Analiza utjecajnih veličina na mjerenje parametara topografije površine kod primjene mikroskopa atomskih sila

Carević, Mateo

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Mechanical Engineering and Naval Architecture / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet strojarstva i brodogradnje**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:235:017499

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Mechanical Engineering and Naval Architecture University of Zagreb







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET STROJARSTVA I BRODOGRADNJE

DIPLOMSKI RAD

Mateo Carević

Zagreb, 2020. godina

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET STROJARSTVA I BRODOGRADNJE

DIPLOMSKI RAD

Mentorice:

prof. dr. sc. Biserka Runje
dr. sc. Amalija Horvatić Novak

Student:

Mateo Carević

Zagreb, 2020. godina

Izjavljujem da sam ovaj rad izradio samostalno koristeći znanja stečena tijekom studija i navedenu literaturu.

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Biserki Runje i komentorici dr. sc. Amaliji Horvatić Novak na ukazanom povjerenju, korisnim savjetima kao i konkretnim uputama i vođenju koje su mi pružile za vrijeme pisanja ovog rada. Posebno zahvaljujem asistentu Andreju Razumiću, mag.ing. na strpljivosti, razumijevanju te svim pruženim savjetima i pomoći prilikom izrade rada i provođenja ispitivanja, kao i na dobrom društvu.

Neizmjernu zahvalu upućujem svojoj cijeloj obitelji, mojim najbližima i djevojci koji su me kroz sve godine studija podržavali, savjetovali i pomagali kada je to bilo najpotrebnije.

Mateo Carević

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET STROJARSTVA I BRODOGRADNJE
Središnje povjerenstvo za završne i diplomske ispite
Povjerenstvo za diplomske radove studija strojarstva za smjerove:
proizvodno inženjerstvo, računalno inženjerstvo, industrijsko inženjerstvo i menadžment, inženjerstvo materijala te mehatronika i robotika

Sveučilište u Zagrebu Fakultet strojarstva i brodogradnje	
Datum:	Prilog:
Klasa: 602 - 04 / 20 - 6 / 3	
Ur. broj: 15 - 1703 - 20 -	

DIPLOMSKI ZADATAK

Student: **MATEO CAREVIĆ** Mat. br.: 0035206745

Naslov rada na hrvatskom jeziku: **Analiza utjecajnih veličina na mjerenje parametara topografije površine kod primjene mikroskopa atomskih sila**

Naslov rada na engleskom jeziku: **The analysis of influencing factors on the measurement of surface topography parameters using the atomic force microscope**

Opis zadatka:

Topografija površine uključuje komponente teksture površine, nepravilnosti površine i odstupanja od oblika. Ispitivanja topografije površine na nanorazini provode se primjenom mikroskopa atomskih sila (AFM). Mikroskop atomskih sila pripada grupi mikroskopa s ticalima. AFM radi na principu raster skeniranja pri čemu se skeniranje provodi oštrim vrhom ticala u kontaktnom, beskontaktnom ili isprekidajućem načinu rada. Kod mjerenja topografije površine AFM-om javljaju se različiti utjecajni parametri na rezultate mjerenja.
U radu je potrebno:
- Opisati rad i primjenu mikroskopa atomskih sila.
- Provesti skeniranja uzoraka koristeći različite ulazne parametre skeniranja.
- Analizirati dobivene slike koristeći različite pristupe u dostupnom programu za obradu slika.
- Analizirati utjecaj ulaznih veličina skeniranja na rezultate mjerenja parametara topografije površine propisane normom ISO 25178-2:2012.

U radu je potrebno navesti korištenu literaturu i eventualno dobivenu pomoć.

Zadatak zadan:	Rok predaje rada:	Predviđeni datum obrane:
24. rujna 2020.	26. studenog 2020.	30. studenog do 4. prosinca 2020.

Zadatak zadao:	Komentor:	Predsjednica Povjerenstva:
prof. dr. sc. Biserka Runje	dr. sc. Amalija Horvatić Novak	prof. dr. sc. Biserka Runje

SADRŽAJ

SADRŽAJ III

POPIS SLIKA V

POPIS TABLICA VII

POPIS OZNAKA VIII

POPIS KRATICA IX

SAŽETAK X

SUMMARY XI

1. UVOD 1

1.1. Razvoj nanomjeriteljstva kroz povijest 1

1.2. Usporedba AFM-a s ostalim mikroskopima 2

2. TOPOGRAFIJA I MJERNI UREĐAJI U NANOMJERITELJSTVU 4

2.1. Topografija površine 4

2.2. Mjerni uređaji u nanomjeriteljstvu 5

3. MJERNI UREĐAJI ZA ANALIZU TOPOGRAFIJE POVRŠINE 7

3.1. Uređaji s ticalom 7

3.2. Optički uređaji 10

3.3. Skenirajući mikroskopi 12

3.3.1. Skenirajući elektronski mikroskop 12

3.3.2. Mikroskopi sa skenirajućom sondom 14

4. MIKROSKOP ATOMSKIH SILA 15

4.1. Hardver AFM-a 16

4.1.1. Piezoelektrični pretvarač 17

4.1.2. Pretvarač sile 17

4.1.3. Kontrola povratne veze 18

4.1.4. Postolje 19

4.1.5. Senzor sile 20

4.1.6. Ticalo 21

4.2. Softver AFM-a 22
4.3. AFM korišten u eksperimentalnom dijelu rada 23
5. METODE RADA AFM-a 26
5.1. Topografske metode 26
5.1.1. Kontaktni način 27
5.1.2. Isprekidani način 28
5.1.3. Beskontaktni način 30
5.2. Netopografske metode 32
6. ANALIZA I OBRADA SLIKA DOBIVENIH MIKROSKOPOM ATOMSKIH SILA 33
6.1. Skeniranje uzoraka 34
6.2. Obrada slika 38
6.2.1. Niveliranje 39
6.2.2. Filtriranje 40
6.2.3. Rotiranje, izrezivanje i skaliranje 42
6.2.4. Ispravak pogrešaka 44
6.3. Prikaz slika 45
6.3.1. Prilagodba histograma 45
6.3.2. Paleta boja 45
6.3.3. Sjenčanje 46
6.3.4. 3D prikaz 47
6.4. Analiza slika 49
6.4.1. Linijski profili 49
7. ANALIZA UTJECAJNIH VELIČINA NA PARAMETRE TOPOGRAFIJE 51
7.1. Promjena brzine skeniranja 52
7.2. Promjena rezolucije skeniranja 57
7.3. Promjena veličine područja skeniranja 58
8. ZAKLJUČAK 60
LITERATURA 62

POPIS SLIKA

Slika 1. Usporedba cijene uređaja i njihovih područja skeniranja [9] 2
Slika 2. Komponente profila [10] 5
Slika 3. Uređaji za mjerenje topografije površine [3] 6
Slika 4. Uobičajena konstrukcija uređaja s ticalom [3] 7
Slika 5. Metode 3D mjerenja uređaja s ticalom: a) rasterski [13], b) radijalno [3] 8
Slika 6. 2D kontaktni profilometar [15] 9
Slika 7. a) konstruktivna i b) destruktivna interferencija vala [3] 10
Slika 8. Usporedba skeniranog područja optičkim i uređajem s ticalom [14] 12
Slika 9. Dijelovi SEM-a [3] 13
Slika 10. Promjena oblika piezoelektrika [7] 17
Slika 11. Shema rada pretvarača sile [7] 18
Slika 12. Shematski prikaz povratne kontrole [7] 19
Slika 13. Konfiguracije AFM-a: a) pomicanje uzorka, b) pomicanje ticala [7] 20
Slika 14. Princip rada optičkog senzora [7] 21
Slika 15. Konstrukcija ticala i podloge [7] 22
Slika 16. Postava AFM-a 24
Slika 17. Princip kontaktnog načina rada AFM-a [24] 27
Slika 18. Princip isprekidanog načina rada AFM-a [24] 29
Slika 19. Shematski prikaz postave AFM-a za isprekidani način rada [7] 29
Slika 20. Princip beskontaktnog načina rada AFM-a [24] 31
Slika 21. Beskontaktni režimi rada: a) iznad i b) unutar sloja nečistoća [7] 31
Slika 22. 2D prikaz istog područja skeniranja s parametrima: veličina skeniranog područja 100 µm × 100 µm, brzina skeniranja 0,25 Hz, rezolucija skeniranja: a) 128, b) 256, c) 512 35
Slika 23. 3D prikaz istog područja skeniranja s parametrima: veličina skeniranog područja 100 µm × 100 µm, brzina skeniranja 0,25 Hz, rezolucija skeniranja: a) 128, b) 256, c) 512 37
Slika 24. Polazni zapis slike s AFM-a 39
Slika 25. Usporedba područja skeniranja: a) prije niveliranja, b) nakon niveliranja 40

Slika 26. Usporedba iste površine filtrirane Gaussovim filtrom granične vrijednosti: a) 25 µm, b) 8 µm, c) 2,5 µm, d) 0,8 µm.....41
Slika 27. Usporedba područja skeniranja: a) prije, b) nakon poravnanja s vertikalnom osi.43
Slika 28. Tehnika uklanjanja linije skeniranja s pogreškom.....44
Slika 29. Usporedba iste slike u različitim paletama boje: a) dugine boje, b) sivi tonovi....46
Slika 30. Usporedba istog područja skeniranja a) prije i b) poslije primjene sjenčanja 47
Slika 31. Usporedba istog područja skeniranja s promijenjenom skalom *Z* osi.....48
Slika 32. Linijski profil odabran na skeniranom području.....50
Slika 33. Intervali pouzdanosti svake aritmetičke sredine parametara u odnosu na brzinu skeniranja: a) *Sq*, b) *Ssk*, c) *Sku*, d) *Sp*, e) *Sv*, f) *Sz*, g) *Sa*.....56

POPIS TABLICA

Tablica 1. Usporedba parametara topografije nefiltrirane i filtriranih slika 42
Tablica 2. Usporedba parametara topografije za različite brzine skeniranja 53
Tablica 3. *P*-vrijednosti amplitudnih parametara topografije 54
Tablica 4. Parametri topografije za područje 100 µm × 100 µm i brzinu skeniranja 0,25 Hz 57
Tablica 5. Parametri topografije za područje 50 µm × 50 µm i brzinu skeniranja 0,5 Hz 58
Tablica 6. Parametri topografije za područje 20 µm × 20 µm i brzinu skeniranja 1 Hz 58
Tablica 7. Parametri topografije za rezoluciju skeniranja 512 i pripadajuće brzine skeniranja odabranih područja 59

POPIS OZNAKA

Oznaka	Mjerna jedinica	Opis oznake
D	m	udaljenost progiba
F	N	sila između ticala i površine uzorka
k	N/m	konstanta sila ticala
s	nm	standardna devijacija
Sa	nm	srednje aritmetičko odstupanje profila
Sku		mjera oštrine profila
Sp	nm	najveća visina profila unutar promatranog područja
Sq	nm	kvadratno odstupanje unutar vrha profila
Ssk		asimetričnost
Sv	nm	najveća dubina profila unutar promatranog područja
$\bar{x}$	nm	aritmetička sredina
α		razina značajnosti testa
μ	nm	očekivana vrijednost pojedinog parametra topografije

POPIS KRATICA

Kratica	**Opis**
AFM	*Atomic Force Microscope* – Mikroskop atomskih sila
ANOVA	*Analysis of Variance* – Analiza varijance
ISO	*International organization for standardization* – Međunarodna organizacija za standardizaciju
SEM	*Scanning Electron Microscope* – Skenirajući elektronski mikroskop
SPM	*Scanning Probe Microscope* – Mikroskop sa skenirajućim ticalom
STM	*Scanning Tunelling Microscope* – Skenirajući tunelski mikroskop
TEM	*Transmission Electron Microscope* – Transmisijski elektronski mikroskop

SAŽETAK

Topografija površine svih materijala uključuje tri osnovne komponente. Te komponente su hrapavost, nepravilnost površine (valovitost) i odstupanje od oblika. Kako bi se ispitala topografija površine nekog materijala na nanorazini, neizbježna je upotreba mikroskopa atomskih sila (AFM). Mikroskop atomskih sila pripada grupi mikroskopa s ticalima i radi na principu raster skeniranja površine uzoraka ticalom oštrog vrha. AFM ima mogućnost skeniranja površine uzorka kontaktnim načinom, beskontaktnim načinom ili isprekidajućim načinom rada.

U prvom dijelu ovog rada detaljno je opisan rad i primjena mikroskopa atomskih sila. U drugom dijelu rada, s ciljem analize topografije površine, provedena su mjerenja mikroskopom atomskih sila odabranog uzorka s različitim ulaznim parametrima. Topografija površine uzorka na dobivenim slikama analizirana je i obrađena probnom verzijom programa za obradu slika – *Mountains SPIP*. Analiziran je utjecaj ulaznih veličina skeniranja na površinske parametre topografije rezultata mjerenja propisane normom ISO 25178-2:2012. Za analizu i statističku obradu podataka korišten je program *Minitab 19* (probna verzija). Eksperimentalni dio rada proveden je na Fakulteta strojarstva i brodogradnje Sveučilišta u Zagrebu.

