评述

多频原子力探针显微技术

郑志月, 许瑞, 程志海*

国家纳米科学中心, 中国科学院纳米科学卓越中心和纳米标准与检测重点实验室, 北京 100190

* E-mail: chengzh@nanoctr.cn

收稿日期: 2015-09-25; 接受日期: 2015-12-07; 网络出版日期: 2016-01-29

中国科学院“引进杰出技术人才”项目、“卓越青年科学家”项目、青年创新促进会项目和科研装备研制项目(批准号: YZ201418)资助

摘要 不断提高空间分辨率、数据采集速度以及实现材料性质的成像, 一直以来就是原子力显微术的发展目标. 目前, 最可能实现这一目标的手段是近些年发展的多频原子力显微术. 多频原子力显微术, 即利用多频率激励和/或多频率探测微悬臂的振动信号来研究样品纳米物性的一大类 AFM 技术. 它可以实现针尖与样品间作用非线性信息的提取, 在组分探测灵敏度、时间和空间成像分辨率等方面展现了巨大的优势. 文中综述了多频原子力显微术所包含的不同实现方法的基本原理, 并介绍了它们在高分辨成像、纳米力学、材料、生物等方面的前沿应用实例. 此外, 为探索多频原子力显微术, 我们提出了一种特殊的高次谐振型石英音叉微悬臂模型. 最后, 文章展望了多频原子力显微术的下一步技术发展和应用研究.

关键词 多频原子力显微术, 非线性相互作用, 高次谐振, 高阶模式

1 引言

在纳米科学与技术迅猛发展的过程中, 原子力显微术(atomic force microscopy, AFM), 不同于光学显微术(OM)、电子显微术(EM)以及扫描隧道显微术(STM), 它是通过探测样品原子与尖锐探针原子之间的相互作用力来获得样品表面信息的, 而不依赖于光子或电子, 因此 AFM 已成为纳米技术研究中最强有力的工具之一, 在物理、化学、材料、生命以及工程许多领域都有重要的应用. AFM 技术自发明至今, 经历了多次跨越性的进展, 包括微悬臂探针的加工制备、光学探测方法的引入及动态 AFM 的发展等, 促进了 AFM 技术的广泛使用 and 商业化^[1].

最初的 AFM, 是一种静态模式的 AFM, 针尖与样品保持机械接触, 忽略相互作用力的非线性特征, 通过对小范围内相互作用势的线性化分析来完成样品属性的表征, 因此静态 AFM 很难实现纳米级的空间分辨率, 而且存在许多缺陷, 如由于横向剪切力的作用会导致针尖与样品的损坏. 空间分辨率和组分探测灵敏度是显微技术的核心参数, 它的需求刺激了动态 AFM 的形成, AFM 技术从悬臂静态偏转的探测转变为悬臂探针振荡的动态激励和探测, 即探针在扫描的同时对其施加一个固定频率(通常为基频本征频率)的激励, 针尖跨越大范围的相互作用势能, 观测量如振幅、相位、频率或悬臂的偏转都可以用来提取样品信息, 利用闭环反馈产生高分辨的表面成

引用格式: 郑志月, 许瑞, 程志海. 多频原子力探针显微技术. 中国科学: 技术科学, 2016, 46: 437–450

Zheng Z Y, Xu R, Cheng Z H. Multi-frequency atomic force microscopy (in Chinese). Sci Sin Tech, 2016, 46: 437–450, doi: 10.1360/N092015-00246

像. 动态 AFM 的发展实现了微弱力的成像, 尤其在大气环境下, 允许对软材料如 DNA、蛋白质、细胞或聚合物的成像, 进一步, 动态 AFM 可以实现形貌与静电学或磁学属性的同时探测. 尽管动态 AFM 已成功运用于各个领域, 但是当前的技术就空间分辨率、量化测量及数据采集而言仍然存在一定的局限性. 对于非常软的材料, 在大气、液体、超高真空下, 原子级别或分子级别的成像很难实现或无法实现, 同样地, 它很难将力谱的高灵敏度与分子级的分辨率结合起来, 因此同时获得高分辨成像和材料属性成像是一个很大的挑战.

为了打破动态 AFM 的局限性, 追求更高的空间分辨率、更快的数据采集速度以及实现材料性质的成像, 必须考虑两个原则: (1) 样品属性的所有信息必须被编码在针尖的运动中; (2) 悬臂的动态特性是高度非线性的, 因此谐振和低阶本征模式成分是针尖运动不可或缺的部分. 传统的动态 AFM 技术仅对一个频率下的针尖进行激励和探测, 而基频外的频率一般情况下较高且信号强度远小于基频部分, 从而都被忽略了, 所探测的信号也只是该频率下的物理参数(幅度、频率或相位等), 因此, 包含在其他频率成分中的样品属性信息不可避免地丢失了. 近些年发展的多频原子力显微术(multi-frequency AFM, MF-AFM), 为解决这些技术难题提供了一个重要的研究方向. MF-AFM^[2-4]简单来说就是激励和/或探测微悬臂探针在多个频率下的振动信号并用来探测样品性质等的一大类 AFM 技术, 这些频率通常与微悬臂探针振动的高次谐振以及其高阶本征模式有关. 利用 MF-AFM, 并通过研究特殊的装置和方法, 如特殊的微悬臂探针的设计等, 它可以实现针尖与样品间相互作用力的非线性部分信息的提取.

2 MF-AFM 的理论基础

传统动态 AFM^[1-4], 包括振幅调制模式和频率调制模式. 振幅调制模式, 以振幅作为探测和反馈信号对样品形貌成像, 是大气环境下应用最广泛的工作模式, 也可用于液体环境. 在液体环境中, 振幅调制 AFM 的出现使得动态过程的成像成为可能, 特别是那些特征时间在分钟量级的生物分子体系. 频率调制模式, 则是通过检测针尖-样品相互作用下的微悬臂共振频率相对于自由状态下的共振频率的频率偏

移, 利用高度反馈回路控制频率偏移恒定, 从而获得样品表面信息, 通常用在超高真空环境下. 无论是振幅调制 AFM 还是频率调制 AFM, 原子力探针都只在一个激励频率下振动, 所探测的信号也只是该频率下的物理参数(幅度、频率或相位等). 虽然高次谐振部分很常见, 但在大气环境的弱成像实验条件下, 由于基频振荡($n=1$)的振幅比其他任何高次谐振的振幅大 2~3 个数量级, 一般是忽略不计. 在液体环境下, 高次谐振部分会得到增强, 也可以通过特殊设计的微悬臂来实现特定高次谐振的增强. 此外, 在液体环境下, 微悬臂的激励方式是影响 AFM 性能的重要因素, 不再是大气下常采用的机械声学激励方式, 而是通过磁激励方式可以产生正常的共振曲线, 抑制了由于周围液体和液体池的其他部分导致的可疑共振峰.

