

El microscopio de fuerza atómica: métodos y aplicaciones

Enrique A. López¹ & Santiago D. Solares²

The George Washington University, Department of Mechanical and Aerospace Engineering, 801 22nd Street, N.W., Washington, DC 20052, USA

¹Licenciado en Ingeniería Química, UVG, 2009; BS, UVG; MSc Chem Eng, Kyung Hee University (South Korea); PhD candidate, George Washington University.

quiquealej@gmail.com

²Licenciado en Ingeniería Química, UVG, 1995; BS, UVG; MSc Industrial Eng, Miami University; MSc Chem Eng, CalTech, PhD Chem Eng, CalTech; Associate Professor, George Washington University.

santiago.solares@gmail.com

RESUMEN: Desde su invención el microscopio de fuerza atómica (AFM) se ha convertido en una herramienta básica en el estudio de la materia a micro y nano escala. A diferencia de otras técnicas de obtención de imágenes, no utiliza ondas electromagnéticas ni haces de partículas, ni está restringida su aplicación al estudio de muestras conductoras. Se puede utilizar en condiciones ambientales en aire o líquidos y también en vacío. Su principio de operación es sorprendentemente sencillo, donde básicamente se estudia la deflexión de una sonda (constituida por una punta finísima adjunta a una micropalanca) mientras ésta interactúa con la superficie de la muestra. Como consecuencia de esa interacción, una imagen tridimensional de la topografía de la muestra o de las fuerzas entre la sonda y la superficie puede ser generada. El AFM ha sido utilizado para estudiar gran variedad de materiales desde muestras inorgánicas rígidas hasta muestras biológicas blandas. En sus inicios el AFM fue utilizado en contacto permanente con la muestra, lo cual impuso inconvenientes como rápido desgaste de la sonda y daño ocasional de la muestra, pero esto se ha superado con técnicas dinámicas. Este artículo tiene como objetivo revisar los métodos comunes de AFM, así como sus aplicaciones.

PALABRAS CLAVE: microscopio de fuerza atómica, nano escala, sonda, micropalanca.

As a result of this interaction, a three dimensional image of the topography or the tip-sample forces can be generated. The AFM has been used to study a wide variety of materials, ranging from stiff inorganic samples to soft biological samples. In its early stages the AFM was used in permanent contact with the sample, which brought about drawbacks, such as rapid probe wear and often sample damage, but these obstacles have been overcome with the development of dynamic techniques. The objective of this article is to review common AFM methods and applications.

KEYWORDS: atomic force microscope, nanoscale, probe, microcantilever.

Introducción del AFM y modo de funcionamiento

El microscopio de fuerza atómica (AFM) es hoy en día una herramienta estándar de caracterización de muestras a escala atómica. Desde su invención en 1986 por Binnig y colaboradores [1], el AFM ha despertado el interés por parte de industria y academia, y es utilizado rutinariamente como herramienta de caracterización a nano escala. Además ha sido y continúa siendo estudiado por varios grupos quienes tratan de comprender, explorar y mejorar sus capacidades.

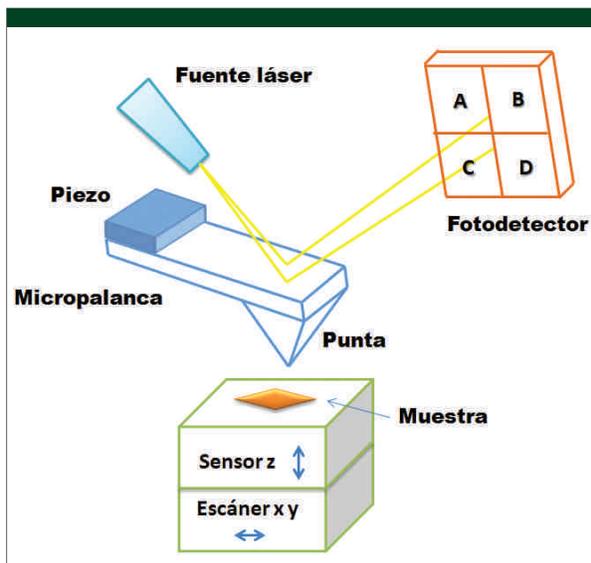
El principio de funcionamiento de un AFM es sorprendentemente sencillo. De hecho es el mismo principio de funcionamiento que nos permite determinar nuestro peso en algunas básculas de resorte. Un resorte con una constante elástica conocida es comprimido por una fuerza arbitraria de magnitud F . La compresión Δz del resorte (que tiene una constante elástica k_z) es una medida directa de la fuerza ejercida, la cual en el régimen de deformación elástica lineal obedece la ley de Hooke:

$$\bar{F} = k_z \Delta \bar{z}$$

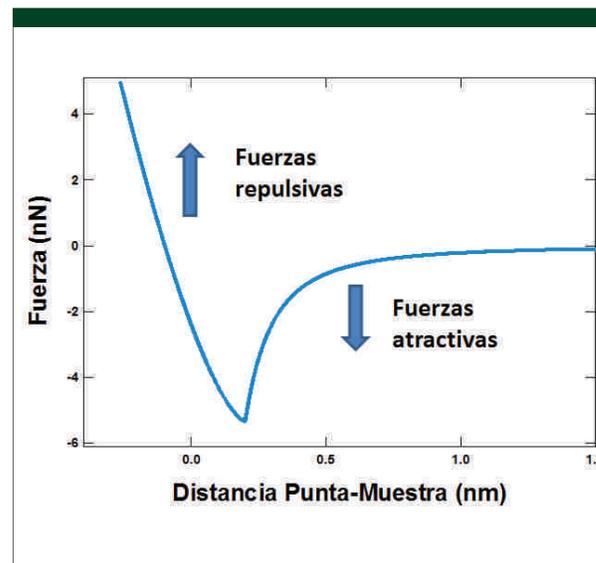
Ecuación 1

The atomic force microscope: methods and applications

ABSTRACT: Since its invention, the atomic force microscope (AFM) has become a basic tool for the study of matter at the micro- and nanoscale. Unlike other imaging techniques, it doesn't use electromagnetic waves or particle beams, and its application is not restricted to the study of conductive samples. It can be used in ambient air or liquids, and also in vacuum. Its working principle is surprisingly simple, whereby the deflection of a probe (comprised by a very sharp tip attached to a cantilever beam) is tracked while it is interacting with the sample surface.



Gráfica 1. Componentes de un microscopio de fuerza atómica.



Gráfica 2. Curva típica de fuerza-distancia (Curva F-D)

La única diferencia entre el resorte de la báscula y el “resorte” utilizado en el AFM es la sensibilidad de la medición. El “resorte” utilizado en el AFM es una micropalanca flexible que típicamente posee una rigidez de 0.01 N/m a 50 N/m [2]. Si una punta muy afilada (con una curvatura de unos pocos nanómetros de diámetro) se adjunta a la micropalanca, es posible medir la fuerza de interacción entre la punta y la muestra a través de la flexión de dicha micropalanca.