Ključne riječi: mikroskop atomskih sila, topografija površine, utjecajne veličine

SUMMARY

Surface topography of all materials includes three basic components. These components are roughness, surface irregularity (waviness) and deviation from shape. In order to examine surface topography of a material at nanoscale level, the use of Atomic force microscope (AFM) is inevitable. The AFM belongs to the group of microscopes with probe and works on the principle of raster scanning of the surface of samples with a sharp-tipped probe. AFM has the ability to scan samples surface by contact mode, non-contact mode or tapping mode. When analyzing the topography of the surface, a number of influential parameters appear on the measurement results, and this will be more detailed analyzed in this paper.

The first part of this paper describes in detail the operation and application of the atomic force microscope. In the second part of the paper, with the aim of analyzing the surface topography, measurements of a selected sample with different input parameters were performed by the atomic force microscope. The topography of the sample surface on the obtained images was analyzed and processed by a trial version of the image processing program – *Mountains SPIP*. The influence of scan input values on surface parameters of topography of measurement results prescribed by ISO 25178-2: 2012 standard was analyzed. *Minitab 19* (trial version) was used for analysis and statistical data processing. The experimental part of the work was performed at the Faculty of Mechanical Engineering and Naval Architecture, University of Zagreb.

Key words: Atomic force microscope, surface topography, influential quantities

1. UVOD

Tijekom 21. stoljeća nanomaterijali su postali sve popularniji u industrijskoj primjeni i u primjeni proizvoda široke potrošnje. Kako se nanomaterijali (poznati i kao napredni materijali) razvijaju sve više u obje navedene primjene, povećava se standard koji je potrebno zadovoljiti u vidu kontrole takvih materijala [1]. Povećanjem standarda pojavljuje se potreba za razvojem opreme i tehnologije potrebne za provedbu analiza i karakterizacije takvih naprednih materijala kako bi se osiguralo maksimalno iskorištenje njihovih potencijala.

1.1. Razvoj nanomjeriteljstva kroz povijest

Želja za razvojem tehnologija kojima se može proučavati struktura materijala na nanorazini postoji još od sedamdesetih godina 20. stoljeća kada je profesor Norio Taniguchi prvi puta upotrijebio riječ nanotehnologija [2]. Nanotehnologija predstavlja bilo koju tehnologiju koja se nalazi u području nanoskale, a sam taj termin obuhvaća proizvodnju i primjenu fizikalnih, kemijskih i bioloških sustava na razini atoma ili molekula submikrometarske veličine. Područje nanotehnologije se ubrzo proširilo na područja kao što su materijali, nanoelektronika, medicina, energija, biotehnologija i informatička tehnologija [3].

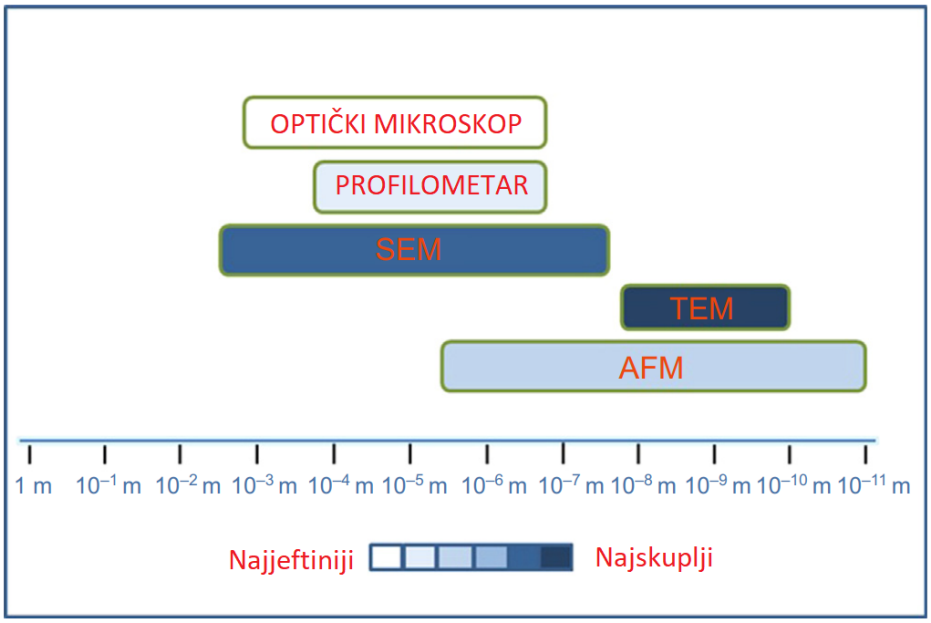
Nešto kasnije, točnije 1981. godine razvijen je prvi uređaj koji je potaknuo postupan razvoj nanotehnologije i tada je po prvi puta omogućeno proučavanje atoma na površini materijala [2]. Taj uređaj naziva se skenirajući tunelski mikroskop (engl. *Scanning Tunnelling Microscope* – STM) i preteča je nekoliko vrsta mikroskopa od kojih je danas najpopularniji mikroskop atomskih sila (engl. *Atomic Force Microscope* – AFM) [4]. AFM je jedno od najvećih postignuća u području znanosti koje se bavi proučavanjem struktura na nanorazini. Jedinstvena sposobnost AFM-a u identificiranju svojstava nepoznatih čestica, stvaranju precizne i detaljne slike čestica te njihove topografije samo su neke od izvanrednih značajki ovog mikroskopa [5]. U posljednja dva desetljeća zabilježen je velik napredak u razvoju mjerne opreme u području nanomjeriteljstva, a posebno u razvoju pretražnih mikroskopa razlučivosti na razini od 0,1 nm [3].

1.2. Usporedba AFM-a s ostalim mikroskopima

Ispitivanja uzoraka na AFM-u mogu se provesti u raznim otopinama na određenoj temperaturi kako bi se pratile biološke reakcije u realnom vremenu [6]. Analize na vrlo malim površinama, veličine 5 nm × 5 nm, mogu prikazati do nekoliko desetaka individualnih atoma kako bi se prikupile informacije o kristalografskoj strukturi materijala. Analizom površine na području 100 µm × 100 µm ili većoj, mogu se mjeriti i prikazati oblici i veličina živih stanica [7].

Uspoređujući AFM u vidu mogućnosti ispitivanja uzoraka u raznim medijima sa skenirajućim elektronskim mikroskopom (engl. *Scanning Electron Microscope* – SEM) i transmisijskim elektronskim mikroskopom (engl. *Transmission Electron Microscope* – TEM), AFM je daleko u prednosti. AFM za razliku od SEM-a i TEM-a omogućuje analizu uzoraka na zraku, u vodenim otopinama i vakuumu pri relativno širokom temperaturnom spektru dok SEM i TEM omogućuju analizu uzoraka samo u vakuumu [8]. Nadalje, uspoređujući veličinu samog uređaja, AFM je u usporedbi s ranije spomenuta dva mikroskopa daleko najmanji. To znači da je prikladan za smještanje i u urede i učionice što ga čini pristupačnim u edukacijske svrhe, a uz to, za rukovanje AFM-om nisu potrebne posebne vještine i prethodno iskustvo [9].

U nastavku (Slika 1.) je ilustrativni prikaz usporedba cijena i razine područja skeniranja AFM-a s ostalim uređajima za provođenje mjerenja na površini uzorka.



Slika 1. Usporedba cijene uređaja i njihovih područja skeniranja [9]

Slika 1. jasno prikazuje kako je AFM jeftiniji od SEM-a i TEM-a, a od njega su samo jeftiniji profilometar i optički mikroskop. Također, može se uočiti kako od svih prikazanih uređaja upravo AFM ima najveću rezoluciju skeniranja.

Jedna od najvećih prednosti AFM-a je što omogućuje analizu površine bilo da se radi o tvrdim uzorcima poput keramike i metala, ili mekanim uzorcima poput visoko fleksibilnih polimera, ljudskih stanica ili pojedinih molekula DNK bez da razara strukture na površini uzorka [7]. Nadalje, priprema uzoraka znatno je jednostavnija u usporedbi s TEM i SEM mikroskopom [8].

Kako zbog svih navedenih prednosti tako i zbog svoje mogućnosti spektroskopskog načina rada, AFM se primjenjuje u svim granama znanosti, poput kemije, biologije, fizike, znanosti o materijalima, nanotehnologiji, medicini i mnogim drugim. Svaki od laboratorija navedenih grana znanosti mogu se pouzdati u slike visoke rezolucije dobivene pomoću AFM-a, ali i širokom spektru uzoraka koji se mogu proučavati [7].

2. TOPOGRAFIJA I MJERNI UREĐAJI U NANOMJERITELJSTVU

2.1. Topografija površine

Svaka tehnička površina u nekoj mjeri pokazuje određena odstupanja oblikom i strukturom u odnosu na takvu idealnu površinu. U današnjem svijetu u kojem je kvaliteta proizvoda glavni faktor koji osigurava uspješnost njegove prodaje, sve više truda i vremena ulaže se u razvoj tehnologija obrade površina koje daju takvu traženu kvalitetu. Uz to se paralelno razvija i tehnologija koja proučava takvo stanje površina koje se ocjenjuje na temelju parametara hrapavosti koja su nerijetko u području nanometarskih mjerenja [10].

Kod definiranja oblika površine razlikuju se dva pristupa – morfologija i topografija. Morfologija je kvalitativni uvid u površinu i može se dobiti primjenom skenirajućeg elektronskog mikroskopa dok topografija daje brojčane informacije o elementima na površini iz kojih se lako izračunaju parametri hrapavosti [11]. Topografija površine kao jedan od glavnih pokazatelja kvalitete površine ima ključnu ulogu pri određivanju mehaničkih i triboloških svojstava proizvoda. Imajući to u vidu, važno je pratiti stanje površine kako bi što lakše predviđalo ponašanje materijala u određenim eksploatacijskim uvjetima.

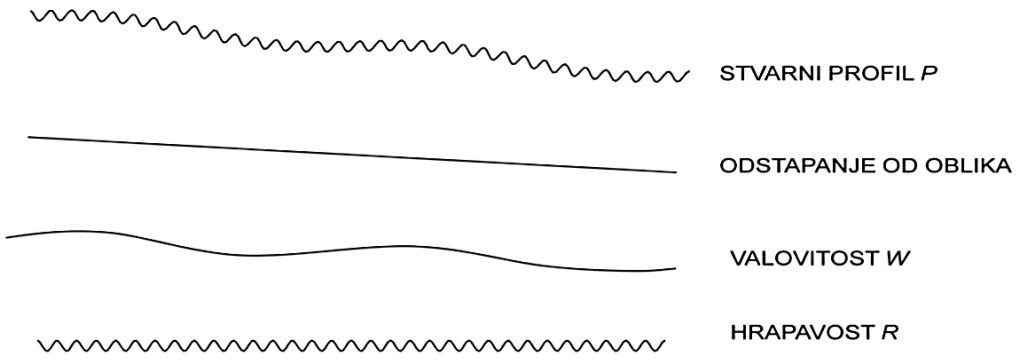
Na površini koja je nastala nekim od brojnih postupaka obrade nailazi se na četiri osnovne grupe površinskih odstupanja od idealne površine, a to su [10]:

- površinske greške
- odstupanja od oblika
- valovitost
- hrapavost.

Površinska greška podrazumijeva odstupanje dijela površine od predviđenog geometrijskog oblika nastalog prilikom ili nakon oblikovanja proizvoda. Pod pojmom površinske greške smatraju se nenamjerne i neželjene značajke površine koje podrazumijevaju ogrebotine, pukotine, pore, uključine, itd.

Preostala tri ranije navedena pojma odnose se na mjerenje hrapavosti tehničkih površina dvodimenzionalnim mjernim sustavom. Takav mjerni sustav temelji se na mjerenju profila u dvije dimenzije na temelju kojih se računaju parametri hrapavosti. Elektro-

mehanički uređaj s ticalom prelazi preko površine snimajući primarni (stvarni) profil koji se sastoji od te 3 komponente. Stvarni profil površine predstavlja presjek stvarne površine određenom ravninom. Slika 2. prikazuje spomenute 3 komponente profila [10].



Slika 2. Komponente profila [10]

Odstupanje od oblika obuhvaća odstupanje od zadane geometrije proizvoda, a može biti rezultat velikog broja grešaka koje se javljaju tijekom proizvodnog procesa.

Valovitost se prikazuje u obliku dugih valova promatranih na samoj površini u odnosu na geometrijsku površinu, a javlja se tijekom proizvodnog procesa uslijed nepravilnosti u materijalu, neispravnog rada obradnog stroja, neispravnih alata i slično. Valovitost je komponenta profila koja sadrži i komponentu hrapavosti.

