# Laboratoriya işi № 8.

# Skanedici zond mikroskopunun köməyi ilə suyun mikroflorasının öyrənilməsi.

8.1. İşin məqsədi	
8.2. İşin məzmunu	
8.3. Metodik göstərişlər	
8.4. Tapşırıq	
8.5.Yoxlama sualları	

İşdə skanedici zond mikroskopiyasının əsaslarının öyrənilməsi və distillə edilmiş su mühitlərində mikrofloranın tədqiq edilməsinə tətbiqi təklif olunur.

# 8.1. İşin məqsədi

1. Skanedici zond mikroskopunun iş prinsipinin öyrənilməsi.

2.**NanoEducator** cihazının konstruksiyası və iş prinsiplərinin öyrənilməsi.

3.SZM vasitəsilə nümunə səthinin şəklinin alınması.

4. Təcrübənin nəticələrinin işlənməsi və təqdimatı, iş vərdişlərinin yaranması.

Ləvazimat: Skanedici zond mikroskopu(Model SZMU-L5), zond, NanoEducator programı və kompüter.

# **Tədqiqat üçün nümunə:** distillə olunmuş su və adi suyun mikroflorası

#### Laboratoriya işi bir neçə mərhələdə yerinə yetirilir:

1. Nümunənin hazırlanması hər bir tələbə tərəfindən fərdi qaydada yerinə yetirilir.

2. Birinci şəklin alınması müəllimin nəzarəti altında cihazların birində yerinə yetirilir, sonra hər tələbə özünün nümunəsini sərbəst tədqiq edir.

3. Təcrübənin nəticələrinin işlənməsi hər tələbə tərəfindən fərdi aparılır.

İşə başlamazdan əvvəl amplitud tezlik xarakteristikası ən yaxşı xarakterli (bir simmetrik maksimumu olan) zond seçməli, tədqiq olunan nümunənin səthinin şəklinin alınması.

# Laboratoriya işinin hesabatına daxil olmalıdır:

1. Nəzəri hissə (yoxlama suallara cavablar).

2. Təcrübi hissənin nəticələri (aparılmış tədqiqatın izahı, alınmış nəticələr və çıxarılmış nəticələr).

# 8.2. İşin məzmunu

- 1. SZM-in yaranma tarixi;
- 2. SZM-in iş üsulları;

- kontakt iş üsulu;
- laterial qüvvə üsulu;

- qüvvə modulyasiya üsulu;

- yarımkontakt üsulu;

- faza təzadı üsulu, alınmış şəklin fiziki mənası.

3. SZM-də şəklə təsir edən faktorlar.

4. Preparatın hazırlanması və SZM-in tətbiqi ilə onun tədqiqi.

5. İşin ardıcıllığı: şəklin alınması, işlənməsi və analizi.

#### Skanedici zond mikroskopunun yaranması tarixi

70 il əvvəl keçmiş SSRİ vətəndaşı Q.A.Qamov ilk dəfə olaraq enerjisi potensial çəpərdən kiçik olan mikrohissəciklərin, potensial çəpərdən keçməsi prosesini təsvir etmişdi. Bu hadisə tunelləşmə adlandırılmışdı. Tunel effekti kvant hadisəsi olub, mikrohissəciyin hərəkəti mümkün olan potensial çəpərlə ayrılan bir oblastdan digər oblasta daxil olmasıdır.

Əgər cərəyan keçirən iki cisim götürsək, onları bir-birinə yaxın məsafədə yerləşdirərək onlara müəyyən potensiallar fərqi tətbiq etsək, onda bu cisimlər arasında atomların garsılıqlı müdaxiləsi olmadan tunel elektrik cərəyanı yaranar. Cisimlər arası məsafənin 10 nanometr səviyyəsində bu sahə avtoelektron emissiyasının cərəyanı olacaqdır. Bunun giyməti cisimlər arası məsafədən güclü surətdə asılı olacaqdır. Bu effekt ABS Milli Standartlar İnstitutunun əməkdası R.Yang tərəfindən cərəvan profelometrinin yaradılması zamanı istifadə olunmuşdu. Metal iti uclu zond tədqiq olunan cərəyan keçirən nümunənin səthinə yaxınlaşdırılır, onlar arasında verilmiş giymətə malik avtoelektron emissiya cərəyanının keçməsinə başlanana qədər yaxınlasma davam edir. Bundan sonra zond nümunənin səthini skanetməyə başlayır. Bu zaman elektromexaniki əks əlaqə sistemi cərəyanın verilmiş qiymətini sabit saxlayır. Cərəyanın qiyməti zond və nümunə səthi arasındakı məsafədən güclü surətdə asılı olduğundan, onda skanetmə prosesində zond yüksək dəqiqliklə səth üzərində yerini dəyişir. Bu zaman skanetmə sisteminin idarəetmə siqnalı səthin relyefinin şəklinin qurulması üçün istifadə olunur. R.Yanq tərəfindən bu qurğu

**Topografiner** adlandırılmış, şaquli istiqamətdə 3*A* səviyyəsində ayırdetmənin əldə olunmasına imkan verdi. R.Yanq həmmüəlliflərlə göstərdilər ki, zond və nümunə səthi arasındakı məsafədən eksponensial asılı olan tunel cərəyanının istifadə olunması ayırdetməni daha da yaxşılaşdırmağa imkan verəcəkdir.

Bu kəşfdən sonra alimlər belə bir suala cavab axtardılar: əgər əvvəlki təcrübəni təkrar etsək bu zaman maraqlı olan cisim səthinə iti uclu predmet yaxınlaşdırılarsa onda nə olacaq? Aparılmış təcrübələr nəticəsində aydın oldu ki, çox nazik iti uclu iynənin köməyi ilə(iynənin ucundakı atom əsas hiss edən elementdir) atom səviyyəsində öyrənilən maddi obyektin quruluşu haqqında məlumat əldə etməyə imkan verir.

1979-cu ildə IBM-in Sürix bölməsindəki laboratoriyasında işləyən İsveçrə alimləri Q.Binninq və U.Rorer fiziki obyektlərlə yeni iş prinsipini, Skanedici zond mikroskopunu(SZM) [4] təklif etdilər. Qeyd edək ki, ilkin ideya mikroskopun yaradılması olmayıb, 100 anqstremdən kiçik olan səth hissələrinin spektroskopik tədqiqatlarının həyata keçirilməsindən ibarət idi. Tezliklə tədqiqatçılar başa düşdülər ki, nəinki lokal spektroskopik zond yaratmaq olar, həmçinin skanetmə ilə spektroskopik və topoqrafik şəkillər almaq olar.

Beləliklə, yeni tipli mikroskopun yaradılması imkanına yol açıldı. Skanedici tunel mikroskopunun(STM) hazırlanması konsepsiyasından 27 ay keçdikdən sonra, o yaradılmış oldu. Bu cihazın işləmə prinsipi bundan ibarətdir ki, zond tədqiq olunan nümunə səthinə yaxın məsafəyə(anqstremin hissələri) qədər yaxınlaşdırılır. Zond və nümunə arasında sabit gərginlik verilir. Bunun nəticəsində onlar arasında tunel cərəyanı yaranır. Onun qiyməti zond və nümunə arasındakı məsafədən güclü surətdə asılı olub, izləyən sistem tədqiq olunan səthin relyefindən asılı olaraq skanedicini aşağıya və yuxarıya hərəkət etdirməklə bu məsafə sabit saxlanılır. Bu yerdəyişmələr haqqında məlumatı kompüterdə izləyərək bu məlumatın proqram vasitəsi ilə işlənməsindən sonra nümunə səthinin ekranda şəklini görmək olar.