En consecuencia, la detección precisa de la flexión de la micropalanca es la característica clave de un AFM. Los AFMs contemporáneos cuentan con un sistema de deflexión de haz de láser con el que es posible medir flexiones de la micropalanca en el rango de 0.1 Angstrom a unos pocos micrómetros. Esto corresponde a una sensibilidad de fuerza de 10^{-13} N a 10^{-5} N.

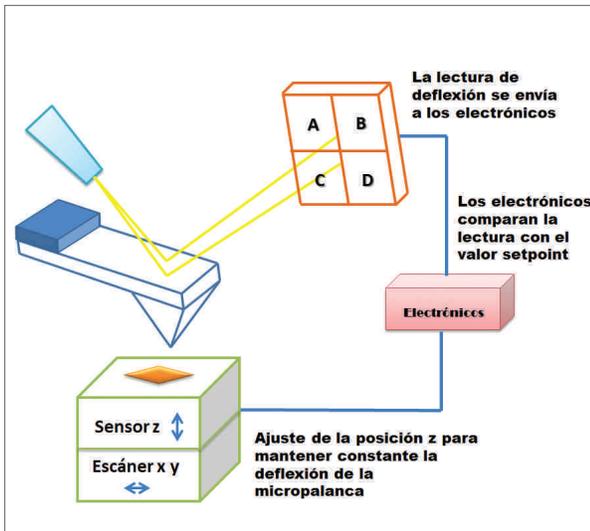
La Gráfica 1 muestra el principio de funcionamiento y los componentes principales de un AFM. La micropalanca (cantiléver) con la punta (tip) adjunta constituyen la sonda que será la encargada de interactuar con la muestra. Por encima de la sonda se encuentra la fuente del rayo láser que apunta hacia la parte trasera de la micropalanca. El rayo láser reflejado es detectado por un fotodiodo seccionado. Usualmente se utiliza un diodo de cuatro cuadrantes para detectar los movimientos de flexión y torsión de la micropalanca. Cuando la micropalanca está en equilibrio el punto láser reflejado se ajusta para que las secciones superiores e inferiores proporcionen la misma intensidad. Si la micropalanca se dobla hacia arriba o hacia abajo, el punto láser y la señal de diferencia entre la sección superior e inferior es una medida de la flexión.

La Gráfica 1 muestra el fotodiodo con sus cuatro cuadrantes (A, B, C, D). La señal $(A+B)-(C+D)$ es una medida de la flexión, mientras la señal $(A+C)-(B+D)$ es una medida de la torsión de la micropalanca. La Gráfica 1 también muestra el escáner sobre

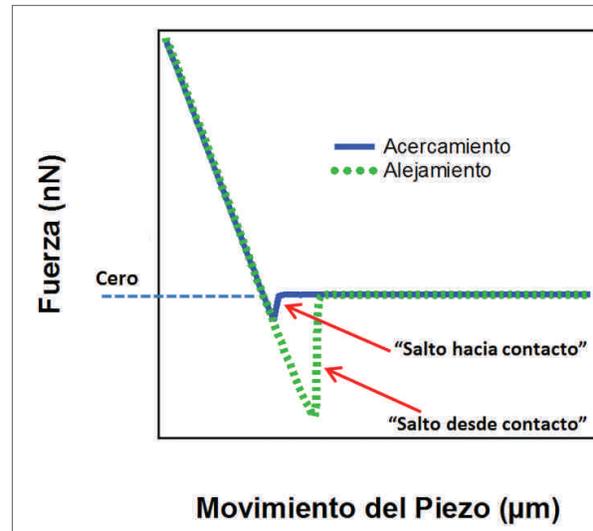
el que descansa la muestra. El escáner está conectado a un sistema de retroalimentación y responderá con movimientos “en los ejes x, y, z”. Los movimientos “en los ejes x, y” del escáner corresponden a movimientos a lo largo del área superficial de la muestra sobre la cual la sonda entra en contacto. El movimiento “en el eje z” responde al sistema de retroalimentación según el modo de toma de imágenes que se esté utilizando (en las siguientes secciones se discute más acerca de este aspecto).

La naturaleza del AFM en la que una sonda entra en contacto físico con la muestra, hace de este instrumento una herramienta muy poderosa, puesto que además de ser capaz de realizar imágenes de la muestra, es capaz de medir fuerzas de interacción. Esta última característica es la que lo hace tan particular y diferente cuando se le compara con otras técnicas de obtención de imágenes a escala nanométrica (1×10^{-9} m) incluyendo su predecesor, el microscopio de efecto túnel (STM). A este tipo de experimento en que se miden las fuerzas se le conoce como espectroscopía de fuerzas.

Debido al pequeño diámetro de la punta, la sonda que interactúa con la muestra es sensible a varios tipos de fuerza (ver Gráfica 2). En su viaje hacia la superficie la micropalanca experimenta fuerzas atractivas, percibiendo al inicio fuerzas de largo alcance, principalmente atribuidas a las fuerzas de van der Waals. Luego al disminuir la distancia entre la punta y la superficie, la sonda inicia a experimentar fuerzas químicas de corto alcance específicas a la relación entre la naturaleza química de los átomos de la superficie y la muestra (fuerzas de corto alcance). A esta fuerza química también se le añaden las fuerzas de van der Waals, las fuerzas capilares, fuerzas electrostáticas y magnéticas. Cuando la distancia entre la punta y la muestra sigue disminuyendo la punta alcanza un punto donde empieza a percibir fuerzas de repulsión de Pauli. Estas fuerzas de repulsión se explican con el principio de exclusión de Pauli que prohíbe que las nubes



Gráfica 3. Arreglo experimental del AFM en modo contacto.



Gráfica 4. Curva de fuerza distancia experimental obtenida en modo contacto (Curva FD).

cargadas de dos electrones que tienen los mismos números cuánticos posean un traslape significativo. Este tipo de fuerzas repulsivas son las más importantes cuando se realizan experimentos en modo convencional de contacto [2].

Métodos de funcionamiento del AFM

El AFM puede funcionar en distintos esquemas o arreglos experimentales. Los métodos de funcionamiento del AFM se dividen básicamente en dos grupos: modos de contacto continuo y modos dinámicos. Los modos de contacto continuo fueron los primeros utilizados en los años tempranos del AFM y su utilización apenas insinuaba la resolución nanométrica de la que el instrumento era capaz. Sin embargo pocos años después fue propuesta la idea de tomar imágenes haciendo vibrar la sonda con un movimiento oscilatorio [3]. Desde entonces han surgido una variada cantidad de métodos [4-8], ofreciendo cada uno sus propias ventajas y limitaciones. El método dinámico de más rutinario uso es sin duda el método de contacto intermitente o modulación de amplitud (AM-AFM). Debido a su amplio uso y su relativa madurez se ha dedicado una sección de este artículo a discutir acerca de él. Madurez se refiere a la amplia investigación de la que ha sido objeto este método [9-11], lo que permite que exista un entendimiento actual relativamente alto en comparación con otros métodos dinámicos utilizados.