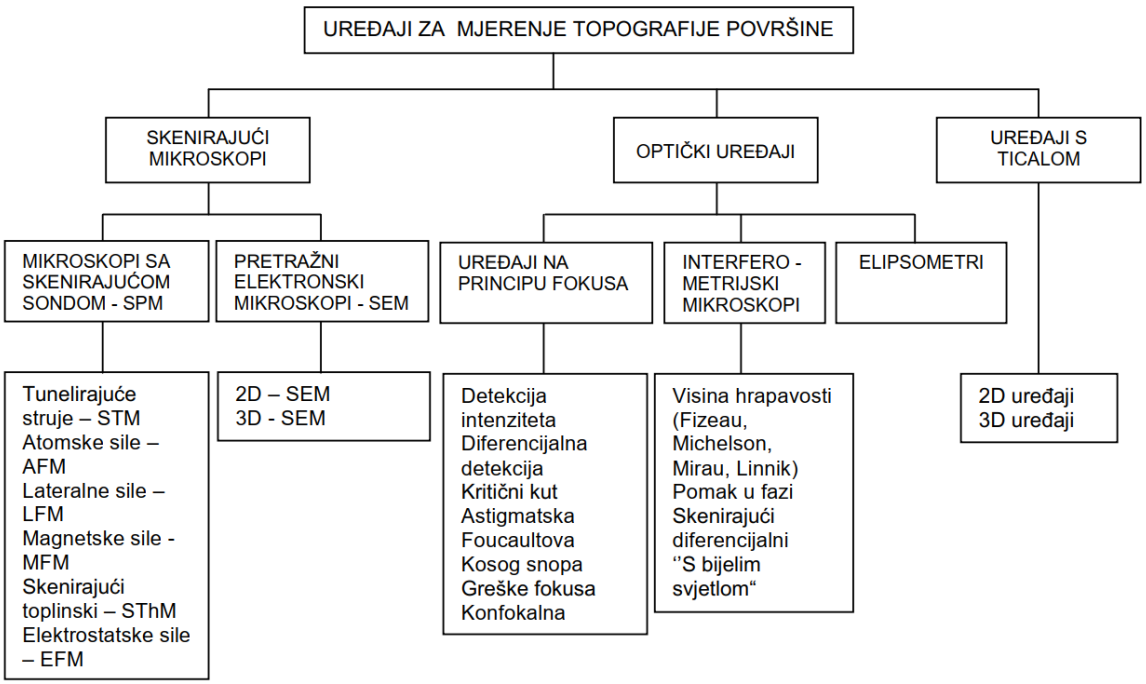
Hrapavost predstavlja skup mikro-geometrijskih nepravilnosti površine predmeta, odnosno uključuje kratkovalne nepravilnosti površine. Kvantificirana je vertikalnim odstupanjima stvarne površine u odnosu na njen idealni oblik. Kod takvih većih odstupanja površina se generalno smatra grubom, a kod manjih odstupanja se smatra glatkom. Hrapavost je rezultat nepravilnosti površine svojstvene postupkom obrade, a ne samog stroja, dakle posljedica je proizvodnog procesa. To je komponenta koja ne uključuje valovitost, odstupanje od oblika i površinske greške [10].

2.2. Mjerni uređaji u nanomjeriteljstvu

Mjerni uređaji su neizostavni dio mjeriteljstva pa će u nastavku ovog rada (Slika 3.) biti prikazani i detaljnije opisani mjerni uređaji koji se koriste u nanomjeriteljstvu. AFM koji

je tema ovog rada, može se svrstati i u skupinu uređaja s ticalom, a ne samo u skupinu uređaja sa skenirajućom sondom kako je prikazano na slici u nastavku. Uređaji i mjerne metode koji zadovoljavaju zahtjeve mjerenja u mikro- i nanopodručju dijele se na [3]:

- Skenirajuće mikroskope:
  - Mikroskope sa skenirajućom sondom.
  - Pretražne elektronske mikroskope.
- Optičke uređaje:
  - Uređaje na principu fokusa.
  - Interferometrijske mikroskope.
  - Elipsometre.
- Uređaje s ticalom.



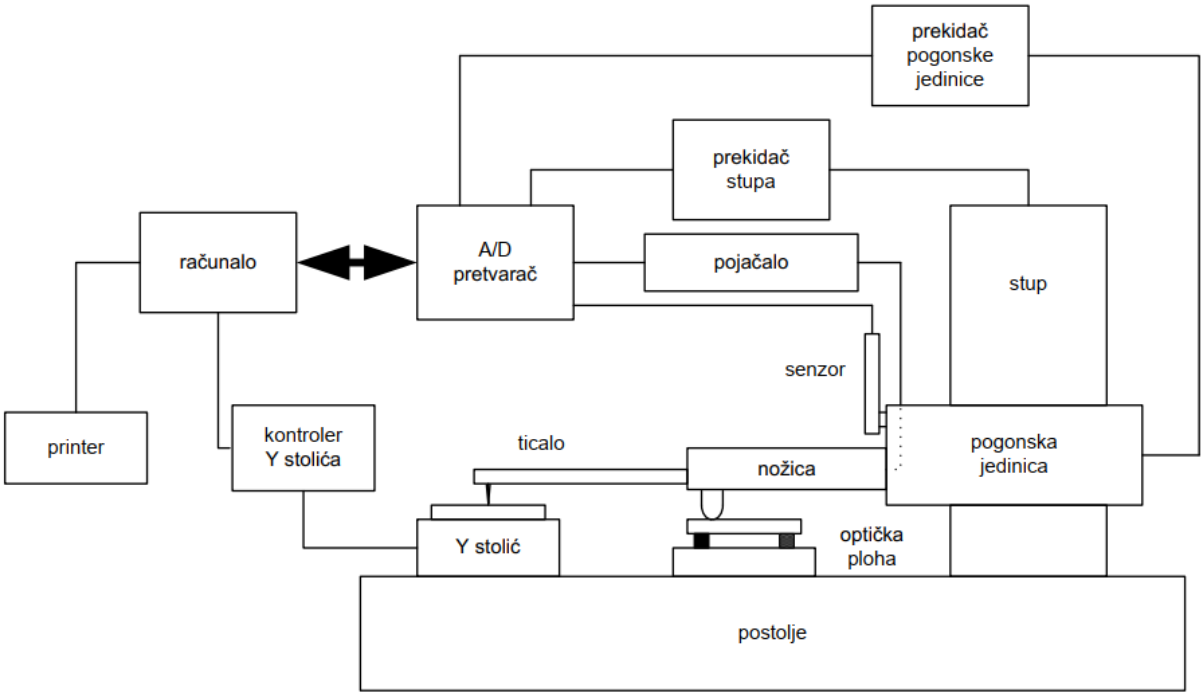
Slika 3. Uređaji za mjerenje topografije površine [3]

Kako bi se pobliže opisao mjerni uređaj korišten u svrhu analize u ovom radu – AFM, fokus će se zadržati samo na uređajima srodnim njemu te će biti ukratko opisani u nastavku rada.

3. MJERNI UREĐAJI ZA ANALIZU TOPOGRAFIJE POVRŠINE

3.1. Uređaji s ticalom

Uređaji s ticalom, generalno su uređaji koji su najdulje u primjeni ispitivanja topografije površine. Profilometar kao najpopularniji mjerni uređaj s ticalom služi za karakterizaciju topografije površine, odnosno za određivanje parametara hrapavosti, teksture i valovitosti površine uzorka. Slika 4. prikazuje uobičajenu konstrukciju uređaja s ticalom [3].



Slika 4. Uobičajena konstrukcija uređaja s ticalom [3]

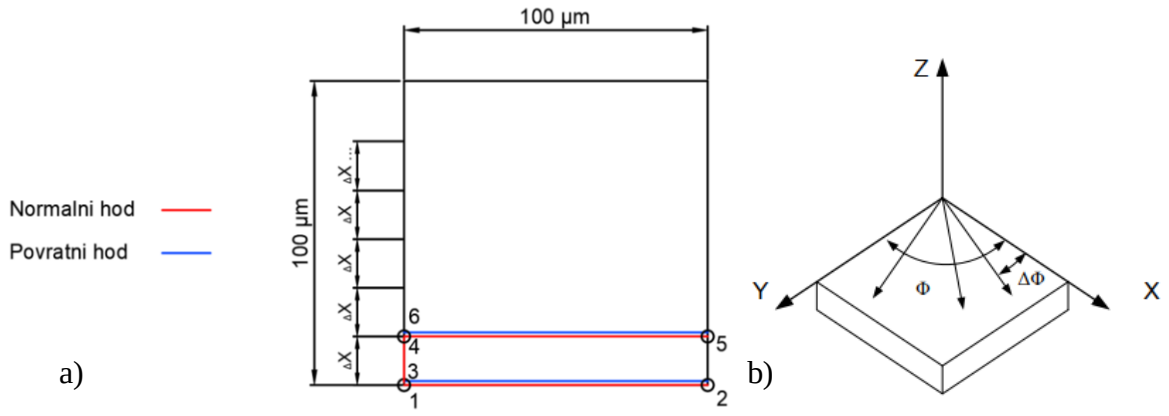
Računalo u ovom slučaju predstavlja „mozak“, odnosno upravljački centar koji kontrolira proces mjerenja od početka do kraja izvođenja mjerenja. Translacija u *X* smjeru ostvaruje se pomoću linearnog motora unutar pogonske jedinice. Odnos optičke plohe ispod nožice i *Y* stolića ostvaruje održavanje mjerne ravnine. Prelaskom ticala po površini uzorka, nožica pretvara mehaničko gibanje ticala u analogni signal. Taj analogni signal je pojačan pomoću pojačala, digitaliziran u A/D pretvaraču i zatim odveden do računala [12].

Samo ispitivanje površine provodi se pomoću vrha ticala koja se pomiče duž pravca mjerenja. Prilikom uzdužnog prelaska vrha ticala po površini, nailazeći na neravnine s površine pomiče se u vertikalnom smjeru proporcionalno tim neravninama i pretvara te pomake pomoću pretvornika (induktivnog, piezoelektričnog ili optičkog) u električni signal. Na osnovu tog električnog signala stvara se stvarna slika profila koja može biti zapisana u obliku dijagramskog zapisa na temelju kojeg se može odrediti jedan ili više parametara topografije.

Elemente uređaja s ticalom može se podijeliti u dvije osnovne grupe, razlikujući ih prema funkciji. To su sklopovi namijenjeni vođenju i pretvorbi mehaničkog pomaka vrha ticala u električni signal koji se sastoje od ticala i mjerne glave ili sklopovi namijenjeni obradi dobivenog električnog signala koji se sastoje od pisača i računalne jedinice [12].

Za različite konstrukcijske izvedbe ticala osnovni elementi su uvijek isti, a to su vrh ticala, pretvornik i referentna površina za relativno vođenje ticala koja može biti u dvije izvedbe u obliku nožice ili ravnine. Idealna dodirna površina između ticala i ispitivane površne, s mjeriteljskog stajališta, bi trebala biti u matematički definiranoj jednoj točki. S obzirom na konstrukciju vrha ticala, taj uvjet nije ostvariv s obzirom na to da se vrh izrađuje od dijamanta ili safira stožastog ili piramidalnog oblika sa zaobljenim vrhom [12].

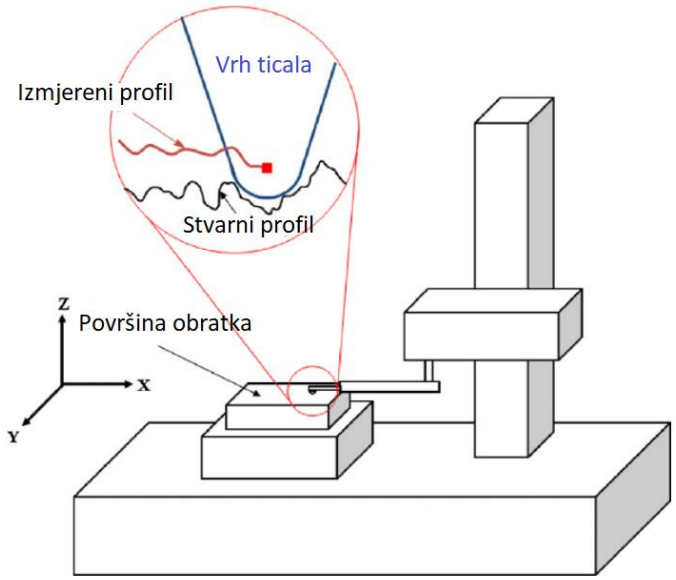
Kod uređaja s ticalom razlikuju se 2D i 3D uređaji s ticalom. Kod 2D uređaja ticalom s vrhom iznimno malog radijusa prelazi preko mjerne površine samo u jednom smjeru (jednoj liniji) i pretvornik pretvara vertikalno gibanje ticala u električni signal. Kod 3D uređaja prisutna je još jedna dimenzija skeniranja površine uzorka. U nastavku (Slika 5.) su prikazana dva načina na koja 3D uređaj ostvaruje tu treću dimenziju prilikom skeniranja [3].



