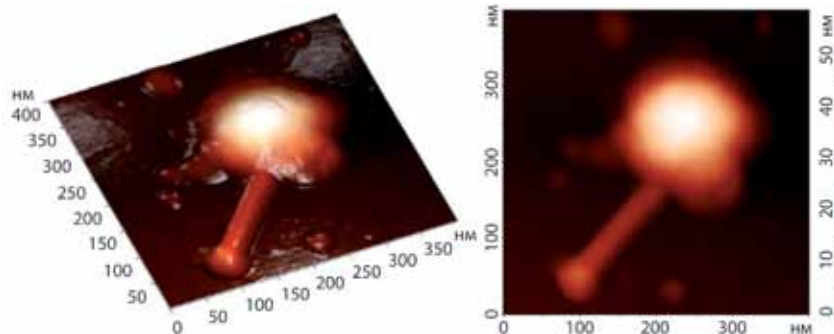


Рис.2. Изображения бактериофага EL *Pseudomonas aeruginosa*: трехмерное (слева) и двумерное (справа)

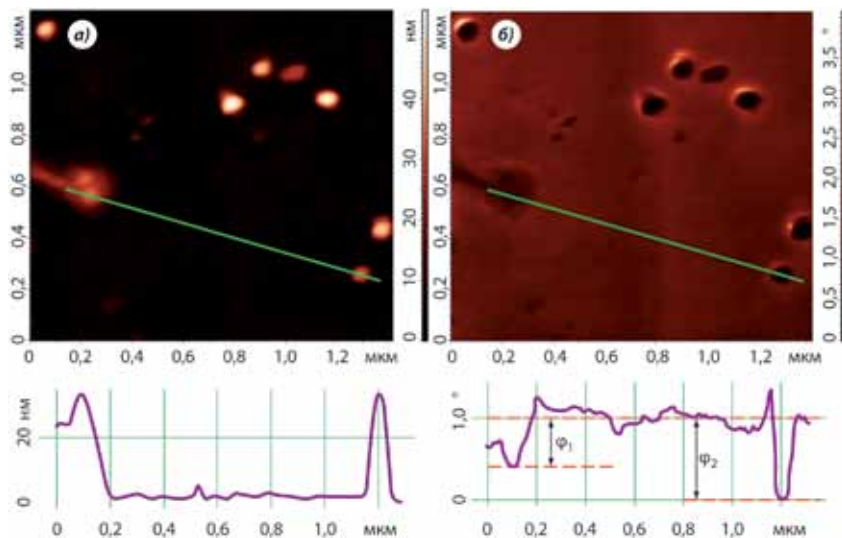


Рис.3. Топографическое изображение (а) и ЭСМ-изображение (б) бактериофага и наночастиц серебра. Внизу показаны графики сечений вдоль выбранных линий (второй проход сделан на расстоянии 50 нм над подложкой при потенциале на кантилере 3 В)

мого на втором проходе напряжения между кантилелевром и образцом, для чего снята серия изображений при значениях напряжения от -6 до 6 В. Значения, полученные над тремя бактериофагами и тремя наночастицами, представлены на рис.4. Видно, что при одинаковой высоте объектов над подложкой (30–35 нм) сдвиг фазы над наночас-

тицами серебра всегда больше, чем над бактериофагами.

Таким образом, ЭСМ позволяет экспериментально показать, что наблюдаемые наночастицы (частицы серебра и головки бактериофагов), имеющие одинаковый размер, обладают различными электрическими свойствами.