Modo de contacto

Modo contacto es el diseño experimental más simple y fue el primero utilizado cuando el AFM fue inventado [1]. En este modo la punta de la sonda se encuentra en contacto perpetuo con la muestra por lo que también es llamado modo estático.

La Gráfica 3 muestra el funcionamiento del AFM en modo de contacto. Durante la toma de imágenes en modo de contacto

la variable control es la deflexión de la micropalanca (análogo a la compresión o estiramiento de un resorte). La variable control es mantenida constante por medio de un circuito de retroalimentación.

El escáner sobre el que descansa la muestra se encarga de mover la muestra respecto a la micropalanca en dirección “x, y” para realizar distintas líneas de escaneo. La micropalanca al interactuar con la muestra sufre una deflexión proporcional a la fuerza de interacción con la superficie, obedeciendo a la ley de Hooke (Ecuación 1).

En este circuito, la señal de deflexión es leída en el fotodetector y transmitida a la caja electrónica donde se compara el valor actual con el punto de ajuste (*setpoint*). De acuerdo a esa diferencia la caja electrónica envía una señal de salida al escáner para ajustar la posición en el eje “z” de la muestra, si fuera necesario, para mantener la variable control (deflexión de la micropalanca) constante. Como consecuencia de las exploraciones en ejes “x, y” así como los cambios en “z” se genera una imagen topográfica de la superficie de la muestra estudiada.

Como anteriormente se mencionó, la mayor particularidad de este tipo de microscopio, es la posibilidad de realizar determinaciones espectroscópicas de fuerza. En modo contacto, esto es posible y de hecho debido a su naturaleza de contacto perpetuo, la determinación de la fuerza de interacción es directa. En otras palabras basta con saber la distancia que se extendió o comprimió la micropalanca, conocer la constante elástica, y aplicar la ley de Hooke (Ecuación 1) para obtener la fuerza de interacción. Cuando se realiza espectroscopía de fuerzas en modo de contacto, no se utiliza ningún sistema de retroalimentación ni variable control. En este caso la micropalanca es acercada a la superficie de la muestra a un punto específico donde se hace viajar una distancia vertical definida en un rango

en el que iniciará fuera de contacto con la muestra. Luego viajará hacia la muestra a una velocidad definida, entrará en contacto con la muestra y luego se retirará del contacto con la superficie. Como resultado de la interacción de la sonda con la muestra es posible obtener una curva de fuerza contra distancia conocida como curva de Fuerza-Distancia (curva FD). Esta curva muestra la fuerza experimentada por la micropalanca en función de la distancia de separación entre la punta y la superficie.

La Gráfica 4 muestra el esquema de una curva FD típica obtenida en un experimento de espectroscopía de fuerzas en modo de contacto. La curva muestra la típica histéresis que aparece en este tipo de experimentos que proviene de una discrepancia entre la curva de acercamiento y la curva de alejamiento. La curva de acercamiento y alejamiento se obtienen durante el viaje de la punta con velocidad negativa (hacia la muestra) y velocidad positiva (abandonando la muestra), respectivamente. La discrepancia entre estas curvas se conoce como "saltos". Cuando la micropalanca se acerca hacia la superficie, debido a altas fuerzas atractivas, la micropalanca "salta hacia" la superficie de la muestra a una posición específica (fenómeno conocido en inglés como *snap-in*). Durante el alejamiento de la micropalanca la punta se encuentra fuertemente atraída por la superficie y el "salto fuera" de contacto (*snap-out* en inglés) ocurre significativamente atrás del "salto hacia" el contacto. Esto resulta en una histéresis entre las curvas de acercamiento y alejamiento.

Específicamente este tipo de histéresis se conoce como una inestabilidad mecánica del sistema cuando se realiza espectroscopía de fuerzas en contacto. Esa inestabilidad constituye un inconveniente clave pues supone una pérdida de información en la recuperación de la curva FD, de cuyo comportamiento real debería poderse extraer una curva como la que se ilustra en la Gráfica 2.

Cuantitativamente el "salto hacia" contacto ocurre cuando el gradiente de la magnitud de la fuerza de atracción supera a la constante elástica de la micropalanca:

$$\frac{\partial \overline{F}_{ts}(z)}{\partial z} > k_z$$

Ecuación 2

En otras palabras, las fuerzas atractivas no pueden ser sostenidas por el resorte de la micropalanca y la punta "salta hacia" la superficie de la muestra. Posterior a eso, un acercamiento aún mayor produce que la punta empuje la muestra pasando a la región de contacto mecánico caracterizada por fuerzas de contacto positivas (ver Gráfica 2).

Por otro lado, durante el alejamiento la punta permanece adherida a la superficie una porción mayor de la curva debido a fuerzas atractivas entre la punta de la sonda y la superficie de la muestra. Esas fuerzas están asociadas mayoritariamente a fuerzas capilares y fuerzas van der Waals. Esas fuerzas adhesivas

deben ser superadas para que el "salto fuera" de contacto ocurra. El "salto fuera" de contacto siempre ocurre a una distancia más larga de la superficie que la distancia a la que ocurre el "salto hacia" contacto, lo que genera la aparición de la histéresis en la curva FD.

El perpetuo contacto entre punta y muestra característico del modo contacto supone otros importantes inconvenientes como el rápido desgaste de la punta de la sonda y la dificultad de estudiar muestras blandas. Con el objetivo de superar estos inconvenientes, métodos dinámicos de AFM han sido desarrollados. En la sección 3 este tipo de métodos será el tema de discusión.

•Aplicaciones de modo contacto

Desde la invención de los métodos dinámicos, el uso del AFM en modo contacto ha sido reducido. Sin embargo, a pesar de los inconvenientes que posee el método de contacto, posee la particularidad de ser muy sencilla su aplicación. En este tipo de métodos el usuario posee muy pocos parámetros para manipular. Esto facilita su uso pues la toma de imágenes e interpretación de resultados no requieren de un avanzado conocimiento teórico.

A pesar de su fácil aplicación, su utilización generalmente está reservada a ciertos tipos de muestras que no sean susceptibles a la rápida destrucción por parte de la punta que está en constante contacto. Algunos ejemplos de muestras en las que el AFM en modo contacto se utiliza son metales, óxidos de metales, grafito altamente orientado y muestras inorgánicas rígidas. A pesar de su delicadeza, existe también una gran variedad de muestras biológicas que se pueden estudiar con este método, aunque el usuario debe tomar en cuenta que la muestra se puede deformar significativamente, que puede dañarse durante la medición y que las imágenes en muchos casos no serán de alta resolución.