Slika 5. Metode 3D mjerenja uređaja s ticalom: a) rasterski [13], b) radijalno [3]

Prilikom rasterskog snimanja ticalo prelazi preko površine uzorka u više paralelnih prolaza. Tako su prve dvije dimenzije (*X i Z*) ostvarene snimanjem 2D profila od točke 1 do točke 2 i povratnim hodom od točke 2 do točke 3 dok je treća dimenzija (*Y*) realizirana snimanjem paralelnih linija na površini profila – posmakom od točke 3 do točke 4 (Slika 5. a)). Kod radijalnog snimanja tri dimenzije ostvaruju se tako da se profili snimaju u odnosu na radijalne krugove od jedne određene početne točke s kutnim pomakom. Zbog teške izvedivosti same konstrukcije ovakvih uređaja, ta metoda se danas rijetko koristi [3].

U 2D uređaje s ticalom spada kontaktni profilometar koji se i najčešće koristi u primjeni, a karakterizira ga fizički kontakt vrha ticala s površinom materijala preko koje prelazi. Kod kontaktnog profilometra određuju se parametri poput sile povlačenja i brzine skeniranja ovisno o ispitivanom materijalu. Tipični profilometar mjeri i vrlo male vertikalne pomake ticala, u rasponu od 10 nm do 1 mm ako je radijus dijamantnog vrha ticala od 20 nm do 50 μm [14]. Slika 6. prikazuje 2D kontaktni profilometar.

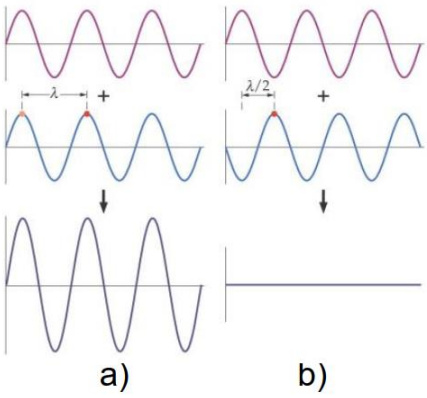


Slika 6. 2D kontaktni profilometar [15]

Ono što je uočljivo sa slike je da izmjereni profil pomoću profilometra ne odgovara u potpunosti stvarnom profilu i to se naziva distorzija profila. Razlog tome je oblik i veličina vrha ticala koje može biti veće od pojedinih geometrijskih značajki (npr. neravnina) profila stvara zaglađenu sliku stvarnog profila. Ta pojava naziva se i efekt vrha ticala [15].

3.2. Optički uređaji

Beskontaktni profilometar kao najčešće korišteni optički uređaj radi na principu interferencije svjetlosti. Interferencija svjetlosti je međusobno djelovanje svjetlosnih tokova iz barem dva izvora koji moraju uzrokovati pojačavanje ili slabljenje intenziteta rezultantnog vala svjetlosti. Najvažnije veličine za promatranje u tom slučaju su amplituda i faza vala. Valna duljina je udaljenost između dvije točke nekog vala u kojima je stanje titranja jednako. Ukupna amplituda kao uzrok kombinacije valova je algebarska suma amplituda pojedinačnih valova. Valovi mogu interferirati konstruktivno i destruktivno. Ako je interferencija konstruktivna, valovi u konačnici daju val veće amplitude, a ako je interferencija destruktivna, valovi u konačnici smanjuju ukupnu amplitudu vala (Slika 7.) [3].



Slika 7. a) konstruktivna i b) destruktivna interferencija vala [3]

Da bi došlo do pojave interferencije, oba svjetlosna vala moraju biti koherentna. To znači da moraju biti zadovoljeni sljedeći uvjeti [3]:

- Istovremena interferencija valova u području promatranja.
- Stalni pomaci faza tokom dovoljno dugog vremenskog perioda.
- Iste valne duljine valova.
- Gibanje valova u istoj ravnini.

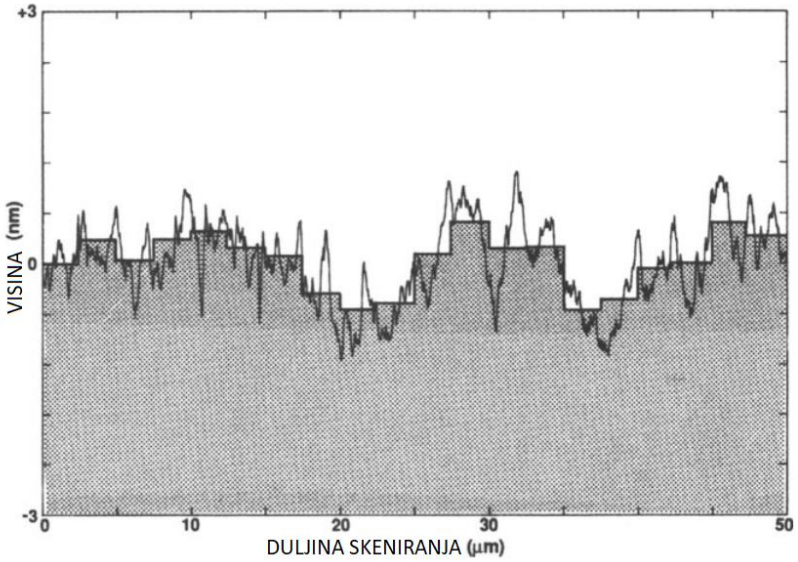
Beskontaktni profilometar umjesto ticala koristi svjetlo kao mjerni instrument. Ti mjerni instrumenti mogu varirati u načinu dovođenja svjetla na uzorak, ovisno o uzorcima

koje se promatra. Beskontaktni instrumenti mogu se izvesti i iz kontaktnih detektora tako što se detektori za kontaktno ispitivanje zamijene optičkim senzorima i mikroskopima [16]. Beskontaktni profilometar koji koristi tehnologiju aksijalnog kromatizma bijele svjetlosti mjeri visinu izravno pomoću detekcije valne duljine svjetlosti koja pogodi fokusiranu površinu uzorka. Takav uređaj omogućuje 3D prikaz slike koja omogućuje potpuni uvid u topografiju površine uzorka neovisno radi li se o reflektirajućim, prozirnim ili zakrivljenim uzorcima [17]. Jedna od prednosti beskontaktnih profilometra je upravo u tome što ne dodiruju površinu uzorka pa je samim time ne mogu ni oštetiti ili što je još važnije površina uzorka ne može oštetiti mjerni instrument koji često zna biti jedan od skupljih dijelova opreme za mjerenje. To znači da se može analizirati topografija svih vrsta uzoraka, od onih najmekših i najosjetljivijih do najtvrđih.

Kod beskontaktnih profilometara razlikuje se nekoliko vrsta:

- standardni
- prenosivi
- kompaktni
- visoko brzinski.

Od svih navedenih prednosti optičkih uređaja treba istaknuti i jedan glavni nedostatak u odnosu na uređaje s ticalom. Nedostatak je u tome što optički profilometri imaju nižu poprečnu razlučivost u odnosu na kontaktne profilometre skenirajući istu duljinu profila uzorka. Niz detektora koji se koriste kod optičkih uređaja imaju određen broj piksela, obično 1024 × 1024, za slike snimljene svim objektivima mikroskopa. Površina uzorka koja odgovara jednom pikselu ovisi o valnoj duljini osvjetljenja uređaja, povećanju uređaja, ograničavajućoj difrakciji objektiva, udaljenosti piksela, itd. Nadalje, uređaj s ticalom je fleksibilniji pri izboru intervala uzorkovanja (duljine ispitivanja), što znači da se može mjeriti više podataka po jednoj liniji ispitivanja za razliku od ograničenog broja piksela u polju detektora optičkog uređaja. Na slici u nastavku (Slika 8.) shematski je prikazana usporedba istog područja na kojem je provedeno ispitivanje hrapavosti uređajem s ticalom i optičkim uređajem. Kod uređaja s ticalom korišteno je ticalo s dijamantnim vrhom radijusa oko 1 μm [14].



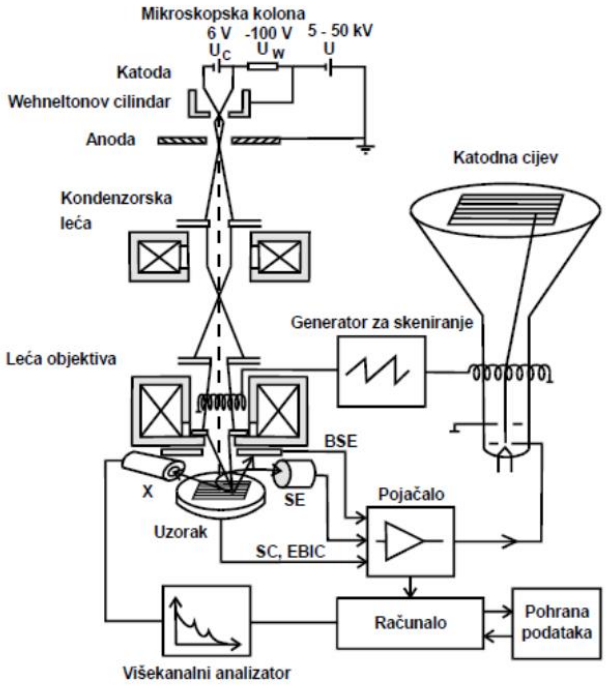
Slika 8. Usporedba skeniranog područja optičkim i uređajem s ticalom [14]

Sa slike je uočljiv efekt uprosječivanja visine profila kod skeniranja beskontaktnim uređajem (četvrtasti profil sa slike), a usporedno je prikazan i profil snimljen uređajem s ticalom. Kod profila snimljenog uređajem s ticalom uočava se povećanje visine profila u vertikalnom smjeru u odnosu na profil snimljen optičkim mikroskopom. Tu je jasno vidljiva upravo ta spomenuta bolja poprečna razlučivost uređaja s ticalom, odnosno profil je puno detaljnije i točnije prikazan u odnosu na stvarni profil. Bolja poprečna razlučivost optičkog uređaja može se postići korištenjem uređaja s većim povećanjem, no posljedica toga bi bila kraća duljina ispitivanja profila što u konačnici ne bi doprinijelo točnijoj analizi topografije površine [14].

3.3. Skenirajući mikroskopi

3.3.1. Skenirajući elektronski mikroskop

Skenirajući elektronski mikroskop funkcionira na principu usmjeravanja zrake elektrona koja se fokusira pomoću elektromagnetnog polja. S obzirom na to da je valna duljina elektrona znatno kraća od valne duljine fotona vidljivog dijela spektra svjetlosti, granica razlučivosti elektronskog mikroskopa je manja od one svjetlosnog mikroskopa, a iznosi otprilike 0,1 nm – 0,2 nm. Slika 9. prikazuje glavne dijelove SEM-a [3].



Slika 9. Dijelovi SEM-a [3]

Kolona mikroskopa ima ulogu stvaranja snopa elektrona te kontrole njegovih osnovnih parametara – promjera, struje i divergencije. Kolona se nalazi pod vakuumom kako bi se osigurao slobodan put snopa elektrona do uzorka. Kada ne bi bilo vakuuma, molekule plina bi ograničavale broj elektrona koji stiže do uzorka i uz to dovele do oksidacije katode – niti. Prolaskom struje kroz katodu ona se zagrijava i pri dovoljno visokoj temperaturi elektroni dobivaju potrebnu energiju koja dovodi do njihove emisije. Povećanjem temperature katode povećava se i broj emitiranih elektrona. Temperatura katode se povećava dok ne dođe do točke zasićenja nakon koje daljnji porast temperature više ne povećava broj emitiranih elektrona. Upravljanje snopom elektrona provodi se pomoću elektromagnetske leće [3].

Osnova rada SEM-a bazira se na pravilnom pomicanju uskog i precizno fokusiranog snopa elektrona po površini uzorka koji se promatra te se tako dobije slika uzorka koja može biti povećana i do 100 000 puta. Udarom snopa elektrona o površinu uzorka, dio elektrona raspršti se unatrag, dio apsorbira, a dio transmitira. Prilikom tog udara mogu se još detektirati i sekundarni elektroni, odnosno rendgensko zračenje [18]. Elektroni koji se raspršte s površine uzorka „sakupljaju“ se posebnim detektorima i obrađuju uz pomoć mikroprocesora kako bi se stvorila slika [19].