在讨论 MF-AFM 的理论基础前, 不仅需要对传统动态 AFM 的具有一定的理解和掌握, 而且需要清楚以下几个基本概念: (1) 针尖-样品间的相互作用力是非常复杂的, 具有非线性、时变性、耗散性等特征; (2) 微悬臂动力学是非线性的, 亦即其高次谐振和高阶本征模式是微悬臂运动不可忽略的组成部分; (3) 针尖-样品间相互作用力的所有信息都已包含在微悬臂探针的复杂运动行为当中.

2.1 针尖-样品间的相互作用力

AFM 探针-样品间的相互作用力包括吸引力和排斥力^[2], 如图 1 所示, 吸引力主要有范德华力、静电力和化学成键力等, 排斥力则主要是泡利排斥力等, 该相互作用力是三维立体的, 并具有方向性、矢量加和性以及非线性等, 非常复杂. 针尖与样品的相互作用可以发生在针尖尖端、针尖本身甚至整个微悬臂与样品间, 由于相互作用尺度的不同, 针尖-样品相互作用力又可分为长程力和短程力. 针尖尖端原子与其正下方样品原子间的相互作用为短程化学力, 相互作用尺度为埃量级, 可以是化学成键力或泡利排斥力等, 具体取决于针尖尖端和样品原子的相对化学状态. 可以用莫尔斯电势(Morse potential; (1)式)或兰纳-琼斯势(Lennard-Jones potential; (2)式)以及带有方向性的 Stillinger-Weber potential 来描述^[5,6]:

$$V_{\text{Morse}} = -E_{\text{bond}} \left[2e^{1k(r-\sigma)} - e^{-2k(r-\sigma)} \right], \quad (1)$$

$$V_{\text{LJ}} = -E_{\text{bond}} \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - 2 \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right], \quad (2)$$

图1 (网络版彩图)针尖-样品间相互作用力的示意图

式中, V_{Morse} 和 V_{LJ} 表示两种不同的模型描述两原子间相互作用的势能, $-E_{\text{bond}}$ 表示原子间势能达到最小时的势阱深度值, k 表示控制势阱宽度的系数, r 表示两原子间距离, σ 表示原子间势能达到最小值时对应的距离。

一般而言, 原子尺度的范德华力是短程力, 但考虑到范德华力的加和性, 针尖与样品之间的范德华力可视为长程力, 相互作用尺度为几十纳米, 可以用 Hamaker approach 来计算. 对于一个半径为 R 的球形针尖, 针尖与平面样品间的范德华相互作用势可以用(3)式来描述^[7]:

$$V_{\text{vdw}}(z) = -\frac{A_{\text{H}}R}{6z}, \quad (3)$$

式中, z 为样品与针尖尖端的距离; A_{H} 为 Hamaker 常数, 与针尖和样品材料等有关。

针尖尖端与其正下方样品原子间的相互作用随作用距离的不同也可分为单个原子、分子间的短程排斥力, 但 2 个物体间的接触区域包含几百或几千个原子, 因此有效排斥力就需要利用连续弹性理论的接触力学模型来描述. 1881 年, Hertz 提出第一个模型——Hertz 模型^[8], 描述了 2 个弹性球体在没有黏附力下的形变; 继而其他研究者发展了 JKR 模型及 DMT 模型, 给出了在存在黏附力时物体形变和施加力间的解析关系式. 一些学者发展了更加精确描述表面间形变、应力和相互作用力的模型^[9~12].

2.2 微悬臂探针的本征振动模式

AFM 微悬臂探针是一个力学系统, 因此可以由

其本征模式及其性质来描述, 一般可以通过数学模型计算或有限元力学分析来得到. 目前已发展出多种替代性的理论和计算方法用于直接求解其运动方程, 如点质量模型、连续悬臂梁模型等^[1,4,13,14].

2.2.1 点质量模型

点质量模型是动态 AFM 系统最简单直接的近似模型. 基于点质量模型的简化运动方程的解析、半解析以及数值解已被广泛应用于具体 AFM 实验中. 在该模型中, 整个微悬臂探针系统近似为一个处于外界激励力和针尖-表面间相互作用力下的点质量弹簧. 该系统的运动方程为一个非线性的二阶偏微分方程, 如(4)式所示:

$$m\ddot{z} = -kz - \frac{m\omega_0}{Q}\dot{z} + F_0 \cos \omega t + F_{\text{ts}}(d), \quad (4)$$

式中, F_0 和 ω 分别是周期性激励力的幅度和角频率; m , Q , ω_0 和 k 分别是微悬臂自身的有效质量、品质因子、角频率和力常数; $F_{\text{ts}}(d)$ 代表所有的针尖-表面间相互作用力。

2.2.2 连续悬臂梁模型

点质量模型不能描述微悬臂梁多个共振(或本征模式)的存在, 因此, 这些模型不能预测微悬臂探针高阶本征模式对微悬臂探针运动的影响. 通过求解改进的欧拉-伯努利方程((5)式)或进行有限元模拟分析, 可以获得微悬臂的连续性特征. 相对于有限元模拟给出的结果, 求解欧拉-伯努利方程得到的解析或半解析解有助于给出 AFM 动力学更加深刻的理解. 这里以截面均匀的矩形微悬臂为例, 其前四阶本征模式的振型及传递函数(振幅响应)如图 2 所示, 图中的频率相对一阶本征模式的频率做了归一化处理, 描述了一维悬臂梁的振幅响应(传递函数)作为激励频率的函数。

$$EI \frac{\partial^4}{\partial x^4} \left[w(x,t) + a_1 \frac{\partial w(x,t)}{\partial t} \right] + \rho W h \frac{\partial^2 w(x,t)}{\partial t^2} = -a_0 \frac{\partial w}{\partial t} + \delta(x-L) [F_{\text{exc}}(x,t) + F_{\text{ts}}(d)], \quad (5)$$

式中, E , ρ 和 I 分别为杨氏模量、质量密度和面积惯性矩; L , W 和 h 分别是微悬臂梁的长度、宽度和厚度; a_0 , a_1 分别表示微悬臂的外部、内部耗散系数; $F_{\text{exc}}(x,t)$ 是激励力; 函数 $\delta(x-L)$ 表示针尖-表面间相互作用力仅施加在悬臂梁端部的针尖上; $F_{\text{ts}}(d)$ 代表所有的针

尖-表面间相互作用力; d 表示瞬时针尖-表面间距离.
对应图 2(a)中, 微悬臂前四阶弯曲本征模式的具体参数, 如表 1 所示.