Una de las aplicaciones más importante en la actualidad de este tipo de método es en el estudio de conductividad eléctrica de muestras. Para ello, se utilizan puntas convencionales de silicio pero revestidas con algún metal o aleación de metales como platino-iridio (Pt-Ir). En este tipo de experimento una diferencia de voltaje se aplica a la muestra y se mide la conductividad llevando la punta en contacto con la muestra para cerrar el circuito. La naturaleza de contacto permanente, hace que este sea el método predilecto para este tipo de aplicaciones, por lo que varios investigadores lo han utilizado como herramienta de caracterización conductiva [12-15].

Métodos dinámicos

Como intento de esquivar los problemas intrínsecos al modo de contacto, poco tiempo después de la invención del AFM fue propuesta la idea de oscilar la micropalanca sobre la muestra. Lo anterior se hizo con el objetivo de reducir la interacción entre la sonda y la muestra. Los pioneros en proponer esta idea fueron Martin y colaboradores [3], quienes fueron los primeros en

utilizar el AFM en un modo oscilatorio. Por supuesto esto representa un esfuerzo técnico adicional y un esfuerzo aún mayor en el análisis de resultados como precio a pagar por la sofisticación del método.

Además de las ventajas obvias de reducir el desgaste de la punta y la muestra, los métodos dinámicos ofrecen la ventaja de evadir el fenómeno de los "saltos" que ocurren en el método de contacto que dan lugar a la molesta histéresis en la curva FD.

En principio, para evadir los saltos a contacto basta con utilizar una micropalanca lo suficientemente rígida para que soporte el gradiente de fuerzas en toda su trayectoria y cuya fuerza de restauración no sea superada en ningún momento por las fuerzas adhesivas entre la superficie y la punta. Sin embargo, esto no es una solución real en la práctica, puesto que se necesitaría una micropalanca con una constante elástica de alrededor 100 N/m [2]. Lo anterior supondría un desgaste exagerado entre punta y muestra debido a la naturaleza de contacto permanente de este tipo de método, además de una pérdida de sensibilidad.

Como consecuencia, se ha demostrado que la salida más viable es oscilar la sonda para aumentar virtualmente la rigidez de la micropalanca sin comprometer demasiado la integridad física de la punta y la muestra. De acuerdo a Giessibl [16] al oscilar la sonda, la medición es estable siempre y cuando la fuerza de restauración de la micropalanca (dada por el producto de la amplitud de oscilación por la constante elástica ($k_z \cdot A$)) sea mayor a la fuerza atractiva entre la punta y la muestra.

En aplicaciones prácticas, amplitudes en el rango de 10-100 nm son comunes con micropalancas de constante elástica entre aproximadamente 5 a 30 N/m. Lo anterior supone un producto $K_z \cdot A$ que supera fácilmente las fuerzas de adhesión, proporcionando al AFM dinámico una buena estabilidad mecánica.

En resumen los métodos dinámicos ofrecen tres principales ventajas con respecto al método de contacto. Primero, el movimiento de la punta es sensible tanto a fuerzas como a gradientes de fuerzas. Segundo, en métodos dinámicos se obtiene información más amplia de la interacción incluyendo la amplitud de la oscilación, la frecuencia y el cambio de fase, mientras que en métodos de contacto únicamente se obtiene la deflexión de la sonda. Lo anterior se traduce a una mayor cantidad de información que puede ser analizada para obtener más detalles sobre la muestra estudiada. Como tercer punto, las fuerzas requeridas para obtener una señal estable en modo contacto podrían envolver cierto tipo de daño a la muestra o la sonda lo que podría obstaculizar la obtención de imágenes de alta resolución [17].

Descripción del movimiento de la micropalanca oscilatoria

Una manera de estudiar el movimiento oscilatorio de la sonda de una manera burda es considerar la sonda como un sistema masa-resorte. Aunque esta aproximación carece de exactitud, otorga una percepción adecuada del movimiento de la sonda.

De esa forma, la oscilación se modela por medio de la ecuación diferencial de movimiento de un oscilador forzado con amortiguación, con la adición de las fuerzas de interacción entre la punta y la muestra (\bar{F}_{ts}). Como resultado se tiene una ecuación diferencial no lineal de segundo grado:

$$m \frac{d^2 \bar{z}}{dt^2} + k \bar{z} + \frac{m \omega_o}{Q} \frac{d \bar{z}}{dt} = \bar{F}_{ts} + \bar{F}_o \cos(\omega t)$$

Ecuación 3

Donde m , ω_o , k y Q son la masa, la frecuencia natural, la constante elástica y el factor de calidad de la micropalanca libre, respectivamente. F_o y ω son la amplitud y la frecuencia de la fuerza externa, respectivamente. t y z son las variables tiempo y eje de coordenadas en la que se mueve el oscilador, respectivamente.

La solución del movimiento armónico del oscilador amortiguado libre (sin incluir F_{ts}) incluye un término transitorio y un término estacionario. El término estacionario describe un movimiento oscilatorio armónico con una amplitud A , la frecuencia de excitación y un retardo de fase θ entre la señal de excitación y el movimiento de la punta:

$$z = A \cos(\omega t - \theta)$$

Ecuación 4

Cuando el oscilador se excita a su frecuencia natural se obtiene una amplitud cercana a la máxima, siendo esta:

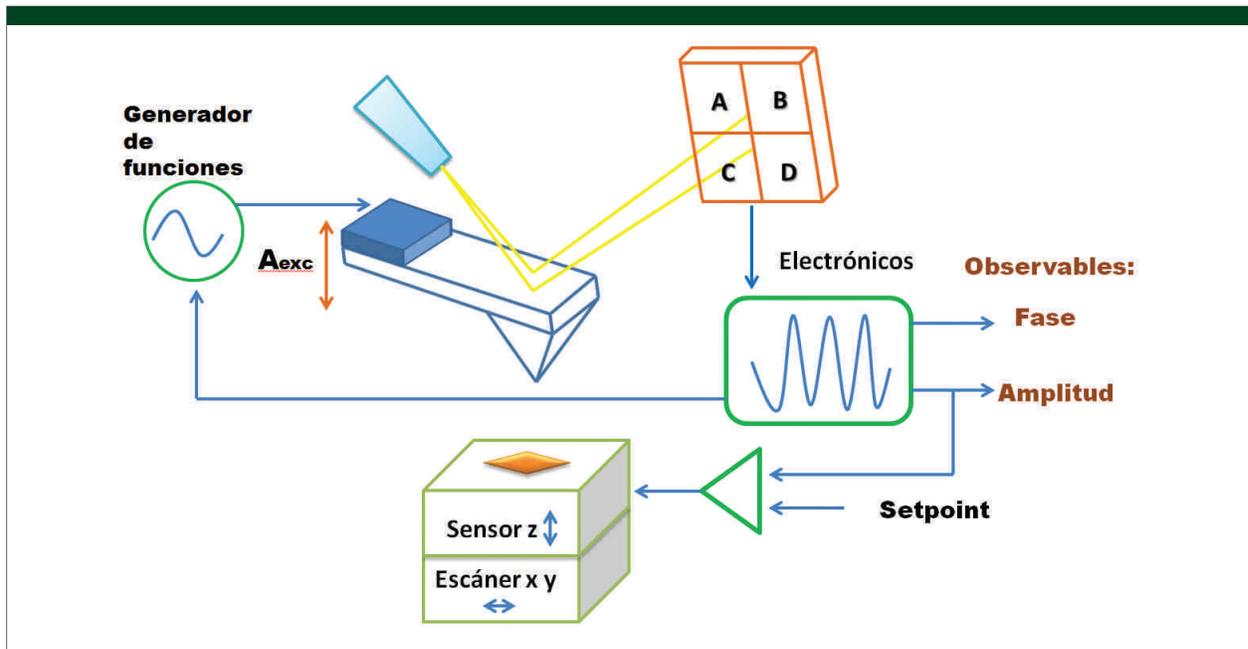
$$A_o = Q F_o / k$$

Ecuación 5

La Ecuación 5 relaciona la amplitud de la punta en movimiento A_o con la amplitud de la fuerza externa.

El término F_{ts} de la Ecuación 3 suele incluirse con distintos modelos de mecánica de contacto siendo algunos popularmente usados el modelo DMT (Derjaguin, Muller, Toporov) [18], modelo de contacto Hertz, modelo JKR (Johnson, Kendall y Roberts) [19]. Recientemente se han incluido modelos que describen de una forma más adecuada la interacción de la punta con muestras viscoelásticas, específicamente el modelo SLS (por sus siglas en inglés, *standard linear solid*) [20].

Es importante mencionar que usualmente la solución de estas ecuaciones se realiza de forma numérica con la ayuda de computadoras y debido a ello es posible simular el movimiento de la sonda de una forma más realista y a su vez compleja. Más realista se refiere a modelar el movimiento de la sonda con las ecuaciones de viga de Euler-Bernoulli. Al resolver estas ecuaciones pueden incluirse los distintos modos de oscilación de la micropalanca y la solución además incluye la contribución de armónicos más altos. Este tema se escapa del alcance de este documento, pero si el lector está interesado puede leer más acerca de esto en otras referencias como: [21, 22].



Gráfica 5. Arreglo experimental del AFM en modulación de amplitud.

Modo de contacto intermitente o modulación de amplitud (AM-AFM)

Este método comúnmente conocido como *"tapping mode"* en inglés, es el método más básico de los métodos dinámicos. Además es el método más frecuentemente utilizado en AFM. En este método la micropalanca se hace vibrar con amplitudes en el rango nanométrico (aproximadamente entre 5 y 200 nm), razón por la que se le conoce como una técnica de amplitudes "grandes". El término "grandes" es relativo cuando se compara a otras técnicas dinámicas en la que la micropalanca puede vibrar en el rango de los angstroms (como en el caso de modulación de frecuencia en alto vacío [23]).

Esta técnica es muy popular por su versatilidad y su relativa simplicidad. Se dice que es versátil puesto que es adecuada para funcionar en distintos ambientes como aire, vacío e inclusive en líquidos (esta técnica generalmente no se usa en alto vacío debido a su lenta respuesta cuando el factor de calidad es alto). Es una técnica relativamente simple puesto que lo único que se controla es la amplitud, por lo que el circuito electrónico posee complejidad baja, hecho que le confiere una alta estabilidad en la práctica.

El AFM de contacto intermitente funciona con un circuito que controla la amplitud y se encarga de mantenerla a un valor preestablecido (*setpoint*).

En el circuito de modulación de amplitud (ver Gráfica 5), la amplitud es calculada internamente con los valores de pendiente de la micropalanca que lee el fotodetector. Luego esa amplitud se compara con el valor preestablecido de amplitud y, si existe una diferencia, la caja electrónica envía una señal al escáner.

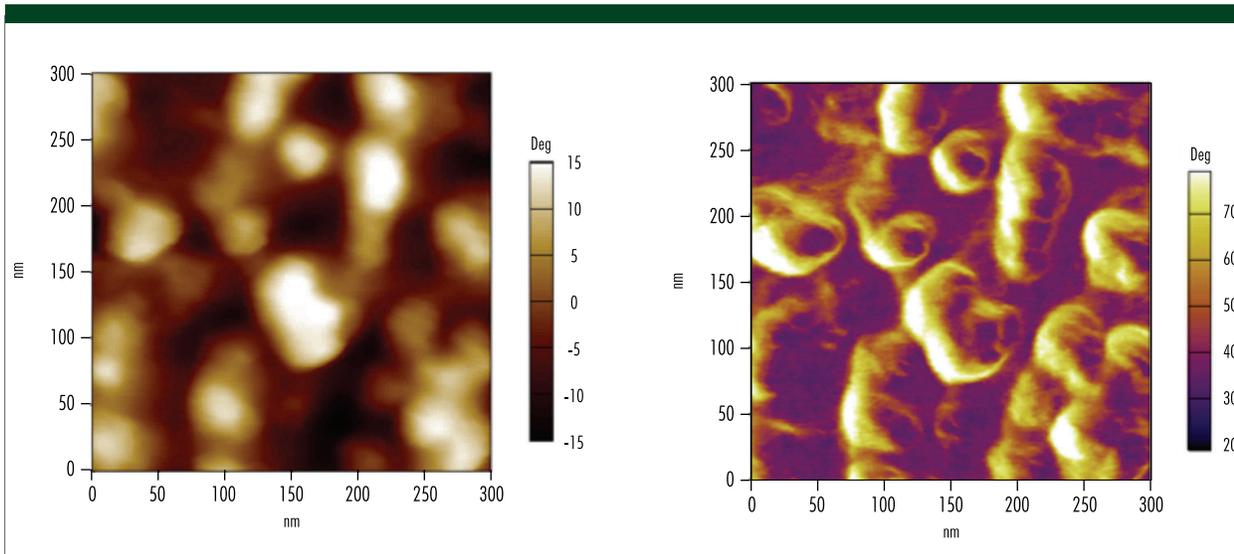
El escáner se encarga de hacer la corrección en el eje z para poder alcanzar el valor preestablecido y de esta forma mantener la variable control (amplitud) constante.

Al igual que en el método de contacto, las exploraciones en ejes "x, y" así como los cambios en el eje "z" generan una imagen topográfica de la superficie estudiada.