Ifrat yüksək vakuum şəraitində qurğularla iş təcrübəsi qızılın(*Au*) və silisiumun(*Si*) səthlərinin atom quruluşunun birinci şəklini almağa imkan verdi. 1983-cü ilin sonunda müəlliflər yeni üsulun imkanını karbon təbəqəsinin səthində DNK zəncirinə baxaraq biologiyaya tətbiqini öyrənməyə başladılar. Birinci STM-lər vakuum şəraitində aşağı temperaturlarda işləyirdi. 1984-cü ildə atmosfer təzyiqində, distillə olunmuş suda, duz məhlullarında tədqiqatların aparılması haqqında birinci məlumatlar yarandı. 1986-cı ildə alimlər Q.Binninq və R.Rorer Skanedici tunel mikroskopunun kəşfinə görə fizika sahəsində Nobel mükafatına layiq görüldülər.

Skanedici tunel mikroskopunun əsas çatışmazlığı onun yalnız cərəyan keçirici nümunələrin tədqiqi imkanı olmasıdır. Bu 1986-cı ildə Qerd Binning, Kelvin Kueyt və Kristofer Qerber tərəfindən zond mikroskoplarının yeni nəslinin-atomqüvvə mikroskopunun(AQM) yaradılması ilə bu çatışmazlıq aradan qaldırıldı[8]. AQM-in iş prinsipi atomlar arası təsir edən atom güvvələrinin istifadə olunmasına əsaslanır. Analoji güvvələr ixtiyari yaxınlaşan cisimlər arasında təsir edir. AQM-ə belə cisimlər tədqiq olunan səth və onu skanedən zond ola bilər. Kicik iti uclu iynə zond kimi istifadə olunur. Nazik platin folqadan hazırlanmış müstəvi elastik yay kantileveronun bir tərəfinə bərkidilmiş iti uclu iynə, o biri tərəfi isə saxlayıcıya bərkidilir. Bu kantilever iti uclu zondla birlikdə-zond çevirici adlanır. Skanetmə prosesində zond səth üzrə sürüşür. Onun relyefini gəzərək, bu zaman uyğun qeydiyyat sistemi kantileverin əyilməsini izləyir.

90-cı illərdə skanedici zond mikroskopunun bioloji obyektlərin tədqiqində istifadə olunmasının mümkünlüyünü təsdiq edən çoxlu elmi işlər yarandı. SZM yüksək ayırdetmə imkanına malik olub(elektron mikroskopların ayırdetmə imkanları ilə müqayisədə) bu zaman səthin relyefini ölçmək və maye mühitlərdə tədqiqat aparmaq mümkündür. Bu da bioloji obyektlərin(həmçinin fiksə olunmayan canlıların da) strukturların -fizioloji və morfoloji xarakteristikalarının dinamik dəyişməsini izləməyə imkan verir. SZM - in ən üstün cəhətlərindən biri real vaxtda bioloji obyektlərin(ən əvvəl hüceyrələrin) tədqiqini aparmağa, bəzi bioloji proseslər haqqında hətta mikrofilmlərməsələn iki komplementar DNK molekullarının hibridləşməsini çəkməyə, səthin üç ölçülü şəklini almağa, obyektlərin laterial ölçülərini və kələ-kötürlülüyünü dəqiq təyin etməyə imkan verir.

#### SZM-in iş üsulları

SZM-in çoxlu iş üsulları mövcuddur. Onlar zond və nümunə arasında qarşılıqlı təsir qüvvəsinin növlərinin, zondun nümunə səthi üzrə yerdəyişmə alqoritmlərinin, səthin müxtəlif xarakteristikalarının müxtəlif şəkillərini almaq üçün verilənlərin istifadə olunması üsullarının müxtəlifliyinin istifadə olunması ilə fərqlənir. Uyğun üsulun seçilməsi nümunənin tipi, çirkli olmağı və mühitindən asılı olaraq skanetmənin aparılma şəraitindən asılıdır.



Şəkil 8-1. Zond və nümunə arasındakı F qarşılıqlı təsir qüvvəsinin R məsafəsindən asılılığı

Zond və nümunə arasında təsir edən qüvvənin xarakterindən asılı olaraq atom-qüvvə mikroskopunun - kontakt, kontaktsız, toxunmaqla kontakt (yarım kontakt) kimi müxtəlif üsulları vardır. Kontakt üsulunun istifadə olunmasında qəbul olunur ki, zond nümunə səthində sürüşür və itələmə qüvvələrinin təsir oblastında yerləşir. Kontaktsız üsulun istifadə olunması zamanı zond səthdən uzaqda və uzaqdan təsir edən cəzbetmə qüvvələrinin təsir oblastında yerləşir. Yarımkontakt iş üsulunda işləyərkən, zond rəqs prosesində periodik olaraq növbə ilə həm cəzbetmə, həm də itələmə oblastında olur.

#### Kontakt iş üsulu

Bu üsulda iş zond və nümunə arasında qarşılıqlı təsir itələmə qüvvələrinin təsir oblastında həyata keçirilir. Bu halda kantilever nümunə istiqamətində əyilmiş olur. Zond nümunə ilə kontaktda olur, bunun nəticəsi olaraq nümunə səthinin zədələnməsi təhlükəsi yarana bilər və zondun tez xarab olmasına və ya sınmasına səbəb olar bilər. Buna görə sərtlik əmsalı  $k = 0,03 \div 1$  N/m kiçik olan kantilever istifadə olunur.



Şəkil 8-2. Kontakt iş üsulunda skanedici atom-qüvvə mikroskopunun sxemi. İşarələnmə: 1 - zond;
2 - kantilever; 3 - skanedici; 4 - lazer;
5 - dörd seksiyalı fotodetektor; 6 - komparator;
7 - yüksək gərginlik gücləndirici blok

Səth və zond arasında təsir edən qüvvələrin ölçülməsi kantileverin tarazlıq vəziyyətindən əyilməsinə görə həyata keçirilir. Atom-qüvvə zond çeviricisi-yaylı kantilever olub sonunda iti uclu zond olan, yüksək həssaslığa malik olmaqla ayrıca atomlar arasında qarşılıqlı təsir qüvvələrini qeyd etməyə imkan verir.

Kantileverin kiçik əyilmələrində zond və nümunə arasında F qarşılıqlı təsir qüvvəsini və zondun yerdəyişməsi z arasında münasibət Hük qanunu ilə təyin olunur: F = -kz, burada k kantileverin sərtlik əmsalıdır.

Səth və zond arasında təsir edən qüvvənin dəyişməsi, zond bərkidilmiş kantileverin tarazlıq vəziyyətindən meyl etməsi baş verir, bu meyletmə yarımkeçirici lazer 4 və dörd seksiyalı fotodioddan ibarət olan xüsusi qeydetmə qurğusunda qeyd olunur(Şəkil 8-2). Kantileverin əyilməsindən alınan əks olunmuş şüa dörd seksiyalı fotodetektorun mərkəzinə nəzərən yerini dəyişmiş olur. Beləliklə kantileverin əyilməsinin qiyməti fotodetektorun yuxarı və aşağı yarım hissəsində işıqlanmanın dəyişməsinə nəzərən təyin oluna bilər.

Komparator 6 qeydə alınmış siqnalı ilkin verilmiş V<sub>dayaq</sub> (zond və nümunə arasındakı qarşılıqlı təsir qüvvəsini xarakterizə edən kəmiyyətlə) müqayisə edərək onun verilmiş qiymətdən meylinə görə korrektə edən V<sub>koor</sub> siqnalını əmələ gətirir. Zondun səthlə qarşılıqlı təsirin qiyməti zondun səthə yaxınlaşması və səthdən uzaqlaşmasi 7 əks əlaqə sisteminin köməyi ilə həyata keçirilir. Əks əlaqə zond çeviricinin vəziyyətini dəyişməklə pyezogətiricini (skanedici ilə) idarə edərək, zond və nümunə arasındakı qarşılıqlı təsir qüvvəsini sabit saxlayır. Skanetmə sahəsinin hər bir nöqtəsində (x,y) Z hündürlükdə siqnalı Z-pyezogətirmə kanalından götürülür.

#### Laterial qüvvə üsulu

Kontakt rejimində səthin relyefindən başqa, skanetmə prosesində zonda təsir edən laterial qüvvələrin qeydiyyatı kanalından istifadə edərək (**Laterial Force Mikroscopy-LFM**) skanetmə ilə nanometr masştabda səthin tribolik xüsusiyyətləri haqqında məlumat almaq olar.

