

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Химический факультет

кафедра высокомолекулярных соединений

А.В. Большакова, А.Ю. Ярышева

СПЕЦПРАКТИКУМ ПО ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫМ СОЕДИНЕНИЯМ

«Атомно-силовая микроскопия.

Исследование надмолекулярной структуры полимеров»

Утверждено

учебно-методической комиссией

кафедры высокомолекулярных соединений

Под редакцией

профессора, д.х.н. Черниковой Е.В.

Москва 2025 г.

УДК 539.2+544.777

А.В. Большакова, А.Ю. Ярышева. Спецпрактикум по высокомолекулярным соединениям «Атомно-силовая микроскопия. Исследование надмолекулярной структуры полимеров». Методическое пособие для студентов и аспирантов химического факультета МГУ, обучающихся по специальности «Высокомолекулярные соединения».

Москва, 2025, 42 с.

Утверждено методической комиссией кафедры высокомолекулярных соединений.

Учебное пособие предназначено для спецпрактикума по использованию метода атомно-силовой микроскопии в исследовании полимеров и полимерных материалов (по специальности 040501 "Фундаментальная и прикладная химия" и направлению подготовки в аспирантуре 040601 "Химические науки", 020006 "Высокомолекулярные соединения"). В данном учебно-методическом пособии изложены основные приемы и принципы работы атомно-силового микроскопа, подготовки образцов для исследований, получения изображений методом атомно-силовой микроскопии, а также обработки изображений с использованием разработанного в МГУ программного обеспечения ФемтоСкан Онлайн. В пособии кратко рассмотрены основные особенности надмолекулярной организации полукристаллических и аморфных полимеров, продемонстрированы возможности и преимущества метода атомно-силовой микроскопии для анализа структуры и морфологии полимеров.

Оглавление

Атомно-силовая микроскопия. Исследование надмолекулярной структуры полимеров.....	4
Теоретическая часть	4
1. Устройство, принцип и режимы работы атомно-силового микроскопа	4
1.1 Устройство атомно-силового микроскопа.....	4
1.2 Принцип работы метода АСМ.....	8
1.3 Режимы работы атомно-силового микроскопа.....	11
1.4 Режимы записи данных	13
2. Применение метода АСМ для исследования надмолекулярной структуры полимеров.....	14
2.1 Исследование морфологии полимерной поверхности	14
2.2 Измерение структурных параметров полукристаллических полимеров методом АСМ.....	16
2.3 Применение метода АСМ для исследования пластической деформации полимеров.....	17
2.4 Применение метода АСМ для исследования параметров рельефа полимерной поверхности	20
Практическая часть	22
1. Порядок работы на приборе	22
2. Работа в программе ФемтоСкан Онлайн (FemtoScan Online)	25
2.1. Начало работы	25
2.2 Подготовка к анализу.....	25
Задача №1. Исследование надмолекулярной структуры пленок полукристаллических полимеров	29
Задача 2. Исследование эволюции структуры полукристаллического полимера в процессе пластической деформации.....	33
Задача 3. Определение параметров рельефа поверхности полукристаллического полимера.....	36
Контрольные вопросы	39
Список литературы	40
Список сокращений	41

Атомно-силовая микроскопия. Исследование надмолекулярной структуры полимеров

Теоретическая часть

Атомно-силовая микроскопия (АСМ) является одним из наиболее широко используемых методов сканирующей зондовой микроскопии, в основе которой лежит измерение силы взаимодействия между острой иглой (зондом) и поверхностью исследуемого образца. В зависимости от типа зонда выделяют туннельную, атомно-силовую, магнитно-силовую и др. виды зондовой микроскопии. Как правило, метод АСМ применяют для исследования материалов с пониженной механической жесткостью (т.н. “soft matter”) - биологических объектов, композитов, полимеров, лекарственных препаратов и других объектов наноразмерного уровня во многих областях науки и техники (материаловедение, физика, химия, биоинженерия, медицина, электронная, аэрокосмическая промышленность и др.). Безусловным достоинством метода является возможность получения изображений на воздухе и в присутствии жидких сред.

1. Устройство, принцип и режимы работы атомно-силового микроскопа

1.1 Устройство атомно-силового микроскопа

Схематическое представление устройства атомно-силового микроскопа показано на рисунке 1. Рассмотрим подробно каждый элемент атомно-силового микроскопа. Острая игла (зонд) расположена на упругой балке известной жесткости, называемой кантилевером.

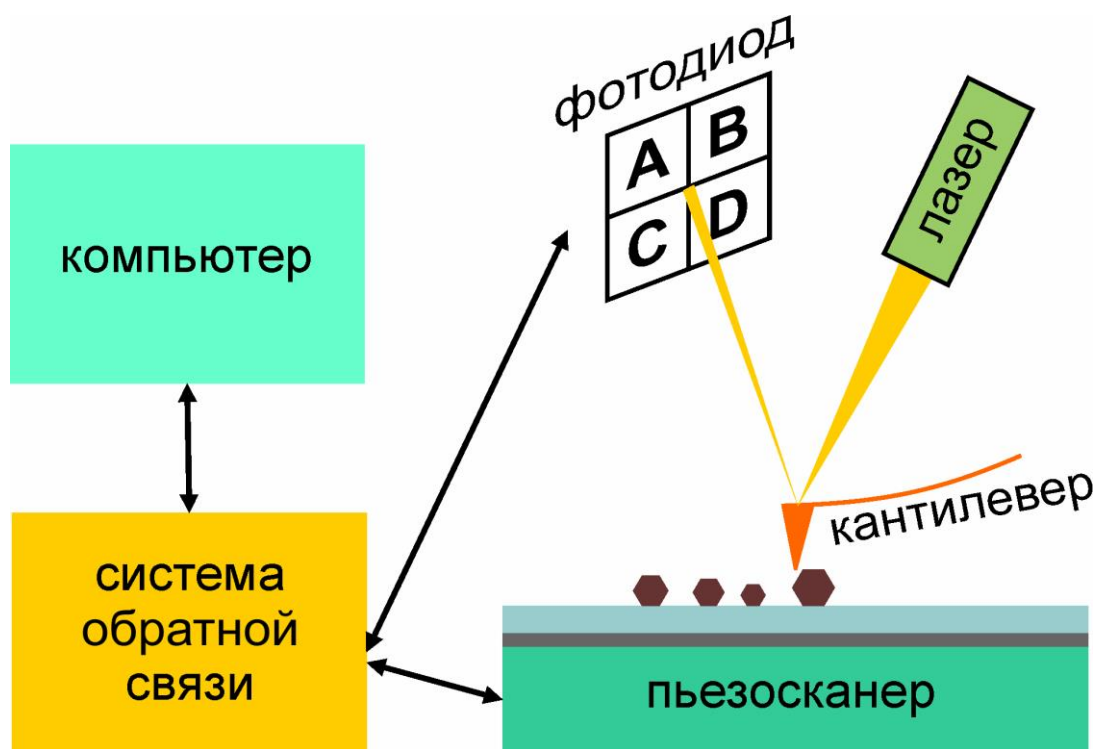


Рис. 1 Схематическое изображение устройства атомно-силового микроскопа.

Кантилевер. Кантилевер (от англ. cantilever – консоль, балка) — одна из основных составных частей сканирующего зондового микроскопа имеет типичные размеры 50-200 мкм. Подобным хрупким объектом было бы весьма непросто манипулировать исследователям, поэтому кантилеверы закреплены на «массивном» прямоугольном основании (чипе) с размерами примерно 1.5 мм × 3.5 мм × 0.5 мм.

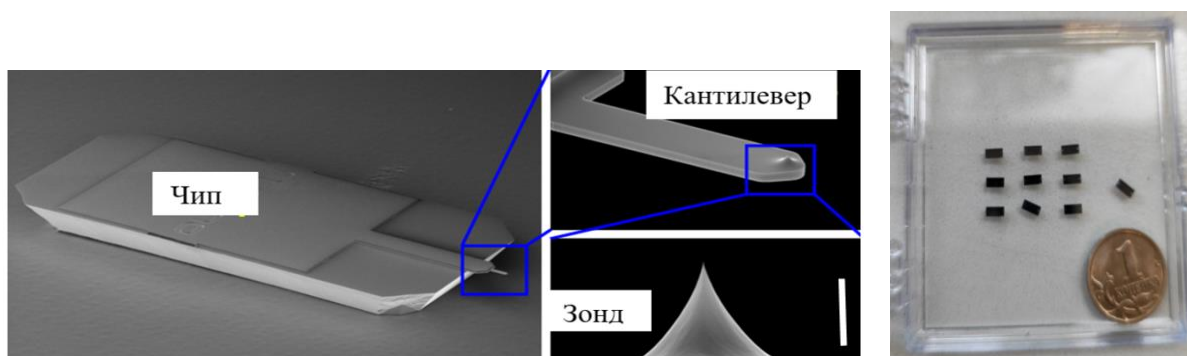


Рис.2

Чип с кантилевером, кантилевер, зонд (размер белого маркера 1 мкм). Коробка с кантилеверами (монета в 1 копейку приведена для масштаба).

На дальнем от чипа конце кантилевера располагается игла, взаимодействующая с образцом (рис. 2). Радиус острия иглы промышленных

кантилеверов находится в пределах 5—90 нм, лабораторных — от 1 нм. Обратная сторона кантилевера является зеркальной для отражения лазерного луча. В некоторых случаях для улучшения отражающей способности кантилевера на него напыляют тонкий слой металла (алюминия, золота, платины и пр.)¹. Кантилевер обычно представляет собой монокристалл кремния, нитрида кремния или алмаза [1-3]. В данной практической работе предлагается исследовать поверхность полимерных пленок с помощью поликремниевых кантилеверов с высоким аспектным отношением (отношение ширины к высоте элемента) (Рис. 3), поскольку они хорошо зарекомендовали себя при изучении тонкой структуры полимерных материалов [4].