Los cambios topográficos generan cambios en la amplitud de oscilación. Por ejemplo, si la micropalanca se encuentra con una protuberancia, la amplitud de la punta se verá reducida temporalmente. Luego para compensar por esa pérdida de amplitud, el escáner recibirá a través del circuito la señal para mover la muestra hacia abajo con el objetivo de mantener la amplitud preestablecida (*setpoint*).

Es importante mencionar que en modo AM-AFM se escoge una amplitud en el experimento correspondiente a una fracción de la amplitud libre (ver Gráfica 5). Tanto la amplitud libre de la punta como la fracción de la amplitud libre se escogen durante el experimento. La elección de estos parámetros añade complejidad si lo comparamos con el modo contacto donde el usuario únicamente se preocupa de una variable (la deflexión de la micropalanca). Es por ello que, en general, el aumento del grado de sofisticación del método en AFM permite la recopilación de una mayor cantidad de información, pero al mismo tiempo requiere de mayor juicio, conocimiento y experiencia del usuario. Lo anterior es debido a que la magnitud a escoger de las variables afecta de manera significativa los resultados obtenidos.

Los canales u observables recopilados en un experimento de contacto intermitente son la amplitud y la fase. Recordemos que en AFM dinámico se considera que la punta tiene una trayectoria



Gráfica 6. Topografía (izquierda) y fase (derecha) de una muestra polimérica ramificada (muestra cortesía del Dr. Rafael Verduzco, Rice University, Houston TX, USA).

cercanamente sinusoidal con cierta amplitud y cierto retraso de fase con respecto a la fuerza de manejo externa. Basados en la analogía del oscilador armónico amortiguado debe existir cierta relación entre la fase de retraso y las propiedades de la superficie. Este es un tema que ha sido estudiado exhaustivamente por varios grupos [24-26].

Es reconocido que AM-AFM ofrece la poderosa posibilidad de trazar variaciones en la composición, fricción, viscoelasticidad y adhesión de la superficie de la muestra [27]. Este método se conoce como “obtención de imágenes de fase”.

Asimismo es ampliamente reconocido que la fase puede dar información complementaria acerca de las propiedades de la superficie de los materiales. Sin embargo no existe una forma directa de relacionarla sin ambigüedad a información cuantitativa sobre las propiedades mecánicas de la muestra (e.g., Módulo de Young). A pesar de varios esfuerzos realizados por distintos grupos [28-30] las relaciones matemáticas encontradas entre fase y propiedades mecánicas se encuentran sujetas a aproximaciones de oscilación armónica. Debido a ello, los resultados han sido validados únicamente para una cantidad muy limitada de condiciones y muestras [27].

Otros intentos matemáticamente rigurosos [31-33] han permitido relacionar de una forma más directa la fase con propiedades disipativas y conservativas de la muestra y han sido utilizados en distintos métodos de AFM para proporcionar información adicional sobre el mapeo composicional de la muestra [34].

• Aplicaciones de AM-AFM

Durante el inicio del surgimiento de métodos dinámicos de AFM, un motivador importante fue el de obtener imágenes de biomoléculas como ADN, proteínas o membranas celulares. Inicialmente la razón fue la imposibilidad de obtener imágenes

de este tipo de materiales por medio del antecesor del AFM (microscopio de efecto túnel, STM), cuya aplicación está limitada al estudio de muestras conductoras.

Previo al desarrollo de métodos dinámicos, el tipo de muestras biológicas que podían estudiarse por medio de AFM era muy limitado. La aplicación de AFM a muestras biológicas estaba restringida a pocos sistemas como, por ejemplo, a moléculas de ADN o arreglos regulares de membranas de proteína donde procedimientos de inmovilización o la rigidez de la superficie de la muestra permitían resultados reproducibles [22]. En otros casos macromoléculas individuales débilmente adjuntas en el sustrato eran frecuentemente arrastradas o dañadas por la punta durante la toma de imágenes. La ausencia o presencia de pequeñas fuerzas laterales en AM-AFM ha producido una ampliación en el tipo de muestras biomoleculares que pueden estudiarse a través del AFM.

Con el advenimiento de AM-AFM ha sido posible obtener imágenes de moléculas de ADN [35], de anticuerpos, membranas proteínicas [36] y de moléculas proteínicas individuales. Obtener imágenes de este tipo de sistemas era casi imposible con métodos estáticos y únicamente fue logrado con el desarrollo de métodos dinámicos.

Por otro lado, previo al desarrollo de métodos dinámicos, la obtención de imágenes de polímeros era un objetivo inalcanzable, puesto que la naturaleza delicada de estos materiales implicaba la destrucción o modificación de la muestra durante la obtención de la imagen.

Al surgir los métodos dinámicos, ha sido posible el estudio de estos materiales de una forma menos destructiva o inclusive con algunos métodos de una forma bastante sutil [37]. El AM-AFM además de otorgar la posibilidad de estudiar muestras blandas de una forma más delicada ha proveído la opción de realizar mapeo composicional a través del registro de la fase. Esto

representa una gran ventaja considerando que la obtención de la fase es simultánea a la obtención de la imagen topográfica. Como ejemplo de la importancia de una imagen de fase observe la Gráfica 6, donde se muestra la topografía junto con la fase de una muestra polimérica ramificada. En esa gráfica se puede observar claramente como la imagen de fase logra evidenciar los detalles morfológicos, mientras que la topografía no revela la misma información acerca de la muestra.

Otros métodos dinámicos

Existe una cantidad de métodos dinámicos adicionales al método de modulación de amplitud, aunque éste es el método estándar más utilizado en la práctica. Una rama importante de métodos son los de multifrecuencia en los que se excitan simultáneamente dos o más modos de flexión de la micropalanca. Este tema va más allá del alcance de este artículo pero por ahora es suficiente mencionar que este tipo de métodos han sido utilizados tradicionalmente desde su invención por García et al. [38] para adquirir simultáneamente topografía y garantizar el mapeo composicional de la superficie. Poco después fue propuesto por Solares y colaboradores [39-40] que la excitación simultánea de tres modos de flexión de la micropalanca podría utilizarse para controlar la profundidad de la muestra de la superficie estudiada. En otras palabras poder obtener imágenes del subsuelo mediante la posibilidad de inducir a voluntad la travesía de la sonda a capas internas de la muestra. Lo anterior se puede lograr sin comprometer la obtención de imágenes y el mapeo composicional [20].

Por otro lado, es importante mencionar que existe otra rama amplia de investigación en AFM dedicada al estudio de materiales en ambientes de ultra alto vacío. Esta comunidad científica ha orientado sus esfuerzos hacia la manipulación y estudio de materiales a escala atómica. Utilizando ultra alto vacío y un método dinámico conocido como modulación de frecuencia (FM-AFM) estos investigadores han logrado obtener imágenes de altísima resolución y manipular átomos individuales [41]. Incluso han logrado medir la fuerza necesaria para mover átomos de acuerdo a su naturaleza química [42]. Además han logrado resultados interesantes explotando la fuerza de carácter químico entre los átomos de la punta y la muestra, con el fin de identificar la naturaleza de los átomos de la muestra [43]. Conviene aclarar que este tipo de fuerzas no es posible explotarlo en condiciones normales de aire puesto que su magnitud es muy pequeña en comparación a otras fuerzas de adhesión y fuerzas capilares. Mientras que en ultra alto vacío se logra una muestra más "limpia" en la que no intervienen fuerzas de adhesión y capilares, evadiendo un obstáculo en la obtención de información a escala atómica.

