



جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
سازمان ملی استاندارد ایران

Iranian National Standardization Organization



استاندارد ملی ایران
۱۵۶۰۳

چاپ اول

۱۳۹۷

INSO
15603

1st Edition
2018

Modification of
ASTM E2859:2011

فناوری نانو - تعیین اندازه نانوذرات با
استفاده از روش میکروسکوپی
نیروی اتمی - راهنما

Nanotechnology- Size measurement of
nanoparticles using atomic force
microscopy-Guide

ICS:07.120

استاندارد ملی ایران شماره ۱۵۶۰۳ (چاپ اول): سال ۱۳۹۷

سازمان ملی استاندارد ایران

تهران، ضلع جنوب غربی میدان ونک، خیابان ولیعصر، پلاک ۱۲۹۴

صندوق پستی: ۶۱۳۹-۱۴۱۵۵ تهران - ایران

تلفن: ۵-۸۸۸۷۹۴۶۱

دورنگار: ۸۸۸۸۷۰۸۰ و ۸۸۸۸۷۱۰۳

کرج - شهر صنعتی، میدان استاندارد

صندوق پستی: ۱۶۳-۳۱۵۸۵ کرج - ایران

تلفن: ۸-۳۲۸۰۶۰۳۱ (۰۲۶)

دورنگار: ۳۲۸۰۸۱۱۴ (۰۲۶)

رایانامه: standard@isiri.gov.ir

وبگاه: <http://www.isiri.gov>

Iranian National Standardization Organization (INSO)

No.1294 Valiasr Ave., South western corner of Vanak Sq., Tehran, Iran

P. O. Box: 14155-6139, Tehran, Iran

Tel: + 98 (21) 88879461-5

Fax: + 98 (21) 88887080, 88887103

Standard Square, Karaj, Iran

P.O. Box: 31585-163, Karaj, Iran

Tel: + 98 (26) 32806031-8

Fax: + 98 (26) 32808114

Email: standard@isiri.gov.ir

Website: <http://www.isiri.gov>

به نام خدا

آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ تنها مرجع رسمی کشور است که وظیفه تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) ایران را به عهده دارد.

نام موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب یکصد و پنجاه و دومین جلسه شورای عالی اداری مورخ ۹۰/۶/۲۹ به سازمان ملی استاندارد ایران تغییر و طی نامه شماره ۲۰۶/۳۵۸۳۸ مورخ ۹۰/۷/۲۴ برای اجرا ابلاغ شده است.

تدوین استاندارد در حوزه‌های مختلف در کمیسیون‌های فنی مرکب از کارشناسان سازمان، صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می‌شود و کوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانه صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف‌کنندگان، صادرکنندگان و واردکنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان‌های دولتی و غیردولتی حاصل می‌شود. پیش‌نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی‌نفع و اعضای کمیسیون‌های فنی مربوط ارسال می‌شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادهای در کمیته ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب به عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می‌شود.

پیش‌نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان‌های علاقه‌مند و ذی‌صلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می‌کنند در کمیته ملی طرح و بررسی و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می‌شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می‌شوند که بر اساس مفاد نوشته شده در استاندارد ملی ایران شماره ۵ تدوین و در کمیته ملی استاندارد مربوط که سازمان ملی استاندارد ایران تشکیل می‌دهد به تصویب رسیده باشد.

سازمان ملی استاندارد ایران از اعضای اصلی سازمان بین‌المللی استاندارد (ISO)^۱، کمیسیون بین‌المللی الکتروتکنیک (IEC)^۲ و سازمان بین‌المللی اندازه‌شناسی قانونی (OIML)^۳ است و به عنوان تنها رابط^۴ کمیسیون کدکس غذایی (CAC)^۵ در کشور فعالیت می‌کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی‌های خاص کشور، از آخرین پیشرفت‌های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین‌المللی بهره‌گیری می‌شود.

سازمان ملی استاندارد ایران می‌تواند با رعایت موازین پیش‌بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف‌کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست‌محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری نماید. سازمان می‌تواند به منظور حفظ بازارهای بین‌المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری نماید. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده‌کنندگان از خدمات سازمان‌ها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدور گواهی سیستم‌های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست‌محیطی، آزمایشگاه‌ها و مراکز کالیبراسیون وسایل سنجش، سازمان ملی استاندارد ایران این‌گونه سازمان‌ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می‌کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آن‌ها اعطا و بر عملکرد آن‌ها نظارت می‌کند. ترویج دستگاه بین‌المللی یکاها، کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این سازمان است.

1- International Organization for Standardization

2 - International Electrotechnical Commission

3- International Organization of Legal Metrology (Organisation Internationale de Metrologie Legale)

4 - Contact point

5 - Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد «فناوری نانو» تعیین اندازه نانوذرات با استفاده از روش میکروسکوپی نیروی اتمی - راهنما»

رئیس:

سهرابی جهرمی، ابوذر
(دکتری مهندسی مواد)

سمت و/ یا نمایندگی
مدیر عامل شرکت راصد توسعه فناوری‌های پیشرفته

دبیر:

صادق حسنی، صدیقه
(دکتری شیمی)

عضو هیئت علمی - پژوهشگاه صنعت نفت

اعضاء: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

اسلامی پور، الهه
(کارشناس ارشد زیست شناسی)

کارشناس ستاد ویژه توسعه فناوری نانو

احمدی، سارا
(دکتری مهندسی مواد)

کارشناس ستاد ویژه توسعه فناوری نانو

شاهمرادی، سید عباس
(دکتری مهندسی مکانیک)

رئیس شرکت آراپژوهش

گل زردی، سمیرا
(کارشناس ارشد مهندسی مواد)

کارشناس ستاد ویژه توسعه فناوری نانو

طیب طاهر، سحر
(کارشناس ارشد فیزیک)

کارشناس مسئول پژوهشگاه مواد و انرژی

میرکاظمی، سید محمد
(دکتری مهندسی مواد)

عضو هیئت علمی - دانشگاه علم و صنعت ایران

نسب، مجتبی
(کارشناس مهندسی مواد)

دبیر شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی

ویراستار

سیفی، مهوش
(کارشناس مدیریت دولتی)

نایب رئیس کمیته فنی متناظر فناوری نانو

فهرست مندرجات

صفحه	عنوان
و	پیش گفتار
۱	۱ هدف و دامنه کاربرد
۱	۲ مراجع الزامی
۲	۳ اصطلاحات و تعاریف
۲	۱-۳ تعاریف
۳	۲-۳ اصطلاحات و تعاریف ویژه این استاندارد
۳	۱-۲-۳ کلوخه
۳	۲-۲-۳ انبوهه
۳	۳-۳ کوتاه‌نوشت‌ها
۴	۴ روش آزمون
۶	۵ اهمیت و کاربرد
۶	۶ واکنشگرها
۶	۷ دستگاه‌ها
۷	۸ روش اجرایی
۷	۱-۸ رسوب‌دهی نانوذرات
۷	۱-۱-۸ بستره میکا
۸	۲-۱-۸ بستره سیلیکونی
۱۰	۳-۱-۸ بستره طلای
۱۱	۲-۸ بازرسی به‌وسیله میکروسکوپ نوری
۱۱	۳-۸ - تهیه تصویر با AFM و تعیین اندازه
۱۱	۱-۳-۸ صحت (کالیبراسیون ارتفاع)
۱۲	۲-۳-۸ حالت تهیه تصویر
۱۲	۳-۳-۸ تیرک‌ها
۱۲	۱-۳-۳-۸ شعاع و هندسه سوزن
۱۳	۲-۳-۳-۸ سفتی تیرک
۱۳	۳-۳-۳-۸ کج بودن تیرک
۱۳	۴-۳-۸ اندازه روبش
۱۳	۵-۳-۸ تهیه تصاویر
۱۴	۴-۸ تجزیه و تحلیل تصویر

۱۴	۸-۴-۱ مسطح کردن یا هم‌تراز کردن تصاویر
۱۵	۸-۴-۲ پروفایل‌های خطی سطح مقطع
۱۵	۸-۴-۳ روش اندازه‌گیری ارتفاع
۱۶	۸-۴-۴ تجزیه و تحلیل خودکار ذرات به روش بهر
۱۷	۹ گزارش
۲۰	پیوست الف- (پیوست آگاهی‌دهنده) تغییرات اعمال شده
۲۱	کتاب‌نامه

پیش‌گفتار

استاندارد «فناوری نانو- تعیین اندازه نانوذرات با استفاده از روش میکروسکوپی نیروی اتمی- راهنما» که پیش‌نویس آن در کمیسیون‌های مربوط توسط ستاد توسعه فناوری نانو معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری تهیه و تدوین شده و در هفتاد و ششمین اجلاس کمیته ملی استاندارد فناوری نانو مورخ ۹۷/۱۰/۴ مورد تصویب قرار گرفته است، اینک به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود. برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در مواقع لزوم تجدید نظر خواهد شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استانداردها ارائه شود، هنگام تجدید نظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدیدنظر استانداردهای ملی استفاده کرد.