3.3.2. Mikroskopi sa skenirajućom sondom

Mikroskop sa skenirajućom sondom (engl. *Scanning Probe Microscope* – SPM) mjerni je instrument koji omogućava analizu topografije površine na nanorazini. SPM stvara slike površine koristeći ticalo koje dodiruje površinu u svrhu prikupljanja podataka baš poput profilometra. Prikupljeni podaci su obično dvodimenzionalna mreža podataka u obliku točaka koji se prikazuju kao slika pomoću računala. Prvi takav SPM uređaj je zapravo skenirajući tunelirajući mikroskop (STM) koji je prvi koristio tehnologiju koja je omogućavala analizu vodljivih materijala u razlučivosti na razini atoma [20]. Tehnika rada STM-a zasniva se na kvantnom tuneliranju elektrona kroz usku potencijalnu barijeru između dvije elektrode – vodljivog uzorka i oštre metalne igle (vrha ticala). Vrh ticala može se precizno kontrolirati pomoću piezoelektrika pomakom od tek nekoliko atomskih radijusa. Struja tunelirajućih elektrona ovisi o naponu, ali i o udaljenosti uzorka i vrha ticala. Uobičajeni načina rada STM-a temelji se na skeniranju vrha ticala liniju po liniju na površini uzorka, a struja se pomakom ticala u vertikalnom smjeru održava konstantnom uz pomoć negativne povratne veze. Piezo-skeneru je potrebno nametnuti napon za skraćenje ili produženje i upravo taj napon interpretira se kao slika površine.

Daljnjim razvojem mikroskopa sa skenirajućom sondom omogućeno je i mjerenje vodljivosti, magnetskih polja, trenja i elastičnosti površina. Takva mjerenja su omogućena razvojem mikroskopa atomskih sila (AFM-a) kojim se mogu analizirati i površine koje nisu nužno električki vodljive. AFM je pogodan i za istraživanja u tekućem mediju radi čega se u zadnje vrijeme sve više primjenjuje u svrhu bioloških istraživanja [3].

Ostali mikroskopi koji rade na principu skenirajuće sonde su mikroskopi: magnetskih sila, prijenosa topline, elektrostatičke sile, i refleksije, apsorpcije i fluorescencije svjetla [21]. Svaki od tih mikroskopa nalazi svoju primjenu u različitim područjima istraživanja, no neće svaki od navedenih mikroskopa biti opisan u ovom radu.

Kako se ovaj rad temelji na eksperimentalnom istraživanju koje se provodi na AFM-u, u nastavku ovog rada će navedeni mikroskop biti detaljno opisan, od samog izgleda mikroskopa pa sve do načina rada i na kraju će se analizirati uzorak skeniran na njemu. Slike dobivene pomoću AFM-a će se analizirati softverom *Mountains SPIP* (probna verzija).

4. MIKROSKOP ATOMSKIH SILA

Tehnika mikroskopiranja primjenom mikroskopa atomskih sila, u sprezi s odgovarajućim programskim paketom, tehnika je koja omogućava analizu i mjerenja na površini i površinskim strukturama analiziranog materijala uz rezoluciju i preciznost na makro- i mikrorazini. AFM se razlikuje od ostalih mikroskopa po tome što ne stvara sliku fokusiranjem snopa svjetla ili snopa elektrona na površinu uzorka poput svjetlosnog ili elektronskog mikroskopa. AFM fizički dodiruje površinu analiziranog uzorka oštrim ticalom, stvarajući trodimenzionalni zapis – zapis vrhova i dolova, odnosno topografije površine uzroka. Upravo po tome se AFM razlikuje od spomenutih mikroskopa koji mjere samo dvodimenzionalne projekcije površine uzoraka. Takve dvodimenzionalne slike ne sadrže informacije o visini pa uzorke koji se analiziraju na takvim mikroskopima treba rotirati i pripremati površine presjeka kako bi se analizirala topografija površine uzorka [7]. Mikroskopom atomskih sila se tako mogu dobiti informacije s površine materijala o mogućim defektima, ogrebotinama, žljebovima, točkastoj koroziji i tako dalje [9].

AFM se može usporediti s tradicionalnim mikroskopima poput optičkog ili skenirajućeg elektronskog mikroskopa koji mjere udaljenosti u smjeru horizontalne osi, ali može se usporediti i s mehaničkim profilometrom koji mjeri udaljenosti u smjeru vertikalne osi. Za AFM se može reći da je kombinacija obje spomenute vrste uređaja. Jedna mana AFM-a je to što nije pogodan za skeniranje područja većih od 100 μm × 100 μm. Razlog tome je što bi skeniranje tako velike površine ticalom trajalo predugo. Iznimno, ovakvi problemi rješavaju se paralelnim AFM-om koji skenira manja područja pomoću više ticala ili brzoskenirajućim AFM-om [7].

U odnosu na profilometar, AFM ima oštriji vrh ticala što omogućuje skeniranje u većoj rezoluciji u *X*-*Y* ravnini. Precizna kontrola sile između ticala i površine, omogućene zbog povratnog mehanizma, omogućuje korištenje malih sila opterećivanja koje dozvoljavaju korištenje puno oštrijih ticala što na kraju rezultira većom rezolucijom u *X*-*Y* ravnini. Razlika u primijenjenoj sili na površinu je velika. Dok profilometar koristi silu od otprilike 10^{-6} N, AFM koristi silu od 10^{-9} N ili manju [7].

AFM se često kombinira s optičkim mikroskopom i u toj suradnji moguće je kombinirati vidno polje s dinamičkim rasponom od milimetarske razine do nanometarske

razine. U praksi se obično pojednostavnjeni optički mikroskop koristi za odabir područja skeniranja AFM-a. Međutim, kombinacija optičkog mikroskopa visoke rezolucije s AFM-om daje veliku prednost istraživanjima koja se provode u području biologije. Kombinacija AFM-a s ostalim mikroskopima (npr. TEM ili SEM) i sličnim uređajima je omogućena upravo zbog njegove kompaktne veličine.

Jedna od jedinstvenih prednosti mikroskopa sa skenirajućom sondom je visoka preciznost pozicioniranja ticala na ili blizu površine uzorka. To je postala tehnologija koja omogućuje mjerenja i manipulaciju uzoraka na nanorazini. Još jedna od ključnih prednosti AFM-a je njegova visoka osjetljivost i činjenica da što je uređaj manji može biti osjetljiviji, a što je u suprotnosti sa svim ostalim uređajima u mjeriteljstvu [7].

Kao i svaki sofisticirani uređaj, AFM se u grubo dijeli na hardverski i na softverski dio. Svaki od ova dva dijela bit će zasebno opisani u nastavku rada.

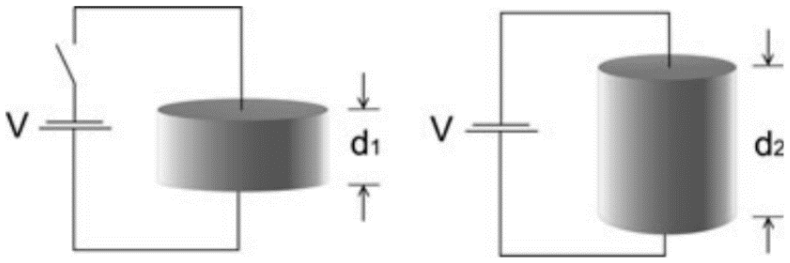
4.1. Hardver AFM-a

Hardverski dio AFM-a sastoji se od postolja mikroskopa i kontrolne elektronike. Postolje je sastavljeno od skenera (mehanizma za pomicanje ticala u odnosu na uzorak), držača uzorka, senzora sile koji drži i nadzire rad ticala te samog ticala. Često je postolje za uzorak smješteno na poseban materijal i time je osigurana visoka rezolucija skeniranja izolirajući uzorak od vanjskih utjecaja vibracije. Elektronika za kontroliranje obično je u obliku veće kutije povezane s mikroskopom i računalom. Elektronika je zaslužna za generiranje signala potrebnih za pokretanje motora koji pokreću sam skener i ostale motorizirane komponente postolja mikroskopa. Kontrolna elektronika također služi za pretvorbu signala koji stižu s ticala kako bi se prikazali i snimili u oblik koji računalo prepoznaje i pomoću kojeg se u konačnici stvara slika na računalu. Povratna veza između ulaznih i izlaznih signala postolja AFM-a je kontrolirana pomoću kontrolne elektronike, sukladno parametrima postavljenim na računalu (softverskom dijelu AFM-a).

Kako bi se lakše shvatio rad AFM-a potrebno je razumjeti tri osnovna koncepta u radu. Prvo treba razumjeti rad piezoelektričnog pretvarača (koji se najčešće koristi kod AFM-a), zatim senzora sile i na kraju koncept povratne kontrole. U osnovi, piezoelektrični pretvarač pomiče vrh ticala iznad površine uzorka, pretvarač (senzor) sile prati silu između ticala i površine, a povratna kontrola šalje signal do piezoelektrika kako bi se održavala stalna sila između ticala i uzorka [7].

4.1.1. Piezoelektrični pretvarač

Piezoelektrični materijal je elektromehanički pretvarač koji radi na principu konverzije električnog potencijala u mehanički pomak. U nekoj drugoj primjeni se mogu koristiti i suprotno, tako da se piezoelektričnom materijalu mijenjaju dimenzije kako bi generirao električni potencijal. Kada se na piezoelektrik dovede napon na suprotne strane, dolazi do njegove promjene oblika. Stupanj promjene oblika ovisi o materijalu, njegovom obliku i jakosti dovedene struje [7]. Slika 10. shematski prikazuje opisanu pojavu.

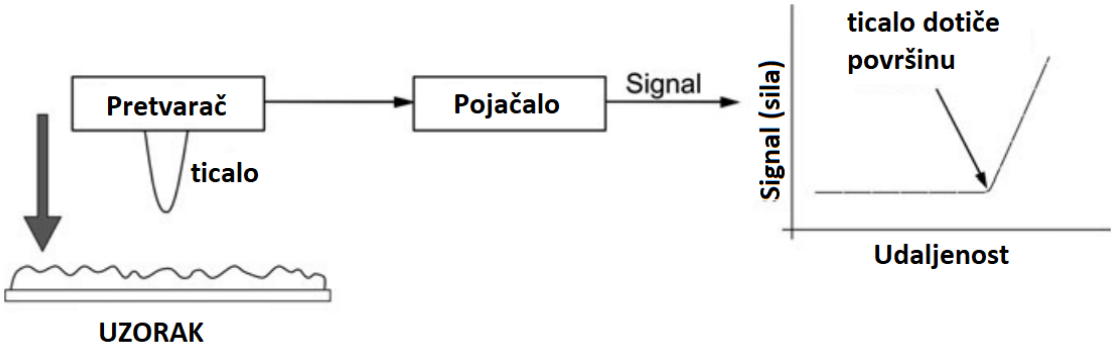


Slika 10. Promjena oblika piezoelektrika [7]

Piezoelektrični disk će ekspandirati ($d_2 > d_1$) kada se dovede električni potencijal na gornju i donju stranu pretvornika. Disk će promijeniti oblik uz zadržavanje stalnog obujma. Koeficijent ekspanzije piezoelektričnog uređaja obično je reda veličine 0,1 nm za svaki dovedeni 1 volt struje. Sukladno, ako se na piezoelektrik dovedu 2 volta, materijal će ekspandirati za približno 0,2 nm. Upravo ta mogućnost precizne kontrole toliko malih pokreta čini piezoelektrične materijale idealne za primjenu kod mikroskopa atomskih sila. Piezoelektrični pretvornik može biti izveden u mnogo kompliciranijim oblicima nego što je ilustrativno prikazano na slici iznad. Iz tog razloga je omogućeno skeniranje površina uzorka ticalom u različitim smjerovima preko cijele površine.

4.1.2. Pretvarač sile

Sila između ticala i površine uzorka mjeri se pretvaračem sile. Slika 11. prikazuje shemu rada pretvarača sile.

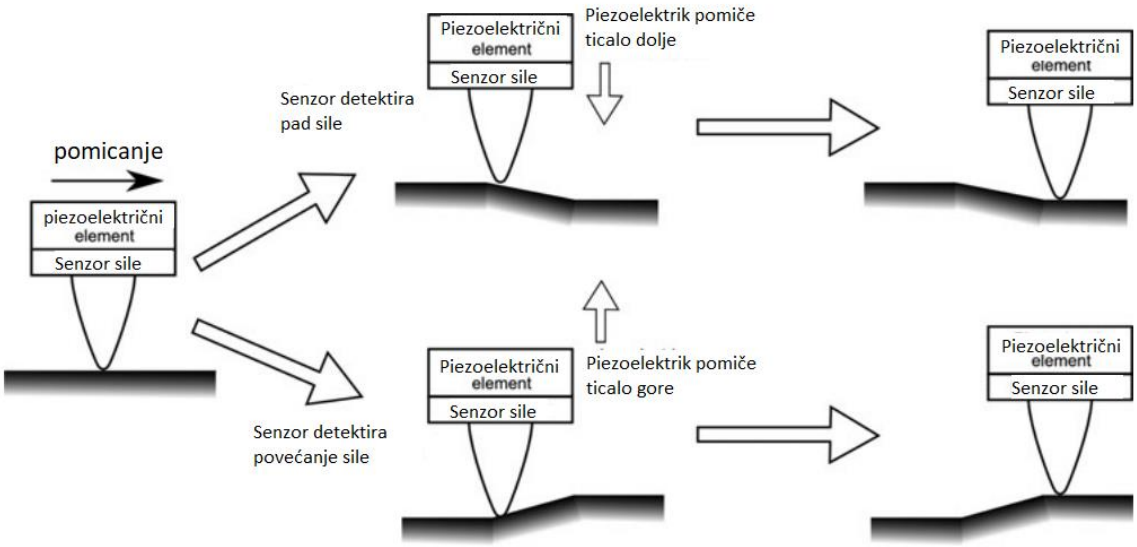


Slika 11. Shema rada pretvarača sile [7]

Kada ticalo dođe u kontakt s površinom uzorka, poveća se napon struje s pretvarača. Važno je da izlazna struja iz pretvarača bude stalna i povećava se s povećanjem sile između ticala i površine. Pretvarač sile može biti konstruiran da mjeri sile već od 10 pN (10^{-12} N). Obično je pretvarač sile u AFM-u ticalo s integriranim vrhom i optičkom polugom, iako postoji nekoliko vrsta senzora sile koji se koriste.