Conclusión

Hasta ahora se ha intentado dar una imagen panorámica de la gran extensión de las aplicaciones del AFM y de los campos de investigación en torno a este sencillo aparato. El objetivo no

es realizar una revisión exhaustiva de todos los métodos y aplicaciones sino proveer una semilla de curiosidad en el estudio de este vasto campo. A pesar de la aparente simplicidad del equipo, es impresionante la cantidad de información codificada en la relación entre la sonda y la muestra. Esa decodificación es no trivial y ha requerido de esfuerzos matemáticos importantes, de simulaciones computacionales y de ávidos experimentadores que intentan obtener información que pueda ser entendida a la luz del conocimiento teórico construido.

Existen muchas áreas de impacto del AFM y, aunque su uso es bastante rutinario, su funcionamiento es aún relativamente poco entendido. Por lo tanto, es de suma importancia que grupos interdisciplinarios sigan uniendo esfuerzos para aumentar las capacidades de este poderoso aparato.

Bibliografía

- [1] Binnig G, Quate CF, Gerber C (1986) *Atomic force microscope* Phys Rev Lett **56**: 930-933
- [2] Holscher H, Schirmeisen A (2005) *Dynamic force microscopy and Spectroscopy* Adv Imag Electr Phys **135**: 41-96
- [3] Martin Y, Williams CC, Wickramasinghe HK (1987) *Atomic force microscope-force mapping and profiling on a sub 100-Å scale* J Appl Phys **61**: 4723
- [4] Ebeling D, Solares SD (2013) *Bimodal atomic force microscopy driving the higher eigen mode in frequency modulation mode: implementation, advantages, disadvantages and comparison to the open loop case* Beilstein J Nanotechnol **4**: 198-207
- [5] Proksch R (2006) *Multifrequency, repulsive-mode amplitude-modulated atomic force microscopy* Appl Phys Lett **89**: 113121
- [6] Chawla G, Solares SD (2011) *Mapping of conservative and dissipative interactions in bimodal atomic force microscopy using open-loop and phase-locked-loop control of the higher eigenmode* Appl Phys Lett **99**: 074103
- [7] Guo S, Solares SD, Mochalin V, Neizel I, Gogotsi Y, Kalinin S, Jesse S (2012) *Multifrequency imaging in the intermittent contact mode of atomic force microscopy: beyond phase imaging* Small **8**: 1264-1269
- [8] Solares SD, Holscher H (2010) *Numerical analysis of dynamic force spectroscopy using the torsional harmonic cantilever* Nanotechnol **21**: 075702
- [9] García R, San Paulo A (1999) *Attractive and repulsive tip-sample interaction regimes in tapping-mode atomic force microscopy* Phys Rev B **60**: 4961
- [10] Thota P, MacLaren S, Dankowicz H (2007) *Controlling bistability in tapping-mode atomic force microscopy using dual-frequency excitation* Appl Phys Lett **91**: 093108
- [11] Hu S, Raman A (2006) *Chaos in Atomic Force Microscopy* Phys Rev Lett **96**: 036107
- [12] Xu D, Watt GD, Harb JN, Davis RC (2005) *Electrical conductivity of femtin proteins by conductive AFM* Nano Lett **5**: 571-577
- [13] Alexeev A, Loos J, Koetse MM (2006) *Nanoscale electrical characterization of semiconductive polymer blends by c-AFM Ultramicroscopy* **106**: 191-199
- [14] Yan H, Park SH, Finkelstein G, Reif JH, LaBean TH (2003) *DNA templated self-assembly of protein arrays and highly conductive nanowires* Science **31**: 1882-1884
- [15] Wang W, Niu DX, Jiang CR, Yang XJ (2014) *The conductive properties of single DNA molecules studied by torsion tunneling AFM* Nanotechnol **25**: 025707-025713
- [16] Giessibl FJ (2005) *AFMs path to atomic resolution* Materials Today **8**: 32-41