منبع و ماخذی که برای تهیه این استاندارد مورد استفاده قرار گرفته به شرح زیر است:

ASTM E2859:2011(2017), Nanotechnology- Standard Guide for Size Measurement of Nanoparticles Using Atomic Force Microscopy

فناوری نانو - تعیین اندازه نانوذرات با استفاده از روش میکروسکوپی نیروی اتمی - راهنما

۱ هدف و دامنه کاربرد^۱

۱-۱ هدف از این استاندارد تدوین یک راهنما برای استفاده کمی از روش میکروسکوپی نیروی اتمی^۲ است، تا با اندازه‌گیری ارتفاع (جابه‌جایی Z)، اندازه نانوذراتی^۳ که به صورت خشک روی بستره‌های تخت^۴ قرار گرفته‌اند، تعیین شود. برخلاف روش میکروسکوپی الکترونی که یک تصویر دوبعدی از نمونه تهیه می‌کند، AFM یک نمای سه‌بعدی از پروفایل^۵ سطح فراهم می‌کند. درحالی‌که شکل پروب روی ابعاد جانبی تأثیر می‌گذارد، با اندازه‌گیری جابه‌جایی عمودی، می‌توان ارتفاع نانوذرات را با صحت^۶ و دقت^۷ بالایی تعیین نمود. اگر ذرات به شکل کروی در نظر گرفته شوند، اندازه‌گیری ارتفاع، قطر ذره را تعیین می‌کند. در این راهنما، روش‌های اجرایی برای پخش کردن نانوذرات طلا روی سطوح مختلف توصیف می‌شود که شرایط مناسب برای تهیه تصویر و اندازه‌گیری ارتفاع در حالت شبه‌تماسی^۸ (حالت تماس متناوب)^۹ AFM را فراهم می‌کند. سپس، روش‌های عمومی کالیبراسیون (واسنجی) و به‌کارگیری AFM معرفی شده و در پایان روش‌های تحلیل اطلاعات و گزارش آن بیان شده است. نانوذرات طلای پایدار شده با سیترات و باردار شده (بار منفی) در محلول آبی، برای تشریح روش‌های این راهنما مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این نانوذرات از مواد مرجع تهیه شده‌اند.

۱-۲ مقادیر بیان‌شده در دستگاه بین‌المللی یکاها SI است و در این استاندارد از هیچ واحد اندازه‌گیری دیگری استفاده نشده است.

۱-۳ این استاندارد تمام موارد ایمنی و استفاده از آن را پوشش نمی‌دهد و کاربر مسئول رعایت ایمنی و سلامتی کار و محدودیت‌های مقرراتی قبل از استفاده است.

۲ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن استاندارد به آنها ارجاع شده است. لذا این مقررات، جزئی از این استاندارد محسوب می‌شوند. در مورد مراجع دارای تاریخ چاپ و یا تجدید نظر، اصلاحیه‌ها و تجدید

۱- توضیحات تکمیلی در خصوص دامنه کاربرد این استاندارد در بند اهمیت و کاربرد (به بند ۵ مراجعه شود) ارائه شده است.

2 - Atomic Force Microscopy (AFM)

۳- دارای دو یا سه بعد در مقیاس اندازه از حدود ۱nm تا ۱۰۰nm طبق تعاریف و اصطلاحات استاندارد 2456E؛ این تعریف شامل کارایی آن نانو ذره که جنبه‌های قانونی فناوری نانو را تحت تاثیر قرار دهد و خارج از حوزه این راهنما است، را در نظر نمی‌گیرد.

4 - Flat substrate

5 - Profile

6 - Accuracy

7 - Precision

8 - Semicontact mode

9 - Intermittent contact mode

نظریه‌های بعدی این مدارک مورد نظر نیست. با این حال بهتر است کاربران ذی‌نفع این استاندارد، امکان کاربرد آخرین اصلاحیه‌ها و تجدید نظرهای مدارک الزامی زیر را مورد بررسی قرار دهند. در مورد مراجع بدون تاریخ چاپ و تجدید نظر، آخرین چاپ و یا تجدید نظر آن مدارک الزامی ارجاع داده شده مورد نظر است. استفاده از مراجع زیر برای این استاندارد الزامی است:

2.1 ASTM E1617, Practice for Reporting Particle Size Characterization Data

2.2 ASTM E2382, Guide to Scanner and Tip Related Artifacts in Scanning Tunneling Microscopy and Atomic Force Microscopy

2.3 ASTM E2456, Terminology Relating to Nanotechnology

2.4 ASTM E2587, Practice for Use of Control Charts in Statistical Process Control.

2.5 ISO 18115-2, Surface Chemical Analysis - Vocabulary – Part 2: Terms Used in Scanning-Probe Microscopy

2.6 ISO/IEC Guide 98-3: 2008, Uncertainty of measurement – Part 3: Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM: 1995)

۲-۷ استاندارد ملی ایران شماره ۱۶۵۲۳: ۱۳۹۲، فناوری نانو- راهنمای اثرات ناخواسته در تصویر مربوط به سوزن و روبشگر در میکروسکوپی تونل‌زنی روبشی (STM) و میکروسکوپی نیروی اتمی (AFM)
۲-۸ استاندارد ملی ایران- ایزو شماره ۱-۸۰۰۰۴: ۱۳۹۵، فناوری نانو- واژه‌نامه- قسمت ۱- اصطلاحات اصلی

۳ اصطلاحات و تعاریف

۱-۳ تعاریف

۳-۱-۱ برای تعاریف مربوط به اصطلاحات فناوری نانو به اصطلاحات و تعاریف علمی و فنی مندرج در استاندارد E2456 مراجعه شود.

۳-۱-۲ برای تعاریف مربوط به اصطلاحات مورد استفاده برای روش میکروسکوپی پروبی روبشی، شامل AFM، به ISO18115-2 مراجعه شود.

۲-۳ اصطلاحات و تعاریف ویژه این استاندارد

۱-۲-۳

کلوخه

agglomerate

مجموعه‌ای از ذرات که به شکلی ضعیف یا نسبتاً قوی به یکدیگر متصل شده‌اند، به طوری که مساحت سطح خارجی منتجه آنها مشابه مجموع مساحت سطوح تک تک اجزای تشکیل دهنده باشد.

یادآوری ۱- نیروهایی که کلوخه را نزدیک به یکدیگر نگه می‌دارد نیروهای ضعیفی هستند، مثلاً نیروهای وان‌دروالس یا درهم‌تافتگی‌های فیزیکی ساده.

یادآوری ۲- کلوخه‌ها به عنوان ذرات ثانویه نیز در نظر گرفته می‌شوند و ذرات اصلی منشأ، ذرات نوع اول نامیده می‌شوند.

[منبع: استاندارد ملی ایران- ایزو شماره ۱-۸۰۰۰۴: ۱۳۹۵]

یادآوری ۳- در هنگام استفاده از روش‌های تهیه تصویر (میکروسکوپی)، مانند AFM، معمولاً تمایز بین کلوخه‌هایی که طی فرآیند رسوبدهی تشکیل شده‌اند (که یک اثر ناخواسته^۱ است) و کلوخه یا انبوهه‌هایی که از قبل در نمونه مورد بررسی وجود داشته‌اند، کار مشکلی است.

۲-۲-۳

انبوهه

aggregate

ذره متشکل از ذراتی با پیوندهای قوی یا جوش خورده که مساحت سطح خارجی منتجه آنها به طور قابل ملاحظه‌ای کمتر از مجموع مساحت سطوح تک تک اجزای تشکیل دهنده باشد.

یادآوری ۱- نیروهایی که انبوهه را کنار یکدیگر نگه می‌دارد، نیروهای قوی هستند، برای نمونه، پیوندهای کووالانسی یا یونی و یا نتیجه جوش خوردن و گره خوردگی فیزیکی پیچیده یا درغیراین صورت، ذرات اولیه به هم چسبیده قبلی.

یادآوری ۲- انبوهه‌ها به عنوان ذرات ثانویه نیز در نظر گرفته می‌شوند و ذرات اصلی منشأ، ذرات اولیه نامیده می‌شوند.

[منبع: استاندارد ملی ایران- ایزو شماره ۱-۸۰۰۰۴: ۱۳۹۵]

یادآوری ۳- در روش‌های تهیه تصویر، مانند AFM، معمولاً تمایز بین کلوخه و انبوهه مشکل است.