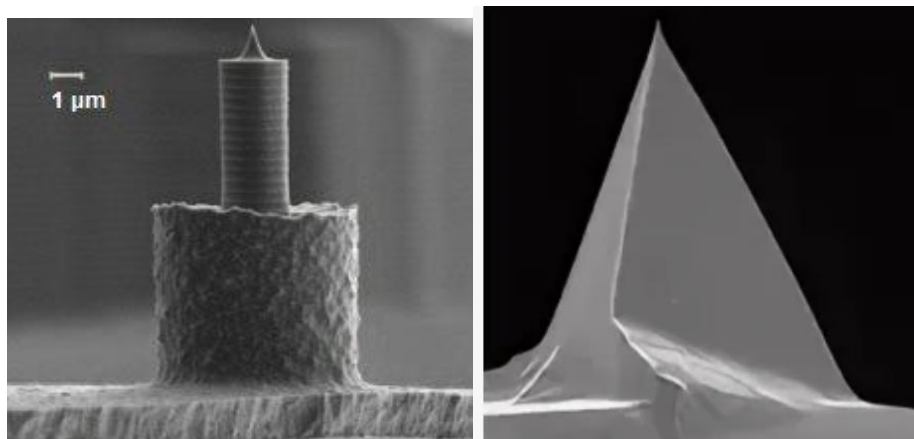


Рис. 3 Поликремниевый зонд с высоким аспектным отношением (слева) и стандартный зонд (справа) [4].

Оптическая система в АСМ. Оптическая система в АСМ состоит из лазера, зеркала, и четырехсекционного фотодиода. Луч диодного лазера направляется на хорошо отражающую обратную сторону (сторону без зонда) кантилевера, а затем с помощью зеркальца направляется на фотодиод. Основная задача экспериментатора на этом этапе работы заключается в получении максимального отражающего сигнала. От качества настроенного сигнала будет зависеть чувствительность зондового микроскопа.

¹ Напыление металла на кантилевер делает его универсальным инструментом для других методик зондовой микроскопии, таких как электрохимическая микроскопия, микроскопия зонда Кельвина, электро-силовая микроскопия, магнитно-силовая микроскопия.

Четырехсекционный фотодиод нужен для получения большей информации от образца. Разница верхних и нижних сигналов фотодиода $((A+B)-(C+D))$ в процессе сканирования дает представление об отклонении от выбранного изгиба кантилевера (настроенных параметров обратной связи), а разница правых и левых сигналов $((A+C)-(B+D))$ – дает представление о латеральных силах, действующих на кантилевер (рис.1).

Система обратной связи. Система обратной связи позволяет поддерживать заданные параметры сканирования. От правильной настройки системы обратной связи и других параметров (уставка (setpoint), сила, скорость сканирования и пр.) во многом зависит качество получаемых данных. Результатом сканирования является карта рельефа поверхности образца в режиме реального времени с непревзойденной разрешающей способностью (примерно 0.1-1 нм по горизонтали и 0.01 нм по вертикали).

В атомно-силовом микроскопе в данной лабораторной работе исследуемый образец крепится с помощью магнитного держателя к пьезосканеру, который обеспечивает перемещение образца в трех направлениях. Таким образом, зонд при сканировании остается неподвижным, а образец движется (т.н. сканирование образцом) (рис. 4). Однако существуют микроскопы, в которых, наоборот, движется зонд, а образец остается неподвижным (т.н. сканирование зондом).

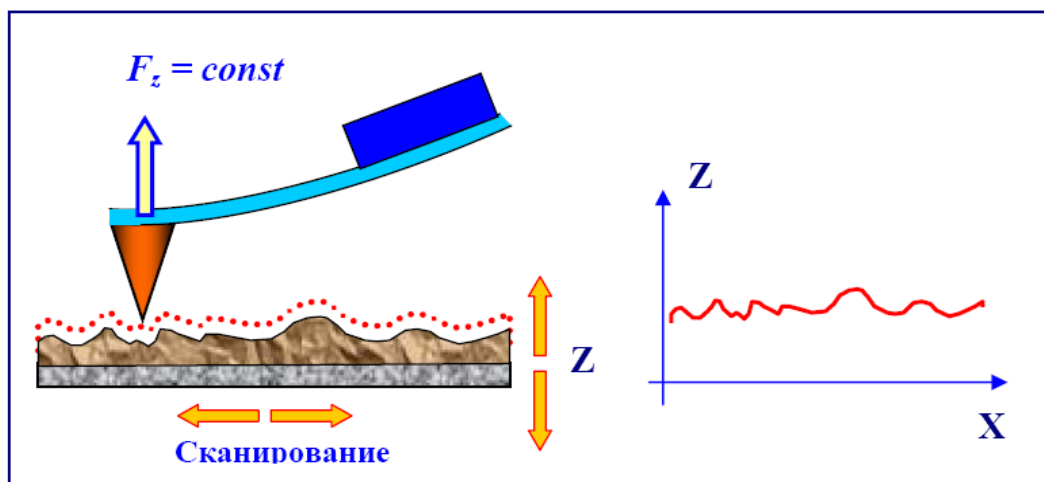


Рис. 4 Зонд над поверхностью образца. Перемещения осуществляются в трех направлениях (X, Y, Z) Сила взаимодействия между зондом и образцом (изгиб

кантилевера) постоянна. Реализовано сканирование образцом. Справа показан результат сканирования в виде строки прописанного рельефа.

1.2 Принцип работы метода АСМ

Несмотря то, что в названии метода содержится слово «микроскоп», с привычным оптическим микроскопом у атомно-силового микроскопа очень мало общего. Разве что только получаемые в результате работы, изображения, которые некоторые ошибочно называют микрофотографиями. На чем же основан принцип работы атомно-силового микроскопа? В атомно-силовом микроскопе измеряются чрезвычайно слабые силы взаимодействия между острым зондом (иглой) и поверхностью образца (порядка нескольких пиконьютонов). Для получения изображения, в отличие от оптического микроскопа, атомно-силовому не нужен свет, прошедший или отраженный от образца. При приближении острого зонда (размер острия в несколько нм) к поверхности образца возникают различные силы взаимодействия:

- Ван-дер-Ваальсовы силы – это межмолекулярные силы притяжения, обусловленные в основном взаимодействием мгновенных и индуцированных дипольных моментов. Диапазон от 10^{-12} до 10^{-9} Н. Зависят от расстояния между атомами/молекулами, обратно пропорциональны расстоянию между атомами в шестой степени ($1/r^6$);

- Квантово-механические силы отталкивания – это силы, которые возникают при очень тесном сближении атомов (перекрывание электронных оболочек), обусловлены принципом Паули. Диапазон 10^{-12} Н и больше. Быстро возрастают с уменьшением расстояния, обратно пропорциональны расстоянию в двенадцатой степени;

- Капиллярные силы возникают из-за наличия тонкого слоя адсорбированной воды на большинстве поверхностей. В результате между зондом и образцом образуется мениск воды, создающий дополнительную силу притяжения между зондом и образцом, которая может мешать корректной

работе АСМ. Эти силы могут быть весьма внушительными по сравнению с другими и достигать десятков наноНьютонов;

- Электростатические силы зависят от материала зонда и образца, от расстояния между ними. Находятся в диапазоне от 10^{-12} до 10^{-9} Н. Могут быть предметом отдельного изучения в электростатическом зондовом микроскопе или в микроскопии зонда Кельвина (методы сканирующей зондовой микроскопии). Для минимизации их воздействия в АСМ используются кантилеверы с металлизированным покрытием с заземлением;

- Магнитные силы могут проявляться только для зондов с магнитным покрытием. Используются в методе магнитно-силовой микроскопии;

- Силы трения, латеральные силы – это силы сопротивления, возникающие при поперечном движении зонда относительно поверхности. Возникают только в контактном режиме сканирования.

Среди описанных сил взаимодействия можно выделить дальнедействующие и короткодействующие силы. К дальнедействующим относятся: Ван-дер-Ваальсовы, электростатические, капиллярные, магнитные. Они действуют на расстоянии в несколько нанометров и даже больше. К короткодействующим относятся силы отталкивания, которые проявляются только при непосредственном контакте атомов. Силы взаимодействия достаточно малы, и устройство атомно-силового микроскопа позволяет их легко детектировать. Взаимодействия между зондом и поверхностью образца можно описать с помощью потенциала Леннарда-Джонса:

$$U(r) = \frac{A}{r^{12}} - \frac{B}{r^6}$$

где r — расстояние между зондом и образцом, A , B — коэффициенты пропорциональности.

Каким же образом измерение сил взаимодействия между зондом и образцом можно преобразовать в изображение поверхности образца?

При сканировании поверхности исследуемого объекта изгиб кантилевера не меняется (*режим постоянной силы или режим с включенной обратной*

связью), а система обратной связи поднимает и опускает зонд над поверхностью, поддерживая постоянную величину силы и записывая информацию о высоте объекта (рис. 4). В этом случае сразу регистрируется рельеф поверхности ² или иначе, топография. Другими словами, силы взаимодействия между зондом и образцом регистрируется с помощью измерения отклонения изгиба кантилевера от заданной величины. Для этого используется оптическая система, состоящая из лазера и четырехсекционного фотодиода (A, B, C, D) (рис. 1).

Сканирование поверхности производится построчно от точки к точке, от строки к строке. Сигналы от пьезосканера и фотодиода 16-ти разрядным аналого-цифровым преобразователем (АЦП) преобразуются в матрицу/массив цифровых данных (рис. 5). В качестве записываемых параметров в этой матрице (массиве) данных помимо топографии могут быть различные физико-химические параметры поверхности, а именно: латеральное трение, магнитный отклик, электрическое сопротивление и пр. Получаемые данные не являются изображением, и содержат информацию об истинном рельефе поверхности, их нельзя открыть стандартными программами для обработки изображений. Далее с помощью специализированного программного обеспечения происходит «перевод» цифровых данных в изображение рельефа или в карты распределения других свойств поверхности, в зависимости от используемой методики зондовой микроскопии (электрическое сопротивление, магнитные свойства, латеральное трение, фазовый сдвиг, отклонение, ошибка амплитуды и пр.). Каждому значению массива данных присваивается определенный цвет из выбранной палитры для изображения. Палитру можно использовать самую разнообразную. На рис. 5В представлена палитра в синих тонах, где наибольшему значению присвоен наиболее светлый цвет, а наименьшему значению – самый темный.

² Более подробно о работе обратной связи в СЗМ можно почитать здесь [5].