2.3 微悬臂探针的动力学分析

在 AFM 中, 针尖-表面间相互作用力与其间距呈非线性关系, 而通常的微悬臂振幅大小为 1~10 nm, 大于相关的短程力和范德华力的衰减尺度. 对于原子和分子分辨的 AFM 图像的力, 其衰减长度一般在埃的量级. 一般来说, 针尖-样品间相互作用力的线性部分(衰减尺度大), 主要用于样品的大尺度形貌表征, 而非线性部分具有非常小的衰减长度, 是高分辨成像以及实现样品性质测量的主导因素. 针尖-样品间相互作用力的非线性会在探针的运动中引入非线性部分, 反过来微悬臂探针运动的频率谱中就包含了针尖-样品间的相互作用力非线性的信息^[15].

稳态运动微悬臂探针的实时偏折 z 可以近似用(6)式表示, 描述了一个微悬臂系统所有本征模式的作用, 包含了微悬臂的高次谐振部分. 将上述偏折 z 的表达式代入微悬臂的运动方程, 将代入后得到的方程乘以 $\cos(n\omega t - \phi_n)$ 和 $\sin(n\omega t - \phi_n)$, 然后对一个振动周期进行积分, 最终得到幅度调制和频率调制 AFM 中高次谐振的表达式, 如(7)~(9)式.

$$z = z_0 + \sum_{j=1}^M q_j(t) = z_0 + \sum_{n=1}^N A_n \cos(n\omega t - \phi_n), \quad (6)$$

式中, $q_j(t)$ 表示悬臂的第 j 阶本征模式; z_0 表示悬臂的静态偏转; A_n, ϕ_n 分别是具有角频率 $n\omega$ 谐振下的幅值及相对于激励的相位偏移.

在幅度调制 AFM 中, 高次谐振的振幅 A_n 可以被表示为

$$A_n = S \frac{\omega_0}{k} \times \sqrt{\left(\int_0^T F_{ts}(d) \cos(n\omega t) dt \right)^2 + \left(\int_0^T F_{ts}(d) \sin(n\omega t) dt \right)^2}, \quad (7)$$

$$S \approx \frac{1}{\pi n^2}, \quad n > 3. \quad (8)$$

在频率调制 AFM 中, 高次谐振可以被描述为

$$A_n = \frac{2}{\pi k} \frac{1}{1-n^2} \int_{-1}^1 F_{ts}^n(z_c + z_0 + A_{lu}) \frac{T_n(u)}{\sqrt{1-u^2}} du, \quad (9)$$

式中, $T_n(u)$ 是 n 阶第一类切比雪夫多项式, 且 $u = \cos\omega t$, z_c 是悬臂的平均位置.

理论分析展示了信号中的高次谐振部分, 给出了高次谐振部分依赖于相互作用力波动形式的空间展开, 一阶近似下, 展开形式可以以顶点力(peak

图 2 矩形微悬臂梁的前四阶本征弯曲模式(a)及其振幅响应(b)

表 1 矩形均匀微悬臂前 4 个本征弯曲模式的共振频率、力常数和品质因子

本征模式	频率	力常数	品质因数
n	$\omega_n = \sqrt{\kappa_n / \kappa_1} \omega_1$	$k_n = (\omega_n / \omega_1)^2 k_1$	$Q_n = (\omega_n / \omega_1) Q_1$
1(基础弯曲模式)	$\omega_1 = \omega_0$	K_1	Q_1
2	$6.27 \omega_0$	$39.31 k_1$	$6.27 Q_1$
3	$17.55 \omega_0$	$308 k_1$	$17.55 Q_1$
4	$34.39 \omega_0$	$1183 k_1$	$34.39 Q_1$

force)和接触时间(contact time)进行参数化, 实现在微秒时间范围内样品的动态测量, 包括时间分辨的相互作用力的非线性测量. 高次谐振信号的幅值以 $1/n^2$ 的形式衰减, 与衰减很快的高阶力梯度成比例, 因此高次谐振信号的探测可以大幅提高力探测的空间分辨率. 同时, 材料组成成分高度识别和材料属性信息的量化需求也推动了高次谐振或高阶模式的激励和/或探测方法的发展, 尤其是 MF-AFM 为提取材料物性信息打开了更多的通道.

3 MF-AFM 的技术方法

MF-AFM 是包含如高次谐振(multiharmonic)、双模式(bimodal)、频带激励(band excitation)、频率互调制(intermodulation frequencies)、模式合成(mode-synthesizing)、双频追踪(dual resonance frequency tracking, DRFT)、边频带探测(sideband detection)以及微分法(dip-df method)等一大类 AFM 的新技术^[15,16]. 这些方法可以实现针尖-样品间相互作用力非线性的探测, 因此可以提供更高的灵敏度、分辨率以及更多样品性质的探测.

3.1 高次谐振

高阶谐振的产生与针尖样品间相互作用力的非线性有关, 已有许多实验和理论研究描述了振幅调制 AFM 中产生的高次谐波, 其中一些工作也指出了范德华力和接触硬度对高次谐振部分的影响, 也有人利用这些高次谐振来实验探索样品物性的成像或空间分辨率的提高, 这些工作的核心是谐振与本征模式的耦合. 在点质量模型下推导出高次谐振的振幅随其谐振次数衰减, 但应用于微悬臂梁时需要一些改动. 例如, 当高次谐振频率靠近某个本征共振频率时, 基于共振放大效应, 靠近某个本征模式的高次谐振振幅相对于其附近的高次谐振幅值会有明显的增强. 因此, 可以通过设计特殊的微悬臂来调谐本征模式频率与高次谐振频率的耦合, 大幅提高所探测高次谐振信号的信噪比, 实现高次谐振信号的探测^[17].

对于矩形微悬臂探针, 如图 3 所示, 给出了在基频(最低的共振)激励下微悬臂的谐振频率, 不同谐振的振幅大小受微悬臂共振模式的调制(如横轴上的箭头所示), 其二阶弯曲本征模式的频率 $\omega_2=6.27\omega_0$, 非

图 3 振幅调制 AFM 一维微悬臂探针系统的频谱曲线

常靠近其基频的 6 次谐振($6\omega_0$). 当高次谐振的频率与微悬臂高阶本征模式的频率靠近或一致时, 高次谐振实际上就成为了激励微悬臂高阶模式振动的有效激励力, 即发生了共振, 此时高次谐振的信号会得到显著增强.

微悬臂的本征模式频率主要由其几何模型及材料性质决定, 通过改变微悬臂的几何模型, 可以调谐悬臂的弯曲共振模式频率与基频成整数倍关系. 2004 年, 哈佛大学的 Sahin 等人^[16]通过在传统微悬臂的 $1/3$ 处设置一个方孔, 调谐三阶弯曲本征模式的频率与 16 次谐振频率的耦合, 从而显著增强了 16 次谐振频率的振幅, 实现了高次谐振信号的探测. 2007 年, Sahin 等人^[18]又设计了特殊微悬臂, 如图 4 所示, 他们称这种特殊微悬臂为扭转谐振微悬臂, 在获得传统振幅调制 AFM 形貌像的同时, 通过对扭转信号高次谐振的积分获得了时间分辨的针尖-表面间相互作用力. 相比之下, 扭转谐振微悬臂不仅可以实现平面

图 4 扭转谐振微悬臂及时间分辨的针尖与样品相互作用力^[18]

内力的探测, 还结合弯曲模式实现垂向分辨的探测.