۳-۳ کوتاه‌نوشت‌ها

AFM	Atomic Force Microscopy	روش میکروسکوپی نیروی اتمی
APDMES	3-Aminopropyldimethylethoxysilane	۳-آمینو پروپیل دی متیل اتوکسی سیلان
DI	Deionized water	آب یون‌زدایی شده

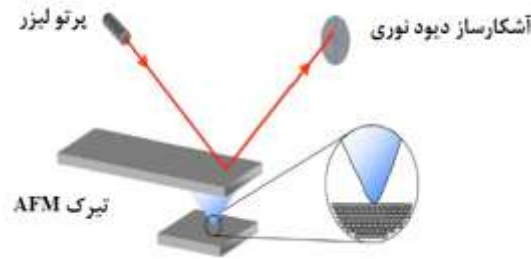
HEPA	High Efficiency Particulate Air	فیلتر ذرات هوا با بهره‌وری (بازده) بالا
PLL	Poly-L-lysine	پلی‌ال‌لیسین
RM	Reference Material	ماده مرجع

۴ روش آزمون

۱-۴ این استاندارد، روش‌های اجرایی آماده‌سازی و تعیین اندازه نانوذرات با استفاده از روش میکروسکوپی نیروی اتمی را بیان می‌کند. میکروسکوپ نیروی اتمی از یک تیرک با یک پروب تیز برای روبش سطح نمونه استفاده می‌کند. تیرک از یک سر به یک عملگر جابه‌جایی پیزوالکتریک متصل شده که به وسیله AFM کنترل می‌شود. در سر دیگر تیرک سوزن قرار دارد که با سطح برهم‌کنش می‌کند. در فاصله بسیار نزدیک از سطح، پروب نیرویی (جاذبه یا دافعه) را دریافت می‌کند که نتیجه برهم‌کنش با سطح است و یک گشتاور خمشی را به تیرک وارد می‌کند. در پاسخ به این گشتاور، تیرک منحرف می‌شود و این انحراف با استفاده از انعکاس پرتوی لیزری که از سطح آینه‌ای پشت تیرک به دیود نوری چند قسمتی می‌رسد، اندازه‌گیری می‌شود (شکل ۱). انحراف تیرک به وسیله خروجی تفاضلی (تفاوت در پاسخ بخش‌های بالایی و پائینی) دیود نوری چند قسمتی اندازه‌گیری می‌شود. میزان انحراف، نسبت به ضخامت و طول تیرک خیلی کوچک است. بنابراین جابه‌جایی سوزن به صورت خطی با انحراف تیرک ارتباط دارد. تیرک معمولاً از جنس سیلیکون یا سیلیکون نیتريد با شعاع نوک چند نانومتری است. جزئیات بیشتر و اطلاعات جامع در مورد روش AFM و کاربرد آن در منابع منتشر شده قابل دست‌یابی است [1] و [2].

۲-۴ براساس ماهیت برهم‌کنش سطح و پروب (جاذبه یا دافعه)، AFM می‌توان حالت‌های مختلف تماسی، شبه‌تماسی، یا غیرتماسی را انتخاب کرد. در حالت تماسی، برهم‌کنش سوزن و سطح، از نوع دافعه است و نوک سوزن به ظاهر در تماس با سطح است. در طرف مقابل، در حالت غیرتماسی، برهم‌کنش بین نوک سوزن و سطح از نوع بلندبرد (جاذبه) است. در حالت شبه‌تماسی (که حالت ضربه‌زنی^۱ نیز نامیده می‌شود)، تیرک با بسامدی^۲ نزدیک به بسامد تشدید^۳ خود عمود بر سطح نمونه نوسان می‌کند، در این حالت تیرک نسبت به حالت غیرتماسی، به نمونه نزدیک‌تر است. وقتی که سوزن حین نوسان در مجاورت سطح قرار می‌گیرد، برهم‌کنش سطح و پروب از جاذبه بلندبرد به دافعه ضعیف تغییر می‌کند و موجب تغییر دامنه (و فاز) نوسان تیرک می‌شود. در طول یک نوسان که معمولاً دامنه آن ۱۰۰ nm است، برای زمان کوتاهی، نوک پروب به ناحیه دافعه نزدیک سطح می‌رسد و به‌طور متناوب سطح را لمس می‌کند و بدین‌وسیله دامنه کاهش می‌یابد. مزیت حالت شبه‌تماسی این است که توانایی تهیه تصویر از سطوح نرم یا ذراتی را که به‌طور ضعیف به سطح چسبیده‌اند دارد و به این دلیل برای تعیین اندازه نانوذرات ترجیح داده می‌شود.

1 -Tapping mode
2 -Frequency
3- Resonance frequency



شکل ۱- طرحواره‌ای از اساس اندازه‌گیری AFM

۳-۴ در حالت شبه تماسی، سازوکار بازخورد^۱ میکروسکوپ می‌تواند نقطه تنظیم دامنه AFM^۲ را در مقدار تعیین شده توسط کاربر، ثابت نگه دارد. وقتی سامانه بازخورد فعال است، می‌توان با جابه‌جایی انتهای تیرک به بالا و پائین به وسیله عملگر^۳ پیزو الکتریک، دامنه ارتعاش را ثابت نگه داشت.

یادآوری- با استفاده از AFM در حالتی که سامانه بازخورد غیرفعال است، می‌توان نیروهای برهم‌کنش را اندازه‌گیری کرد که طیف‌سنجی نیرو^۴ نامیده می‌شود.

این جابه‌جایی مستقیماً به ارتفاع نمونه وابسته است. تصویر مکان‌نگاری (توپوگرافی) سطح می‌تواند از شطرنجی کردن^۵ سطح نمونه با سوزن و ثبت میزان جابه‌جایی عملگر پیزوالکتریک به صورت تابعی از مکان، به دست آید. اگرچه شکل سوزن روی اندازه‌گیری ابعاد جانبی تأثیر می‌گذارد (برای اثرهای ناخواسته مربوط به سوزن به استاندارد ملی شماره ۱۶۵۲۳ مراجعه کنید). با اندازه‌گیری ارتفاع می‌توان ارتفاع نانوذراتی که روی بستره قرار گرفته‌اند را با صحت و دقت بالا تعیین کرد. اگر ذرات کروی در نظر گرفته شوند، ارتفاع اندازه‌گیری شده برابر قطر یا «اندازه» ذره است.

۴-۴ ابتدا روش‌های اجرای پخش کردن نانوذرات روی سطوح مختلف که برای تهیه تصویر و اندازه‌گیری ارتفاع به وسیله حالت شبه تماسی AFM مناسب هستند، شرح داده می‌شوند. نانوذراتی که در این روش‌ها به‌عنوان نمونه مورد استفاده قرار گرفته‌اند، مواد مرجع نانوذره طلا، RM8011 (با اندازه اسمی ۱۰ nm)، RM8012 (با اندازه اسمی ۳۰ nm) و RM8013 (با اندازه اسمی ۶۰ nm) هستند که همه این‌ها شامل نانوذرات طلای پایدار شده با سیترات و باردار شده (با بار منفی) در یک محلول آبی هستند.

۵-۴ روش‌های اجرایی عمومی برای کالیبراسیون AFM و به‌کاربردن آن برای تعیین اندازه در حالت شبه تماسی بررسی شده و روش‌های تحلیل و گزارش نتایج بیان شده‌است.

-
- 1 -Feedback
 - 2 -AFM set point amplitude
 - 3 -Actuator
 - 4- Force spectroscopy
 - 5- Rastering

۵ اهمیت و کاربرد

۵-۱ از آنجا که فناوری اندازه‌گیری با AFM مرسوم شده و در دسترس است، این روش به‌طور گسترده‌ای توسط جامعه پژوهش و توسعه فناوری نانو مورد استفاده قرار گرفته، تا حدی که اکنون به عنوان ابزاری ضروری برای تهیه تصویر و کمی‌سازی ساختارها در مقیاس نانو در نظر گرفته می‌شود. اکنون AFM، چه به‌صورت روشی مستقل یا مکمل سایر روش‌های اندازه‌گیری، به یکی از ابزارهای اندازه‌گیری نانوذرات تبدیل شده است. تا زمان تهیه پیش‌نویس این راهنما، هیچ استاندارد بین‌المللی برای تعیین اندازه نانوذرات بر پایه روش AFM وجود نداشت. بنابراین، هدف این استاندارد ارایه یک راهنمای عملی و اندازه‌شناختی برای کاربرد AFM به‌منظور اندازه‌گیری نانوذرات نشانده شده روی بستره، بر مبنای بیش‌ترین جابه‌جایی سوزن در هنگام روبش سطح ذره برای تهیه پروفایل خطی است.

۶ واکنشگرها

۶-۱ مواد و ترکیبات شیمیایی مشخصی برای انجام دادن یک یا چند مرحله از مراحل مطرح شده در این استاندارد، مورد نیاز هستند. بر اساس روش انتخاب شده و صلاح دید آزمون‌گر این مواد برای یک کاربرد خاص انتخاب می‌شوند.

۶-۲ نوار چسب، در صورتی که نیاز به لایه‌برداری از بستره میکا باشد.

۶-۳ طلا (۱۱۱) مسطح اتمی روی بستره میکا، در صورتی که نیاز به بستره باشد.

۶-۴ طلای کلوتیدی، پایدار شده با سیترات در محلول آبی، در صورتی که نیاز به آزمایش یا صحه‌گذاری روش‌های اجرایی اندازه‌گیری یا آماده‌سازی نمونه باشد.

۶-۵ آب یون‌زدایی شده که تا ذرات ۰/۱ میکرومتر فیلتر شده، در صورتی که نیاز به آماده‌سازی نمونه یا شستشوی بستره‌ها باشد.

۶-۶ اتانول، با درجه سوانگاری (کروماتوگرافی)، در صورتی که نیاز به شستشوی بستره‌ها باشد.

۶-۷ هیدروکلریک اسید با غلظت ۳۷٪، در صورتی که نیاز به تمیز کردن بستره‌های سیلیکونی باشد.

۶-۸ محلول ۳۰٪ آب اکسیژنه، در صورتی که به تمیز کردن بستره‌های سیلیکونی نیاز باشد.

۶-۹ منبع گاز بی اثر فشرده (برای مثال، نیتروژن، آرگون یا هوا) فیلتر شده برای حذف ذرات.

۶-۱۰ صفحه میکا، در صورت لزوم به‌صورت بستره استفاده شود.

۶-۱۱ محلول ۰/۱٪ پلی‌ال‌لیسین (PLL)، در صورتی که نیاز به آماده‌سازی بستره‌های عامل‌دار^۱ باشد.