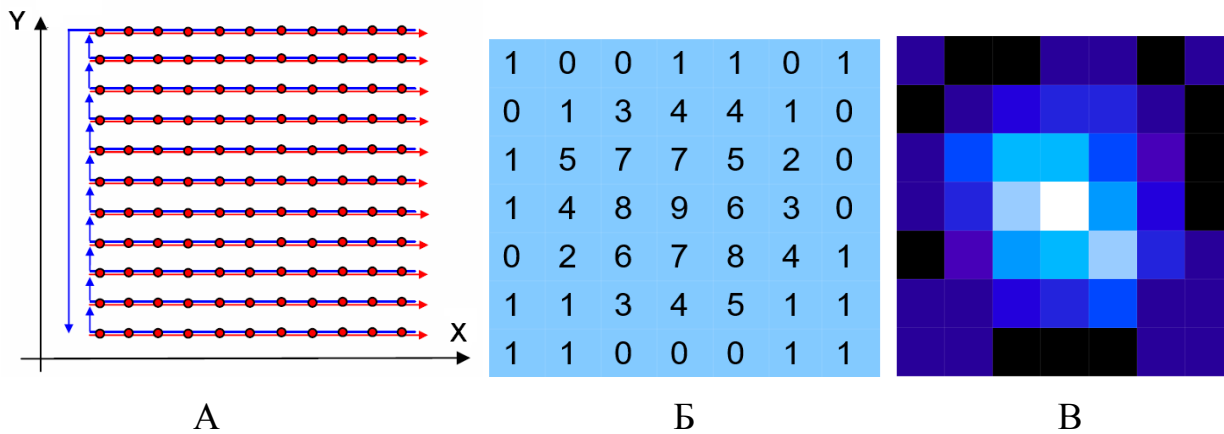


Рис. 5 Построчное сканирование в АСМ (А), матрица/массив с данными (Б), изображение, преобразованное из данных (В).

Файлы представленных данных каждый производитель зондовых микроскопов представляет в своем собственном формате, которые имеют расширение *.spm; *.mdt, *.000 и др.

Дальнейшую обработку полученных изображений проводят с использованием специального программного обеспечения. Существуют универсальные программы обработки данных, которые «читают» файлы большинства производителей зондовых микроскопов: Gwyddion, ФемтоСкан Онлайн, ImageJ и др. [6-9].

1.3 Режимы работы атомно-силового микроскопа

Режим работы АСМ, при котором сканирующая игла и сам образец находятся в непосредственном контакте, называется *контактным режимом* работы. Контактный режим сканирования имеет ряд существенных недостатков. Прежде всего в силу необходимости нахождения в непосредственном длительном контакте с образцом возможна модификация, деформация поверхности образца сканирующим зондом. В 1992 году был изобретен метод сканирования, который назвали *tapping mode*TM. В русскоязычной литературе нет единого названия данного режима. Вот лишь некоторые названия данного режима сканирования: полуконтактный режим, режим обстукивания, режим

прерывистого контакта. Чтобы не запутаться в терминологии, необходимо понимать основной принцип работы данного режима.

В режиме *прерывистого контакта (полуконтактный резонансный) (tapping modeTM)* кантилевер совершает колебательные движения в перпендикулярной поверхности образца плоскости на частоте, которая близка к его собственной резонансной частоте. При приближении к поверхности образца резонансная частота смещается, и происходит изменение параметров колебаний (амплитуды и фазы) или иными словами, изменения амплитудно-частотных и фазово-частотных характеристик (АЧХ, ФЧХ). Получается, что, чем ближе кантилевер к поверхности образца, тем выше градиент силы взаимодействия зонд/образец, и, следовательно, тем дальше сдвигается резонансная частота, и сильнее уменьшается амплитуда колебаний. Система обратной связи вблизи поверхности отводит кантилевер от образца, поддерживая постоянной амплитуду колебаний, которую мы заранее задаем. Таким образом, при сканировании в режиме прерывистого контакта кантилевер «вибрирует» над образцом на заранее выбранной частоте (собственной резонансной частоте или несколько меньшей) с постоянной (заранее выбранной) амплитудой, описывая и повторяя контуры исследуемой поверхности. Колебания именно на собственной резонансной частоте кантилевера делают данную методику сканирования чрезвычайно чувствительной к любым внешним изменениям, что позволяет получать профиль исследуемой поверхности с высокой точностью. Чем выше выбранная амплитуда свободных колебаний, тем больше сила воздействия на поверхность со стороны кантилевера. Отношение амплитуды колебаний кантилевера A во время сканирования к амплитуде свободных колебаний A_0 обычно выбирают в интервале 0.50–0.95. Чем ниже соотношение A/A_0 (уставка, setpoint), тем ближе к поверхности среднее положение кантилевера, и тем больше силовое воздействие на образец со стороны зонда.

В *резонансном полуконтактном режиме* сканирования время контакта зонда и образца мало по сравнению с *контактным режимом* сканирования, а,

значит, силовое воздействие на образец со стороны зонда минимально. Более того, в режиме *прерывистого контакта* минимизирована тангенциальная составляющая силы взаимодействия между зондом и образцом (сила трения), а воздействие сводится к легкому вдавливанию объекта в подложку. Именно поэтому *резонансный полуконтактный режим* используют для изучения материалов с пониженной механической жесткостью (“soft matter”): полимеров, биологических объектов, материалов, адсорбированных на твердой подложке (тонкие или ленточные пленки, белки, молекулы ДНК и РНК, наночастицы). В *контактном режиме* такого рода объекты могут «захватываться» или повреждаться сканирующим острием, что не дает возможности получить изображение.

В данной лабораторной работе предполагается использование полуконтактного режима сканирования.

1.4 Режимы записи данных

При работе в режиме прерывистого контакта информацию о поверхности образца можно регистрировать двумя основными способами: высота (**Height**) и фаза (**Phase**).

Height (высота) содержит данные о высоте образца в каждой точке (при регистрации перемещения пьезосканера по оси Z). В этом режиме записи оптимально получать информацию о рельефе поверхности.

В режиме **Phase (фаза)** происходит регистрация фазового сдвига колебания кантилевера в каждой точке. При приближении зонда к образцу вследствие неоднородной структуры поверхности помимо сдвига частоты колебаний происходит и фазовый сдвиг. **Phase (фаза)** позволяет визуализировать мелкие структурные детали поверхности.

2. Применение метода АСМ для исследования надмолекулярной структуры полимеров

2.1 Исследование морфологии полимерной поверхности

Применение АСМ для изучения надмолекулярной структуры и структурных превращений полимеров имеет большое значение как с научной, так и с прикладной точек зрения. Без полимерных материалов трудно себе представить жизнь современного человека, они используются повсеместно: в пищевой и текстильной промышленности, сельском хозяйстве, электронике, медицине, строительстве и пр. Таким образом, АСМ-исследования необходимы для контроля и прогнозирования поведения полимеров в процессе эксплуатации, а также представляют интерес для разработки подходов к модификации структуры полимеров, созданию новых материалов и композитов.

Для примера исследования морфологии поверхности промышленных полимерных пленок на рис. 6 представлены изображения полукристаллического полипропилена (ПП), полученные методом АСМ в режимах высота (**Height**) и фаза (**Phase**), (В) схематическое представление.

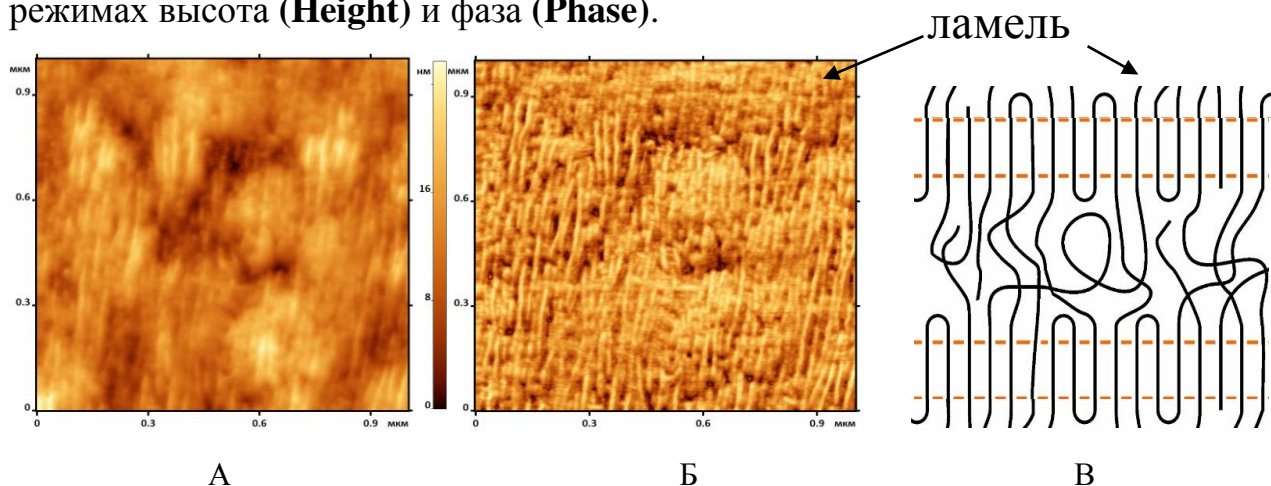


Рис. 6 АСМ изображения поверхности ПП в режимах (А) высота (**Height**) и (Б) фаза (**Phase**), (В) схематическое представление. Ось экструзии горизонтальна на А, Б и вертикальна на В. Изображение получено на АСМ Nt-MDT Solver.

Видно, что структура полимера представляет собой совокупность кристаллических ламелей, которые уложены слоями перпендикулярно оси

экструзии (рис. 6А). Изображение на рис. 6Б демонстрирует преимущества использования фазового режима АСМ для получения более четких изображений структурных элементов. Подобная структура получила название слоистая ламеллярная структура (схематическое представление на рис. 6В).

В отличие от ПП на рис. 6 надмолекулярная структура пленок ПП, сформированных в других технологических условиях, состоит из сферолитов (рис. 7А) (схематическое представление на рис. 7Б). Разветвленная морфология кристаллитов поликапролактона (ПКЛ), полученных из растворов (рис. 8), называется дендритной (греч. dendron — дерево), а надмолекулярная структура полиэтилена высокой плотности (ПЭВП) получила название роу-структура (англ. "row" - "ряд").