Laterial qüvvə üsulunu istifadə edərkən, səth və onun üzərində sürüşən zond arasındakı sürtünmə qüvvəsi tədqiq olunur. Zond çeviricinin iş prinsipi AQM zond çeviricinin iş prinsipinə oxşar olub, burada relyefin şəklinin alınması fotodetektorun (T-B) yuxarı və aşağı sektorlarının arasındakı fərq siqnalının qeydiyyatı hesabına formalaşır. Laterial qüvvələrin paylanmasının xəritəsini almaq üçün fotodetektorun (L-R) sol və sağ sektorlarının siqnallar fərqinin seçilməsi əsasında olur. Skanetmə prosesində zonda təsir edən nümunə səthi laterial sürtünmə qüvvəsi  $F_{mq} = \mu N$  kimi təyin olunur, burada N-nümunə tərəfindən zonda təsir edən qüvvənin reaksiyası,  $\mu$  - lokal sürtünmə əmsalıdır.

Kantilever şaquli müstəvidə firlanma deformasiyasını hiss edir. Bu sol və sağ fotodetektorların(Şəkil 8-3.) qeyri-balanslaşdırılmasına gətirib çıxarır. Zond nümunə səthinə bilavasitə toxunur.  $\mu$  sürtünmə əmsalı nə qədər böyükdürsə, o qədər də kantileverin gövdə əyilməsi və L-R fərq siqnalı böyük olacaqdır. Beləliklə SZM-də böyük sürtünmə əmsalı olan sahənin şəkli işıqlı olacaq, kiçik olan isə tutqun alınacaqdır. Adətən laterial qüvvələrin ölçülməsi kanalı relyefin tədqiqi ilə eyni zamanda işə başlayır. Fotodetektorun bütün sektorlarından daxil olan siqnallar eyni zamanda qeyd olunur.

Şəkil 8-4-də səthin relyefinin şəkli göstərilmişdir. (a) və (b) sağlam donorun bukal epiteliçit səthdə sürtünmə qüvvələrinin paylanmasının xəritəsi verilmişdir. Bu halda laterial qüvvə üsulu ilə epitelisit hüceyrənin səthinin hamarlılığında bakteriyanın olduğunu aşkar etməyə imkan verir.

#### Qüvvənin modulyasiyası üsulu

Səthin relyefinin qeydə alınması ilə eyni zamanda nanometr masştabda nümunə səthinin mikromöhkəmliyini öyrənmək olar.

Bu üsulda Z pyezogətirməyə(skanedici) şaquli oxu üzrə zondun yerdəyişməsinin və topoqrafiyasının izlənməsinin təmin olunması üçün sabit gərginlikdən əlavə kantileverin məxsusi rezonans tezliyindən çox kiçik olan 5 kHs yaxın tezlikli dəyişən tərkibli gərginlik verilir və deməli zond şaquli ox üzrə 2-20A amplitudla rəqs edir(zond səthi oyadır və zond-səth qarşılıqlı təsiri yaranır).



Şəkil 8-3. Laterial qüvvə çeviricisinin iş sxemi



Şəkil 8-4. Bukal epiteliositin səth hissəsinin relyefi(solda) və sürtünmə qüvvəsinin şəkli (sağda). Sağ şəkildə bakteriya hüceyrələrinin identifikasiyası verilmişdir

Beləliklə, zonda təsir edən dəyişən qüvvə nümunə materialın elastikliyi ilə mütənasib olub, tarazlıq vəziyyətinə nəzərən kantileverin əyilməsinə gətirir və T-B dəyişən tərkibli fərq siqnalının yaranması baş verir. Bu dəyişən tərkib seçilir və Z **modulation** kanalına verilir. Buradan səthin mikromöhkəmliyinin şəkil xəritəsi formalaşdırılır.



Şəkil 8-5. Modulyasiya qüvvəsi üsulu ilə işləyərkən kantileverin əyilməsinin dəyişməsi. a - yumşaq nümunə halında; b - möhkəm nümunə halında

Əgər nümunənin səthi yumşaqdırsa zondun ucu çətinliksiz nümunəyə daxil olur. Bu halda skanedicinin Z-ə nəzərən yerdəyişməsi və zond təqribən eyni amplituda malik olacaq. Bu zaman fotodioddakı fərq siqnalı çox kiçik olacaq (Şəkil 8-5a). Möhkəm nümunə səthini skan edərkən zond nümunə səthinə daxil olarkən müqavimətə rast gələcəkdir və bu zaman kantileverin güclü sürətdə əyilməsi və ya bükülməsi olacaq ki, bu fotodiodda fərq siqnalının artmasına səbəb olacaqdır. Beləliklə, nümunə səthinin möhkəmliyinin dəyişməsi fotodiodda siqnalın amplitudunun dəyişməsinə səbəb olacaq. Böyük amplituda səthin möhkəmliyi uyğun olacaq(işıqlı hissələr), kiçik amplituda daha yumşaq səth uyğundur(tutqun hissələr). Beləliklə möhkəmlik xəritəsinə görə təzadı fərqləndirmək olar. Bu nümunənin təbəqələrinin gətirilmə tərkibinin müxtəlif fazaları ilə şərtlənir (Şəkil 8-6).

Qeyd edək ki, verilmiş üsulda Z üzrə modulyasiya amplitudu çox kiçik olur, belə ki zond itələmə qüvvələrinin təsiri oblastında rəqs edir. Bu nümunə səthinin relyefinin tədqiqi və nümunə səthinin mikromöhkəmliyinin paylanmasının xəritəsini almaq üçün AQM kontakt üsulunu eyni zamanda reallaşdırmağa imkan verir. Şəkil 8-7-də səthin relyefi (a) və nanometr masştabda sağlam donor epitetial yastı hüceyrənin səth hissəsinin möhkəmliyinin paylanma xəritəsi verilmişdir (b).



Şəkil 8-7. Səthin relyefi ( solda ) və bukal epiteliositin səth hissəsinin mikromöhkəmlik xəritəsi( sağda )

#### Yarımkontakt iş üsulu

Bu üsulda iş zond və nümunə arasındakı qarşılıqlı təsir cəzbetmə qüvvələrinin təsir oblastında həyata keçirilir.

Adətən yarımkontakt üsulu üçün I-şəkilli sərtlik əmsalı  $k = 10 \div 100 N/m$  olan kantilever istifadə olunur.

Yarımkontakt üsulunu istifadə edərkən pyezoskanedicinin z seksiyasına dəyişən gərginlik verilir (Şəkil 8-8). Bu kantileverin həndəsi ölçülərinin dəyişməsinə səbəb olur. Dəyişən gərginliyin tezliyi kantileverin məxsusi rəqs tezliyinə bərabər götürülür (adətən 150-250 kHs intervalında qiymətləri dəyişir, rəqs amplitudu isə bir neçə on anqstrem olur). Bunun nəticəsi olaraq kantilever səth üzərində rezonans tezliyi  $\omega_0$  olmaqla rəqs edir:

 $\omega_0 \sim \sqrt{\frac{k}{m}}$ , burada m-zond-kantilever sisteminin kütləsi, k -

qüvvə sabitidir.