۶-۱۲ و بفرهای سیلیکونی تک‌بلور، قطعه قطعه شده به اندازه مناسب، در صورتی که نیاز به بستره باشد.

۷ دستگاه‌ها

۷-۱ میکروسکوپ نیروی اتمی، که قادر به اندازه‌گیری جابه‌جایی‌های عمودی در ابعاد زیر نانومتر است.

۷-۲ حمام فراصوت^۱، در صورتی که نیاز به تمیز کردن بستره‌ها باشد.

۷-۳ میکرو مرکزگریز (سانتریفیوژ)، در صورتی که نیاز به آماده‌سازی نمونه باشد.
۷-۴ پاک‌کننده پلاسمای فرکانس رادیویی با گاز اکسیژن در صورتی که نیاز به تمیز کردن بسترهای سیلیکونی باشد.

۸ روش اجرایی

۸-۱ رسوبدهی نانوذرات

برای اندازه‌گیری‌ها به وسیله AFM، نمونه‌های نانوذرات باید روی سطوح تخت رسوبدهی شوند. زبری سطح باید بسیار کم‌تر از اندازه اسمی نانوذرات باشد (ترجیحاً کم‌تر از ۵٪) تا خط مبنای^۲ ثابتی برای اندازه‌گیری‌های ارتفاع، فراهم آورد. میکای با کیفیت بالا، صفحه طلا (۱۱۱) مسطح در مقیاس اتمی (رسوبدهی‌شده روی میکا)، یا سیلیکون تک‌بلور، می‌توانند به عنوان بسترهایی که اثر زبری سطح بر تعیین اندازه نانوذرات را به کمترین مقدار می‌رسانند، مورد استفاده قرار گیرند. در این جا مثال‌هایی برای نشان دادن نانوذرات روی این سه بستره ارایه می‌شود. روش‌های اجرایی رسوبدهی نمونه که در زیر بیان شده‌اند، برای استفاده نانوذرات طلای پایدارشده با سیترات و دارای بارمنفی که در محلول آبی با غلظت ۵۰ میکروگرم بر گرم معلق‌اند، کاربرد دارند. (برای مثال مواد مرجع، 8011, 8012, 8013). این روش‌های اجرایی باید برای سایر نانوذراتی که بار سطحی منفی یا پتانسیل زتای^۳ منفی دارند دارای کاربرد باشند و به طلای کلئیدی پایدارشده با سیترات که به‌صورت تجاری در دسترس است، محدود نشوند. این روش‌های اجرایی می‌توانند با کمی تغییر برای نانوذرات باردار شده مثبت یا خنثی نیز، استفاده شوند. هر روش اجرایی ممکن است به بهینه‌سازی توسط کاربر برای به‌دست آوردن چگالی رسوبدهی مناسب و کمینه کردن اثرهای ناخواسته مانند تشکیل کلوخه و انبوهه روی بسترها یا تشکیل لایه‌های آلی ناشی از مواد افزودنی موجود در فاز محلول، نیاز داشته باشد.

یادآوری - آماده‌سازی بستره و رسوبدهی نمونه باید طوری انجام شود که امکان آلودگی و اثرهای ناخواسته را کمینه کند. برای مثال، این فرایندها باید تا حد امکان روی میز یا محیط کار تمیز مجهز به فیلتر HEPA انجام شود. به‌طور مشابه، نمونه‌های تهیه شده باید طوری نگهداری شوند که یکپارچگی آن‌ها حفظ شده و مانع آلودگی شود.

۸-۱-۱ بستره میکا

میکا یک ماده معدنی لایه‌ای است که به سادگی در طول صفحه‌های غنی قلیایی ورقه‌ای می‌شود تا در مقیاس اتمی سطوح تمیز و هموار وسیعی به‌وجود آورد. برای آماده‌سازی بستره، صفحه میکا باید لایه‌برداری شود تا یک سطح تمیز ایجاد شود. صفحه میکا را روی پارچه بدون پرز تمیز یا مستقیماً روی میز^۴ AFM قرار دهید. یک تکه نوارچسب را روی سطح صفحه میکا فشار دهید سپس به آرامی نوار را از روی میکا بردارید. لایه رویی میکا باید روی نوارچسب ظاهر شود. لایه برداری میکا را ادامه دهید تا این‌که یک لایه کامل برداشته شود و سطح

1- Bath Ultrasonicator
2- Baseline
3- Potential zeta
4- Puck

نمایان شده کاملاً صاف دیده شود. معمولاً این مرحله باید چند مرتبه تکرار شود و سطح لایه برداری شده با چشم بررسی شود.

۸-۱-۱-۱ پس از لایه برداری، صفحه میکا برای فعال شدن آماده است تاچسبندگی بین بستره و نانوذرات طلا را افزایش دهد. نانوذرات ماده مرجع طلا در محلول پخش شده و با جذب یون‌های سیترات که به آن‌ها بار منفی می‌دهد، پایدار شده‌اند. بستره میکا می‌تواند با بار مثبت فعال شود تا ذرات با بار منفی به سطح متصل شوند. بستره میکا به وسیله محلول رقیق شدهی 0.1% PLL فعال می‌شود تا سطح آن دارای بار مثبت شود. برای ساختن این محلول، PLL با غلظت 0.1% را به نسبت ۱ به ۱۰ با آب یون‌زدایی-فیلتر شده رقیق کنید (به عنوان مثال 0.5 mL از PLL را به 4.5 mL آب یون‌زدایی شده اضافه کنید). از ظرف‌های شیشه‌ای تمیز برای رقیق کردن و پوشاندن استفاده کنید. تا زمان استفاده از محلول رقیق شده PLL، آن را در دمای $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ تا $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ در یخچال نگهداری کنید. صفحه میکا را به‌طور کامل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در محلول PLL رقیق شده غوطه‌ور سازید. برای کاهش تبخیر سطحی، محلول را با شیشه ساعت بپوشانید. بعد از گذشت زمان مورد نیاز، میکا را از داخل محلول خارج کرده و آن را به وسیله جریان گاز بی اثر فیلتر شده (مانند هوا، نیتروژن و آرگون) خشک کنید.

۸-۱-۱-۲ پس از خشک کردن، حدود $25\ \mu\text{L}$ از محلول رقیق نشده حاوی نانوذرات طلا را به وسیله یک میکروپیت روی نمونه میکای اصلاح شده با PLL بریزید. محلول حاوی نانو ذره طلا باید به‌صورت یکنواخت روی سطح نمونه پخش شود. توصیه می‌شود نمونه را در دمای اتاق و با توجه به برنامه زیر در دسیکاتور قرار دهید:

الف- برای ذرات 60 nm به مدت ۱۰ دقیقه؛

ب- برای ذرات 30 nm به مدت ۵ دقیقه؛

پ- برای ذرات 10 nm به مدت ۳۰ ثانیه.

زمان‌های اشاره شده برای تعلیق (سوسپانسیون) طلای کلوئیدی $50\ \mu\text{g/g}$ مناسب است ولی در صورت نیاز به اصلاح چگالی ذرات روی سطح با اندازه، ترکیب و غلظت متفاوت، مقدار زمان قابل تغییر است. همچنین، این زمان‌ها باید با توجه به نوع کاربرد، تأیید یا بهینه شوند. بستره را با آب یون‌زدایی و فیلتر شده شستشو دهید و با استفاده از جریان گاز بی‌اثر به آهستگی آن را خشک کنید. اکنون این نمونه برای تهیه تصویر آماده است.

۸-۱-۲ بستره سیلیکونی

روش رسوبدهی الکترواستاتیکی (الکتروایستا)، همان‌گونه که برای نانوذرات دارای بار منفی روی میکا توضیح داده شد، برای بستره سیلیکونی نیز قابل استفاده است. یک ویفر سیلیکونی را به قطعات کوچک (به‌عنوان مثال ۵ میلی‌متر در ۵ میلی‌متر) تقسیم و یا قطعات کوچک سیلیکون را از یک منبع تجاری تهیه کنید. نمونه را با روش زیر تمیز کنید:

به مدت ۵ دقیقه در دستگاه تمیز کننده پلاسمای اکسیژن مرطوب^۱ قرار دهید، سپس به مدت ده دقیقه در بشر شیشه‌ای تمیز حاوی استون (در حمام فراصوت با شدت کم)، قرار دهید. به دنبال آن، همین کار را به مدت ۱۰ دقیقه در بشر تمیز حاوی اتانول نیز تکرار کنید. در نهایت بستره را با جریان گاز بی‌اثر خشک کنید.

۸-۱-۲-۱- اگر تمیز کننده پلاسمای در دسترس نبود، می‌توان از روش زیر برای تمیز کردن استفاده کرد: بستره سیلیکونی را در محلولی به نسبت حجمی ۱:۱:۶ به ترتیب حاوی آب یون‌زدایی شده، هیدروکلریک اسید با غلظت حجمی ۳۷٪ و آب اکسیژنه با غلظت حجمی ۳۰٪ قرار دهید. آن‌ها را در حمام فراصوت با شدت کم به مدت ۲ تا ۱۰ دقیقه قرار دهید. این محلول به شدت اکسید کننده و اسیدی است؛ بنابراین باید با رعایت موارد احتیاطی لازم، آماده و جابه‌جا شود. همیشه اسید را در آب رقیق کنید. سپس نمونه را با آب یون‌زدایی شده شستشو دهید تا اسید باقی‌مانده و پراکسید از روی بستره حذف شوند.