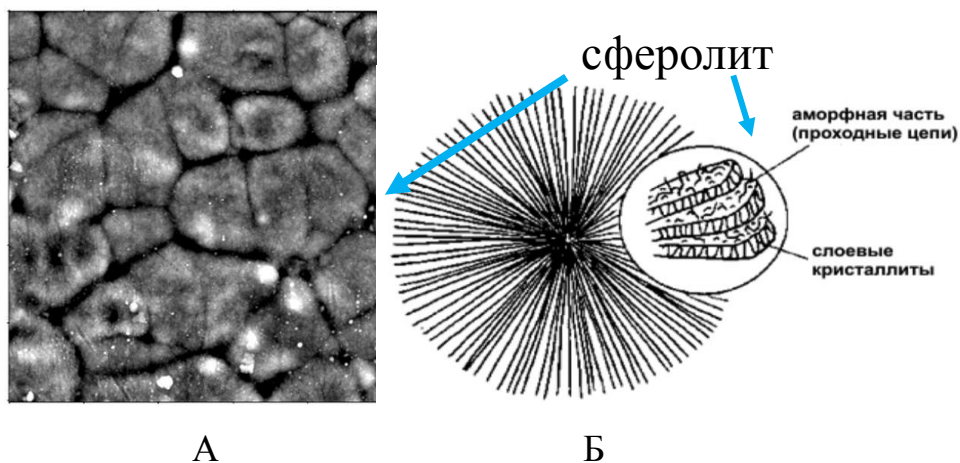


Рис. 7 Сферолитная надмолекулярная структура ПП: (А) изображение, полученное методом АСМ, (Б) схематическое представление сферолита [10].

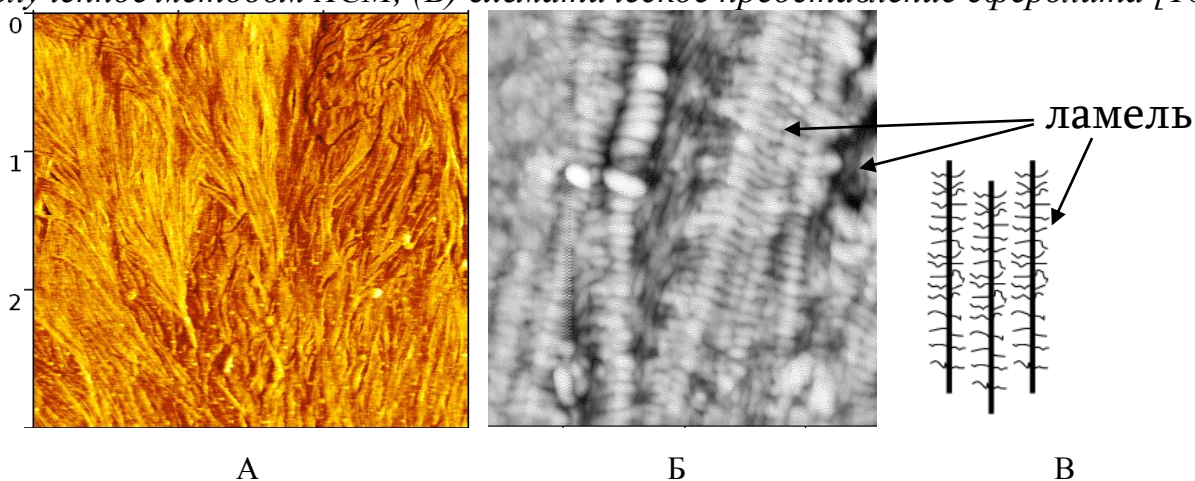


Рис. 8 АСМ изображение: (А) дендритной надмолекулярной структуры пленок ПКЛ, полученных из раствора в хлороформе; (Б) роу-структуры пленок ПЭВП и (В) ее схематическое представление.

Таким образом, АСМ позволяет исследовать морфологию поверхности полимерных материалов.

2.2 Измерение структурных параметров полукристаллических полимеров методом АСМ

АСМ дает возможность количественного описания структурных параметров полимеров (размеры кристаллитов, большой период, рельеф и шероховатость поверхности, размер и процентное содержание микрофаз в блок-сополимерах и т.п.) на наноразмерном уровне. Например, в программе ФемтоСкан Онлайн [6], используя команду контекстного меню «Сечение», можно построить профиль поверхности как профилограмму сечения по выбранной линии (рис. 9).

При построении сечения в новом окне появляется график, показывающий изменение высоты вдоль выбранной линии - профиль поверхности (рис. 10). Перемещая курсоры (бегунки), можно измерять расстояние между элементами профиля. Как следует из рис. 9, 10, анализ профилей сечений позволяет количественно оценить толщину ламелей, а также величину большого периода (расстояние между центрами соседних кристаллических ламелей).

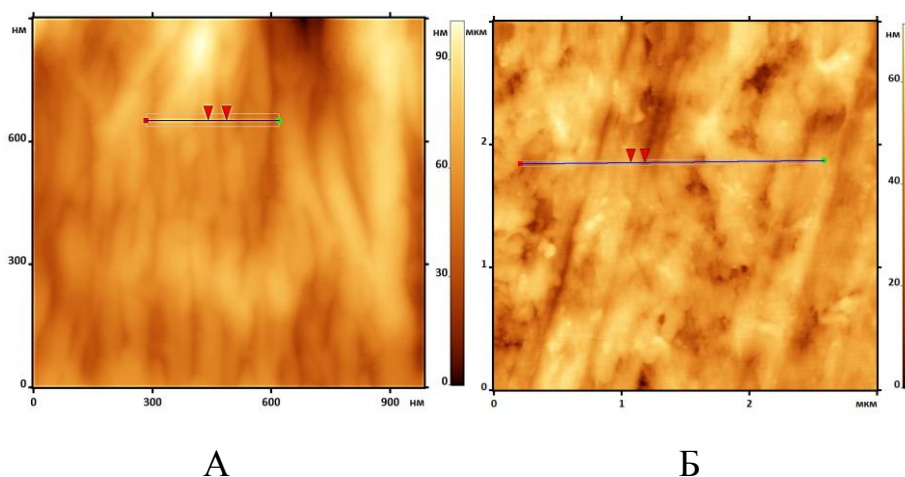


Рис. 9 Построение сечения (профиля поверхности) на АСМ изображении полукристаллического полимера: (А) промышленного экструдированного ПЭВП, (Б) ПЭТФ, закристаллизованного под действием органического растворителя.

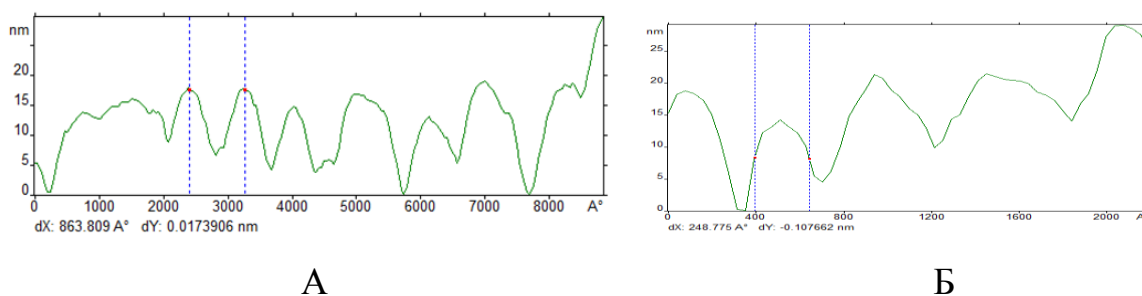


Рис. 10 Профилограмма поверхности полимерной пленки (функция «Сечение», линия проведена вдоль оси экструзии): А – измерение большого периода; Б - измерение толщины ламелей.

В силу особенностей съемки АСМ изображений (разрешающая способность зависит от радиуса кривизны кончика зонда/иглы кантилевера) для корректной оценки большого периода следует измерять расстояние между центрами пиков профиля (рис.10А), а для измерения толщины ламелей - ширину пика на полувысоте (рис.10Б) [11].³

2.3 Применение метода АСМ для исследования пластической деформации полимеров

Метод АСМ дает возможность исследования структурной эволюции полимерных материалов (пленок, волокон, лент) при внешнем механическом воздействии, например, при приложении растягивающего напряжения или в процессе кристаллизации полимеров. Любой кристаллический полимер является частично кристаллическим, соответственно имея в своем составе две разные по строению и механическим свойствам фазы – жесткую кристаллическую и податливую аморфную, которая в зависимости от температуры может находиться в стеклообразном или высокоэластическом состоянии. Структурные превращения в процессе пластической деформации в разных фазах существенно отличаются, и деформация всего полимерного материала в целом является суммарной величиной деформаций в кристаллической и аморфной фазах,

³ *Примечание: иногда сложно добиться желаемой контрастности для четкого разграничения ламелей, в этом случае стоит перейти от изображения «по высоте» к изображению «по фазе» и разграничение станет очевиднее.*

связанных большим количеством проходных цепей и взаимно влияющих друг на друга.

Многообразию и сложности кристаллической структуры полимеров привели к тому, что в мировой литературе до сих пор не сложилось единой общепризнанной модели/механизма деформации, но наиболее известными являются модель Петерлина, модель плавления-рекристаллизации и кристаллографическая модель [12-14].

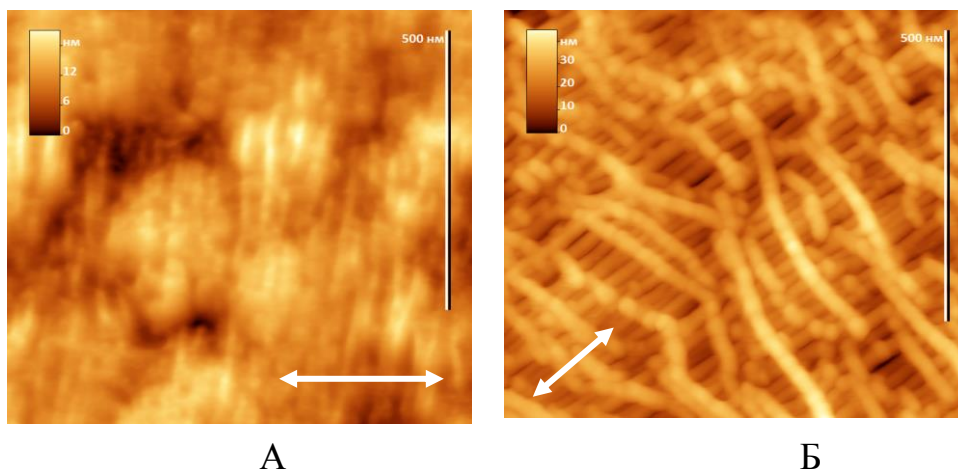


Рис.11 АСМ изображение поверхности (А) пленки ПП, (Б) пленки ПП после деформирования на воздухе 200%. Направление экструзии и растяжения указано стрелками.