Nümunə səthinə zond yaxınlaşarkən kantileverin rəqslərinin xarakteri dəyişmiş olur, zond-nümunə qarşılıqlı təsir qüvvəsinin gradiventinin olması kantileverin rəgsinin rezonans tezlivinin ATX dəvişməsinə səbəb olur. Cəzbetmə güvvələrinin oblastında bu səthdən uzaqda ATX ölçmələrlə müqayisədə (Şəkil 8-8) kantileverin rəqslərinin ATX sola verinin dəvisməsinə səbəb olar. Belə ki, kantileverin məcburi rəqslərinin tezliyi sabit saxlanılır və sərbəst vəziyyətdəki rəqslərin  $\omega_0$  tezliyinə bərabər olur, bu zaman səthə yaxınlasarkən kantileverin sərbəst ucunun rəqslərinin amplitudu azalmış olur. Bu rəqslərin amplitudu optik sistem vasitəsilə gevd olunur və bu fotodetektorun yuxarı və aşağı yarım hissəsinin işıqlanmasının dəyişməsinə nəzərən təyin edilə bilər. Sonra sinxron detektor 7 vasitəsi ilə skanetmə vaxtı kantileverin rəqslərinin amplituduna mütənasib olan V(t) sabit signal secilir. Bu zaman gərginlik generatordan sinxron detektora 7 sinxrosignal verilir və skanedicivə verilən signalın rezonans tezliyinə bərabər tezlikdə kantilever rəqs etmis olur (Səkil 8-9).



Şəkil 8-8. Kantileverin nümunə səthinə yaxınlaşması zamanı rəqslərin tezliyinin dəyişməsi



Şəkil 8-9. Skanedici atom-qüvvə mikroskopunun yarımkontakt üsulunda iş sxemi. 1-zond; 2-kantilever; 3-skanedici; 4-dəyişən gərginlik mənbəyi; 5-lazer; 6-dörd seksiyalı fotodetektor; 7-sinxron detektor; 8-komparator; 9-əks əlaqə elektron dövrəsi

Komparator 8 dövrədə qeydetmə qurğusu ilə qeyd olunan siqnalı ilkin verilmiş  $V_{dayaq}$  (zond-nümunə qarşılıqlı təsir qüvvəsini xarakterizə edən ) müqayisə edərək  $V_{dayaq}$  qiymətindən meyl etməsinə görə  $V_{korr}$  edən siqnalı əmələ gətirir. Zondla səth arasında qarşılıqlı təsirin səviyyəsi əks əlaqə sisteminin 9 köməyi ilə zond çeviricini səthə yaxınlaşdırmaq və səthdən uzaqlaşdırmaqla yerinə yetirilir. Əks əlaqə zondun vəziyyətinin dəyişməsini istifadə edərək, pyezogətirmə idarəedicinin köməyi ilə zond-nümunə qarşılıqlı təsir qüvvəsini sabit saxlayır. Şəklinin hər bir (x, y) nöqtəsində Z hündürlüyü haqqında siqnal Z pyezogətirmə kanalından götürülür.

Bu üsul yüksək dəqiqliklə ayırdetmə imkanı ilə yumşaq və yapışqanlı nümunələrin(polimer, hüceyrə və bioloji molekullar) skan edilməsi üçün idealdır və ya daha möhkəm nümunələrin skan edilməsi zamanı isə zond möhkəm səthlə kontaktda olarkən kütləşməsinə və ya sınmasına səbəb ola bilər.

#### Faza təzadı təsviri üsulu

Tədqiq olunan nümunə səthinin relyefini əks etdirən

zondun rəqs amplitudunun dəyişməsinin qeydiyyatı ilə eyni zamanda, rəqslərin faza dəyişməsini aşkar etmək imkanı mümkündür.

Rəqs prosesində zondun ucu nümunə səthinə toxunur, nəinki o itələmə, həmçinin adqezion, kapillyar və bir sıra başqa qüvvələrin təsirlərinə məruz qalır. Nəticədə zond və nümunə səthinin qarşılıqlı təsiri həm tezliyə, həm də rəqsin fazasına görə sürüşməsi baş verir. Əgər səthin ayrıca hissələri adsorbsiya xüsusiyyətlərinə malikdirsə, onda şəkildə əlavə təzada malik olacaqdır, bu nümunənin materialından asılı olub müxtəlif hissələrdə özünü göstərəcəkdir. Bu zondun rəqs fazasının dəyişməsində özünü göstərər. Rəqsin fazasının aşkar olunması, səthin relyefinin alınması ilə eyni zamanda baş verir, onda amplitud və faza şəkillərini müqayisə etməklə nümunənin faza tərkibi haqqında informasiya əldə etmək olar. Faza tərkibinin şəklindən titanın səthinin məsaməli struktura malik olmasını görmək olar, bu implantantda sümük saplarının yetişdirilməsində zəruridir.

Faza təzadı üsulu geniş sahədə tətbiq olunmasından qiymətli məlumat, bəzi hallarda şəkillərinin qeyri-adi təzadlı materialın xüsusiyyətləri haqqında məlumat əldə etməyə imkan verir. Bu üsul, məsələn bioloji obyektlərin, maqnit və elektrik xarakteristikaları olan nümunələrin tədqiqi üçün istifadə oluna bilər və i. a.

#### SZM şəkillərinə təsir edən faktorlar

#### Zondun həndəsi parametrlərinin ayırdetməyə təsiri

SZM - in hər bir X, Y və Z oxları üzrə maksimal ayırdetmə qabiliyyəti müxtəlif faktorlarla təyin olunur.

Z oxu üzrə ayırdetmə aşağıdakılarla məhdudlanır: -Kantileverin əyilməsini qeyd edən optik sistemin həssaslığı ilə -Nümunə səthinə nəzərən zondun rəqslərinin amplitudu ilə.

XY - müstəvisində maksimal ayırdetmə hər şeydən əvvəl zondun işləmə dəqiqliyi ilə təyin olunur. Ən əsası zondun ucunun həndəsi xarakteristikaları ilə bağlıdır. Atom müstəvi səth-

lərin skan edilməsi zamanı, ayırdetmə zondun ucundakı atomun ölcüləri ilə məhdudlasır (Səkil 8-11). Beləliklə zondun makroskopik forması atom səviyyəsində ayırdetmə üçün təvinedici devildir.



Şəkil 8-10. Titan diş implantantının hissəsinin səthinin relyefi (sağda), faza tərkibinin şəkli (solda)

Relyefin çoxlu detallarının müqayisəli aşkarlığı vaxtı, şəklin keyfiyyəti iynənin həndəsi parametrləri ilə təyin olunur. Kritik olanları bunlardır: zondun sonunun əvrilik radiusu R və zondun hündürlüyünün onun oturacağının diametrinə olan  $\frac{L}{W}$ nisbəti (Şəkil 8-13).

# Zondun xüsusiyyətlərinin təsiri

Atom-güvvə mikroskopunda zond-nümunə garsılıglı təsir güvvəsi elastiki kantileverin əyilməsinə görə ölçülür. Kantileverin ən mühüm xarakteristikaları-güvvə sabiti(sərtlik əmsalı) və rezonans tezlikdir. Qüvvə sabiti zond və nümunə arasında kontaktda olarkən qüvvəni təyin edir və öz növbəsində kantileverin forması və hazırlandığı materialın növü ilə təyin olunur. Kontakt üsulu üçün çox kiçik güvvə sabiti olan çox vumsag kantilever istifadə olunur.

Yarımkontakt iş üsulunda sərt kantilever(qüvvə sabitinin böyük giymətlərində) yumşag kantileverə nəzərən böyük rezonans tezliyinə malikdir. Rezonans tezlik kantileverin ölçülərindən və materialdan asılı olur. AQM üçün istifadə olunan kantileverlərin rezonans tezliyi 15÷500 kHs diapazonda dəyişir.



Tədqiq olunan nümunənin səthi Şəkil 8-11. Axırıncı atomun effekti



Şəkil 8-12. Zondun həndəsi parametrləri



vv radiusunun təsirinin nəticəsinin səth profilinin səklindəki təhrifləri

# Nümunə səthindəki adsorbsiya təbəqəsinin SZM zondla qarşılıqlı təsir qüvvəsinə təsiri

Havada nümunə səthi həmişə adsorbsiya olunmuş atomların nazik təbəqəsi ilə örtülmüş olur. Bu təbəqə sudan və havanın başqa komponentlərindən, həmçinin nümunənin hazırlanması zamanı kontaktda olduğu maddələrin atomlarından, çirklənmələrdən və i.a. ola bilər. Təbəqənin qalınlığı müxtəlif şəraitlərdən məsələn, havanın rütubətindən asılı olaraq  $2\div50$  nm intervalı daxilində dəyişə bilər.