4.1.3. Kontrola povratne veze

Razlog zašto je AFM osjetljiviji od profilometra koji jednostavno prelazi ticalom preko površine uzorka je u povratnoj kontroli koja osigurava stalnu silu između ticala i uzorka. Slika 12. prikazuje princip rada povratne kontrole. Kontrolna elektronika dobiva signal od pretvornika sile i upravlja piezoelektrik kako bi se održala stalna udaljenost ticalo-uzorak i interakcijska sila na stalnoj razini. Prema tome, ako ticalo registrira povećanje sile (npr. kod prelaska ticala preko čestice na površini), povratna kontrola uzrokuje pomicanje ticala u smjeru od površine pomoću piezoelektrika. Isto vrijedi i u obrnutom slučaju, ako pretvornik sile registrira pad sile, ticalo se pomiče prema površini [7].



Slika 12. Shematski prikaz povratne kontrole [7]

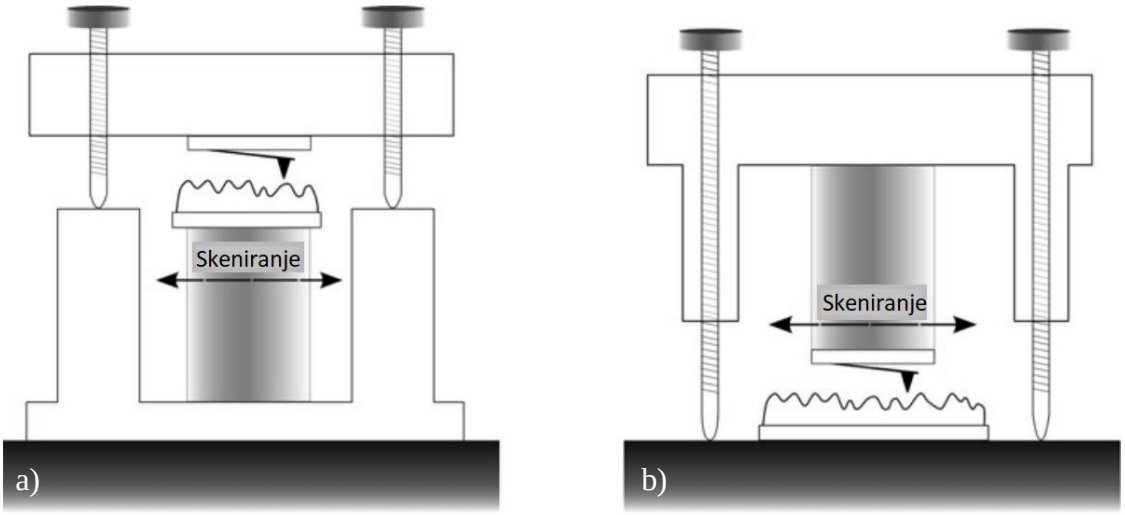
Kada vrh ticala naiđe na elemente površine na kojima se mijenja visina, senzor sile osjeti tu promjenu u vidu pada ili povećanja sile i sukladno tome piezoelektrični element pomiče ticalo dolje ili gore kako bi se održao stalni iznos sile.

4.1.4. Postolje

Postolje se smatra „srcem“ AFM-a. Postolje mora sadržavati držače ticala i uzorka te mehanizam za grubo namještanje, odnosno *Z* motor koji pomiče skener prema uzorku. Postolje može sadržavati i vijke za namještanje uzroka u *X*-*Y* ravnini. To nije nužan dio opreme, ali je koristan za pozicioniranje uzorka ispod ticala. S ciljem da se uzorak što lakše pozicionira ispod ticala te da se položaj ticala prikazuje u realnom vremenu u odnosu na uzorak, uglavnom se koristi optički mikroskop.

Što se tiče mehaničke strukture koja nosi skener, postolje i sve ostale komponente između ticala i uzorka, iznimno je važno da budu krute. Ako cijela mehanička struktura, tzv. mehanička petlja, nije kruta, tada ticalo vibrira u odnosu na uzorak i stvara šum, odnosno greške na slikama nastalim prilikom analize uzoraka.

Generalno, ako je postolje mikroskopa manje, bit će manje podložno utjecaju vibracija iz okoline. Konstruiranje krute mehaničke petlje velikih uređaja puno je teže nego od manjih, pa se u praksi pokazalo da je veća rezolucija postignuta na AFM-u manjih dimenzija. Slika 13. prikazuje dvije različite konfiguracije svih AFM uređaja [7].



Slika 13. Konfiguracije AFM-a: a) pomicanje uzorka, b) pomicanje ticala [7]

Razlika u ove dvije prikazane konfiguracije AFM-a je u tome što je kod konfiguracije označene s a) ticalo mikroskopa zajedno sa senzorom sile statično, a pomiče se postolje s uzorkom. Obzirom da je masa uzorka uključena u povratnu petlju, smanjena je dimenzija uzorka koji je moguće skenirati. Kod konfiguracije označene s b) uzorak je statičan, a ticalo se pomiče preko uzorka. Prednost konfiguracije b) je ta što je omogućeno skeniranje većih uzoraka [7].

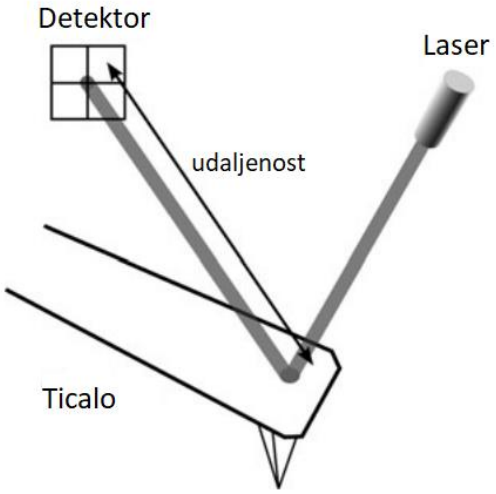
4.1.5. Senzor sile

Senzor sile u AFM-u mora biti u mogućnosti mjeriti vrlo male sile zbog vrlo oštrog vrha ticala koje se koristi. Zbog oštrog vrha ticala potrebna je mala primjena sile da bi kontaktno područje bilo vrlo slabo opterećeno kako ne bi došlo do pucanja ticala. Postoji velik broj različitih senzora sile koji se upotrebljavaju na AFM-u, a neki od njih su [7]:

- elektronika korištena u STM-u (prve verzije AFM-a)
- interferometar
- kristalni oscilator
- piezo-otporni senzor.

Pojavom mikro ticala, optičko ticalo AFM-a postalo je najkorištenije u svrhu senzora sile AFM-a. Gotovo svi moderni uređaji s ticalom koriste optičke senzore sile. AFM korišten

u svrhu ispitivanja u ovom radu također koristi ovu vrstu senzora sile pa će u nastavku biti detaljnije opisan takav senzor kao i njegov princip rada. Princip rada optičkog senzora prikazan je na slici u nastavku (Slika 14.).



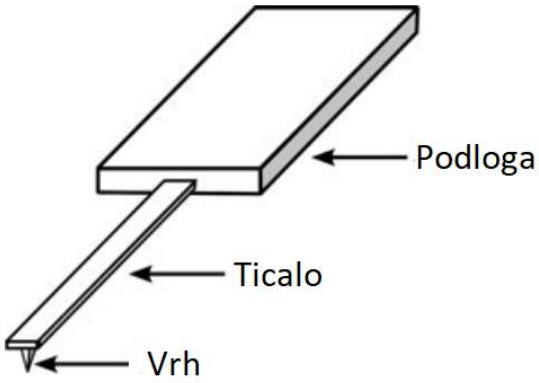
Slika 14. Princip rada optičkog senzora [7]

Poslana laserska zraka reflektira se sa stražnje strane – reflektirajućeg dijela ticala na fotodetektor sastavljen od četiri segmenta. Ako vrh ticala prelazi preko neravnina na površini, laserska zraka reflektirana s vrha ticala mijenja svoj položaj i prelazi u jedan od četiri kvadranta na fotodetektoru. Što je udaljenost reflektirane zrake od ticala do detektora veća, mali pokreti vrha ticala uzrokuju veće promjene u položaju zrake na detektoru.

Optičko ticalo senzora sile zahtijeva centriranje svaki puta kada se položaj ticala promijeni. Centriranje se uglavnom provodi pozicioniranjem laserske zrake na ticalo i dovođenjem te zrake u centar fotodetektora prateći signal na njemu. Ta procedura je dosta zahtjevna i oduzima dosta vremena dok se pravilno provede. To je ujedno i jedan od nedostataka optičkih senzora [7].

4.1.6. Ticalo

Ticalo je potrošni dio AFM-a koji se mora mijenjati nakon određenog broja mjerenja. Razlog tome je što vrh ticala s vremenom otupi ili se ošteti zbog kontakta s površinom materijala. Zamjena ticala je vrlo jednostavna i traje svega nekoliko minuta. Zamjena ticala je omogućena upravo zbog njene jednostavne konstrukcije (Slika 15.) [7].



Slika 15. Konstrukcija ticala i podloge [7]

Slika 15. prikazuje jednostavnu konstrukciju ticala (s vrhom) i podloge na koju je ticalo pričvršćeno. Ticala se uobičajeno proizvode od silicija (Si) ili silicijeva nitrida (Si_3N_4) koji spada u skupinu neoksidne keramike. Sva komercijalno dostupna ticala imaju podloge istih dimenzija kako bi se olakšala njihova zamjena kod različitih uređaja s ticalima. Uglavnom se radi o dimenzijama 3,5 mm × 1,6 mm, debljine 0,5 mm. Treba napomenuti kako dijelovi sa spomenute slike nisu prikazani u stvarnom omjeru jedni u odnosu na druge.

Ticala AFM-a se u principu mogu proizvesti od bilo kojeg materijala koji se uz pomoć obrade može proizvesti kao poluga koja se ponaša poput opruge. Prva ticala proizvodila su se od volframove (W) žice koja je na kraju imala pričvršćen vrh od silicija. No već u ranoj fazi proizvodnje ticala otkriveno je kako ticala proizvedena mikro-elektro-mehaničkom tehnologijom pokazuju najbolja svojstva. Od tada se ticala uglavnom proizvode, kao što je već spomenuto, od silicija i silicijeva nitrida. Silicijev nitrid se uglavnom koristi za ticala koja zahtijevaju vrlo male sile mjerenja jer je poznato da filmovi od tog materijala imaju ponešto zaostalih naprezanja i imaju tendenciju iskrivljenja duž osi ticala. Ticala načinjena od silicija uglavnom sadrže manje zaostalih naprezanja, no takva ticala pucaju krhko ako dođu u kontakt s površinom materijala koji se ispituje [7].