یادآوری- محلول‌های از قبل آماده شده برای شستشوی بستره‌های سیلیکونی، به صورت تجاری در دسترس هستند. روش‌های تمیز کردن دیگری را نیز می‌توان در منابع پیدا کرد. اگر از روش‌های جایگزین استفاده می‌کنید از روش‌هایی که لایه اکسیدی ذاتی را از بین می‌برند (مانند استفاده از حلال‌های قلیایی دارای آمونیوم هیدروکسید)، خودداری کنید. توجه داشته باشید که برخی از محلول‌های پاک‌کننده که معمولاً برای زدودن ترکیب‌های آلی از سطح شیشه استفاده می‌شود (به‌عنوان مثال پراکسید اسیدی یا پیرانا^۲)، به شدت خورنده هستند و باید احتیاط لازم برای استفاده از آن‌ها رعایت شود.

۸-۱-۲-۲- ویفر سیلیکونی تمیز شده شامل یک لایه نازک اکسیدی طبیعی است. می‌توان سطح این بستره سیلیکونی را با عمل‌آوری به‌وسیله یک عامل جفت‌کننده^۳ آمینو سیلانی مانند ۳- آمینو پروپیل دی متیل اتوکسی سیلان، مثبت نمود. صفحه سیلیکونی را درون یک ظرف شیشه‌ای قرار داده و یک قطره از APDMES روی آن بریزید. درب ظرف را ببندید و بگذارید تا APDMES به مدت دو ساعت با سطح بستره واکنش دهد. سپس مقدار اضافی APDMES را به‌وسیله شستشو با اتانول و سپس آب یون‌زدایی شده جدا کنید.

۸-۱-۲-۳- پس از خشک کردن، با استفاده از میکروپیپت حدود $25 \mu\text{L}$ از محلول رقیق‌نشده نانوذرات طلا را روی بستره سیلیکونی اصلاح‌شده با APDMES بریزید. محلول حاوی نانوذرات طلا باید به‌طور یکنواخت روی سطح پخش شود. نمونه را در دمای اتاق و با توجه به برنامه زیر توصیه می‌شود در دسیکاتور قرار دهید:

- الف- برای ذرات ۶۰ nm به مدت ۶۰ دقیقه؛
- ب- برای ذرات ۳۰ nm به مدت ۳۰ دقیقه؛
- پ- برای ذرات ۱۰ nm به مدت ۱۵ دقیقه.

۱- پاک‌کننده‌های پلاسمای بسیار مختلف هستند بنابراین تنظیم‌های خاص و زمان‌های استفاده از آن برای هر دستگاه متفاوت است و باید برای آن تنظیم شود. به عنوان راهنمایی، تنظیم‌های عمومی باید به این ترتیب باشد: فشار ۰/۲ میلی‌بار (۲۰ پاسکال) و توان رادیو فرکانس ۴۰ وات.

2 -Piranha

3 -Cupling agent

این زمان‌ها تقریبی است و باید برای هر کاربرد تصحیح یا بهینه‌سازی شوند. برای جلوگیری از تبخیر سطحی سریع (که باعث کنده شدن نانوذرات می‌شوند)، باید بستره سیلیکونی همراه با محلول حاوی نانوذرات طلا را داخل محفظه‌ای مرطوب (برای مثال، زیر یک بشر واژگون به همراه یک ظرف آب یون‌زدایی‌شده) نگهداری کنید. پس از آن، نمونه را ابتدا با اتانول سپس با آب یون‌زدایی‌شده شستشو داده و قبل از آنالیز، با استفاده از جریان گاز بی‌اثر فیلتر شده خشک کنید.

۸-۱-۳ بستره طلا

صفحه طلای (۱۱۱) مسطح در مقیاس اتمی (نشانه شده روی میکا) را می‌توان تهیه کرد و به‌عنوان بستره برای تعیین اندازه نانوذرات استفاده کرد. در صورت لزوم، لایه طلا را با اتانول شستشو داده و با جریان گاز بی‌اثر فیلتر شده خشک کنید. توصیه می‌شود که از روش شستشوی فراصوتی استفاده نشود زیرا ممکن است لایه طلا را از روی میکا جدا کند.

۸-۱-۳-۱ بستره طلا را می‌توان به روشی که برای سیلیکون و میکا گفته شد، عامل‌دار کرد ولی باید از ترکیب‌های تیوله‌شده^۱ که با سطح طلا به‌طور شیمیایی واکنش می‌دهند، استفاده کرد. به‌عنوان مثال، یک ترکیب آمینو تیول را می‌توان برای ایجاد بار سطحی مثبت، به‌منظور نشان دادن نانوذرات دارای بار منفی روی آن، مورد استفاده قرار داد. در این حالت، باید مراحل توضیح داده شده برای APDMES تکرار شود با این تفاوت که از یک ترکیب عامل‌دار مناسب تیولی (بسیاری از ترکیب‌های تیولی عامل‌دار در بازار موجود است) استفاده کرد.

۸-۱-۳-۲ نانوذرات می‌توانند روی سطح ساده (عامل‌دار نشده)، صاف اتمی طلا به‌وسیله روش چکاندن قطره^۲ نشانه شوند. در این روش، یک قطره از کلئید آرمایه روی سطح بستره ریخته شده و زمان داده می‌شود تا تبخیر شود. اما غالباً نانوذرات، از جمله طلای کلئیدی، به‌وسیله مواد فعال سطحی^۳ یا دیگر عامل‌های سرپوشانی^۴ (که بعضی از آن‌ها ممکن است در فاز محلول حل شوند)، پایدار می‌شوند. در نتیجه تصویر AFM ممکن است باقی‌مانده لایه آلی روی بستره و سطح نانوذره را نشان دهد که ممکن است روی دقت تعیین اندازه نانوذرات تأثیر بگذارد. در این صورت، کاربر می‌تواند از روش جایگزین زیر بهره‌برد که شامل استفاده از یک سانتریفیوژ برای خارج کردن هرگونه ماده فعال سطحی یا عامل‌های سرپوشانی (مانند یون‌های سیترات) از فاز محلول است.

حدود ۱ mL نمونه کلئید طلا را در لوله میکروسانتریفیوژ ۱٫۵ mL (میکرولوله) قرار داده و از سرعت و زمان چرخش که در جدول زیر فهرست شده است به‌عنوان راهنما استفاده کنید. بخشی از مایع جمع شده در بالای محلول در میکرولوله که کاملاً شفاف است را دور بریزید. (این کار را با توجه به نسبت رقیق‌سازی ذکر شده در زیر انجام دهید) سپس به مقدار لازم آب یون‌زدایی‌شده به آن اضافه کنید تا کلئید تا حد مناسب رقیق شود. در طول این عملیات نباید هیچ تغییری در پایداری این کلئید دیده شود. راهنمایی‌های ذکر شده

1 - Thiolated compounds
2 - Drop-cast method
3 - Surfactant
4 - Capping agents

در زیر برای نانوذرات طلا، از میکروسانتریفیوژ رومیزی (میکروفیوژ)^۱ که از لوله‌های استاندارد (به عنوان مثال با حداکثر حجم اسمی ۲ mL) استفاده می‌کند، مناسب است. ممکن است لازم باشد این مقادیر را برای بهینه‌سازی رسوب‌دهی و به حداقل رساندن اثرهای ناخواسته تغییر داد.

الف- برای ذرات ۶۰ nm: رقیق‌سازی به نسبت ۱ به ۳؛ سرعت ۵۰۰۰ rpm ($833/3$ Hz) معادل با ۲۰۴۰؛ زمان ۵ دقیقه؛ حجم کلئید بین ۰/۸ mL تا ۱ mL؛

ب- برای ذرات ۳۰ nm: رقیق‌سازی به نسبت ۱ به ۵؛ سرعت ۸۰۰۰ rpm ($1333/3$ Hz) معادل با ۵۲۲۰ g؛ زمان ۶ دقیقه؛ حجم کلئید بین ۰/۸ mL تا ۱ mL؛

پ- برای ذرات ۱۰ nm: رقیق‌سازی به نسبت ۱ به ۸؛ سرعت ۱۴۰۰۰ rpm ($2333/3$ Hz) معادل با ۱۶۰۰۰ g؛ زمان ۲۰ دقیقه؛ حجم کلئید بین ۰/۸ mL تا ۱ mL.

پس از رقیق‌سازی و فرایند سانتریفیوژ، می‌توان یک قطره (حدود ۰/۵ mL) از کلئید را به‌وسیله میکروپیپت روی بستره قرار داد و آن را در هوا خشک کرد. برای اطمینان از حذف کامل رطوبت، می‌توان لایه رسوب‌دهی شده را در دمای بالا خشک کرد که این دما به نوع نانو ذره و بستره بستگی دارد (برای مثال 70°C برای نانوذرات طلا روی بستره طلا/ میکا). اکنون نمونه آماده تهیه تصویر است.