Zondun ucunun adsorbsiya təbəqəsinə toxunarkən kapillyar cəzbetmənin nəticəsində güclü cəzbetmə qüvvənin komponenti yaranmış olur. Kapillyar cəzbetmə effekti həmçinin iynə səthdən uzaqlaşarkən çox güclü hiss olunur. Bu hal da tez-tez kapillyar qüvvələr zondu səthə yaxın yerdə elə möhkəm saxlayır ki, bu zondu nümunədən qoparmaq əvəzinə çox vaxt kantileverin zədələnməsinə səbəb olur(nümunə sanki yapışqanlıdır).

Zondun ucunun forması da zond və adsorbsiya təbəqəsi arasında qarşılıqlı təsirin xarakterinə güclü təsir edir. Kapillyar qarşılıqlı təsir qüvvəsi böyük əyrilik radiusu və  $\frac{L}{w}$  nisbəti ki-

çik olan zondların istifadə olunması zamanı güclü hiss olunur. Əksinə iti uclu və R-əyrilik radiusunun kiçik qiymətləri üçün, zond kapillyar qüvvələrin təsirini az hiss edir, bu adsorbsiya təbəqəsinin kontakt sahəsinin az olmasına və səthdən zondu asanca qoparmağa imkan verir.



Şəkil 8-14. Nümunə səthində zondun adsorbsiya təbəqəsi ilə qarşılıqlı təsiri

# Nümunənin materialının təsiri

Nümunənin materialı zond və nümunə səthi arasındakı

qarşılıqlı təsir qüvvələrinin xarakterinə güclü təsir edir. Belə ki, müxtəlif materiallar müxtəlif adsorbsiya sabitlərinə malikdir və deməli adsorbsiya təbəqəsinin əmələ gəlməsinə meyllilik müxtəlifdir. Bundan əlavə bəzi materiallar statistik elektrik sahəsi yığmağa meyllidir, bu iynə ilə səth arasında qarşılıqlı təsir qüvvəsinə hiss olunacaq dərəcədə təsir edə bilər və AQM ölçmələrin aparılmasını çətinləşdirər.

#### Preparatların hazırlanması və SZM - də tədqiqi

Bu işdə skanedici zond mikroskopunun su mühitlərində mikrobiosenozların tədqiqində istifadə olunması təklif olunur: adı su və distillə edilmiş su.

#### Nümunənin hazırlanması:

Su nümunəsi əvvəlcədən yağı təmiz silinmiş 1-2 həftəlik ekspozisiyalı dibində qoruyucu şüşə yerləşdirilmiş Petri fincanına tökülür. Petri fincanını bağlayıb 17<sup>0</sup>S-dən 20<sup>0</sup>S qədər temperaturda inkubasiya edirlər. Sonra şüşə çıxarılır, təmiz yuyulur (bir neçə dəfə preparat distillə olunmuş su olan stəkana salıb çıxarılır ) və qurudulur.

Sonra preparatın bir neçə hissələrində ümumi skanetmə prosesi aparılır, Suyun mikrobiotları son dərəcədə müxtəlifliyi ilə fərqlənir.

I. Distillə olunmuş su. Şəkil 8-15, Şəkil 8-16-da distillə edilmiş suda 1-2 həftə ərzində inkubasiya zamanı alınmış preparatların ümumi skan edilmiş şəkilləri verilmişdir. Adi suda inkubasiya olunmuş şüşə ilə müqayisəyə görə, qoruyucu şüşə kifayət qədər "təmiz" alınmış, mikroorqanizmlərin lokal yığıl-ması qeyd olunmuşdur.

Bir neçə ümumi skan edilmiş şəkilləri alıb müşahidə edirik ki, distillə olunmuş suda olan preparatlarda 4 növ mikroorqanizmlər müşahidə olunur:

- çubuq formalı yetişmiş mikroorqanizmlər;

- dairə şəkilli zəncirdə yerləşən mikroorqanizmlər;

- düzgün çubuq formalı ayrıca yerləşən hüceyrə;

- spiral formalı dartılmış mikroorqanizmlər.



Şəkil 8-15. Distillə edilmiş suda alınmış preparatın ümumi skan edilmiş şəkli. İnkubasiya - 1 həftəlik

Skanetmə oblastının ölçülərini kiçildib, maraq kəsb edən hər bir mikroorqanizmləri skanedərək(Cədvəl 8-1) bundan sonra **NanoEducator** proqramının alətlərinin köməyi ilə hüceyrələrin ölçüləri təyin edilir:

Distillə olunmuş suda tapılmış mikrobiotlar əsasən bakteriya formasında təsvir olunmuşdur. Bakteriyaların mənsubiyyət qrupunu və formalarını təyin etmək üçün Berci təyinedicisindən istifadə olunmuşdur[30]. Skanedici zond mikroskopun bakteriyaların morfoloji strukturu və onların ölçülərinin dəqiq təyin edilməsi üçün unikal vasitədir. Onların təsnifatını vermək üçün bakteriyaların morfologiyasına(forması və bakteriyaların ölçüləri) əsaslanılır. Bundan əlavə, mikroorqanizmlərin yaşama mühiti və temperatur rejimləri nəzərə alınmışdır(su, adi orqanik birləşmələr və 17<sup>0</sup>S-dən 22<sup>0</sup>S-yə qədər temperatur).

#### Bu kriteriyalar əsasında aşağıdakı nəticələr alınmışdır:

 Çubuqvarı formalı yetişmiş sonu tumurcuq şəkilli olan bakteriya. Formasına görə bu hüceyrələr tumurcuqlu və ya yetişmiş bakteriyalar 13-cü qrupa aiddirlər. Bakteriya hüceyrələrinin ölçüləri və yetişməsinə əsasən, onların miqdarına(çubuqvarı və yaşama mühitinə) görə belə nəticə çıxır ki, tapılmış mikroorqanizmlər Prostecobacter fusiformis növünə daxildir: hüceyrələr vereten və ya fibroid formaya və yetişməsi nəzərə alınmadan 0,5-0,9x2-5 mkm ölçülərə malikdir. Hər bir hüceyrə heç olmasa bir polyar aralıq yaradır. Aralığın diametri 0,1-0,2mkm olub, hüceyrə polyusuna nəzərən yavaşca sıxılır və sonunda qalınlaşma müşahidə olunur.  $\leq 0,1\%$  tərkibli orqanik maddələr mühitdə

yaxşı böyüyürlər. İnkişaf etmə temperaturu  $1^{0}$ S dən  $40^{0}$ S kimidir. Suda, torpaqda və axar sularda rast gəlinir.

Bakteriyanın kifayət qədər maraqlı morfologiyası vardır (Şəkil 8-17).

Daha aydın bakteriya hüceyrələrin səthinin strukturunu tədqiqi üçün, faza təzadının təsviri üsulu tətbiq olunur. Faza təzadı şəkillərindən aydın görünür ki, hüceyrə divarının strukturu bircinsli deyildir.

- 2. Xarakterik dairədə əyilmiş və qapalı, zəncir cisim formasına və diametrinə görə hörülmüş mikroorqanizmlər 3 "hərəkətsiz qrammənfilik əyilmiş bakteriyalar" qrupuna aiddirlər. Berci təyin edicisinə görə yaşama mühitini nəzərə almaqla bu bakteriyalar Ancylobacter equaticus və ya Runella slithyfor-mis görünüşlü qrupa aiddirlər. Daha dəqiq aydınlaşdırmaq üçün əlavə üsulların, məsələn biokimya testlərin tətbiq olunması tələb olunur.
- Tədqiqatlar nəticəsində, su mühitlərdə unikal mikroorqanizmlər (Cədvəl 8-1: 1, 2) olduğu aşkar olunmuş, həmçinin bakteriya kimi digər yaşama mühitlərində, məsələn insanın normal mikroflorasına daxil olan və ya torpaq saprofitlərdə (Cədvəl 8-1: 3) rast gəlindiyi aşkarlanmışdır. Maraqlı misal olan (3) faza təzadı üsulunu istifadə edərkən xüsusi ilə dəqiq aydınlaşdırılmış düzgün çubuqvarı formalı sonlarında qidalanma maddəsi olan hüceyrələr aşkarlanmışdır (Şəkil 8-19).