На рисунке 11 для примера представлено АСМ изображение поверхности пленки ПП до и после растяжения на 200%. При сравнении АСМ изображений видно, что деформация сопровождается раздвижением кристаллических ламелей и формированием в межламеллярном пространстве фибрилл, ориентированных в направлении вытяжки и разделенных углублениями (порами). При раздвижении ламелей наблюдается их фрагментация и смещение фрагментов ламелей относительно друг друга.

Как видно на рис. 12, по полученным АСМ изображениям ПЭВП при разных степенях растяжения в водно-этанольной среде можно составить схему развития пластической деформации полимера, выделив основные структурные превращения: изгиб, раздвижение, фрагментацию ламелей, сдвиг фрагментов ламелей, фибриллизацию полимера и формирование пористости [15].

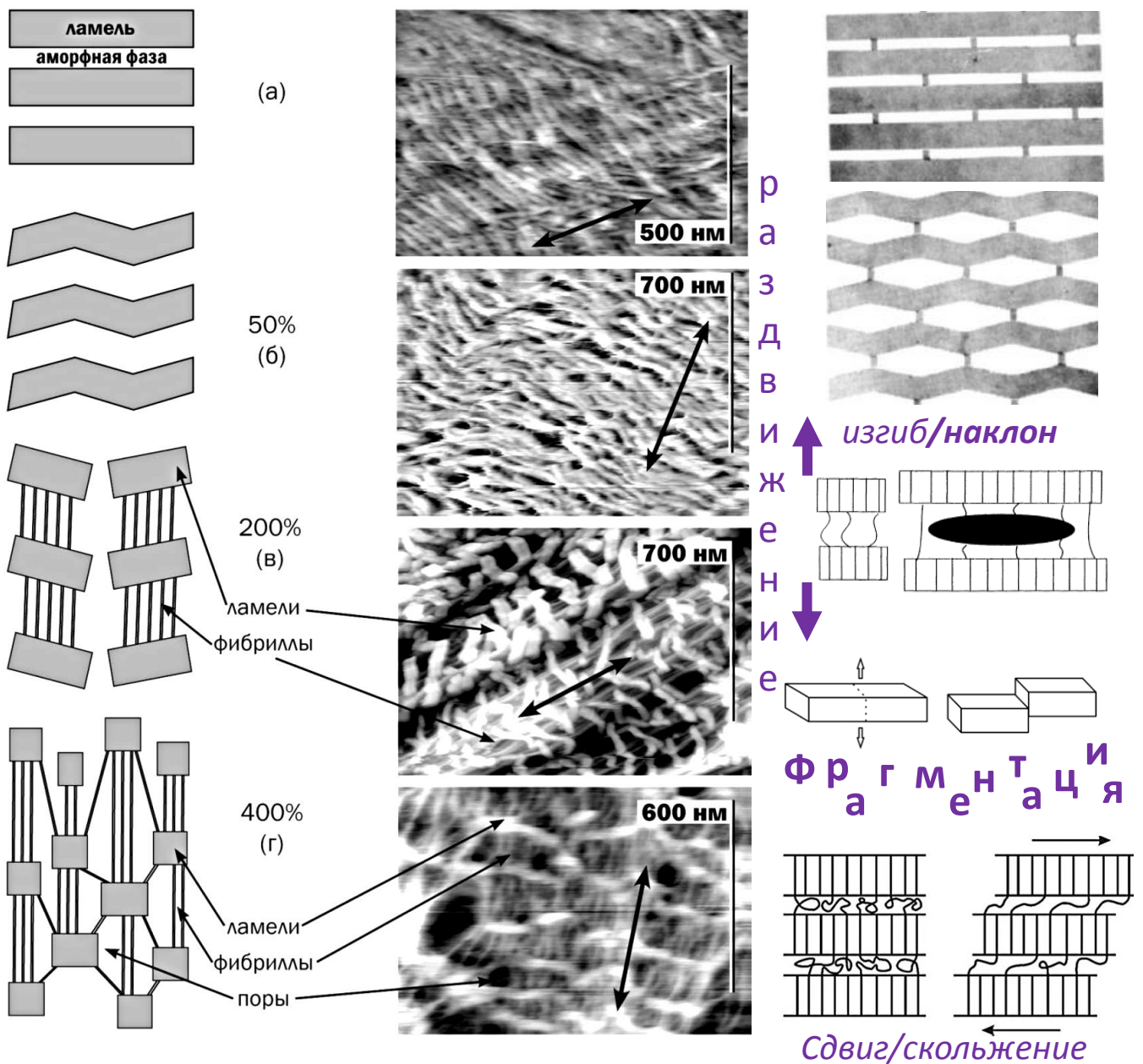


Рис.12 АСМ изображения ПЭВП при разных степенях растяжения в водно-спиртовой среде и соответствующая схема структурных перестроек [15].

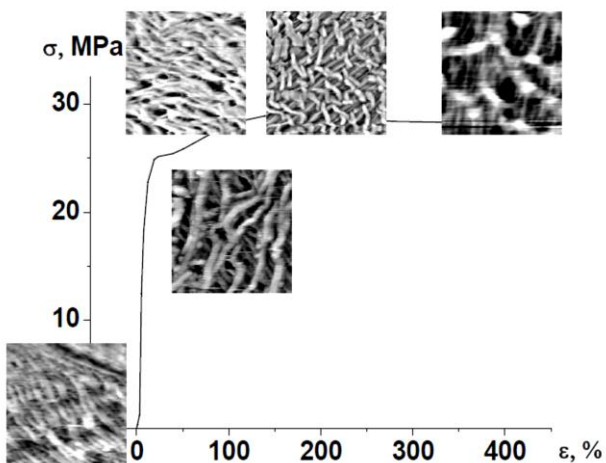


Рис. 13 АСМ изображения полимера в соотношении с динамометрической кривой растяжения.

Таким образом, АСМ позволяет визуализировать процесс пластической деформации полукристаллических полимеров на воздухе и в присутствии жидких сред. Исследование морфологических превращений в совокупности с построением и анализом профилей сечения дает возможность количественно описать наблюдаемые процессы (изменение большого периода, длины фрагментов, толщины ламелей). Полученные данные имеют большое значение для исследования механизма деформации полимеров. Соотнесение структуры с динамометрической кривой (рис. 13) и механическими характеристиками позволяет прогнозировать и контролировать поведение полимеров, полимерных материалов и композитов при эксплуатации на воздухе и в контакте с жидкими средами.

2.4 Применение метода АСМ для исследования параметров рельефа полимерной поверхности

АСМ позволяет получить информацию о рельефе поверхности полимеров. Для количественного описания рельефа используют различные параметры, чаще всего это средняя шероховатость, среднеквадратичная шероховатость поверхности и высота неровностей профиля. В программе ФемтоСкан Онлайн есть возможность измерять всевозможные параметры шероховатости. Для этого используется меню программы «Математика» – «Анализ шероховатости», в котором можно настроить параметры измерения: выбрать количество профилей, расстояние между ними, угол поворота профиля относительно направления сканирования и пр.

В результате работы функции в окне вывода появится табличка с параметрами шероховатости: средняя шероховатость поверхности (R_a), среднеквадратичная шероховатость поверхности (R_q) и высота неровностей профиля (R_z). Параметр средняя шероховатость поверхности R_a определяется как среднее арифметическое отклонение профиля от средней наклонной прямой или плоскости (средней линии профиля, средней плоскости), проведенной методом наименьших квадратов. Он определяется как площадь отклонения

профиля шероховатости относительно средней прямой (плоскости), деленной на общую длину базовой линии L , и численно равен интегралу в непрерывном случае или сумме в дискретном:

$$R_a = \frac{1}{L} \int_0^L |r(x)| dx; \quad R_a = \frac{1}{L} \sum_0^L |r(x)| dx$$

Среднеквадратичная шероховатость поверхности R_q определяется как среднее арифметическое отклонение профиля от средней наклонной прямой или плоскости (средней линии профиля, средней плоскости), проведенной методом наименьших квадратов. Он определяется как площадь отклонения профиля шероховатости относительно средней прямой (плоскости) деленной на общую длину базовой линии. Среднеквадратичная шероховатость вычисляется через интеграл в непрерывном случае или сумму в дискретном и характеризует среднеквадратичное отклонение профиля поверхности относительно базовой линии:

$$R_q = \sqrt{\frac{1}{L} \int_0^L r^2(x)}; \quad R_q = \sqrt{\frac{1}{L} \sum_0^L r^2(x)}$$

Однако, R_a не дает полной картины профиля шероховатости поверхности, ведь многие поверхности могут иметь одинаковую среднюю шероховатость, но совершенно различную форму. Параметр R_z (высота неровностей профиля, максимальная высота профиля) — параметр шероховатости поверхности, который измеряет максимальную разницу высот между пиками и впадинами.

Все эти параметры шероховатости, как видно из их определения, имеют размерность длины. Для более полного описания структуры поверхности в АСМ принято использовать не один параметр шероховатости, а сразу несколько. Поскольку шероховатость поверхности связана со многими важными характеристиками (адгезия, смачиваемость, сорбционные свойства), исследование данного параметра необходимо для анализа свойств и поведения полимерных материалов и композитов.

Практическая часть

1. Порядок работы на приборе

1.1 Перед началом работы провести подготовку полимерных образцов для АСМ наблюдений по процедуре, описанной в задаче, и поместить образец в атомно-силовой микроскоп.

1.2 В специальный держатель вставить кантилевер (Tips Nano, MicroMash и пр.) и проверить правильность его расположения. Для этого лучше использовать лупу, очки-лупу и пр. Чип с кантилевером должен располагаться максимально ровно в держателе для кантилевера.