۲-۸ بازرسی به‌وسیله میکروسکوپ نوری

هر نمونه را قبل از تهیه تصویر با AFM، به کمک میکروسکوپ نوری بازرسی کنید تا اطمینان حاصل کنید که به میزان مناسب رسوب روی آن تشکیل شده است (یعنی ذرات به خوبی جدا شده باشند و روی هم انباشته نشده باشند) و یا جاهایی از بستره را پیدا کنید که انتظار دارید ذرات به‌طور مناسب پخش شده باشند (یا هر دو مورد). در مورد نمونه‌ها در روش چکاندن قطره، قسمت بیرونی قطره خشک شده شامل مقدار اضافی عامل‌های پایدار کننده (مانند سیترات) است در حالی که قسمت داخلی آن عاری از این عوامل و با توزیع مناسب ذرات است. در صورتی که ذرات مورد نظر به قدر کافی نور را جذب یا پخش نکنند، بازرسی نوری با مشکل مواجه می‌شود. استفاده از این روش زمانی مفید است که احتمال رسوب‌دهی بیش از حد باشد (به عبارت دیگر چگالی ذره بسیار زیاد باشد).

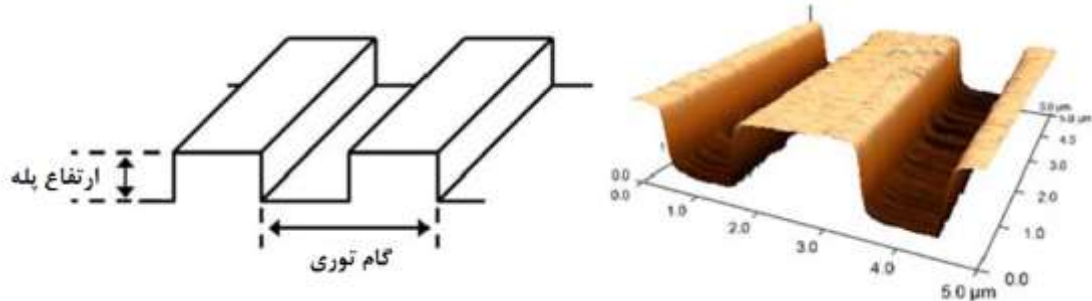
۳-۸ تهیه تصویر AFM و تعیین اندازه

۱-۳-۸ صحت (کالیبراسیون ارتفاع)

برای دستیابی به اندازه‌گیری صحیح، باید جابه‌جایی‌های محور z پیزوالکتریک با استفاده از استانداردهای در دسترس و قابل ردیابی، کالیبره شود. در شکل ۲ طرحواره و تصویر AFM نمونه توری کالیبراسیون^۲ نشان داده شده است که شامل آرایه‌های یک بعدی از پله‌های مستطیل شکل SiO_2 روی ویفر سیلیکون است. ارتفاع پله‌های این نمونه توری خاص به اندازه، $19.5 \text{ nm} \pm 0.8 \text{ nm}$ است. پس از انتخاب نمونه توری مناسب (ارتفاع پله‌ها باید مشابه با ارتفاع نانوذرات مورد بررسی باشد)، ارتفاع پله‌ها را حداقل در سه نقطه از نمونه، با

1 - Microfuge
2 - Calibration Grating

استفاده از یک سوزن AFM تیز اندازه‌گیری کرده و میانگین مقادیر اندازه‌گیری شده را با ارتفاع تأیید شده پله مقایسه کنید. یادآوری - ارتفاع پله‌های این نمونه توری خاص، $0.8 \text{ nm} \pm 19.5 \text{ nm}$ است.



شکل ۲ - طرحواره و تصویر AFM نمونه توری کالیبراسیون، شامل آرایه‌های یک بعدی از پله‌های مستطیل شکل SiO_2 روی بستره سیلیکون.

۸-۳-۲ حالت تهیه تصویر

نانوذرات از طریق یک نیروی فیزیکی ضعیف (برای مثال نیروهای الکترواستاتیک و واندروالس) روی بستره قرار می‌گیرند. در نتیجه، حالت شبه‌تماسی یک حالت مناسب تهیه تصویر است که در آن تیرک به وسیله یک عملگر پیزوالکتریک کوچک که روی نگهدارنده سوزن AFM نصب شده است، نزدیک به بسامد تشدید خود به سمت بالا و پایین حرکت داده می‌شود. دامنه این نوسان بیشتر از 10 nm است، معمولاً از محدوده 100 nm تا 200 nm متغیر است.

۸-۳-۳ تیرک‌ها^۱

پروب‌ها شامل یک تیرک یکپارچه با یک سوزن تیز در انتهای آن هستند. ویژگی‌ها و ابعاد تیرک و سوزن تیز^۲ نقش مهمی در حساسیت^۳ و تفکیک‌پذیری AFM دارند. چندین نکته کلیدی که بهتر است هنگام انتخاب یک تیرک AFM در نظر گرفته شوند در ادامه فهرست شده است:

۸-۳-۳-۱ شعاع و هندسه سوزن^۴

یک تصویر مکان‌نگاری AFM در واقع برآیندی از شکل هندسی سوزن و نمونه است. هرچند این موضوع بر اندازه‌گیری ارتفاع اثر ندارد ولی به‌طور کلی بر مشخصه‌های سطحی اثرگذار است. برای کمینه کردن اثر شکل سوزن روی تصویر، بهتر است از سوزن‌هایی که شعاع کمتر از 10 nm دارند، استفاده شود.

1- Cantilever
2- Sharp tip
3 - Sensitivity
4 - Tip radius and geometry

۸-۳-۳-۲ سفتی تیرک^۱

نوسان‌های پایدار تیرک برای تهیه تصویر خوب از یک سطح در حالت شبه‌تماسی ضروری است و فقط زمانی امکان‌پذیر است که تیرک انرژی کافی برای غلبه بر نیروی چسبندگی (برای مثال نیروهای الکترواستاتیک، واندروالس و موئینگی) بین سوزن و نمونه را داشته باشد. برای غلبه بر این نیروها، تیرک‌هایی با سفتی تقریباً 40 N m^{-1} توصیه می‌شوند.

۸-۳-۳-۳ کج بودن تیرک

در بیشتر تجهیزات AFM، تیرک تقریباً کجی به میزان ۱۰ درجه تا ۲۰ درجه نسبت به سطح دارد که برای ایجاد این اطمینان است که سوزن قبل از قسمت‌های دیگر مثل لبه‌های نزدیک تیرک، با نمونه تماس داشته باشد. این وضعیت بر اندازه‌گیری ارتفاع اثر ندارد ولی منجر به ارائه نامتقارن مشخصه‌ها می‌شود. در حالت‌هایی که ممکن است این مشکل وجود داشته باشد، برخی از تیرک‌های ساخته شده با «زاویه خاص» توصیه می‌شود که اثر کج بودن تیرک را به کمک هندسه سوزن جبران می‌کند.

۸-۳-۴ اندازه روبش^۲

تصاویر AFM شامل تفکیک‌پذیری جانبی x و y و تفکیک‌پذیری عمودی z هستند. شعاع انحنای انتهای سوزن، بیشترین تفکیک‌پذیری جانبی قابل دسترسی با یک سوزن خاص را مشخص می‌کند. هرچند عامل دیگری که هنگام آنالیز تصویر باید در نظر گرفته شود، تعداد نقاط داده‌ها^۳ یا پیکسل‌ها^۴ موجود در تصویر در جهت روبش x و y است. برای مثال در به‌دست آوردن یک تصویر $10 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$ با ۵۱۲ پیکسل، اندازه پیکسل تقریباً برابر ۱۹٫۵ nm است ($10 \mu\text{m} / 512 \text{ px}$). در این حالت تفکیک‌پذیری زیر ۱۹٫۵ nm در اندازه روبش $10 \mu\text{m}$ غیرممکن است. پس در نظر گرفتن اندازه ذره هنگام انتخاب اندازه روبش مهم است.

پارامترهای روبش نشان داده شده در زیر را می‌توان به عنوان نقطه شروع استفاده کرد:

الف- برای ذرات ۶۰ nm: اندازه روبش $2 \mu\text{m} \times 2 \mu\text{m}$ ، سرعت روبش ۱ Hz (بر خط روبش)؛

ب- برای ذرات ۳۰ nm: اندازه روبش $1 \mu\text{m} \times 1 \mu\text{m}$ ، سرعت روبش ۱ Hz (بر خط روبش)؛

پ- برای ذرات ۱۰ nm: اندازه روبش $0.5 \mu\text{m} \times 0.5 \mu\text{m}$ ، سرعت روبش ۱ Hz (بر خط روبش).

۸-۳-۵ تهیه تصاویر

بعد از تکمیل تنظیمات عمومی برای AFM (برای مثال کالیبراسیون راستای Z^۵ پایه پیزوالکتریک، انتخاب و نصب تیرک مناسب، تعیین بسامد و تنظیم تیرک و غیره) اکنون دستگاه آماده تعیین اندازه نانوذرات است.

1 - Cantilever stiffness
2 - Scan size
3 - Data points
4 - Pixel size
5 - Z displacement

ابتدا از یک اندازه روبش بزرگ برای شناختن ناحیه‌ای با توزیع همگن^۱ نانوذرات استفاده کنید. زمانی که یک ناحیه مناسب تشخیص داده شد، با استفاده از پارامترهای روبش ذکر شده در بالا به عنوان نقطه شروع، جمع‌آوری تصاویر نانوذرات را انجام دهید. شدت بازخورد تغییرات دامنه نوسان^۲ (تناسبی^۳ و انتگرال^۴) را تنظیم کنید تا از یکسان بودن خط‌های روبش به سمت جلو و عقب (پروفایل عرضی)، اطمینان حاصل کنید. تصاویر را در رایانه با فایل‌هایی که به صورت صعودی نام‌گذاری شده‌اند، برای آنالیزهای بعد از تهیه تصویر، ذخیره کنید. اگر افت ناگهانی در کیفیت تصویر یا شکل نانوذرات مشاهده شده در طول این مرحله به وجود آمد، معمولاً توصیه می‌شود که تیرک AFM را تعویض کنید، زیرا ممکن است به علت تماس مکرر با بستره آسیب دیده باشد و یا با قرار گرفتن یک نانوذره روی سوزن، تغییر کرده باشد.