Su mühiti üçün bakteriya unikal olmayıb və onların ölçüləri Berci təyin edicisinin siyahısında əksər qruplara uyğun gəlir, bakteriyaların qrup, say əlaməti və görünüş klassifikasiyası çox saylı əlavə tədqiqatların aparılmasını tələb edir(məsələn, Grama görə rəngləmə, biokimyəvi yoxlamalar və i.a.).

				Canval 0-1
№	SZM şəkillər	•	Forma	Mikroorqa-
				nizmin
				orta ölçüsü
1			Çubuqşəkilli yetişmiş asanca əyilən, sonunda tumurcuq hamar daralan mikroorqanizmlər	Bütün hüceyrələr 0,8x7,5 mkm Diametri 450 mkn
2		Win 28 An	Dairəşəkilli zəncirdə yerləşən mikroorqanizmlər	1,3dən 1,6 mkn
3			Ayrıca yerləşən düzgün cubuqvari formalı hüceyrə	0,8x2 mkn
		Mar in in	Spirala oxşar formalı dartılmış mikroorqanizmlər	0,5x13mkn



Şəkil 8-16. Distillə edilmiş sudan alınmış preparatların ümumi skanedilmiş şəkli. İnkubasiya - 2 həftəlik



Şəkil 8-17. Prostecobacter fusiformis səthinin relyefi



Şəkil 8-18. Faza təzadının təsviri metodunun istifadə edərkən aşkarlanmış hüceyrə divarının morfoloji xüsusiyyəti



Şəkil 8-19. Bakteriya hüceyrələrinin faza təzadı şəkilləri. Polyuslarda qidalanma maddəsinin çökməsinin aydın görünməsi

- 4. Gərilmiş spiral görünüşlü formalı mikroorganizmlər «spiroxet» grupuna aiddir. Spiral guruluslu hüceyrə coxtəbəgəli xarici membrana xidmət edir. Bu membran protoplazmatik silindr-sitoplazmatik membran və hücevrə divarı ilə əhatə olunan nüvə örtüklü sitoplazmanı örtür. Spiral bağlanmış protoplazma silindr, telsəkilli ayaqlı periplazma ilə üz Telsəkilli hissələr cəkilmisdir. avaqlı hücevrənin hərəkətetmə komponentinə xidmət edir. Başqa bakteriyaların telşəkilli ayaqlı hissələrdən fərqli periplazma telşəkilli avaqlı spiroxet hüceyrə ilə üz çəkilmişdir, membran ilə əhatə olunan və tamamilə hüceyrə daxilində yerləşmişdir. Tapılmış mikroorganizmlər hüceyrələrin forması və ölcülərinə görə onları Spirocheta plicatilis-spiral səkilli hüceyrələrə aid olub, diametri 0,2-0,75 mkm və uzunluğu 5-250 mkm olub su mühitlərində yaşayır.
- II. **Adi su.** Şəkil 8-21 adi suda 1-2 həftəlik inkubasiyasından alınmış preparatın ümumi skan edilmiş şəkli verilmişdir:

Qeyd edək ki, distillə olunmuş sudan alınmış şüşə preparatla müqayisəyə görə alımış şəkillərdə bircinsli çirklənmələr alınmışdır. Sarı rəngli böyük həcmdə maddə toplantısı müşahidə olunmuşdur(optik mikroskopda müşahidələr zamanı). Skan edərkən bu toplanmış maddələr özlülük və ya yapışqanlılıq xüsusiyyətinə malik olduğundan onlar zonda yapışaraq tədqiqata mane olur (Şəkil 8-22). Bunlar morfoloji olaraq düzgün forma əmələ gətirmirlər. Bu çirklənmələr həm orqanik, həm də qeyri orqanik xarakterlidir(Qeyri-orqanik maddələrdəki mikrohissəciklər: dəmir oksidi, qum və ya digər qeyri-orqanik çirklər).

"Yapışqanlı" yığıntıda 2 növ bakteriya hüceyrələri aşkar edilmişdir:

Cədvəl 8-2 təsvir olunmuş bakteriya hüceyrələrinin böyük miqdarda onlarla çubuqşəkilli formalı xarakterik morfologiyaları vardır. Fərz etmək olar ki, bu bakteriyalar kopsulu olan bakteriyalar tipinə aiddir. Verilmiş tip hüceyrələri aydınlaşdırmaq üçün əlavə tədqiqatların aparılması tələb olunur(Qrama görə rəngləmə, biokimyəvi əlamətlərin kompleks tədqiqi və i.a.). Bunlar bu laboratoriya işi daxilində deyildir.

Sərbəst olaraq tələbələrin hazırladıqları, adi su, akvarium suyu və ya başqa müxtəlif mühitlərlə müqayisədə nümunənin mikroflorasını öyrənmək üçün qaynadılmış sudan istifadə etmək olar. Məsələn, müxtəlif duz məhlullarının qoruyucu şüşədə qurudulması nəticəsində alınmış kristalı tədqiq etmək olar (Şəkil 8-23).



Şəkil 8-20. AQM spirochet plicatilis şəkili. Hörülmə periodu 400nm



Şəkil 8-21. Adi sudan alınmış preparatların ümumi skanedilməsinin şəkli. İnkubasiya - 1 həftəlik



Şəkil 8-22. Adi sudakı mikrohissəciklər çirki

#### SZM şəkillərinin alınması

NanoEducator proqramını çağırdıqdan sonra kompüterin ekranında baş pəncərə təsvir olunacaq(Şəkil 8-19). File menyusundan istifadə edərək **Open** və ya **New** və yaxud alətlər panelində uyğun düymələri seçməklə işə başlamaq olar. File  $\Rightarrow$  New komandasının seçilməsi SZM - də ölçmələrə keçməyi göstərir. File $\Rightarrow$  **Open** komandasını seçmək isə əvvəllər alınmış şəkillərə baxılması və işlədilməsi başa düşülür. Proqram ölçmələrlə yanaşı həmçinin verilənlərin baxılmasına və həmdə işlədilməsinə imkan verir. File  $\Rightarrow$  New komandasının icra olunmasından sonra ekranda dialoq pəncərəsi yaranmış olur, işçi qovluğu seçmək və ya yaratmaq imkanı yaranır və cari ölçmələrin nəticələrinin qovluğa yazılacağı nəzərdə tutulur. Ölçmə prosesini apararkən bütün alınmış verilənlər ardıcıl olaraq razılaşmaya görə ScanData+i.spm adlı fayla yazılacaq, burada i-indeksi proqram işə düşərkən sıfır qiymətini alır və hər bir yeni ölçmələr üçün qiyməti artmış olur. ScanData+i.spm faylları işçi qovluqda yerləşdirilir. Hər yeni ölçmələrə başlamazdan əvvəl qərarlaşdırılır. Ölçmələr aparılan vaxtı başqa işçi qovluğun seçilməsi imkanı mövcuddur. Bunun üçün proqramın baş pəncərəsinin alətlər panelində yerləşən  $\mathbf{E}$  düyməsini sıxmaq lazımdır.