Каждый из шести наборов данных (рис.4) хорошо аппрок-

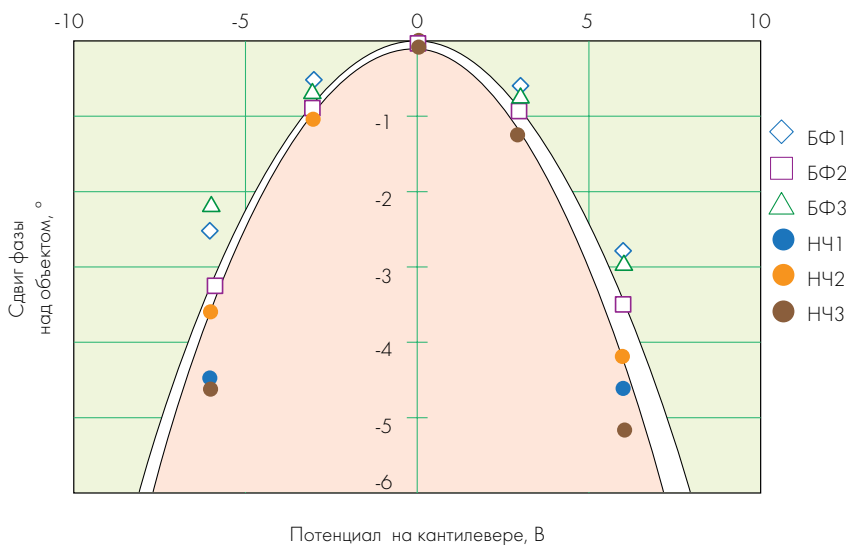


Рис.4. Сдвиги фазы над наночастицами и бактериофагами (второй проход сделан на расстоянии 50 нм над подложкой). Данные получены с одним и тем же кантилелевром. БФ – бактериофаг, НЧ – наночастица

симируется параболой, причем величина достоверности аппроксимации  $R^2 = 0,99-0,999$ . На рис.4 приведены две такие параболы: для бактериофага, у которого значение  $|\phi|$  максимально, и для наночастицы, у которой  $|\phi|$  минимально. Эти параболы отделяют покрашенные разными цветами области: в верхней лежат точки, полученные при измерениях сигнала над бактериофагами, в нижней – над наночастицами. Поскольку области не перекрываются, можно утверждать, что величина сигнала ЭСМ позволяет отличить головки бактериофагов от наночастиц серебра.

Положение парабол в общем случае зависит от используемого кантилелевра (формы иглы и качества проводящего покрытия) и параметров сканирования (амплитуды колебаний, высоты второго прохода и т.п.). При фиксированных параметрах сканирования и для конкретного кантилелевра такая диаграмма позволяет на основании изображения, полученного в режиме ЭСМ, различать объекты из разных материалов (в обсуждаемом случае – органическую головку бактериофага, состоящую из белка и нуклеиновой кислоты, и наночастицу серебра).

На основании проведенных экспериментов можно утверждать, что протокол измерений в режиме ЭСМ (сначала выбиралась высота второго прохода, затем снималась серия изображений при разных напряжениях) позволяет не только получить данные, но и математически подтвердить их корректность при измерении зависимости сдвига фаз от напряжения.

Следует отметить, что обычно изображение при сканировании в режиме ЭСМ, получаемое на втором проходе, коррелирует с изображением микрорельефа [5, 11], поскольку неоднородности электрических свойств поверхности связаны с особенностями микрорельефа. Таким образом, сигнал, регистрируемый на втором проходе, зависит не только от электрических свойств объекта на подложке, но и от его фор-





мы и размеров. В данной работе экспериментально показано, что объекты одного размера, состоящие из разных материалов, дают разные сигналы в режиме ЭСМ.

При изотропной поляризуемости образца и отсутствии связанных на поверхности зарядов регистрируемый в режиме ЭСМ фазовый сигнал квадратично зависит от напряжения между кантилевером и образцом [1, 2, 11]; линейная зависимость фазы от напряжения, связанная с локализованными на нем зарядами, наблюдалась только в отдельных работах [1]. Квадратичная зависимость фазы колебаний кантилевера от напряжения приводит к тому, что разность фаз колебаний над любыми объектами (например, над подложкой и наночастицей) зависит от напряжения также квадратично. Для бактериофагов и наночастиц это наглядно проиллюстрировано на рис.4. Параболическая зависимость сигнала от напряжения является одновременно доказательством отсутствия связанных зарядов и критерием корректности получаемых результатов.

Принципиальным недостатком АСМ, ограничивающим его применение, является невозможность идентификации материала, из которого состоят исследуемые объекты. Поэтому альтернативные методы и режимы, позволяющие отличить друг от друга близкие по морфологии, но разные по химической природе объекты, чрезвычайно востребованы. Полученный в данной работе результат позволяет утверждать, что именно для этих объектов целесообразно использование ЭСМ. Рассматриваемый метод представляет существенный интерес как для микроэлектроники [4], так и при решении задач биобезопасности, например, при идентификации техногенных наночастиц, попавших в живые организмы. Для решения последней задачи требуется обнаружить наночастицы, внедренные в биологический матрикс [12]. Полученный

результат хорошо согласуется с данными о возможности обнаружения методом ЭСМ углеродных нанотрубок в полимерной матрице [6].