3.2 双模式

双模式 AFM^[19~21]是利用两个激励力来激励微悬臂探针的振动, 激励力的激励频率通常设置在微悬臂的两个本征共振模式下, 其基本原理如图 5 所示, 一般采用微悬臂的前两阶弯曲本征频率进行激励, 一阶模式的振幅输出信号用于表面形貌成像(同传统振幅调制 AFM), 二阶模式的输出信号(振幅或相位偏移)用于对样品表面的力学、磁学以及电学性质等成像. 双模式 AFM 的两个模式具有各自获取和分离出材料性质的信号通道^[23,24], 实现了直接将形貌与其他影响针尖运动的相互作用力的分离.

双模式 AFM, 引人注目的是, 可以在小于 100 pN 的施加力下获得样品形貌和组成成分的图像. 减少施加在样品上力, 最直接的方法是增加针尖-表面间距离, 但这会降低样品形貌和/或耗散像的对比度, 然而, 双模式 AFM 在这些条件下仍可以分辨出观测物体结构. 2007 年, Patil 等人^[25]在同样的条件下对同一免疫球蛋白 G(immunoglobulin G, IgG)抗体分别用振幅调制 AFM 和双模式 AFM 进行成像, 所有图像的成像顶点力都约为 90 pN, 仅有双模式 AFM 的图像

图 5 (网络版彩图)双模式 AFM 技术的原理示意图^[22]

可以分辨出该蛋白质的 3 个亚单元结构, 直接显示出双模式 AFM 的成像优势.

此外, 双模式 AFM 中的调幅-调频模式(AM-FM mode)可以用来研究样品的黏弹性等性质, 利用两个不同频率的激励信号来激励微悬臂振动, 其中低频的振动信号采用振幅调制模式来得到样品形貌, 而高频的振动信号采用频率调制模式来获得共振频率和振幅, 分别反映了样品的硬度(弹性)和能量耗散(黏性).

3.3 频带激励

频带激励法^[26](band excitation)是一种多频激励和探测方法, 其目的是在获取样品形貌的同时获取变化的动力学曲线. 除标准的锁相探测、锁相环探测以及扫频法外, 频带激励法在某一频带范围内的全频率激励和响应检测给出了另外一条技术方案. 频带激励引入了一个含有连续频率带的合成数字信号作为激励信号(具有确定的幅度和相位), 并在同一或更大的频率范围内检测微悬臂响应^[27~31], 通过高速数据获取方法来对图像每一点处的微悬臂响应均进行检测并做傅里叶变换, 如图 6 所示. 在表面上的每一个点收集对应的振幅和频率曲线, 存储成一个三维数据阵列, 分析这些数据可以得到一些能够表征微悬臂行为的相关参数, 例如, 在单谐振子近似下, 共振频率、振幅以及品质因子都可以通过卷积得到并存储起来作为 AFM 图像, 在自适应控制下, 这些参数还可以作为 AFM 的反馈信号.

频带激励法还可以和其他 AFM 技术如磁力显微镜(magnetic force microscopy, MFM)、开尔文探针显

图 6 (网络版彩图)频带激励模式 AFM 技术的原理示意图^[28]

微术(Kelvin probe force microscopy, KPFM)等结合起来使用, 并已用于压电力响应成像和谱学测量(piezo response force microscopy and spectroscopy). 特别是, 频带激励通过区分出阻尼、杨氏模量以及力电响应的贡献, 可以在液体环境下探测软生物材料的力电耦合响应. 例如, 2007 年, Stephen Jesse 利用频带激励方法结合标准磁力显微技术对磁耗散进行成像^[32], 详细介绍见下文能量耗散测量部分.

3.4 频率互调制

双模式激励的概念已被扩展到非共振频率, 例如位于共振附近两侧的 2 个频率^[32,33]. 在这种情形下, 当针尖靠近样品后, 非线性的针尖-表面间相互作用力会产生一套激励频率影响下的新的频率集合, 这些新的频率被称为互调制分量(intermodulation products).

如图 7 所示, 这些分量在基础共振频率附近形成了一系列峰, 其与 2 个激励频率的间距为 $n(f_2 - f_1)$, 微悬臂在 2 个激励频率 f_1 和 f_2 驱动下的振动包含 2 个激励频率的特征. 图 7(a)给出的是微悬臂探针在远离表面时的线性响应, 图 7(b)给出的是存在非线性针尖-表面间距离时的微悬臂响应. 互调分量依赖于针尖-表面间距离, 因此也携带了样品局域性质的影响. 虽然如此, 为了明确新的频率集合与样品表面某个特定性质间的关系, 还需要大量的理论工作.

3.5 模式合成

模式合成 AFM^[26,34]将超声显微镜和动态 AFM 的原理结合起来, 可以用于得到生物或合成材料内

图 7 频率互调制示意图^[32]

(a) 微悬臂探针在远离表面时的线性响应; (b) 存在非线性针尖-表面间距离时的微悬臂响应

部结构的图像. 模式合成 AFM 技术的原理如图 8 所示, 探针和样品由包含一系列已知频率分量的信号进行机械激励. 基于这些频率分量, 针尖-样品间的相互作用将合成出新的模式(signal S). 这些新的模式含有样品亚表面结构的信息. 这一模式中, 微悬臂探针有两个作用: 首先是收集来自表面下的机械波产生亚表面结构的图像; 其次是将机械波与自身频率相混合产生一套新的频率集合. 基于这些振动模式, 针尖-表面间相互作用力合成出新的振动模式, 可以从探测信号 S 与频率的关系曲线上观测到. 经过傅里叶变换可以获得探测信号的频率谱, 新产生的频率分量反映了探针与样品间的纳米力学耦合, 该耦合的核心是针尖-表面间相互作用力的非线性特征. 新的合成振动模式的频率是激励微悬臂探针和样品频率的线性组合. 信号 S 的振幅和相位通过锁相技术(参考信号为合成模式之一)获得, 并可以进一步形成一幅图像. 因此, 每一个模式都可以形成一幅亚表面结构的图像, 且每一幅图像展现出样品内部和/或表面结构的不同特征.