				0041010 20
№	SZM		Forma	Mikroorqanizmin orta ölçüsü
1		93 w 10 6m	Uzun gərilmiş çubuqlar	0,5 x 3 mkm
2		22) xe 138 Om	Sonları bağlanmış çubuq şəkilli kiçik hamar.	0,6 x 1,6 mkm

Cauvai 0-2	
------------	--

Skanedici zond mikroskopunun köməyi ilə suyun mikroflorasının öyrənilməsi



Şəkil 8-23. NaCl damcısının qoruyucu şüşədə qurumasından alınan kristal



Şəkil 8-19. NanoEducator proqramının baş pəncərəsi

Skanetmə pəncərəsində Save Experiment düyməsini sıxmaqla cari ölçmələrinin nəticələrini saxlamaq olar, yaranan dialoq pəncərəsində qovluğu seçmək və faylın adını göstərmək lazımdır, bu zaman ScanData+i.spm faylı ölçmələr aparılan proses vaxtı müvəqqəti fayl olub sizin göstərdiyiniz fayl adına dəyişəcək. Ölçmələrə başlamazdan əvvəl fayl seçdiyiniz işçi qovluqda saxlanılacaq. Əgər ölçmələrin nəticələri saxlanılmazsa onda yenidən proqramı işlədərkən ScanData+i.spm müvəqqəti fayla yazılmış nəticələr ardıcıl olaraq yenidən yazılacaq(Əgər işçi qovluq dəyişməyibdirsə) proqramı bağlayarkən və yenidən işlədərkən işçi qovluqda ölçmələrin nəticələri olan müvəqqəti faylların mövcudluğu haqqında xəbərdaredici məlumat verilir. ScanData standart adını dəyişmək olar. Bunu işçi qovluğun seçilməsi pəncərəsində etmək olar. İsci qovluğun seçilməsi pəncərəsi programın baş pəncərəsinin alətlər panelində yerləşən 🖪 düyməsini sıxmaq-SPM File Explorer pancarasinda la həvata kecirilir. ölçmələrin nəticəsini saxlamaq olar. Lazımı faylları növbə ilə secərək secilmis govlugda onları saxlamaq lazımdır. NanoEducator cihazı ilə alınmış nəticələri ASCII formatına çevirmək olar. Bunu NT MDT istifadə olunan Nova və başqa programlarla etmək olar. Skan edilmiş şəkillər həmçinin onların kəsikləri olan verilənləri ASCII formatına xaric edilə bilər. Verilənləri ASCII formatına xaric etmək ücün programın baş pəncərəsindəki alətlər panelində yerləşmiş Export düyməsini  $\square$  sıxmalı və ya File menyusunun Export  $\rightarrow$ ASCII reji-mini secmək lazımdır.

Dialoq pəncərəsini bağladıqdan sonra ekranda cihazın idarə olunması paneli görünür (Şəkil 8-20). Cihazın idarə olunması panelinin sol hissəsində SZM - in konfiqurasiyasını seçmək üçün düymələr yerləşir.

**SFM** -skanedici qüvvə mikroskopu (SQM)

**STM** -skanedici tunel mikroskopu (STM)



Şəkil 8-20. Cihazın idarəetmə paneli

SQM ölçmələrinə hazırlıq aşağıdakı əməliyyatların yerinə yetirilməsindən ibarətdir:

#### Nümunənin yerinə qoyulması

Nümunəni qoymazdan əvvəl zondun zədələnməməsi üçün zond çeviricisini çıxarmalı.

Nümunənin bərkidilməsinin iki üsuluna baxılır:

- maqnit üzərində(bu halda nümunə maqnit altlıq üzərinə bərkidilməlidir);

-ikitərəfli yapışqanlı lent vasitəsilə metal üzərində nümunə yerləşdirilməlidir.

İkitərəfli lentdə olan nümunəni qoymaq üçün dirəkdən saxlayıcını burmaqla açmaq (skanedicini zədələməmək üçün), sonra isə dayağa qədər onu yavaşca bağlamaq lazımdır. Maqnit bərkidilmə halında, nümunənin dəyişdirilməsi altlığı açmadan və ya bağlamadan həyata keçirilir:

#### Zond çeviricisinin yerinə qoyulması

Zond çeviricisinin yerinə qoyulması həmişə nümunənin yerinə qoyulmasından sonra yerinə yetirilməlidir. Çevirici 1 əl ilə gətirmə vinti ilə saat əqrəbinin istiqamətində firlatmaqla yuxarı vəziyyətə gətirilir (Şəkil 8-21). Ölçü başlığının qapağındakı 2 zond çeviricisinin vintini boşaldıb, zondu saxlayıcının yuvasına qoymalı və qeydedici vinti saat əqrəbi istiqamətində yüngülcə bərkitmək lazımdır (Şəkil 8-21).



Şəkil 8-21. Zond çeviricisinin yerinə qoyulması

# Skanetmənin yerinin seçilməsi

Nümunə üzərində tədqiq olunan yerin seçilməsi üçün

cihazın aşağı hissəsində yerləşmiş iki koordinatlı stoldakı yerdəyişmə vintlərindən istifadə olunur.

# Əvvəlcədən zondun nümunəyə yaxınlaşdırılması

Hər bir ölçmə üçün zondun qabaqcadan yaxınlaşdırılması əməliyyatı zəruri deyil. Onun zəruriliyi nümunə və zond arasındakı məsafənin qiymətindən asılı olaraq yerinə yetirilir. Əgər zondun ucu ilə nümunə səthi arasındakı məsafə 0,5-1mmdən böyükdürsə, onda zondun nümunə səthinə yaxınlaşdırılması əməliyyatının aparılması məqsədə uyğundur. Zondla nümunə arasındakı məsafə böyük olarsa zondun nümunəyə avtomatik yaxınlaşması prosesinə çox vaxt tələb olunacaqdır.

Zondu aşağıya salmaq üçün əl ilə gətirmə vintindən istifadə edilir. Bu zaman zond və nümunə səthi arasındakı məsafəyə vizual olaraq lupa vasitəsi ilə nəzarət etmək lazımdır.

# Rezonans əyrisinin qurulması və işçi tezliyin müəyyən edilməsi

Hər bir təcrübəni aparmazdan əvvəl bu əməliyyatın yerinə yetirilməsi zəruridir və bunu etmədən gələcək ölçmələrin mərhələlərinə keçid bağlıdır. Bundan sonra ölçmə prosesi zamanı elə vəziyyət yaranır ki, bu əməliyyatın təkrar yerinə yetirilməsi tələb olunur (məsələn, kontakt itərkən).

Rezonans axtarışı **ADJUST⇒RESONANCE** əmri ilə yerinə yetirilir. Bu əməliyyatın yerinə yetirilməsi deyərkən, generator tərəfindən verilən məcburi rəqslərin tezlikləri dəyişərkən, zondun rəqs amplitudunun ölçülməsi nəzərdə tutulur. Bunun üçün **Run** düyməsini sıxmalı.

Avtomatik rejimində zondun rəqs amplitudunun müşahidə olunan maksimal qiymətinə bərabər generatorun tezliyi avtomatik təyin olunur. Verilmiş tezlik diapazonunda zondun rəqs amplitudunun dəyişməsini göstərən qrafikdən rezonans pikinin formasını müşahidə etməyə imkan verir(Şəkil 8-22a). Əgər rezonans piki aydın ifadə olunmayıbdırsa və ya rezonans tezliyində amplitud kiçikdirsə(1V aşağı), onda ölçmələri aparmaq üçün parametrləri dəyişmək zəruridir və rezonans tezliyini təkrar təyin etmək lazımdır.



Şəkil 8-22. Rezonansın axtarışı rejimi pəncərəsi və işçi tezliyin təyini: a) - avtomatik rejim; b) - əl rejimi

Bunun üçün **Manual** rejimi istifadə olunur. Bu rejimi seçərkən **Frequency Scaning** pəncərəsində əlavə panel yaranır (Şəkil 8-22 b) və aşağıdakı parametrləri korrektə etməyə imkan verir:

-Generator tərəfindən verilən rəqs amplitudu(**Oscillation Amplitude**). Bu kəmiyyətin qiymətinin minimal verilməsi təklif olunur (sıfıra kimi də olar) və 50 mv böyük olmasın.

-Amplitudu gücləndirən əmsal(**AM Gain**). Zondun rəqs amplitudunun kifayət qədər böyük olmayan qiymətlərində(<1V) bu əmsalın qiymətinin artırılması məsləhətdir(təklif olunur). Rezonansın axtarışına başlamaq üçün **Run** düyməsini sıxmaq lazımdır.