Потренироваться в настройке зондового микроскопа можно онлайн на сайте https://myscope.training/SPM_simulator.htm [16] (см. рис. 14)

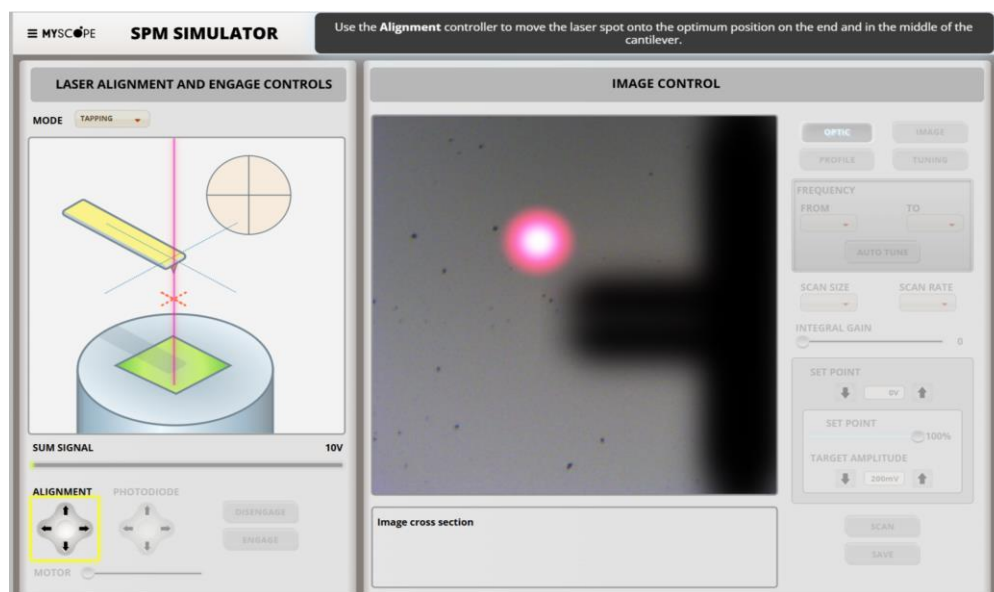


Рис. 14 Окно онлайн-симулятора зондового микроскопа в браузере.

У разных производителей микроскопов могут быть аналоговые или цифровые системы управления, поэтому в данном руководстве мы перечислим основные этапы настройки и их последовательность. За более детальным описанием необходимо обратиться к руководству пользователя вашего оборудования.

1.3 Провести настройку лазерного пучка на кончик кантилевера для получения сигнала максимальной интенсивности - не менее 70% (см. рис. 15).

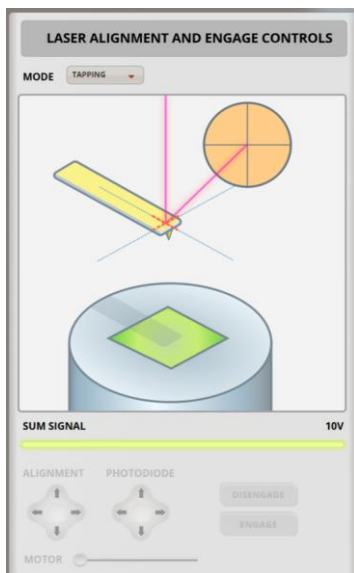


Рис. 15 Настройка оптической системы зондового микроскопа в онлайн-симуляторе.

1.4 После настройки оптической схемы АСМ произвести поиск резонансной частоты кантилевера и выбор амплитуды свободных колебаний. Провести выбор рабочей амплитуды кантилевера для последующего сканирования в интервале 90-50% от амплитуды свободных колебаний (см. рис. 16).

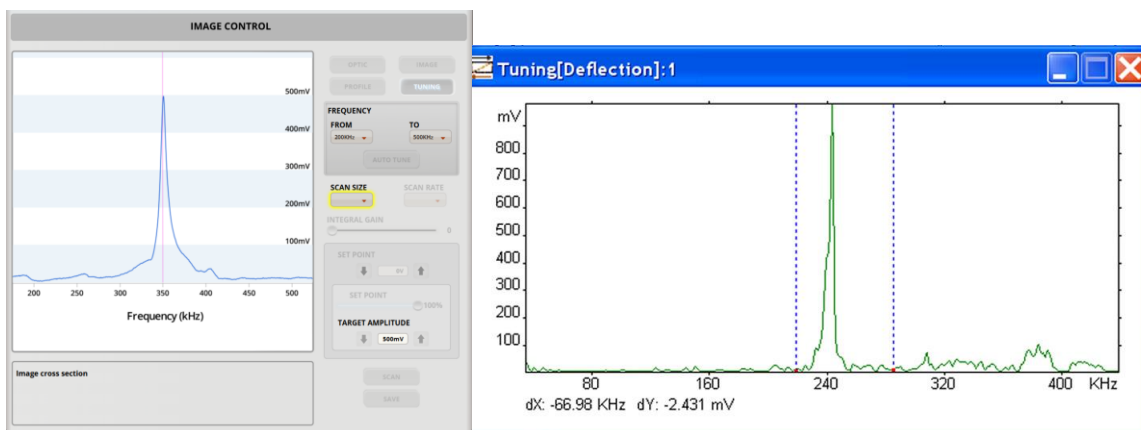


Рис. 16 Поиск резонансной частоты в онлайн симуляторе АСМ и в микроскопе ФемтоСкан.

1.5 Провести приближение кантилевера к поверхности образца (см. рис. 17).

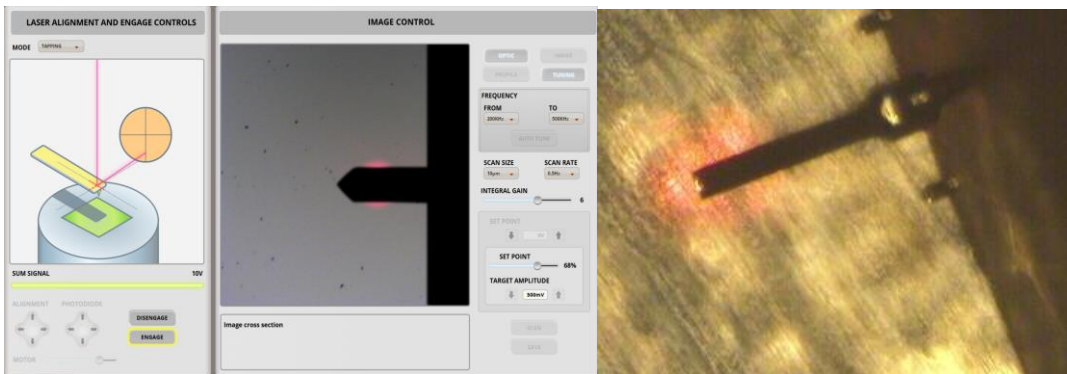


Рис. 17 Приближение к поверхности образца в онлайн симуляторе и на настоящем приборе АСМ. Видно, что и кантилевер и образец на изображении со симулятора камеры и с настоящей камеры находятся в одной фокальной плоскости с поверхностью образца.

1.6 Выбрать параметры сканирования (размер кадра, скорость). Начать сканирование выбранной для просмотра области образца (рекомендуется начинать сканирование с области 20-10 мкм, рис. 18). Скорость сканирования 0.5-1 Гц (строки в секунду). Плотность записи 1024×1024 точек или 512×512 точек.

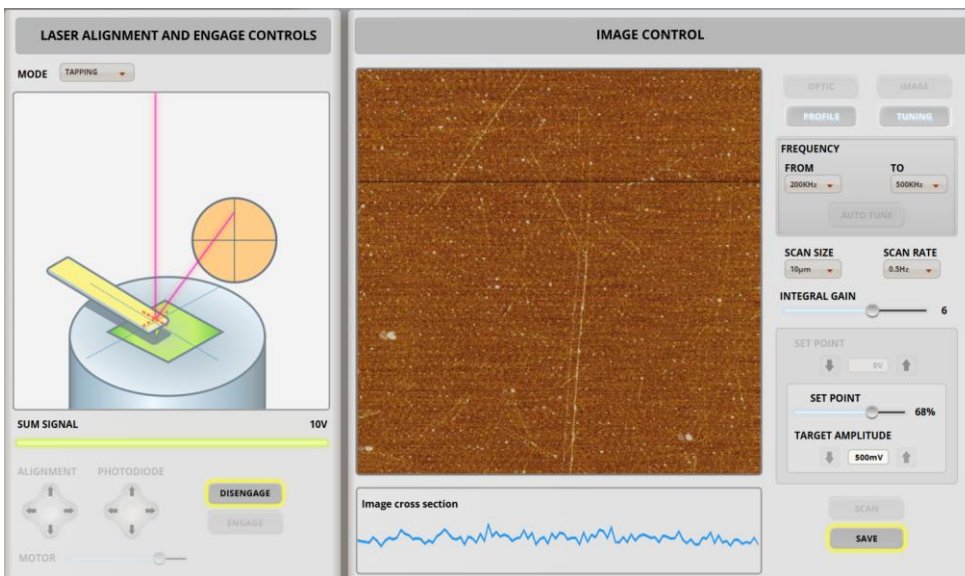


Рис. 18 Окно онлайн симулятора СЗМ с результатом сканирования в виде АСМ-изображения.

1.7 Сохранить полученные данные (расширение *.001 mdt, spm и пр.) в зависимости от модели прибора.

2. Работа в программе ФемтоСкан Онлайн (FemtoScan Online)

Программа ФемтоСкан Онлайн была разработана в МГУ имени М.В. Ломоносова в объединенной группе зондовой микроскопии под руководством профессора, д.ф.-м.н. Яминского Игоря Владимировича [17]. Рассмотрим основные принципы работы с программным обеспечением ФемтоСкан Онлайн для получения АСМ изображений и анализа данных [18].

2.1. Начало работы

Для начала работы необходимо выполнить несколько шагов:

2.1.1. Запуск программы ФемтоСкан Онлайн (FemtoScan Online)

Для запуска программы ФемтоСкан Онлайн необходимо найти ярлык данной программы на рабочем столе или в меню «Пуск». Дважды щелкните на ярлыке, чтобы открыть программу.

2.1.2. Загрузка изображения

После запуска ФемтоСкан Онлайн появится главное окно программы. Для начала работы необходимо загрузить изображение для анализа. Выбираем «Файл» в верхнем меню, затем «Открыть файл». Находим нужный файл и нажимаем кнопку «Открыть».