2009 年, Tetard 和 Passian^[34]采用模式合成法对白杨木横截面的细胞进行了成像, 清晰地表征了复杂的有机组织各层细胞壁、细胞核及壳层的性质. 具体方法是对样品和微悬臂探针同时激励, 机械激励样品产生的机械波穿过样品的过程中, 由于受到材料内部特征或结构的相互作用会发生散射, 引起机械波的振幅和相位发生变化, 该变化依赖于内部结构特征的力学性质. 最终, 散射后的机械波会传递到样品表面从而影响针尖-表面间的力学耦合. 对于利用非局域的机械波来产生亚表面结构图像, 面临着理论解释方面的挑战, 例如, 很难直接将变换得到的

图 8 (网络版彩图)模式合成 AFM 技术的原理示意图^[26]

频率和相位偏移信号转换成材料内部结构的信息, 因此新模式的成熟还需要大量的研究工作去做。

3.6 双频追踪

传统的频率追踪是采用标准的锁相环技术实现的, 其根本原理是, 在恒定的驱动力下, 系统响应的幅值和相位与邻近共振间有直接的关系. 基于此共振频率的追踪方法, 相位探测必须满足激励信号相位独立于针尖的位置和驱动频率两个条件, 否则无法解释其成像信号. 大多扫描探针显微镜均是在微悬臂的共振频率下进行激励, 信噪比很高, 但也存在一定的困扰. 例如压电响应力显微镜, 在微悬臂的接触共振下实验, 增加了一个机械放大将有助于材料压电响应的探测, 但同时, 由于电畴方向的确定也依赖于驱动和响应的相对相位, 这将会导致表面形貌和微悬臂相位间形成强烈的串扰, 尤其当微悬臂操作在共振频率或其附近时, 这个影响是无法确定的. 因此发展了双频激励方法, 在 PFM 和类似的技术中, 允许基于幅值的共振频率追踪.

双频追踪技术^[35], 基本原理如图 9(a)所示, 是采用恒定激励振幅和 2 个激励频率(f_1 和 f_2 , 分别位于接触共振频率的两侧)进行激励, 其偏转响应被数字化并送入 2 个分离的锁相放大器, 作为驱动信号的参考, 通过测量这 2 个频率处的幅值 A_1 和 A_2 , 可以确定共振频率的变化并进一步去追踪共振频率. 对于一个典型的表面, 幅值-频率曲线如图 9(b)中实线所示, 测量驱动频率 f_1, f_2 处的响应幅值 A_1 和 A_2 , 两频率间的差 $\Delta f = f_2 - f_1$ 取值选为不小于 2 倍带宽, 典型值大约在 1 kHz 以上. 微悬臂幅值的典型值 A_1 和 A_2 为共振频率处的幅值的一半($A_r/2$), 驱动频率的典型值选择在 $A_2 - A_1 \approx 0$, 这不是一个必要条件. 扫描过程中针尖与样品接触刚度的变化导致响应曲线的偏移, 如图 9(b)中虚线所示, 当响应曲线变化时, 幅值分别变为 A_1' 和 A_2' , 共振频率的减小(增加)导致幅度信号的减小(增加), 使得幅值差 $A_2' - A_1' < 0$ ($A_2' - A_1' > 0$), 因此, 将幅值差分信号可以作为反馈环的输入, 为了保持幅值差为零, 2 个激励频率 f_2, f_1 是不断变化的, Δf 是一个常数, 对于一个对称的峰, 共振频率被定为 $f_c = (f_1 + f_2)/2$, 最终实现了共振频率的追踪. 基于多频激励的频率反馈有多种形式, 包括被测幅值、相位、反相位和正交分量的更复杂的函数, 微悬臂的偏转、横向和/或扭转运动。

图 9 (网络版彩图)双频追踪模式 AFM 技术的原理示意图^[35](a)和响应幅值-频率曲线图(b)

DRFT 技术, 在恒定激励下, 可以从所测量的幅值中量化阻尼和非保守针尖与样品间相互作用, 但是对于 PFM, 阻尼的确定需要其他频率处的测量, 此外, 还可以解决由于多铁材料中存在反平行畴区, 克服了 PFM 的锁相环回路不稳定的问题等。

3.7 微分法

在 FM NC-AFM 中, 主要的测量信号是频率偏移 $\Delta f (\Delta f = f - f_0)$, 其中微悬臂无针尖样品间相互作用时的自由振荡频率为 f_0 , 当存在针尖与样品间相互作用时频率为一变量 f . 频率偏移 Δf 与针尖样品间相互作用力相关, 沿针尖与样品间距离 z 的频率偏移 $\Delta f(z)$ 曲线类似于相互作用力曲线, 如图 10 中的绿线所示. 在长程区域远离样品表面时, 相互作用力几乎为 0. 在接近样品时, 长程范德华吸引力和静电力占主导地位, 产生负的频率偏移 Δf , 随着针尖样品间距离的减小, 当排斥相互作用产生时有一频率偏移 Δf 的最小值, 继续接近样品, 最终排斥力占主导地位, 频率偏移 Δf 变为正值. 当利用 $\Delta f(z)$ 作为反馈环的输入信号进行成像时, 由于 $\Delta f(z)$ 斜率的变化, 以及因环境引起的自由振荡频率的偏移需要不断调节, 因此无法用一个标准的 PID 去实现稳定的反馈。

为实现稳定的反馈, 对频率偏移的求导得 $\dot{\Delta f}(z)$ 曲线, 如图 10 中的橙色虚线所示, 有 1 个根恰与 $\Delta f(z)$ 最小值处相对应, 因此可以采用频率偏移的导数 $\dot{\Delta f}(z)$ 作为成像反馈的输入信号^[32]. 当保持 $\dot{\Delta f}(z) = 0$,

图 10 (网络版彩图)微分法的原理示意图^[35]

成像信号将绘制 $\Delta f(z)$ 为最小值的等值面, 即对每一个横向点, $\Delta f(z)$ 最小值的垂直位置, 但由于 $\Delta f(z)$ 曲线斜率的变化, 依赖于 $\Delta f'(z)$ 单调性的反馈通常不能获得沿 $\Delta f(z)$ 曲线的具体位置。

实验时, 利用锁相原理可以直接获得频率偏移的导数: 采用频率为 f_{mod} , 幅值为 A_{mod} 的信号调制 Z 向压电信号, 然后利用锁相放大器测量频率偏移处响应振荡的幅值和相位. Z 向调制技术已被用于从 $\Delta f(z)$ 曲线上快速识别不同的化学成分, 以及通过测量频率偏移中的高次谐振信号实现非线性 $\Delta f(z)$ 的快速还原。

4 MF-AFM 的前沿应用实例

4.1 高分辨成像

MF-AFM, 可以实现针尖-样品间相互作用力非线性的探测, 因此可以提供更高的灵敏度、分辨率以及更多样品性质的表征. 尤其在液体生理环境下, 对于细胞、蛋白质、聚合物等具有活性的软材料的表征, 也取得了显著的成果. 以蛋白质为例, 不论是蛋白质与其他孤立的蛋白质进行黏合还是嵌入在薄膜上作为细胞受体, 蛋白质的柔韧性都是一个非常重要的参数. 目前利用 MF-AFM 确定蛋白质柔韧性, 在生理环境下蛋白质的结构发生变化过程中, 可以给出皮秒时间尺度的测量。