**Manual** rejimi mışın köməyi ilə seçilmiş tezliyi qrafikdə yaşıl kursorun yerini dəyişməklə etmək olar, həmçinin seçilmiş tezliyin kiçik qiymətlərinin diapazonunda rəqslərin amplitudunun dəyişmə xarakteri nəzərə alınır(bunun üçün **Manual Regime Fine** vəziyyətini seçərək **Run** düyməsini sıxmaq lazımdır).

#### Qarşılıqlı təsirin alınması

Qarşılıqlı təsirin alınması avtomatik gətirmə mexanizminin köməyi ilə zond və nümunə yaxınlaşmasının idarəetmə prosedurası ilə yerinə yetirilir. Cihazın idarəetmə panelindəki

#### LANDING

düyməsini sıxmaqla bu proseduranı çağırmaq olar. SQM-lə işləyərkən rezonans tezliyin axtarışı və qurulması əməliyyatından sonra bu düyməyə imkan yaranır. Scaning Force Microscopy, Landing (Şəkil 8-23) pəncərə-sində zondun yaxınlaşmasını idarə edən elementlər yerləşir, həmçinin proseduranın yerinə yetirilmə gedişini analiz etməyə imkan verən idikasiya parametrləri vardır.



#### Şəkil 8-23. Qarşılıqlı təsirin alınması rejiminin pəncərəsi

**Landing** pəncərəsi istifadəçiyə aşağıdakı kəmiyyətləri müşahidə etməyə imkan verir:

- Z oxu üzrə skanedicinin maksimal mümkün uzaqlaşmasını (yuxarıya qalxması) (**Scaner Protraction**) vahid qəbul olunmuşdur. Skanedicinin qalxmasının cari vəziyyəti uyğun sol indikatorun dolması səviyyəsinin rəngi ilə xarakterizə olunur: yaşıl rəng-işçi zona, göy rəng-iş zonasından kənar, qırmızı rəng -skanedici nümunə səthinə çox yaxınlaşmışdır və bu zondun deformasiyasına(zədələnməsinə) gətirib çıxarar. Sonuncu halda proqram xəbərdaredici səs verir.

- Qarşılıqlı təsir qüvvəsinin olmamasına uyğun olaraq zondun rəqs amplitudu(**Probe Oscillation Amplitude**) vahid qəbul edilir. Zondun rəqs amplitudının qiyməti sağ indikatorda çəhrayı rənglə dolması səviyyəsi ilə göstərilir. **Probe Oscillation**  Amplitude indikatorundakı üfüqi nişan skanedicinin vəziyyətinin analiz edilməsi və onun avtomatik işçi vəziyyətinə çıxmasını göstərir.

-Verilmiş istiqamətdə (**Probe Moving**) gedilmiş (**Steps**) addımların sayıdır: **Landing**-yaxınlaşma, **Rising**-uzaqlaşma. Zondun aşağı salınması prosesinə başlamazdan əvvəl zəruridir:

1. **Prove Moving** elementində **Landing** (yaxınlaşma) imkanının seçilməsinə əmin olmalı.

2. Yaxınlaşma parametrlərinin düzgün verilməsini yoxlamaq:

- Əks əlaqə dövrəsində **Feed Back Loop Gain -** gücləndirmə əmsalı 3 qiymətinə bərabər götürülür.

- Set Interaction düyməsini sıxaraq və Set Interaction pəncərəsində Amplitude Suppression (Şəkil 8-24) parametrinin qiyməti 0,3 bərabər olmasını yoxlamaq.

3. RUN düyməsini sıxmaq.

**Steps** indikatoru keçilmiş addımları hesablamağa başlayır. Qarşılıqlı təsirin əmələ gəlməsindən sonra ekranda **Landing done** məlumatı yaranır.

Zondu əks əlaqədən çıxarmaq, zond və nümunə arasındakı məsafənin artırılması üçün zondun uzaqlaşması rejimindən istifadə olunur (**Probe Moving: Rising**). Uzaqlaşma əməliyyatının yerinə yetirilməsi üçün **Probe Moving: Rising** hərəkət istiqamətini seçmək zəruridir və **RUN** düyməsini sıxmalı.

#### Skanetmə

Yaxınlaşma (Landing) prosesinin yerinə yetirilməsindən sonra və qarşılıqlı təsirin əmələ gəlməsindən sonra skanetmə mümkün olur (cihazın idarə olunması pəncərəsində

düyməsi). Bu düyməni sıxaraq(Şəkil 8-25 də skanetmə pəncərəsinin şəkli verilmişdir) istifadəçi bilavasitə ölçmələrin aparılmasına və ölçmələrin nəticələrinin alınmasına başlayır.

Skanetmə rejimində skanetmənin parametrlərinin daxil edilməsi zəruridir. Bu parametrlər **Scanning** pəncərəsinin yuxarı sağ hissəsində qruplaşdırılıbdır.

<b>Oscillati</b>	on	Amplitude
mplitud	e Max	Suppression
	-	
mV	2	0.30
iii v	-	
	1	
	- 20	
	2	
	Hin Min	Spectroscopy
	Interaction Powe	er

Şəkil 8-24. Zond və nümunə qarşılıqlı təsirinin kəmiyyətlərinin verilməsi pəncərəsi

Proqramı birinci dəfə işlədərkən bu kəmiyyətlərin qiymətləri razılaşmaya görə qəbul olunur:

Skanetmə sahəsi Oxlar üzrə ölçmə nöqtələrin sayı Skanetmenin sürəti Skanetmənin yolu

```
Scan Area (Xnm*Ynm): 5000 * 5000;
```

```
X, Y: NX = 100, NY = 100;
Velocity = 1000 nm/s;
Path skanetmənin istiqamətini
müəyyənləşdirir. Proqram sürətli
skanetmənin ox istiqamətini
seçməyə imkan verir(X və Y).
Proqramla işə başlayan zaman
Path =X+ qəbul olunur.
```

Skanetmə parametrlərini verdikden sonra, daxil edilmiş parametrlərin qəbul olunması üçün **Apply** düyməsini və skanetməyə başlamaq üçün **Run** düyməsini sıxmaq lazımdır.

Cari ölçmələrin nəticələrinin saxlanması üçün skanetmə pəncərəsində **Save Experiment** düyməsini sıxmaq lazımdır və bu zaman görünən dialoq pəncərəsində qovluğu seçməli və faylın adını göstərməli.

# 8.3. Metodik göstərişlər

NanoEducator skanedici zond mikroskopunda işləməyə

# başlamazdan əvvəl cihazdan istifadə qaydalarını öyrənmək zəruridir[7].



Şəkil 8-25. SQM skanetmə və nəticələrinin təsviri prosesinin idarə olunmasi pəncərəsi

# 8.4. Tapşırıq

- 1. Sizi maraqlandıran mühit seçərək və müstəqil bioloji nümunələri SZM-də tədqiq etmək üçün hazırlayın.
- Təcrübədə NanoEducator cihazının ümumi konstruksiyasını öyrənin və NanoEducator cihazın idarə olunması proqramı ilə tanış olun.
- 3. NanoEducator optik sistemindən istifadə edərək, nümunə

səthinin maraqlandıran hissələrini seçib SZM-də bir neçə ümumi skanetmənin şəkillərini almalı.

- 4. Sizi maraqlandıran mikroorqanizmlər və ya sadə orqanizmləri seçərək, faza təzadı üsulunu tətbiq etməklə səthin skanedilməsini aparın.
- Alınmış şəkillərin işlənilməsi və analizini aparıb, alınmış sadə və ya böyümüş bakteriyaların aydınlaşdırılmasına çalışın.

# 8.5. Yoxlama sualları

- 1. SZM-in əsas müxtəlifliyini deyin.
- 2. AQM əsas iş üsullarını və onların təyinatını təsvir edin.
- 3. SZM şəkillərinə təsir edən faktorları deyin.
- 4. Faza təzadı ölçmələri üsulu nə üçün istifadə olunur?
- 5. Bioloji obyektlərin SZM tədqiqatları hansı imkanlar verir?