۸-۴ تجزیه و تحلیل تصویر

پس از تهیه تصویر در طول زمان واقعی^۵ می‌توان تصاویر را با استفاده از نرم‌افزار سازنده میکروسکوپ نیروی نیروی اتمی، به صورت جداگانه مشاهده، تجزیه، تحلیل و اصلاح کرد. برخی از اطلاعات مفیدتر و ویژگی‌های پردازش اندازه‌گیری نانوذرات در زیر ارائه شده است.

۸-۴-۱-۴ مسطح کردن یا هم‌تراز کردن تصاویر^۶

معمولاً نخستین گام برای از بین بردن اثرهای ناخواسته در مرحله پردازش تصاویر AFM، هم سطح کردن خطی یا هم‌تراز کردن تصویر می‌باشد. برای مثال نمونه‌ها همیشه به صورت عمودی نسبت به سوزن AFM نصب نشده‌اند، در نتیجه بعضی کجی‌هایی در تصویر دیده می‌شود که در سطح واقعی نمونه وجود ندارد. اثر ناخواسته دیگر شامل انحراف حرارتی و غیرخطی بودن روبش‌گر است. در روش‌های مسطح کردن و هم‌تراز کردن، این اثرهای ناخواسته را با حذف آنها از اطلاعات اصلاح می‌کنند. تصحیح درجه اول^۷ (خطی) معمولاً برای از بین بردن هر اثر ناخواسته در نتایج، کافی است. بهتر است از تصحیحات درجه بالاتر دوری کرد.

۸-۴-۱-۱ هنگام تهیه تصویر از نانوذرات، هموار کردن و هم‌تراز کردن بسیار دشوار است. نرم‌افزار به جای این که فقط بستره را تصحیح کند، باید یک تصحیح چند جمله‌ای برای بستره و نانوذرات انجام دهد. برای حذف مشخصه‌های خاص در طول این مرحله، بیشتر بسته‌های نرم‌افزاری AFM شامل قابلیت‌هایی به نام تابع نقاط مستثنی^۸ هستند. اساساً این تابع را می‌توان برای جدا کردن همه نقاط انتخاب شده (برای مثال آن‌هایی

-
- 1- Homogeneous
 - 2- Oscillation amplitude
 - 3- Proportional
 - 4- Integral
 - 5- Real time operation
 - 6- Flatten and Plane-fit Images
 - 7- First order (linear) corrections
 - 8 -Exclude point

آن‌هایی که در مرزهای نانوذرات هستند) در طی مرحله‌های هموار کردن و هم‌تراز کردن و به‌طور مؤثری با نادیده گرفتن نانوذرات در هنگام تنظیم اساسی بستره، به‌کار برد.

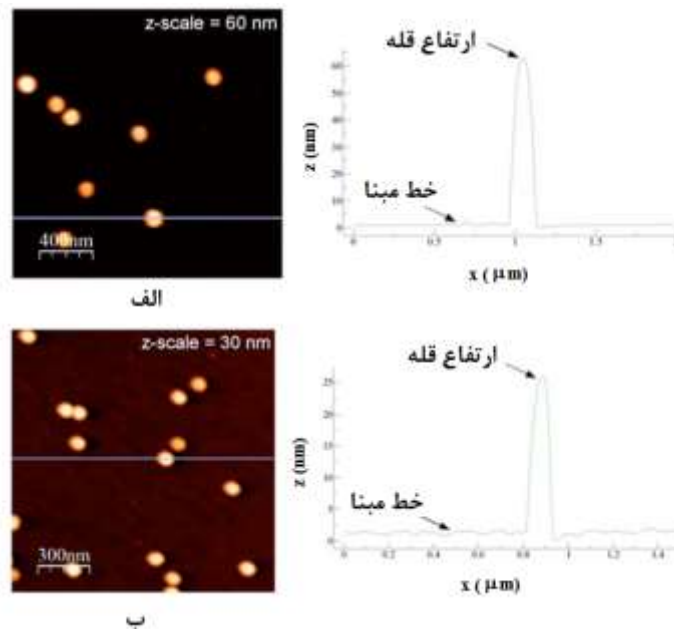
۸-۴-۲ پروفایل‌های خطی سطح مقطع^۱

یک ویژگی معمول دیگری که در اکثر بسته‌های نرم‌افزاری تجاری AFM وجود دارد، ابزار سطح مقطع^۲ است. یک خط سطح مقطع عرضی را می‌توان در هر قسمت از تصویر رسم نمود و پروفایل‌های عمودی در طول این خط دیده می‌شوند. می‌توان نشانگر را برای اندازه‌گیری به صورت افقی، عمودی یا با هر زاویه‌ای تغییر داد. با ایجاد چندین پروفایل خطی سطح مقطع در عرض یک نانو ذره، نه تنها می‌توان ارتفاع ذره را حساب کرد، بلکه می‌توان قرار گرفتن نانوذرات به صورت جدا و روی یک ناحیه صاف را مشخص کرد. (برای مثال روی لبه یک پله قرار نگرفته است).

۸-۴-۳ روش اندازه‌گیری ارتفاع

یک خط ثابت، متحرک یا میانگین سطح مقطع از میان هر ذره همان‌گونه که در شکل ۳ نشان داده شده است، بکشید. از نشانگر برای پیدا کردن مقدار متوسط خط مبنا (در دو طرف نانوذره) و ارتفاع قله استفاده کنید. اگر روش‌های هموار کردن و هم‌تراز کردن به درستی انجام شده باشند (به این معنا که نانوذرات در این روش حذف نشده باشند)، خط مبنا باید نسبتاً صاف‌تر از خط روبش باشد. برای یافتن ارتفاع نانو ذره، ارتفاع میانگین خط مبنا را از ارتفاع قله کم کنید.

یادآوری- تفاوت بین ارتفاع قله و میانگین خط مبنا (از دو طرف نانوذره مشخص شده است) ارتفاع ذره است.



شکل ۳: تصاویر AFM و سطح مقطع برای نانوذرات طلا ۶۰nm (الف) و ۳۰nm (ب)

1 -Cross-sectional Line Profiles

2 - Cross-section

۸-۴-۳-۱ برای اطمینان از اندازه‌گیری قابل ارائه و بدون انحراف از اندازه متوسط ذرات و توزیع آنها در آنالیز AFM، باید از روشی خاص برای تخمین تعداد ذراتی که باید در نظر گرفته شوند، استفاده کرد تا سطح اطمینان مناسب برای مقادیر گزارش شده به دست آید.

به عنوان یک راهنمایی عمومی توصیه می‌شود که حداقل ۱۰۰ نانوذره را اندازه‌گیری کنید. همچنین توصیه می‌شود برای پرهیز از خطاهای ناشی از یک مکان خاص، تصاویری از مکان‌های مختلف بستره تهیه کنید. [3] و [4].

۸-۴-۳-۲ کلوخه‌های بزرگ باید از میانگین‌گیری حذف شوند. البته این کار سخت و معمولاً غیرممکن است که بتوان بین اثرات ناخواسته و کلوخه‌ها و انبوهه‌ها و تراکم‌های واقعی موجود در آنالیز تصویر AFM، تفاوت قائل شد.

۸-۴-۴ تجزیه و تحلیل خودکار ذرات به حالت بهر^۱

بسته‌های نرم‌افزاری تجاری AFM معمولاً یک تابع خودکار تجزیه و تحلیل ذره را پیشنهاد می‌کنند. این نرم‌افزار می‌تواند ارتفاع نانوذرات را بر اساس ارتفاع داده‌های پیکسل با استفاده از روش حد و رسم هیستوگرام توزیع اندازه‌گیری کند. قبل از انجام اندازه‌گیری به روش بهر باید مرحله‌های هموار کردن و هم‌تراز کردن را که پیشتر ذکر شد انجام داد تا اطمینان حاصل شود که بستره صاف است.

با تنظیم حد ارتفاع، ذرات بالاتر از این حد را می‌توان برای تجزیه و تحلیل در نظر گرفت، درحالی‌که ذرات زیر این حد حذف می‌شوند. پس از انتخاب یک گروه از ذرات، می‌توان فاصله بین بیشترین ارتفاع داده پیکسل مربوط به ذرات مجزا و بستره را به صورت خودکار اندازه‌گیری کرد و می‌توان مقدار متوسط ارتفاع و انحراف استاندارد ذرات را محاسبه کرد. تجزیه و تحلیل ارتفاع ذرات به روش بهر به محققان اجازه می‌دهد که تجزیه و تحلیل تعداد زیادی از ذرات را در طی مدت زمان کوتاهی با کمترین تلاش انجام دهند؛ اما باید نسبت به اندازه‌گیری دستی مقایسه کرد تا از کیفیت نتایج اطمینان حاصل کرد.