2002 年, Stark 等人^[17]提出了利用扭转谐振去实现时间分辨的相互作用力反演. 2007 年, Sahin 等人^[18]设计了扭转谐振微悬臂, 大幅提高了基于上述方法探测时间分辨相互作用力的信噪比. 扭转谐振 AFM 可以在获得样品表面形貌的同时得到随时间变化的力, 可以获得样品的力学性质, 如杨氏模量等. 图 11(a)展示了液体环境下嵌入在紫膜上的蛋白质有效杨氏模量(柔韧度)的成像. 最引人注目的是, Sahin 等

人^[18]以 5 nm 的空间分辨率获得了膜内部蛋白质的柔韧度, 展现了细胞质内和细胞外侧蛋白质柔韧性的不同. 通过这种方式, 扭转谐振 AFM 成为了测量基因材料的有效探测工具, 其灵敏度可以到阿摩尔量级, 比现有方法高几个数量级. 此外, 由于双模式技术可以将振幅调制 AFM 和频率调制 AFM 结合起来, 因此可以获得单个蛋白质在微弱力状态下的成像. 如图 11(b)所示, 实现了生理环境下对孤立蛋白质(非入侵)进行形貌和柔韧性成像. 通过形貌像与柔韧度像的对比, 明确了蛋白质各部分的信息, 这些发现与它黏附在细胞表面抗原上的柔韧性的结果是一致的。

近年来, qPlus-AFM 技术发展迅速, 其核心组成是基于石英音叉的 qPlus 型力传感器. qPlus 微悬臂探针可以稳定实现埃量级的小振幅振动, 能够有效探测针尖-样品的短程化学力, 从而获得分子内的原子和化学键以及分子间局域相互作用的实空间成像^[38,39]. 在此基础上, 能不能超越传统原子分辨(原子表现为无特征点或球), 进一步实现原子的外层电子轨道成像, 就成为了高分辨 AFM 成像技术下一步的发展目标. 图 12 示意性描述了针尖与样品原子间相互作用力、力梯度及 5 次力梯度的 AFM 像. 很明显地, 通过直接探测针尖-样品间的相互作用力的高次梯度可以实现更高的空间分辨能力。

图 11 (网络版彩图)蛋白柔韧性的高分辨图像^[36,37]

(a), (b) 液体环境下嵌入在紫膜上的蛋白质有效杨氏模量(柔韧度)的成像; (c), (d) 生理环境下对孤立蛋白质(非入侵)进行形貌和柔韧性成像

 图 12 针尖与样品原子相互作用示意模型(a)及其相互作用力(b)、力梯度(c)和 5 次力梯度(d)的 AFM 成像^[1]

在 qPlus-AFM 成像中, 高次力梯度的探测可以通过获取石英音叉 qPlus 力传感器的高次谐振信号来实现. 然而, 高次谐振的信号幅度非常小, 信噪比很差, 不能有效实现高次力梯度信号的探测. 2004 年, 德国雷根斯堡大学的 Giessibl 教授研究组^[40], 通过高通滤波器和交流-直流转换器, 获取了所有高次谐振信号的叠加信号, 从而初步实现了金属钨原子外层轨道的对称性分布成像. 基于 ANSYS 软件的有限元分析, 我们设计了一种具有特殊形状的高次谐振型石英音叉微悬臂, 模型如图 13(a)所示, 并分析了其传递函数, 如图 13(b)所示. 由图 13(b)可知, 该音叉的 5 次谐振频率与其二阶振动模式频率几乎相一致, 因此, 可以实现五次谐振信号的机械放大, 其具体放大倍数可以从传递函数计算得到. 这种高次谐振型石英音叉微悬臂, 可以为探索实现原子外层电子轨道的技术方法提供一个重要的突破口.

4.2 能量耗散的测量

纳米尺度的能量耗散成像和理解局部结构能量耗散的行为是电子信息技术和高效能源生产领域中最大的挑战. 原子力探针显微术能够在纳米尺度下实现形貌和力测量的能力, 为局域能量耗散的探测

提供了一种技术路径.

传统的磁耗散力显微镜(MDFM), 即磁力显微镜(MFM)的相位探测, 采用 Cleveland 方法分析相位数据. 但 MDFM 成像是由标准的正弦激励和锁相环频率探测实现的, 没有探针传递函数的校准, 不能可靠地探测品质因数的改变. 近些年发展的 MF-AFM 的频带激励方法, 不同于传统 MFM, 可直接获取预定义频率区间内的响应, 解决了这一困扰^[28]. 图 14 分别展示了 YIG 表面的 BE-MFM 形貌、幅值、品质因数和共振频率像. 幅值像仅描述了表面微弱的变化, 频率偏移成像表现出了具有高对比度的花瓣形状(类似于 MFM 中的频率追踪), 品质因数像阐述了由于磁力耗散导致的圆环特征. 基于能量守恒定律, 对于振幅调制 AFM, 在缺陷处的耗散功率如(10)~(12)式所示.

$$P_{\text{dis}} = P_{\text{drive}} - P_0, \quad (10)$$

$$P_{\text{drive}} = \langle F\dot{z} \rangle, \quad (11)$$

$$\begin{aligned} P_{\text{tip}} &= \frac{kA^2\omega}{2Q_0} \left(\frac{A_0}{A} \sin \phi - \frac{\omega}{\omega_0} \right) \\ &= \frac{kA^2\omega}{2Q_0} \left(\frac{Q_0 A_d}{A} \sin \phi - \frac{\omega}{\omega_0} \right), \end{aligned} \quad (12)$$

图 13 (网络版彩图)高次谐振型石英音叉微悬臂模型(a)及其传递函数(b)

图 14 (网络版彩图)YIG 表面基于 BE-MFM 的形貌(a)、幅值(b)、谐振频率(c)和品质因数像(d)^[28]

式中, P_{drive} 是外界激励源提供给针尖的功率; P_0 是所有本征能量耗散的总和(包括环境阻尼和微悬臂自身内部阻尼), 在参考点可以校正为 0; k 表示微悬臂的力常数; ω , A 和 ϕ 分别表示微悬臂的振动频率、振幅和相位; Q_0 , ω_0 分别表示微悬臂自由状态下的品质因子和共振频率; A_d 表示激励源的激励振幅。

BE-MFM 最突出的特点, 是能够对幅值、共振频率及耗散分别测量, 这样可以实现 3 个参数独立的表征, 更主要的是, 这种方法可以被扩展到大部分大气环境和液体 SPM 技术中, 包括开尔文探针力显微镜(KPFM)、静电力显微镜(MFM)、声学显微镜(AFAM)及压电力显微镜(PFM)。