- [17] García R, San Paulo A (1999) *Attractive and repulsive tip-sample interaction regimes in tapping-mode atomic force microscopy* Phys Rev B: 60: 4961
- [18] Derjaguin BV, Muller VM, Toporov YP (1975) *Effect of contact deformations on the adhesion of particles* J Colloid Interface Sci 53: 314-325
- [19] Johnson KL, Kendall K, Roberts AD (1971) *Surface energy and the contact of elastic solids* Proc R Soc London A 324: 301-313
- [20] Ebeling D, Esлами B, Solares SD (2013) *Visualizing the subsurface of soft matter: simultaneous topographical imaging, depth modulation, and compositional mapping with triple frequency atomic force* ACS Nano 7: 10387–10396
- [21] García R, Herruzo ET (2012) *The emergence of multifrequency force microscopy* Nature Nanotechnol 7: 217-226
- [22] Lozano JR, García R (2008) *Theory of multifrequency atomic force microscopy* Phys Rev Lett 100: 076102/1-076102/4
- [23] Gross L, Mohn F, Liljeroth P, Repp J, Giessibl F, Meyer G (2009) *Measuring the charge state of an atom with noncontact atomic force microscopy* Science 324: 1428-1431
- [24] Tamayo J, García R (1997) *Effect of elastic and inelastic interactions on phase contrast images in tapping-mode scanning force microscopy* Appl Phys Lett 71: 2394
- [25] Magonov SN, Elings V, Papkov VS (1997) *AFM study of thermotropic structural transitions in poly (diethylsiloxano)* Polymer 38: 297
- [26] Bar G, Thomann Y, Whangbo MH (1998) *Characterization of the morphologies and nanostructures of blends of poly(styrene)-block-poly(ethene-co-but-1-ene)-block-poly(styrene) with isotactic and atactic polypropylenes by tapping mode atomic force microscopy* Langmuir 14: 1219-1226
- [27] García R, Pérez R (2002) *Dynamic atomic force microscopy methods* Surf Sci Rep 47: 197-301
- [28] Magonov SN, Elings V, Whangbo MH (1997) *Phase imaging and stiffness in tapping-mode atomic force microscopy* Surf Sci 375: L385-L391
- [29] Whangbo MH, Bar G, Brandsch R (1998) *Description of phase imaging in tapping-mode atomic force microscopy by harmonic approximation* Surf Sci 411: L794
- [30] Bar G, Brandsch R, Whangbo MH (1998) *Effect of viscoelastic properties of polymers on the phase shift in tapping mode atomic force microscopy* Langmuir 14: 7343
- [31] Cleveland JP, Anczykowski B, Schmid AE, Elings VB (1998) *Energy dissipation in tapping-mode atomic force microscopy* Appl Phys Lett 72: 2613-2615
- [32] Paulo AS, García R (2001) *Tip-surface forces, amplitude, and energy tapping mode force microscopy* Phys Rev B 64: 193411
- [33] Tamayo T, R. García R (1998) *Relationship between phase shift and energy dissipation in tapping-mode scanning force microscopy* Appl Phys Lett 73: 2926-2928
- [34] Chawla G, Solares SD (2011) *Mapping of conservative and dissipative interactions in bimodal atomic force microscopy using open-loop and phase-locked-loop control of the higher eigenmode* Appl Phys Lett 99: 074103
- [35] Parot P, Dufrene YF, Hinterdorfer P, Le Grimmelc C, Navajas D, Pellequer JL, Scheuring S (2007) *Past, present and future of atomic force microscopy in life sciences and medicine* J Mol Recognit 20: 418-431
- [36] García R, Magerle R, Perez R (2007) *Nanoscale compositional mapping with gentle forces* Nature Matter 6: 405-411
- [37] Herruzo ET, Perrino AP, García R (2014) *Fast nanomechanical spectroscopy of soft matter* Nature Comm 5: 3126
- [38] Rodríguez TR, García R (2004) *Compositional mapping of surfaces in atomic force microscopy by excitation of the second normal mode of the microcantilever* Appl Phys Lett 84: 449-451
- [39] Solares SD, Chawla G (2010) *Triple-frequency intermittent contact atomic force microscopy characterization: Simultaneous topographical, phase, and frequency shift contrast in ambient air* J Appl Phys 108: 054901
- [40] Solares SD, Chawla G (2010) *Frequency response of higher cantilever eigenmodes in bimodal and trimodal tapping mode atomic force microscopy* Meas Sci Technol 21: 125502
- [41] Kitamura S, Suzuki K, Iwatsuki M (1998) *Observation of silicon surfaces using ultrahigh vacuum noncontact atomic force microscope* Jpn J Appl Phys 34: 1086-1088
- [42] Ternes M, Lutz CP, Hirjibehedin CF, Giessibl FJ, Heinrich AJ (2008) *The force needed to move an atom on a surface* Science 319: 1066-1069
- [43] Sugimoto Y, Pou P, Abe M, Jelinek P, Pérez R, Morita S, Custance O (2007) *Chemical identification of individual surface atoms by atomic force microscopy* Nature 446: 64-67
- [44] Albrecht TR, Grutter P, Horne D, Rugar D (1991) *Frequency modulation detection using high-Q cantilever for enhanced force microscope sensitivity* J Appl Phys 69: 668
- [45] Zhong Q, Imniss D, Kjoller K, Elings VB (1993) *Fractured polymer/silica fiber surface studied by tapping mode atomic force microscopy* Surf Sci 290: L668
- [46] Stark M, Rtkar RW, Heckl WH, Guckenberger R (2002) *Inverting dynamic force microscopy: from signals to time-resolved interaction forces* Proc Natl Acad Sci 99: 8473-8478
- [47] Rodríguez TR, García R (2004) *Compositional mapping of surfaces in atomic force microscopy by excitation of the second normal mode of the microcantilever* Appl Phys Lett 84: 449-451
- [48] Solares SD, Chawla G (2010) *Triple-frequency intermittent contact atomic force microscopy characterization: Simultaneous topographical, phase, and frequency shift contrast in ambient air* J Appl Phys 108: 054901

Glosario

Micropalanca: Más comúnmente conocida como cantilever (en inglés), se refiere a una viga voladiza que se encuentra anclada por un solo extremo, mientras el otro extremo contiene una punta fina que entra en contacto con la muestra.

Setpoint: Punto de ajuste de la variable de interés. Valor preestablecido que se desea mantener constante a lo largo del experimento.

Fase: En el contexto de AFM se refiere al retardo entre la señal de excitación y la respuesta del oscilador.

Deflexión: La distancia que se dobla la micropalanca durante la operación del AFM. Es análogo a la distancia de compresión o estiramiento de un resorte.

Viscoelasticidad: Comportamiento de ciertas muestras que exhiben tanto propiedades viscosas como elásticas cuando se deforman.

Disipación: Porción de energía que se pierde durante la interacción punta-muestra en un experimento de AFM. Los experimentos de imagen de fase están relacionados a la medición de propiedades disipativas de los materiales estudiados.

AFM Bimodal: Se refiere a experimentos en los que se excitan simultáneamente dos modos de oscilación de la micropalanca. Este tipo de métodos tiene como objetivo garantizar la obtención de imágenes de fase al mismo tiempo que se obtiene la topografía de la muestra.

AFM Trimodal: Se refiere a experimentos en los que se excitan simultáneamente tres modos de oscilación de la micropalanca. Este tipo de métodos tiene como objetivo garantizar la obtención de imágenes de fase al mismo tiempo que se obtiene la topografía

de la muestra y se controla la profundidad a la que la punta penetra dentro de la muestra durante cada impacto.

Observables: En el contexto de AFM se utiliza esta palabra para referirse a las variables que están siendo medidas en tiempo real durante el experimento. Por ejemplo en un experimento de modulación de amplitud el instrumento proporciona dos observables principales: Amplitud y Fase. La ventaja de poseer observables en tiempo real consiste en que el usuario puede utilizar esta información para ajustar a conveniencia los

parámetros que le aseguren un *setpoint* estable (e.g., una amplitud constante) y un buen contraste de fase.

Contraste de Fase: se refiere a la heterogeneidad observada en una imagen de fase. Por ejemplo, se habla de un “buen” contraste de fase cuando se logra observar diferencias significativas en la fase de distintas regiones de una muestra. Como ejemplo puede observarse la imagen derecha de la Gráfica 6 donde se muestra un “buen” contraste de fase.

Línea de tiempo de sucesos importantes en la evolución del AFM

1981	Invencción del microscopio de efecto túnel (antecesor del AFM) por Binnig y Rohrer.
1986	Invencción del AFM por Binnig y Quate [1].
1987	Martin y colaboradores iniciaron el uso del AFM operado en forma oscilatoria [3].
1991	Albrecht y colaboradores propusieron el método de modulación de frecuencia [44].
1993	Zhong y colaboradores propusieron el método de modulación de amplitud [45].
2002	Invencción de métodos para obtención de armónicos altos del movimiento de la micropalanca [46].
2004	Introducción de AFM bimodal por García y Rodríguez [47].
2010	Introducción de AFM trimodal por Solares y Chawla [48].



Enrique Alejandro López y Santiago de Jesús Solares
(de izquierda a derecha)