۸-۴-۵ نمونه‌های کنترل: در مورد بستره‌ای که برای رسوب نانوذرات استفاده می‌شود، باید یک نمونه کنترل بدون ذرات مورد آزمایش تهیه شده و در شرایط یکسان تهیه تصویر انجام شود تا اطمینان حاصل شود که اثرهای ناخواسته و آلودگی‌ها که ممکن است با نانوذرات مورد نظر اشتباه شوند، طی فرآیند آماده‌سازی یا ذاتی^۲ به مواد بستره وارد نشوند.

1- Automated batch-mode

2- Inherent

۹ گزارش

۹-۱ به استاندارد ASTM E1617 به عنوان توصیه‌های عمومی مربوط به گزارش اطلاعات اندازه ذره رجوع شود.

۹-۲ گزارش‌دهی اطلاعات اندازه ذرات به‌دست آمده از پروفایل‌های ارتفاع AFM - متوسط و عدم قطعیت بسط‌یافته^۱ برای توزیع ارتفاع ذره را مطابق روش زیر، که براساس استاندارد ISO/IEC Guide 98-3:2008 است، محاسبه کنید (به پیوست الف مرجع ۵ مراجعه شود). متوسط یا میانه حسابی ارتفاع ذرات \bar{X} با رابطه زیر ارائه می‌شود:

$$\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i \quad (1)$$

که در آن:

n ، تعداد مشاهدات است (تعداد اندازه‌گیری‌های ذره مستقل)

X_i ، ارتفاع هر ذره است.

اگر مدلی معادل مدل قطر کروی برای گزارش داده‌های تغییر مکان ارتفاع در نظر گرفته شود، \bar{X} معادل $\bar{D}_{1,0}$ خواهد بود و میانه حسابی قطر در استاندارد ASTM E2587 تعریف شده است. معمول‌ترین روش برای توصیف تغییر در مورد مقدار میانگین^۲، انحراف استاندارد و یا به عبارت ساده‌تر ریشه مربع واریانس است.

(۲)

$$U_{\bar{X}} = \sqrt{\frac{1}{(N-1)} \sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}$$

هر چند عدم قطعیت تعیین \bar{X} ، با انحراف استاندارد U_X بیان نمی‌شود، اما با انحراف استاندارد تجربی از میانه، تعریف می‌شود. مقدار U_X از طریق رابطه $U_{\bar{X}} = U_X / \sqrt{n}$ به انحراف استاندارد وابسته است که نتیجه

می‌دهد:

(۳)

$$U_{\bar{X}} = \sqrt{\frac{1}{N(N-1)} \sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}$$

یادآوری - مقدار $U_{\bar{X}}$ تعریف شده، با علامت $S(q_k)$ در استاندارد ISO/IEC Guide 98-3:2008 تعریف می‌شود و گاهی به خطای استاندارد میانگین ارجاع داده می‌شود.

1- Expanded uncertainty

2- Mean

نه تنها در نظر گرفتن عدم قطعیت مربوط به اندازه‌گیری میانگین ارتفاع ذره مهم است، بلکه دیگر منابع بالقوه عدم قطعیت آزمون نیز دارای اهمیت می‌باشند. به‌ویژه ضروری است که عدم قطعیت مربوط به ارتفاع پله توری که برای کالیبراسیون AFM به کار برده شده است، را در نظر داشت. به عنوان مثال، اگر توری کالیبراسیون دارای ارتفاع متوسط (G) ۱۹/۵ نانومتر باشد، عدم قطعیت استاندارد (U_G) ۰/۳۵ نانومتر است (نباید با عدم قطعیت بسط‌یافته ۰/۸ nm اشتباه گرفته شود). عدم قطعیت استاندارد مرکب U_C با ترکیب، اثر عدم قطعیت منفرد $U_{\bar{X}}$ و U_G که در ادامه بیان شده اند، به دست می‌آید:

(۴)

$$U_C = \sqrt{u_{\bar{X}}^2 + u_G^2}$$

درجه‌های مؤثر مربوط به آزادی از معادله Welch-Satterthwaite به دست می‌آیند.

(۵)

$$\frac{u_C^4}{v_{eff}} = \frac{u_{\bar{X}}^4}{v_{\bar{X}}} + \frac{u_G^4}{v_G}$$

V_G و $V_{\bar{X}}$ به ترتیب درجه‌های آزادی برای اندازه‌گیری ارتفاع ($n-1$) و اندازه‌گیری توری کالیبراسیون (که در گواهی‌نامه مربوط به آنها گزارش شده) هستند. عدم قطعیت بسط‌یافته یا U_p ، یا عدم قطعیتی که برای فاصله تعریف می‌شود که دارای یک سطح اطمینان (P) است، با رابطه زیر به دست می‌آید.

(۶)

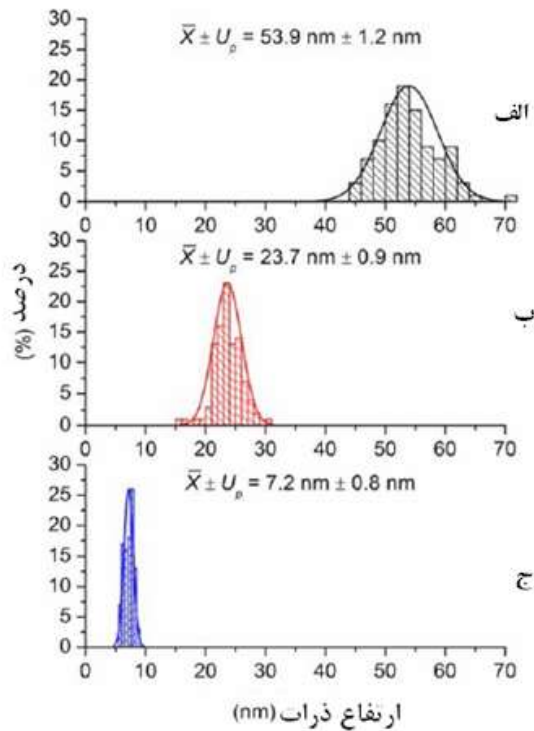
$$U_p = k_p u_c$$

که k_p فاکتور پوشش^۳ می‌باشد. این فاکتور برای رسیدن به سطح اطمینان p با استفاده از جدول توزیع t ^۴ (با در نظر گرفتن درجه‌های آزادی v_{eff} ؛ راهنمای استاندارد ISO/IEC Guide 98-3:2008 را ببینید)، به کار می‌رود. حاصل آن یک عدم قطعیت متوسط و یک عدم قطعیت توسعه‌یافته برای هر داده تنظیم شده‌ای است که بتوان به کمک $\bar{X} \pm U_p$ تعریف کرد.

۳-۸ توزیع ارتفاع برای نانوذرات طلا با اندازه اسمی ۱۰ nm، ۳۰ nm و ۶۰ nm (نشانه شده بر بستره میکا به روش بیان شده در ۸-۱-۱) در شکل ۴ نشان داده شده‌است. برای هر مجموعه از داده‌ها، عدم قطعیت‌های متوسط و توسعه‌یافته با سطح اطمینان ۹۵٪ محاسبه شده‌است.

1- Expanded uncertainty
2- Combined standard uncertainty
3 -Coverage factor
4- t -distribution tables

یادآوری- عدم قطعیت در میانگین (یعنی انحراف استاندارد تجربی از میانگین) بسیار کم‌تر از عرض مشخصه در منحنی توزیع آماری ذرات (هیستوگرام) برای مواد مرجع طلا در این مثال است. این حالت معمولاً برای هر اندازه‌گیری صدق می‌کند.



راهنما:

الف- ۶۰ nm

ب- ۳۰ nm

پ- ۱۰ nm

تصویر ۴- نمودارهای توزیع آماری به اندازه اسمی ۶۰ nm (الف)، ۳۰ nm (ب) و ۱۰ nm (ج) نانوذرات طلا

پیوست الف
(پیوست آگاهی دهنده)
(تغییرات اعمال شده)

- در بند هدف و دامنه کاربرد زیربند ۴-۱ حذف شده است
- در زیربند ۳-۲-۱، تعریف «کلوخه» عیناً از استاندارد ملی ایران- ایزو ۱-۸۰۰۰۴ درج شده است
- در زیربند ۸-۳-۲ تعریف «انبوهه» عیناً از استاندارد ملی ایران- ایزو ۱-۸۰۰۰۴ درج شده است
- در زیربند ۸-۱-۱-۲ کلمه «دسیکاتور» در آخر اولین پاراگراف اضافه شده است.
- در زیربند ۸-۱-۲-۳ کلمه «دسیکاتور» در آخر اولین پاراگراف اضافه شده است.

کتابنامه

- (1) Meyer, E., Hug, H.J., and Bennewitz, R., Scanning Probe Microscopy: The Lab on a Tip, Springer-Verlag: Berlin, 2004.
- (2) Morris, V.J., Kirby, A.R., and Gunning, A.P., Atomic Force Microscopy for Biologists, Imperial College Press: London, 1999.
- (3) Masuda, H., Iinoya, K., "Theoretical study of the scatter of experimental data due to particle size distribution," Journal of Chemical Engineering—Japan, Vol 4, No. 1, 1971, p. 60.
- (4) Allen, T., Particle Size Measurement - Volume 1: Powder Sampling and Particle Size Measurement, 5th Edition, Chapman & Hall, 1996.
- (5) Taylor, B.N., and Kuyatt, C.E., Guidelines for Evaluating and Expressing the Uncertainty of NIST Measurement Results, NIST Technical Note 1297, National Institute of Standards and Technology, U. S. Department of Commerce, 1994.