4.3 内部结构的力学全息成像

纳米材料在医学应用方面具有很大的潜能, 例如, 药物输运可能产生的副作用和毒性, 由于纳米粒子极易被雾化, 从而纳米粒子的吸入受到备受关注, 因此具有纳米分辨率的细胞内部纳米粒子的局部种群的成像技术非常重要。由于传统的 AFM 对样品没有足够的机械激励, 只能对样品表面进行表征, 无法获取内部结构的信息。模式合成 AFM 将超声显微镜和动态 AFM 的原理结合起来, 可以用于得到生物或合成材料内部结构的图像。

2008 年, Tetard 等人^[41]合作者基于模式合成原理, 采用扫描近场超声波全息技术实现了细胞内部结构的探测。如图 15 所示, 展示了第一次细胞内硅纳米粒子的观测, 描述了在支气管肺泡灌洗(BAL)液体中,

图 15 (网络版彩图)巨噬细胞的 AFM-形貌像(a)和扫描近场超声波全息成像(b)^[41]

一个置于硅纳米粒子中 6 d 的老鼠巨噬细胞的 AFM 的形貌像和扫描近场超声波全息成像, 他们分别显示了细胞表面和内部纳米粒子的存在。

近场扫描超声波全息成像技术, 相比于传统技术, 具有许多不可比拟的优势, 最主要的是可以实现高分辨率的亚表面结构成像和生物样品中纳米粒子的定位, 另外样品制备较简单, 可以在大气环境下操作, 具有高通量的样品分析使得在合理的时间内可以对一类细胞成像。近场扫描超声波全息成像技术将有益于促进纳米粒子和细胞间相互作用领域研究的发展, 尤其是对特殊细胞类型药物靶向效率的确定, 这是纳米材料医用化发展的决定性目标。

4.4 铁电材料的测量

PFM^[35]又称之为压电响应 AFM(PR-AFM), 可用于表征铁电材料的机电性质, 最简单的实现方式是配置导电针尖的接触模式 AFM 技术。当扫描样品表面时, 在针尖上施加 1 个交流偏压, 针尖与样品表面的电场将会增强, 直到压电样品材料正好处于针尖下方时移去施加的交流偏压。此方式产生的信号非常小, 约几个皮米, 为增大信号则需要施加一个更大的电压或采取其他的放大措施。如果是在微悬臂的接触共振下实验, 增加一个机械放大将有助于材料压电响应的探测, 但是在接触共振下, 沿着表面形貌的弹性模量与接触共振峰值位置会产生严重的耦合, 这将会改变压电响应的幅值, 并且在共振频率处由于横向偏移会产生一个幅值偏移。由于上述耦合, 在表面形貌、材料属性及材料的压电响应间形成强烈的串扰。

双频追踪 AFM 技术的发展, 由于在共振频率处的偏移, 很好地解决了上述困扰。2007 年, Rodriguez 等人^[35]在商业 SPM——Asylum Research MFP-3D 上

实施了 DFRT-PFM 实验, 分别对 Pt-Ir 镀层和 Au 镀层的微悬臂、PZT 晶体表面及一些微弱的压电高分子聚合物进行了测试. 图 16 展示了 PZT 晶体表面的高分辨成像, 在差分对比下, 图 16(a)可以清晰地看到表面上的一系列台阶, 相应的共振频率像图 16(b)解释了由于针尖样品间弹性常数的变化, 共振频率随表面形貌的变化约为 2 kHz. 需要注意的是, 对于共振频率约为 310 kHz, 品质因数约为 100 时, 共振峰的宽度约为 3 kHz. 这表明, 恒定频率 PFM 在共振频率下操作, 非共振频率处的机械响应会产生约 10~100 倍的增益, 同时避免了接触刚度和 PFM 信号间的

图 16 DFRT-PFM 对 PZT 晶体表面的高分辨成像^[35]

(a) 形貌误差信号; (b) 共振频率像; (c)和(d)分别为 PZT 表面的压电响应幅值和相位像

串扰. DFRT-PFM 对 PZT 样品表面的成像, 展示了形貌测量时共振频率明显的变化, 并且在 PFM 幅值中没有形貌影响, 有效的消除了二者间的耦合.

双频追踪技术的发展, 使得 PFM, AFAM 等更加完美, 可以预知在未来的发展中, 此方法将会具有更多的探测频率, 进一步实现 PFM 实验中阻尼的确定及针尖与样品间阻尼变化的测量.

5 结束语

随着材料成像空间分辨率的提高、快速实现样品表征、极微弱力探测以及材料科学和纳米医学等领域的新应用等许多需求的不断涌现, AFM 从单个频率激励和探测发展到多个频率激励和探测, 即 MF-AFM. 多频原子力术, 可视为 AFM 的一个新领域, 相比于传统 AFM, 它为提高材料的成分分辨、空间分辨率等提供了一个颇具前景的技术手段. 目前, 国际上对先进 AFM 的研究, 包括 MF-AFM 等, 已经取得了比较显著的进展, 而国内还相对比较薄弱. 此外, 尽管 MF-AFM 具有很多不可比拟的优势, 但是其动态学行为本质上比传统的动态 AFM 更复杂, 因此量化 MF-AFM、解释和控制多模式微悬臂相互作用的高度非线性以及耗散性的针尖与样品间相互作用势的复杂的动态行为也是一个巨大的挑战和难题. 这需要我们付出更多努力, 在相关技术方法探索、仪器发展以及理论完善等方面做出自己的贡献.

参考文献

- 1 Bhushan B. Springer Handbook of Nanotechnology: Scanning Probe Microscopy. 3rd ed. Berlin: Springer-Verlag, 2010
- 2 Giessibl F J. Advances in atomic force microscopy. Rev Mod Phys, 2003, 75: 949-983
- 3 López-polín G, Gómez-Navarro C, Parente V, et al. Increasing the elastic modulus of graphene by controlled defect creation. Nat Phys, 2015, 11: 26-31
- 4 Garcia R. Amplitude Modulation Atomic Force Microscopy. Weinheim: Wiley-VCH, 2010
- 5 Lim T C. The relationship between Lennard-Jones (12-6) and Morse potential functions. Z Naturforsch Sect A-J Phys Sci, 2003, 58: 615-617
- 6 Lim T C. Decisive role of mathematical methods in early cancer diagnostics: Optimized Padé-based magnetic resonance spectroscopy. J Math Chem, 2007, 42: 1-35
- 7 Butt H J, Capella B, Kappl M. Force measurements with the atomic force microscope: Technique, interpretation and applications. Surf Sci Rep, 2005, 59: 1-152
- 8 Johnson K L. Contact Mechanics. Cambridge: Cambridge University Press, 1985
- 9 Johnson K L, Kendall K, Roberts A D. Surface energy and the contact of elastic solids. Proc R Soc A, 1971, 324: 301-313
- 10 Derjaguin B V, Muller V M, Toporov Y P. Effect of contact deformation on the adhesion of particles. J Colloid Interf Sci, 1975, 53: 314-326