4.2. Softver AFM-a

Softverski dio AFM-a je u principu računalo i pripadajući program koje se koristi kako bi korisnik stekao i prikazao sliku dobivenu mikroskopom. Korisnik upravlja softverskim programom i prenosi sve relevantne parametre na upravljačku elektroniku kako

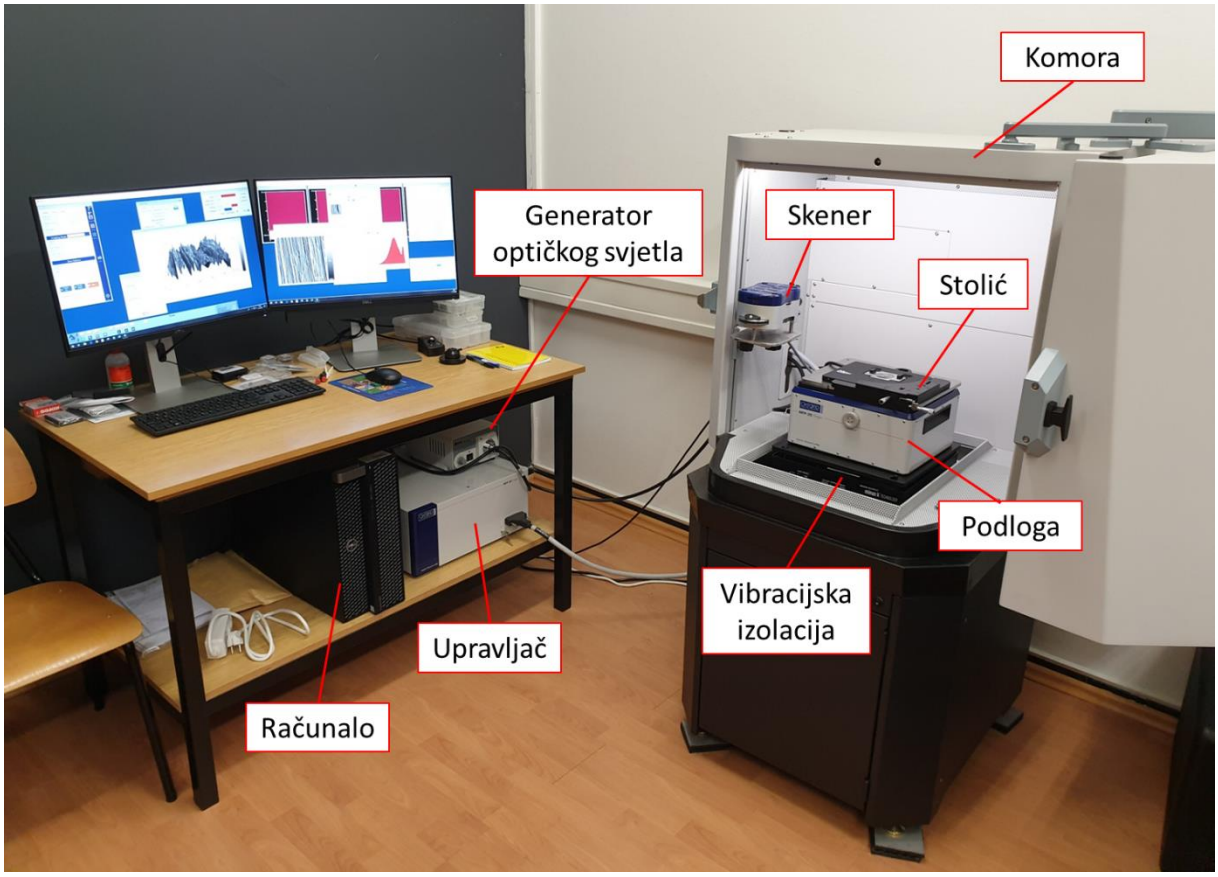
bi odabrao parametre skeniranja. Računalo uglavnom sadrži i zasebni program za obradu i analizu slika dobivenih AFM-om.

Softversko sučelje uglavnom se koristi u svrhu pomicanja postolja mikroskopa. Funkcije koje se mogu kontrolirati pomoću softvera su: pomicanje postolja u *X*-*Y* ravnini kako bi se lociralo željeno područje skeniranja, primicanje ticala blizu ili na površinu uzorka, biranje načina skeniranja površine, biranje i kontroliranje parametara skeniranja, prikaz slike prilikom skeniranja i mogućnost mjerenja krivulja sila-udaljenost. Još neke od funkcija softvera su i pomicanje ticala po *Z* osi – primicanje ticala uzorku i mogućnost približavanja i fokusiranja slike pomoću optičkog mikroskopa. Softver koji upravlja pristupom ticala uzorku obično ima nekoliko mogućnosti za kontrolu brzine kojom se ticalo kreće prema uzorku. Softverski algoritmi su važni za postavljanje graničnih razina signala povezanih s ticalom koje se približava površini uzorka kako bi ticalo na vrijeme usporilo ili se potpuno zaustavilo. Pravilno implementiran, automatski sustav sprečava korisnika da slučajno unese pogrešne vrijednosti i udari ticalom o površinu uzorka te ošteti ticalo. Ako postoji automatizirani video mikroskop, softverski algoritam za pristup ticala može značajno smanjiti vrijeme potrebno za pristup vrha ticala uzorku. To se postiže fokusiranjem mikroskopa na ticalo pa zatim na uzorak. Na taj način se uspoređuje relativni položaj ticala u odnosu na uzorak. Motori koji pomiču ticalo uzorku ili tzv. *Z* motori brzo dovode ticalo uzorku sve dok ticalo nije na manje od 100 μm od površine uzorka.

Prikaz područja u realnom vremenu je od iznimne važnosti za učinkovitu analizu površine. To omogućuje korisniku da je siguran kako analizira pravo područje na uzorku i olakšava mu optimizaciju parametara skeniranja poput brzine skeniranja, frekvencije titranja ticala kod isprekidanog načina rada, itd. Uglavnom postoje barem dva načina prikaza slika dobivenih na AFM-u, a oni osnovni su 2D i 3D prikaz [7].

4.3. AFM korišten u eksperimentalnom dijelu rada

Mikroskop atomskih sila na kojem je provedeno istraživanje nalazi se na Fakultetu strojarstva i brodogradnje, model mikroskopa je *MFP-3D Origin*. Slika 16. prikazuje taj AFM sa svim komponentama neophodnim za rad uređaja.



Slika 16. Postava AFM-a

Svaki od prikazanih dijelova AFM-a sa svojom pripadajućom ulogom je ukratko opisan u nastavku.

Komora u kojoj je smješten skenirajući uređaj zajedno sa stolićem, izrađena je od posebnih materijala koji prigušuju vibracije obloženih čelikom. Ispod nožica komore su i izolacijski jastučići koji isto pridonose u smanjenju buke i vibracija iz laboratorija koji bi mogli negativno utjecati na uzorke u vidu smanjenja rezolucije skeniranja.

Skener je dio koji nosi ticalo i sadrži sustav optičkog detektiranja otklona ticala i svu potrebnu elektroniku za upravljanje senzorom i aktuatorom vertikalnog pomaka ticala. Ukratko, skener očitava vertikalni pomak ticala kako se ispod njega uzorak pomiče u horizontalnoj (X-Y) ravnini. Također, skener sadrži i optiku za osvjetljenje i optički prikaz uzorka i ticala iznad njega.

Stolić nosi uzorak i pomiče se u horizontalnoj ravnini ispod ticala. Sadrži piezoelektrične aktuatore i senzore položaja visoke razlučivosti.

Podloga se sastoji od metalnog kućišta na kojeg se stavljaju stolić i skener. Uglavnom sadrži optički mikroskop s kamerama i kontrolama osvjetljenja za optički pregled uzorka i ticala. Također, podloga sadrži i elektroniku ključnu za stvaranje signala za kontrolu stolića i djeluje kao čvorište za spajanje upravljača sa stolićem i skenerom te usmjerava podatke na računalo.

Stolić za skener je postolje koje se nalazi unutar komore, a na njega se odlaže skener kada mikroskop ne skenira uzorak.

Vibracijska izolacija nalazi se ispod podloge mikroskopa i služi za izoliranje vanjskih neželjenih vibracija prilikom skeniranja.

Upravljač služi kao napajanje i sadrži svu potrebnu elektroniku za upravljanje pomaka stolića i ticala kod skeniranja i za prikupljanje podataka slikovnih zapisa s mikroskopa.

Generator optičkog svjetla sadrži prigušivi izvor svjetlosti s vodičem od optičkih vlakana. Zadaća mu je da spaja podlogu i osvjetljava uzorak za optički prikaz.

Računalo je primarno sučelje za upravljanje mikroskopom [22].

5. METODE RADA AFM-a

Moderni AFM uređaj nudi široki spektar metoda skeniranja uzoraka i pruža velik broj različitih eksperimenata koji se na njemu mogu provesti. Prve verzije AFM-a imale su dostupan samo kontaktni način rada i bile su ograničene samo na određene vrste uzoraka koji se mogu ispitati. Na njima su se mogli provoditi samo određeni tipovi eksperimenata i samo određeni tip informacija se mogao generirati i obrađivati. Danas, neki od novijih načina rada AFM-a postižu vrlo visoke rezolucije skeniranja metodama skeniranja ticala na maloj udaljenosti od površine s ciljem mjerenja različitih svojstava površine uzoraka na nanorazini.

Kao što je spomenuto, AFM pruža širok spektar metoda skeniranja, a detaljnije će biti opisane samo one najčešće korištene. Te metode rada AFM-a mogu se podijeliti u dvije velike skupine [7]:

- Topografske metode.
- Netopografske metode.

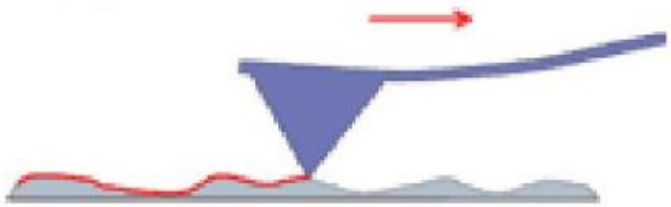
5.1. Topografske metode

U topografske metode spadaju sve one mikroskopske metode pomoću kojih se može mjeriti topografija uzoraka. Skup podataka koji se dobije ovim načinom rada ne daje konvencionalne slike kao što se dobiju analizom pomoću optičkog mikroskopa, već se dobije zapis s podacima o visini. Takvi podaci mogu se kasnije pomoću odgovarajućih softverskih programa transformirati u slike koje svakoj visini profila pridružuju određenu nijansu boje te tako stvaraju sjene i u konačnici daju slike prirodnog izgleda pomoću kojih je lako vizualizirati oblik značajki površine. Da bi se provela ta mjerenja visine, postoji nekoliko načina rada koji se mogu podijeliti na one kojima se mjeri statički otklon ticala AFM-a i na one koji mjere dinamičko osciliranje ticala. Razlike između ovih načina rada vode ne samo do različitih eksperimentalnih postupaka, nego i do različitih informacija koje se mogu dobiti i različite interpretacije podataka. Osnovni načini rada AFM-a su kontaktni, isprekidani (oscilatorni) i beskontaktni. Svaki od ova tri načina koristi različite sile mjerenja između ticala i uzorka [8]. Svaki od ova tri načina bit će u nastavku rada detaljnije opisan.

5.1.1. Kontaktni način

Kontaktni način rada poznat je i pod nazivom *Način konstantne sile* (engl. *Constant Force Mode*) jedan je od uobičajenijih načina snimanja površine tvrdih materijala, ali koristi se i u svrhu snimanja bioloških materijala kao što su stanice. Stanice se mogu snimati primjenom malih sila i malih brzina skeniranja obzirom da su velikim dijelom sastavljene od vode i mogu promijeniti oblik prilikom skeniranja (u tu svrhu, kontaktni način najbolje će prikazati najveću razinu detalja na slikama) [23].

Kontaktni način je bio ujedno i prvi način razvijen za AFM. To je konceptualno najjednostavnija metoda snimanja i služila je kao osnova za razvoj drugih načina snimanja. Ako se razumije kontaktni načina rada lako će se razumjeti i ostali načini izvedeni iz ovoga. Kontaktni način je i dalje dosta zastupljena tehnika iako kod nje postoje određena ograničenja koja su i potaknula razvoj ostalih tehnika kojima se mogu analizirati drugačiji uzorci u drugačijim okruženjima i koji daju različite informacije. Ovaj način rada daje u konačnici slike vrlo visoke rezolucije i uz to je najbrži od svih načina rada među topografskim metodama. Velika brzina skeniranja postignuta je zbog toga što otklon ticala vodi izravno do zapisa na računalu o topografiji uzorka. Slika 17. u nastavku prikazuje princip kontaktnog načina rada AFM-a [7].



Slika 17. Princip kontaktnog načina rada AFM-a [24]

Kada vrh ticala prilazi uzorku, a još nisu u kontaktu, smatra se da ticalo nema nikakav otklon od ravnotežnog položaja. Kako vrh ticala prilazi uzorku, ticalo prvo pokazuje tendenciju privlačne sile i događa se efekt „skakanja“ gdje ticalo naglo dolazi u kontakt s površinom uzorka. Kako mikroskop nastavlja potiskivati ticalo prema površini, ta interakcija prelazi u odbojni režim, odnosno vrh ticala tada stvara pritisnu silu na uzorak, a uzorak primjenjuje istu tu silu suprotnog smjera na ticalo. U ovom režimu rada kombinacija savijanja ticala i kompresije uzorka će se odviti prema relativnoj usklađenosti površine uzorka i ticala

AFM-a. Ako se obrne smjer ovog opisanog kretanja, interakcija prelazi u režim privlačnih sila između ticala i uzorka sve do nestabilnosti kada se dogodi da vrh odskoči od površine uzorka.