В целом, наблюдавшаяся в режиме ЭСМ квадратичная зависимость сдвига фазы от напряжения согласуется с обсуждаемыми моделями взаимодействия между кантилевером и образцом [1, 2, 11]. Величина сигнала в режиме ЭСМ (1–5°) обычно в 10 раз выше уровня шума (0,1–0,2°). Если отметить на диаграмме «фаза-напряжение» измеренные в режиме ЭСМ величины, то можно выделить две неперекрывающиеся области: в одной из них расположены сигналы от головок бактериофагов, в другой – от наночастиц серебра того же размера. Таким образом, метод ЭСМ позволил уверенно различить биологические и металлические наночастицы одного размера. Это дает возможность расширить спектр применений ЭСМ для решения задач нанобиобезопасности, материаловедения и нанoeлектроники.

*Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (Госконтракты 01.648.11.3003 и П255) и Российского фонда фундаментальных исследований (проекты 09-04-00307-а и 10-04-01574-а).*

### Литература

1. Sand Jespersen T., Nygrd J. Charge Trapping in Carbon Nanotube Loops Demonstrated by Electrostatic Force Microscopy. – Nano Lett., 2005, v.5, №9, p.1838–1841.
2. Nyffenegger R.M., Penner R.M., Schierle R. Electrostatic force microscopy of silver nanocrystals with nanometer-scale resolution. – Appl. Phys. Lett., 1997, v.71, №13, p.1878–1880.
3. Serry F.M., Kjoller K., Thornton J.T., Tench R.J., Cook D. Electric Force Microscopy, Surface Potential Imaging, and Surface Electric Modification with the Atomic Force Microscope (AFM). – Veeco application notes. www.veeco.com. 2004.

4. Girard P. Electrostatic force microscopy: principles and some applications to semiconductors. – Nanotechnology, 2001, v.12, p. 485–490.

5. Pacifico J., van Leeuwen Y.M., Spuch-Calvar M., Sánchez-Iglesias A., Rodríguez-Lorenzo L., Pérez-Juste J., Pastoriza-Santos I., Liz-Marzán L. Field gradient imaging of nanoparticle systems: analysis of geometry and surface coating effects. – Nanotechnology, 2009, v.20, p.095708-1-8.

6. Sand Jespersen T., Nygrd J. Mapping of individual carbon nanotubes in polymer/nanotube composites using electrostatic force microscopy. – Appl. Phys. Lett., 2007, v.90, p.183108-1-3.

7. Palacios-Lidón E., Abellán J., Colchero J., Munuera C., Ocal C. Quantitative electrostatic force microscopy on heterogeneous nanoscale samples. – Appl. Phys. Lett., 2005, v.87, p.154106-1-3.

8. G.M. Sacha, C. Gómez-Navarro, J. J. Sáenz, J. Gómez-Herrero Quantitative theory for the imaging of conducting objects in electrostatic force microscopy. – Appl. Phys. Lett., 2006, v.89, p.173122-1-3.

9. Арговит – концентрированный раствор биосеребра. ТУ 9310-13-00008064-00.

10. Буркальцева М.В., Крылов В.Н., Плетенёва Е.А., Шабурова О.В., Крылов С.В., Волкарт Г., Сыкилинда Н.Н., Курочкина Л.П., Месяжников В.В. Феногенетическая характеристика группы гигантских ФКЗ-подобных бактериофагов *Pseudomonas aeruginosa*. – Генетика, т.38, №11, с.1470–1479.

11. Krayev A.V., Talroze R.V. Electric force microscopy of dielectric heterogeneous polymer blends. – Polymer., 2004, v.45, p. 8195–8200.

12. Сафенкова И.В., Савватеев М.Н., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. Использование электросиловой микроскопии для детекции наночастиц оксида титана в биоматериале. – Первая международная научная школа «Наноматериалы и нанотехнологии в живых системах». Материалы, с.332, 29 июня – 4 июля 2009 г., пансионат «Заря», Ступинский район, Московская обл.