- 11 Maugis D. Adhesion of spheres: The JKR-DMT transition using a dugdale model. *J Colloid Interf Sci*, 1992, 150: 243–269
- 12 Muller V M, Yushchenko V S, Derjaguin B V. General theoretical consideration of the influence of surface forces on contact deformations and the reciprocal adhesion of elastic spherical particles. *J Colloid Interf Sci*, 1983, 92: 92–101
- 13 French A P. *Vibrations and Waves*. New York: W W Norton & Company, 1971
- 14 Lozano J R, Garcia R. Theory of phase spectroscopy in bimodal atomic force microscopy. *Phys Rev B*, 2009, 79: 1–9
- 15 García R, Pérez R. Dynamic atomic force microscopy methods. *Surf Sci Rep*, 2002, 47: 197–301
- 16 Sahin O, Yarlioglu G, Grow R, et al. High-resolution imaging of elastic properties using harmonic cantilevers. *Sensor Actuat A-Phys*, 2004, 114: 183–190
- 17 Stark M, Stark R W, Heckl W M, et al. Inverting dynamic force microscopy: From signals to time-resolved interaction forces. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 8473–8478
- 18 Sahin O, Magonov S, Su C M, et al. An atomic force microscope tip designed to measure time-varying nanomechanical forces. *Nature Nanotechnol*, 2007, 2: 507–514
- 19 Collins L, Jesse S, Balke N, et al. Band excitation Kelvin probe force microscopy utilizing photothermal excitation. *Appl Phys Lett*, 2015, 106: 1–5
- 20 Jesse S, Kumar A, Kalinin S V, et al. Band excitation scanning probe microscopies: Traveling through the Fourier space. *Asylum Res*, 2010, 10: 16
- 21 Ebeling D, Solares S D. Bimodal atomic force microscopy driving the higher eigenmode in frequency-modulation mode: Implementation, advantages, disadvantages and comparison to the open-loop case. *Beilstein J Nanotech*, 2013, 4: 198–207
- 22 Martinez N F, Patil S, Lozano J R, et al. Enhanced compositional sensitivity in atomic force microscopy by the excitation of the first two flexural modes. *Appl Phys Lett*, 2006, 89: 1–3
- 23 Martínez N F, Lozano J R, Herruzo E T, et al. Bimodal atomic force microscopy imaging of isolated antibodies in air and liquids. *Nanotechnology*, 2008, 19: 1–18
- 24 Lozano J R, Garcia R. Theory of multi-frequency atomic force microscopy. *Phys Rev Lett*, 2008, 100: 1–4
- 25 Patil S, Martinez N F, Lozano J R, et al. Force microscopy imaging of individual protein molecules with sub-pico Newton force sensitivity. *Mol Recogn*, 2007, 20: 516–523
- 26 Garcia R. Images from below the surface. *Nature Nanotechnol*, 2010, 5: 101–102
- 27 Jesse S, Kalinin S V, Proksch R, et al. The band excitation method in scanning probe microscopy for rapid mapping of energy dissipation on the nanoscale. *Nanotechnology*, 2007, 18: 1–8
- 28 Mirman B, Kalinin S V. Resonance frequency analysis for surface-coupled atomic force microscopy cantilever in ambient and liquid environments. *Appl Phys Lett*, 2008, 92: 1–3
- 29 Jesse S, Kalinin S V. Principal component and spatial correlation analysis of spectroscopic-imaging data in scanning probe microscopy. *Nanotechnology*, 2009, 20: 1–7
- 30 Collins L, Okatan M B, Li Q, et al. Quantitative 3D-KPFM imaging with simultaneous electrostatic force and force gradient detection. *Nanotechnology*, 2015, 26: 1–10
- 31 Sader J E, Yousefi M, Friend J R. Uncertainty in least-squares fits to the thermal noise spectra of nanomechanical resonators with applications to the atomic force microscope. *Rev Sci Instrum*, 2014, 85: 1–5
- 32 Platz D, Tholén E A, Pesen D, et al. Intermodulation atomic force microscopy. *Appl Phys Lett*, 2008, 92: 153106
- 33 Hutter C, Platz D, Tholen E A, et al. Reconstructing nonlinearities with intermodulation spectroscopy. *Phys Rev Lett*, 2010, 104: 1–4
- 34 Tetard L, Passian A, Thundat T. New modes for subsurface atomic force microscopy through nanomechanical coupling. *Nature Nanotechnol*, 2010, 5: 105–109
- 35 Rodriguez B J, Callahan C, Kalinin S V, et al. Dual-frequency resonance-tracking atomic force microscopy. *Nanotechnology*, 2007, 18: 1–15
- 36 Dong M D, Husale S, Sahin O. Determination of protein structural flexibility by microsecond force spectroscopy. *Nature Nanotechnol*, 2009, 4: 514–517
- 37 Garcia R, Herruzo E T. The emergence of multi-frequency force microscopy. *Nature Nanotechnol*, 2012, 38: 217–226
- 38 Gross L, Mohn F, Moll N, et al. The chemical structure of a molecule resolved by atomic force microscopy. *Science*, 2009, 325: 1110–1114
- 39 Zhang J, Chen P C, Yuan B K, et al. Real-space identification of intermolecular bonding with atomic force microscopy. *Science*, 2013, 342: 611–614
- 40 Hembacher S, Giessibl F J, Mannhart J. Force microscopy with light-atom probes. *Science*, 2004, 305: 380–383

- 41 Tetard L, Passian A, Venmar K T, et al. Imaging nanoparticles in cells by nanomechanical holography. *Nature Nanotechnol*, 2008, 3: 501–505

Multi-frequency atomic force microscopy

ZHENG ZhiYue, XU Rui & CHENG ZhiHai

CAS Center for Excellence in Nanoscience and Key Laboratory of Standardization and Measurement for Nanotechnology, National Center for Nanoscience and Technology, Beijing 100190, China

It has always been the goal of atomic force microscopy to improve the spatial resolution, the data acquisition speed and the detection of material properties continuously. At present, the multi-frequency atomic force microscopy, which is a new technology, in recent years is the most possible mean to achieve the goal. Multi-frequency atomic force microscopy, which includes various methods to characterize the samples' nanoscale properties, drives and/or detects micro-cantilever vibration by using multiple frequency. It can extract the nonlinear signal between tip and sample with a high composition detection sensitivity as well as temporal and spatial imaging resolution. In this paper, we reviews the basic principle of different implementation methods included in the multi-frequency atomic force microscopy, and illustrates them by some cutting-edge applications in high resolution imaging, nanometre mechanics, materials, biological application, etc. In addition, we proposed a special micro-cantilever model of quartz tuning fork that can be used in the multi-frequency atomic force microscopy. Finally, the article looks forward to its future development and applied research.

multi-frequency AFM, nonlinear interactions, higher harmonics, high-order mode

doi: 10.1360/N092015-00246