2.2 Подготовка к анализу

Подготовка изображения является важной частью работы с программой ФемтоСкан Онлайн. Ниже описаны основные подходы к подготовке изображения, необходимые для получения точных и надежных результатов анализа полимерных пленок.

2.2.1. Усреднение по строкам

Функция «Усреднение по строкам» находится на панели меню или во вкладке меню Математика – Усреднение по строкам – все изображение



Этот фильтр вычисляет среднее значение высоты в каждой строке изображения и выравнивает строки по одному среднему уровню. Применение данной функции позволяет избавиться от «полосатости» изображения, неизбежно возникающего при построчном сканировании, как это происходит в СЗМ. Данная функция не искажает исходных данных.

2.2.2. Выравнивание

Функция Выравнивание находится во вкладке «Математика». Она позволяет убрать с изображения средний наклон поверхности образца, чтобы выровнять изображение. Наклон поверхности может возникать как при самом измерении, так и в результате подготовки образцов. Для того чтобы применить данную функцию, необходимо выделить на изображении область, которую нужно скорректировать. Затем выбираем соответствующую опцию в меню «Выравнивание»,



а затем выбираем тип поверхности: параболический или линейный. Можно использовать по очереди оба типа выравнивания. После этого программа определяет наклон поверхности (или кривизну) по методу наименьших квадратов (МНК) и вычитает его из изображения. При выборе выравнивания нужно ориентироваться на то, чтобы ровные участки поверхности оказывались такими после результата выравнивания.

2.2.3. Медианный фильтр



Функция «Медианный фильтр» находится во вкладке меню «Математика» и используется для удаления точечных выбросов на

изображении, сохраняя при этом исходные данные. Результатом работы данного фильтра является присвоение каждому пикселю среднего по медиане значения из его ближайшего окружения. При использовании маски 3*3 будет достигнут максимальный эффект удаления точечных выбросов с минимальными потерями в исходных данных.

2.2.4. Настройка шкалы

Эта функция предназначена для корректировки изображения по шкале. Она позволяет настроить масштаб изображения по оси Z для корректного отображения размеров структуры на поверхности образца.

Для использования функции «Подстройка шкалы» необходимо выбрать пункт меню «Инструменты» и затем «Подстройка шкалы».



После этого на экране появится окно «Подстройка шкалы», где можно выбрать масштаб изображения в соответствии с измерениями, проведенными на поверхности образца. Для настройки контрастности используем опцию «Фиксированная шкала», после чего на шкале появятся две вертикальные пунктирные линии, обозначающие верхнюю и нижнюю границу палитры обрабатываемого изображения.



Двигая эти линии, необходимо добиться такой контрастности изображения, чтобы были разграничены пустоты и объекты. Данная функция не вносит никаких изменений в исходные данные, при этом позволяет настроить контраст изображения по желанию пользователя.

2.2.5. Настройка единиц измерения

По умолчанию в программе ФемтоСкан Онлайн стоят в качестве предпочитаемых единиц измерения по XY микрометры. Для изменения единиц измерения (например, на нанометры) нужно выполнить следующие шаги:

1. Нажать на кнопку «Файл» в верхней части окна программы.
2. В раскрывающемся меню выбрать «Опции».
3. В появившемся интерфейсе напротив «Предпочтительные единицы XY» выбрать «nm» или «nm». После выполнения этих шагов единицы измерения (микроны) на экране будут изменены на нанометры.

Правильная подготовка изображения для анализа является ключевым этапом при работе с данными, полученными с помощью зондового микроскопа. Корректная настройка и использование всех функций подготовки изображения позволяют получить точные и надежные результаты анализа объектов.

Задача №1. Исследование надмолекулярной структуры пленок полукристаллических полимеров

Цель работы

Получение АСМ изображений поверхности полимерных пленок, измерение параметров структуры полукристаллического полимера.

Объекты исследования

Промышленные пленки полукристаллических полимеров, полученные методом экструзии из расплава: (1) полипропилена (ПП), (2) полиэтилена высокой плотности (ПЭВП); (3) пленки полиэтилентерефталата (ПЭТФ), закристаллизованного под действием органических растворителей.

Прибор

Атомно-силовой микроскоп (описание метода АСМ и прибора стр. 3-13).

Порядок работы

ВНИМАНИЕ! Включение/выключение прибора производится исключительно лаборантом или ответственным сотрудником практикума.

1. Вырезать образец из пленки ПП, ПЭВП, ПЭТФ размером 2 см × 2 см; пленку ПЭТФ перед исследованием поместить в бокс с органическим растворителем (ацетон, диоксан, диметилсульфоксид) на 2 минуты, достать образец щипцами и сушить на воздухе 10 минут (под тягой).
2. Закрепить образец бумажной лентой с двусторонним клеевым покрытием на специальном столике.
3. Поместить образец в атомно-силовой микроскоп.
4. После выполнения пунктов по подготовке АСМ изображений (стр. 23-29) провести количественное измерение параметров структуры полимера, используя команду контекстного меню «Сечение».
5. Измерить толщину ламелей и величину большого периода. Для измерения необходимо выполнить следующие шаги:

5.1 Выбрать функцию «Сечение» на боковой панели инструментов.



5.2 На изображении провести линию, которая направлена вдоль оси экструзии (рис. 9).

5.3 В новом окне появится график, показывающий изменение высоты вдоль выбранной линии - профиль поверхности (рис. 10).

5.4 Используя курсоры (бегунки), измерить расстояние между вершинами пиков на графике, которые соответствуют центрам ламелей, или ширину пиков на полувысоте (см. рис.10).

5.5 Выберите опцию «Копия текста» в верхней панели меню.



С помощью этой функции сохраняются измеряемые данные.

5.6 Повторите процедуру измерения для другой ламели на изображении. При каждом повторном измерении, нажимайте иконку «Добавить текст».



Таким образом у вас будет сохраняться весь массив данных, что пригодится для дальнейшей статистической обработки.

5.7 Результаты измерений представить в виде гистограмм распределения толщины ламелей и большого периода (построение гистограмм пункт 5.8) и таблицы средних значений.

Таблица № 1

Полимер/Параметр	Среднее значение ± стандартное отклонение, нм
Толщина ламелей	
Большой период	

5.8 Построение гистограмм распределения структурных элементов по размерам.

Для статистического описания структурных элементов полукристаллических полимеров необходимо провести анализ на 5-6 АСМ изображениях, и получить данные с отдельных участков (не менее 5-6 участков) каждого изображения. Провести не менее 100 измерений параметров. Внести данные в таблицы стандартных программ EXCEL или ORIGIN. На основании полученных измерений построить гистограммы распределения структурных элементов по размерам при использовании программ EXCEL или ORIGIN (пример гистограммы на рис. 19).

В Excel среднее значение рассчитывается с помощью функции «СРЗНАЧ». Она вычисляет среднее арифметическое как сумму всех значений, делённую на их количество, автоматически игнорируя пустые ячейки и текст. Чтобы рассчитать среднее значение для диапазона ячеек, нужно выделить пустую ячейку и ввести формулу: =СРЗНАЧ(диапазон). Например, если числа находятся в ячейках А1. Формула будет выглядеть так: =СРЗНАЧ(А1:А10). Если нужно найти среднее значение нескольких отдельных ячеек, не образующих непрерывный диапазон, их перечисляют через точку с запятой: =СРЗНАЧ(А1;В5;С10). Аналогично среднему значению, стандартное отклонение можно рассчитать с помощью встроенной функции СТНДОТКЛОН.

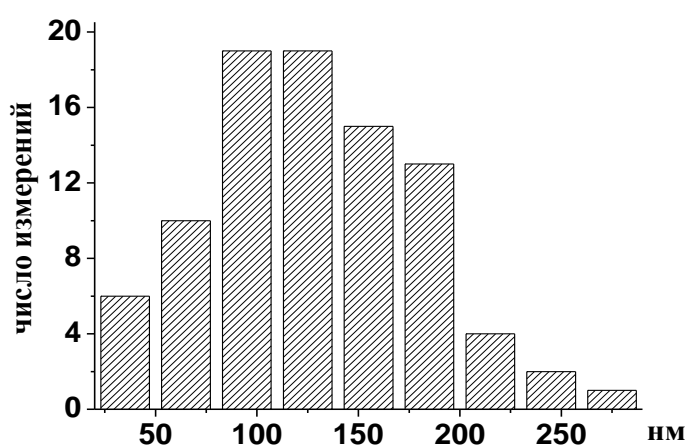


Рис. 19 Гистограмма распределения значений большого периода ПЭВП при деформации на 400 %.

Задания:

1. Подготовьте отчет по задаче в электронном виде в формате doc или pdf (название задачи, цель, результаты работы и выводы).

2. Приведите АСМ изображения полимера, по которым проводились измерения. Сравните полученные изображения с рис. 6-8 методического пособия. Опишите надмолекулярную структуру исследуемого полукристаллического полимера (анизотропная, изотропная, слоистая, ламеллярная, сферолитная, роу-структура, дендритная?).

3. Результаты измерений представьте в виде гистограмм распределения толщины ламелей и большого периода (построение гистограмм пункт 5.8) и таблицы средних значений.

4. Подготовьте ответы на контрольные вопросы (стр. 39).

Задача 2. Исследование эволюции структуры полукристаллического полимера в процессе пластической деформации

Цель работы

Методом АСМ исследовать структуру полимера при разных степенях вытяжки и описать влияние степени растяжения на параметры структуры деформированного полимера.

Объекты исследования

Промышленные пленки полукристаллических полимеров, полученные методом экструзии из расплава: полипропилена (ПП), полиэтилена высокой плотности (ПЭВП).

Прибор

Атомно-силовой микроскоп (описание метода АСМ и прибора стр. 3-13).

Порядок работы

ВНИМАНИЕ! Включение/выключение прибора производится исключительно лаборантом или ответственным сотрудником практикума.

1. Подготовить образцы полимеров путем растяжения пленок до 50, 100 и 200 % степени вытяжки (см. ниже).

Получение образцов для исследования пластической деформации полимеров методом АСМ

Для выполнения практической части практикума из готовых промышленных пленок нужно вырезать образцы размером 4 см x 4 см. Образцы закрепить в специальные зажимы для вытяжки (рис. 20) таким образом, чтобы направление вытяжки совпадало с направлением экструзии. Растяжение пленок проводить в зажимах при комнатной температуре с постоянной скоростью 5 мм/мин до фиксированной степени вытяжки. Величина степени вытяжки (ε) определяется как:

$$\varepsilon = \frac{\Delta l}{l_0} \times 100 \% ,$$

где Δl – разность конечной и начальной длины рабочей части образца (мм), l_0 – начальная длина рабочей части образца (мм).

После проведения деформирования образцы оставить закрепленными в зажимах растягивающего устройства или зажать в рамке с фиксацией размеров образца по контуру (изометрические условия).



Рис. 20 (А) Фото зажима для растяжения полимерных образцов и (Б) рамка, позволяющая создать изометрические условия для исследования структуры, сформированной в процессе растяжения.

2. Получить АСМ изображения согласно протоколу (стр. 23-29).
3. По АСМ изображениям образцов построить профили сечений (рис. 9, 10).
4. Провести измерения толщины ламелей и большого периода по протоколу, описанному в задаче 1 (стр. 30,31 методического пособия).
5. Результаты измерений представить в виде гистограмм (стр.31, пункт 5.8 - построение гистограмм распределения структурных элементов по размерам) и таблицы.

Таблица № 1

Параметр	Степень растяжения, %	Среднее значение \pm стандартное отклонение, нм
Толщина ламелей		
Большой период		

Задания:

1. Подготовьте отчет по задаче в электронном виде в формате doc или pdf (название задачи, цель, результаты работы и выводы).
2. Приведите полученные АСМ изображения исходного полимера и полимера при разных степенях растяжения. Опишите, как влияет деформация на структуру полимера: появились ли новые структурные элементы, что произошло с ламелями деформированного полимера по сравнению с исходным полимером?
3. Результаты измерений представьте в виде гистограмм распределения толщины ламелей и большого периода (построение гистограмм пункт 5.8 стр.32) и таблицы средних значений при разных степенях деформации полимера.
4. Проанализируйте изменение структурных параметров с увеличением степени растяжения: как изменяется толщина ламелей, большой период?
5. Подготовьте ответы на контрольные вопросы (стр. 39).

Задача 3. Определение параметров рельефа поверхности полукристаллического полимера

Цель работы

Методом АСМ исследовать параметры рельефа полиэтилентерефталата (ПЭТФ), закристаллизованного под действием органических растворителей.

Объекты исследования

Промышленные пленки ПЭТФ после обработки органическими растворителями.

Прибор

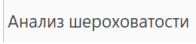

Атомно-силовой микроскоп (описание метода АСМ и прибора стр. 3-13).

Порядок работы

ВНИМАНИЕ! Включение/выключение прибора производится исключительно лаборантом или ответственным сотрудником практикума.

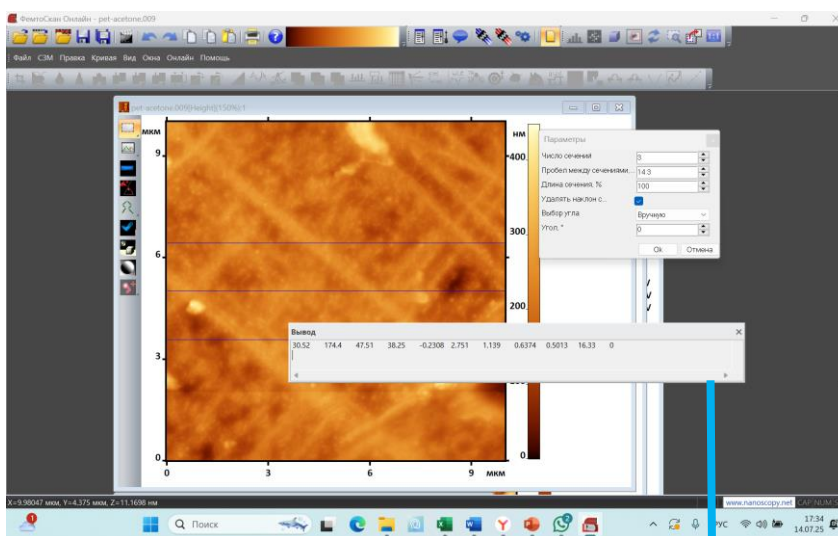
1. Вырезать образец из пленки ПЭТФ размером 2 см × 2 см; пленку ПЭТФ перед исследованием поместить в бюкс с органическим растворителем (ацетон, диоксан, диметилсульфоксид) на 5 минут, достать образец щипцами и сушить на воздухе 10 минут (под тягой).
2. Закрепить образец бумажной лентой с двусторонним клеевым покрытием на специальном столике.
3. Поместить образец в атомно-силовой микроскоп.
4. Получить АСМ изображения по протоколу (стр. 23-29).

Примечание: шероховатость поверхности определяется для всего исследуемого образца. Важно для корректного сравнения данных проводить измерения шероховатости поверхности на одном и том же масштабе, например, 10 микрон.

5. Выбрать функцию «Анализ шероховатости»  из меню «Математика» .
6. Настроить параметры измерения в появившемся окне «Параметры шероховатости», а именно: количество сечений и их ориентация относительно изображения. Рекомендуем настроить сечения так, чтобы

они лежали параллельно направлению сканирования. Количество сечений для каждого измерения и их направление рекомендуется выбирать одинаковое.

7. В результате анализа на экране в окне «Вывод» появятся данные со значениями различных параметров шероховатости, усредненные по всем выбранным ранее в п. 6 сечениям. В окошке нас интересуют следующие параметры: R_a (средняя шероховатость), R_q (среднеквадратичная шероховатость), R_z (высота неровностей профиля).



R_a , nm	R_{max} , nm	R_z , nm	R_q , nm	R_{sk}	R_{ku}	S_m , мкм	S_{mh} , мкм	S_{ml} , мкм	N_{cross}	Angle, deg
30.52	174.4	47.51	38.25	-0.2308	2.751	1.139	0.6374	0.5013	16.33	0

Рис. 20 Определение параметров шероховатости поверхности. Окно «Вывода» параметров шероховатости в программе ФемтоСкан.

8. Результаты измерений представить в виде таблицы.

Таблица № 1

Растворитель/ № измерения	R_a	R_q	R_z
Среднее ± стандартное отклонение			

Задания:

1. Подготовьте отчет по задаче в электронном виде в формате doc или pdf (название задачи, цель, результаты работы и выводы).

2. Приведите полученные АСМ изображения полимера, по которым проводились измерения.
3. Результаты измерений представьте в виде таблицы (см.п.8).
4. Сравните параметры шероховатости поверхности полимера, закристаллизованного в разных растворителях.
5. Подготовьте ответы на контрольные вопросы (стр. 39).

Контрольные вопросы

1. Можно ли АСМ-изображения называть микрофотографиями и почему?
2. На чем основан принцип работы атомно-силового микроскопа?
3. Какие параметры шероховатости поверхности можно рассчитать помощью АСМ? Чем они отличаются?
4. Какие основные элементы атомно-силового микроскопа вы знаете?
5. Какие параметры структуры полукристаллических полимеров можно измерять с помощью АСМ?
6. Расскажите об основных преимуществах АСМ по сравнению с оптической и электронной микроскопией для изучения полимеров.

Благодарность

АСМ-изображения получены с использованием оборудования (Комплекс атомно-силовой и поляризационной микроскопии NT-MDT NTEGRA Spectra II - РОМ), приобретенного за счет средств Программы развития Московского университета.

Список литературы

1. Справочник по микроскопии для нанотехнологии. Под ред. Нан Яо, Чжун Лин Ван. – М.: Научный мир, 2011, 712 с.
2. P. Eaton, P. West. Atomic force microscopy, Oxford University Press, 2010. ISBN: 978-0199570454.
3. Миронов В.Л. Основы сканирующей зондовой микроскопии. М: Техносфера, 2004
4. <https://tipsnano.ru/> сайт с кантилеверами
5. Квантик 9, 2013 Как это устроено. Сканирующий зондовый микроскоп. Большакова А., Белецкий А.
6. https://femtoscan.ru/software/femtoscan_online/ программное обеспечение для обработки данных
7. <https://gwyddion.net/> программное обеспечение для обработки данных
8. <https://imagej.net/> программное обеспечение для обработки данных
9. <https://wsxm.eu/> программное обеспечение для обработки данных
10. Органическая химия: высокомолекулярные соединения: учебник и практикум для СПО / под ред. А. Б. Зезина. — М.: Издательство Юрайт, 2019.
11. Hild S., Gutmannsbauer W., Lüthi R., Fuhrmann J., Güntherodt H. J.
A nanoscopic view of structure and deformation of hard elastic polypropylene with scanning force microscopy. // J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys. 1996. V. 34. № 12. P. 1953-1959.
12. Олейник Э. Ф. Пластичность частично кристаллических гибкоцепных полимеров на микро и мезо-уровнях. // Высокомолек. соед. Сер. С. 2003. Т. 45. № 10. С. 1-129
13. Марихин В.А., Мясникова Л.П. Надмолекулярная структура полимеров. Ленинград, "Химия", 1977. 240 с.
14. Sperling L.H. Introduction to Physical Polymer Science, Wiley, 2005. P.880.
15. A.Y. Yarysheva, E.G. Rukhlya, L.M. Yarysheva, D.V. Bagrov, A.L. Volynskii, N.F. Bakeev. The structural evolution of high-density polyethylene during crazing in liquid medium. European Polymer Journal, 66, 458–469, 2015
16. https://myscope.training/SPM_simulator.html симулятор АСМ
17. Яминский И. В. Программное обеспечение ФемтоСкан Онлайн: от средней до высшей школы // Наноиндустрия. — 2024. — Т. 17, № 5. — С. 276–280.
18. Большакова А. В., Яминский И. В. Спецпрактикум по высокомолекулярным соединениям Сканирующая зондовая микроскопия полимерных материалов. Обработка изображений. — Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова Москва, 2022. — 15 с.

Список сокращений

- АСМ – атомно-силовая микроскопия
СЗМ—сканирующая зондовая микроскопия
АЧХ – амплитудно-частотная характеристика
ФЧХ – фазово-частотная характеристика
АЦП – аналогово-цифровой преобразователь
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
РНК – рибонуклеиновая кислота
ПП – полипропилен
ПКЛ – поликапролактон
ПЭТФ – полиэтилентерефталат
ПЭВП – полиэтилен высокой плотности