Kontaktni način rada se obično provodi unutar odbojnog režima prilikom doticanja površine uzorka ticalom. Kako je u kontaktnom načinu rada ticalo cijelo vrijeme u kontaktu s površinom uzorka, treba uzeti u obzir sljedeće [7]:

- Kao rezultat odbojne sile ticala i uzorka, površina uzorka može se oštetiti ili promijeniti prilikom procesa skeniranja.
- Vrh ticala se također može oštetiti ili promijeniti tijekom procesa skeniranja.
- Prilikom skeniranja javljaju se bočne sile kod vrha ticala i kod uzorka.
- Zbog konstantnog kontakta ticala i uzorka, priroda uzorka može utjecati na dobivene rezultate.

U kontaktom načinu rada, primijenjena sila ticala na uzorak opisuje se pomoću Hookeovog zakona (1) [7]:

$$F = -k \cdot D \qquad \textbf{(1)}$$

Gdje je:

F	N	sila između ticala i površine uzorka
k	N/m	konstanta sile ticala
D	m	udaljenost progiba ticala

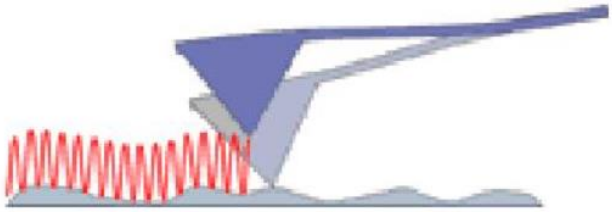
Iz jednadžbe se može zaključiti kako će ticalo s velikim iznosom konstante sile ticala (kruće ticalo) ili veći otklon ticala u konačnici dovesti do većeg iznosa rezultantne sile (F). Kako sustav povratnih informacija AFM-a ne može imati trenutačni odziv, vertikalni otklon će varirati tijekom skeniranja uzorka, a koliko će varirati ovisi o topografiji uzorka, krutosti ticala, brzini skeniranja i povratnoj vezi.

5.1.2. Isprekidani način

U isprekidanom načinu rada ticalo oscilira pomoću piezo aktuatora. Prije samog snimanja površine uzorka, frekvencija osciliranja ticala odredi se tako da ticalo prvo titra u širokom rasponu frekvencija sve dok se ne pogodi rezonantna frekvencija ticala. Frekvencija

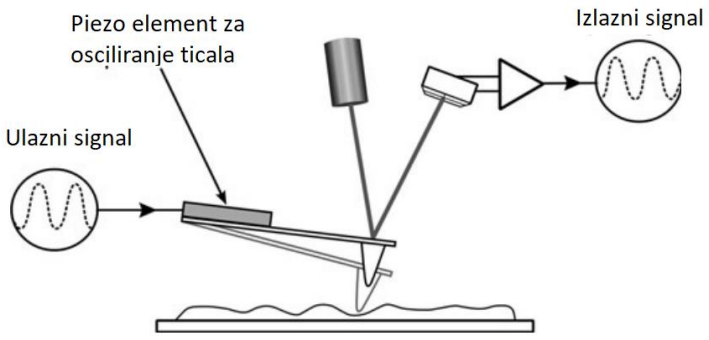
skeniranja tada se postavlja na ili vrlo blizu te frekvencije. Optički detektor detektira oscilatorno gibanje ticala, a elektronika regulatora mjeri amplitudu oscilacija (titranja ticala) i fazu s obzirom na signal skeniranja [23].

Kada ticalo koje oscilira prilazi površini uzorka, oscilacija se mijenja zbog interakcije ticala i polja sila uzorka. Taj efekt prigušuje osciliranje ticala što dovodi do smanjenja amplitude oscilacije ticala. Oscilacija ticala nadzire se pretvornikom sile i skener prilagođava visinu pomoću povratne veze kako bi se održala ista udaljenost ticala od uzorka kao i kod kontaktnog načina rada. Jedina razlika između mnogih oscilatornih načina rada AFM-a je u amplitudi osciliranja ticala i metodi koja se koristi za otkrivanje promjena u oscilaciji. Slika 18. prikazuje princip isprekidanog načina rada AFM-a [7].



Slika 18. Princip isprekidanog načina rada AFM-a [24]

U isprekidanom načinu rada korisnik putem softverskog sučelja može po želji namještati manje ili veće amplitude osciliranja, a ponekad i odlučiti o načinu na koji želi detektirati promjene u osciliranju ticala. Neke vrste AFM-a mogu imati implementiranu samo jednu shemu detekcije oscilacija. Slika 19. prikazuje shemu postave AFM-a za isprekidani načina rada [7].



Slika 19. Shematski prikaz postave AFM-a za isprekidani način rada [7]

Ulazni signal definira frekvenciju i amplitudu skeniranja i primjenjuje se na piezo element koji upravlja ticalom. Osciliranje ticala se nadzire kako se ono približava površini uzorka. Otkrivena promjena u oscilaciji (otkrivena pomoću amplitude, faze ili frekvencije) se koristi u povratnoj vezi kako bi se održala konstantna interakcija ticala i uzorka. Stvarni hod ticala ovisi o njegovoj interakciji s površinom. Rezultantna oscilacija otklona ticala mjeri se i uspoređuje s ulaznim signalom zadane oscilacije kako bi se odredile sile na ticalu.

Ako se u ovom načinu rada koristi osciliranje s velikim amplitudama, ticalo prelazi relativno velik put od površine do udaljenosti na kojoj više nema kontakta s površinom i prelazi iz režima djelovanja privlačnih sila do režima djelovanja odbojnih sila i natrag. Ova tehnika uključuje djelovanje velikih iznosa sila između ticala i uzorka koje mogu biti razarajuće za ticalo, ali ju je lako implementirati.

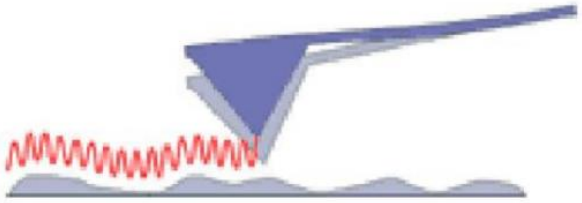
Koristeći male amplitude osciliranja ticala može se održati stalni razmak ticala od površine tako da je ticalo stalno u režimu rada gdje vladaju privlačne sile prema uzorku. Ta tehnika je poznata i kao beskontaktni način rada AFM-a i posjeduje određene prednosti s obzirom da koristi slabe sile između ticala i uzorka, a detaljnije je opisana u nastavku [7].

5.1.3. Beskontaktni način

Beskontaktni način rada AFM-a, iako izumljen 1987. godine nudi jedinstvene prednosti u odnosu na druge suvremene tehnike skeniranja površine uzorka. Odsutnost odbojnih sila (koje se pojavljuju kod kontaktnog načina rada) omogućuje skeniranje mekih uzoraka i druga prednost je što ova tehnika također na zahtjeva da ispitivani uzorci moraju biti električki vodljivi [7].

U beskontaktnom načinu rada, van der Waalsove sile prepoznaju se na većim udaljenostima zbog oscilirajućeg ticala AFM-a koje se na svojoj rezonantnoj frekvenciji pobuđuje piezoelektričnim pretvaračem i dovodi u neposrednu blizinu uzorka. Amplitude oscilacija ticala AFM-a kreću se u rasponu od 1 nm ili manje što je manje nego kod isprekidanog načina rada. Razlučivost u ovom načinu rada definirana je razdvajanjem vrha ticala od uzorka na svega nekoliko nanometara. Kao povratna informacija skeniranja koristi se amplituda osciliranja ili pomak u frekvenciji ticala. Kako bi se izbjegao prelazak ticala u režim rada u kojem vladaju odbojne sile zbog kojih bi se mogao oštetiti ili kontaminirati uzorak, visoka frekvencija rada ticala obično se nalazi u rasponu od 300 kHz – 400 kHz [7].

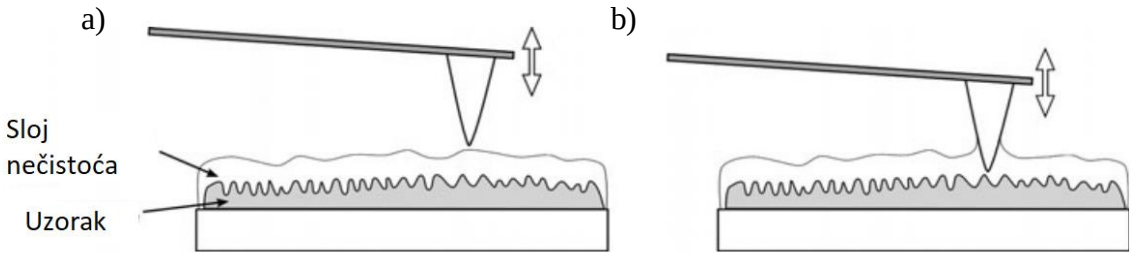
Brzina skeniranja u beskontaktnom načinu rada je uglavnom manja nego kod kontaktnog načina [25]. Slika 20. prikazuje princip beskontaktnog načina rada AFM-a.



Slika 20. Princip beskontaktnog načina rada AFM-a [24]

Beskontaktni način rada je široko primjenjivana tehnika ispitivanja i može se koristiti za ispitivanje gotovo svih vrsta uzoraka. Može zamijeniti isprekidani način rada u ispitivanju gotovo svih vrsta uzoraka i često daje bolje, vjerodostojnije rezultate zbog manjeg trošenja ticala. Jedan od ograničavajućih faktora beskontaktne metode je kontaminirani sloj prisutan na površini većine uzoraka koji se ispituju u okolišnim uvjetima. Generalno, zbog prisutnosti tog sloja interakcijska sila između ticala i uzorka je određena kapilarnim silama između ticala i tog sloja nečistoća na površini uzorka [7].

Kod beskontaktnog načina rada AFM-a ticalo može oscilirati u dva različita režima dok prelazi iznad površine uzorka. Ta dva režima rada prikazana na slici u nastavku (Slika 21.) su slučajevi u kojima ticalo oscilira iznad kontaminiranog sloja i u kojem ticalo oscilira unutar kontaminiranog sloja.



Slika 21. Beskontaktni režimi rada: a) iznad i b) unutar sloja nečistoća [7]

Slika 21. prikazuje dva moguća režima rada beskontaktnog načina rada AFM-a. Režim pod a) prikazuje osciliranje ticala iznad sloja nečistoća. Amplituda osciliranja ticala mora biti mala, a ticalo kruto kako bi se uspješno izveo ovaj režim rada. Slike dobivene ovim režimom

rada obično nisu reprezentativne u vidu prikazivanja topografije površine uzorka i manje su rezolucije u odnosu na druge metode ispitivanja. Razlog tome je što nečistoće popune sve nanostrukturne neravnine na površini uzorka. Međutim, u nekim slučajevima ova tehnika je veoma korisna jer omogućuje lociranje, određivanje i prepoznavanje oblika kapljica tekućina na površini uzorka.

Režim rada prikazan pod b) prikazuje skeniranje ticala unutar sloja nečistoća. Ova tehnika koja se naziva i tehnikom „bliskog kontakta“ vrlo je zahtjevna za postići. Kao i kod prethodnog režima, ticalo mora biti kruto kako njegov vrh ne bi „skakao“ prema površini uslijed djelovanja kapilarnih sila uzrokovanih slojem nečistoća. Kod ovog režima rada koriste se oscilacije vrlo male amplitude i mogu se postići slike visoke rezolucije. Ovaj režim rada može se provoditi u tekućinama i omogućuje ispitivanje osjetljivih uzoraka poput DNK molekula ili drugih bioloških uzoraka jer ovaj režim uzrokuje manje iskrivljenja uzoraka prilikom skeniranja [7].

5.2. Netopografske metode

Još od pojave prvih STM-a, uređaji s ticalom su služili za prikupljanje puno više informacija s površine uzoraka od samo onih vezanih za topografiju. Pojam spektroskopije koristi se u području primjene AFM-a gdje taj pojam predstavlja tehniku mikroskopiranja i razlikuje se od mikroskopskih tehnika jer istražuju svojstva uzorka koja nisu vezana uz topografiju. Najpoznatiji primjer takve tehnike je spektroskopija sila. Neke od netopografskih metoda su i nanoindentacija, skeniranje mehaničkih svojstava, mikroskopija magnetskom silom, mikroskopija električnom silom, mikroskopija poprečnom silom i ostale [7].

6. ANALIZA I OBRADA SLIKA DOBIVENIH MIKROSKOPOM ATOMSKIH SILA

Eksperimentalni dio rada proveden je na Fakultetu strojarstva i brodogradnje. Cilj eksperimentalnog dijela rada je ispitati utjecajne veličine na parametre topografije površine tako što su mijenjani ulazni parametri ispitivanja. Ispitivanje je provedeno na istom uzorku, pločici od nehrđajućeg čelika, a uzorak je skeniran isprekidanim načinom rada mikroskopa.

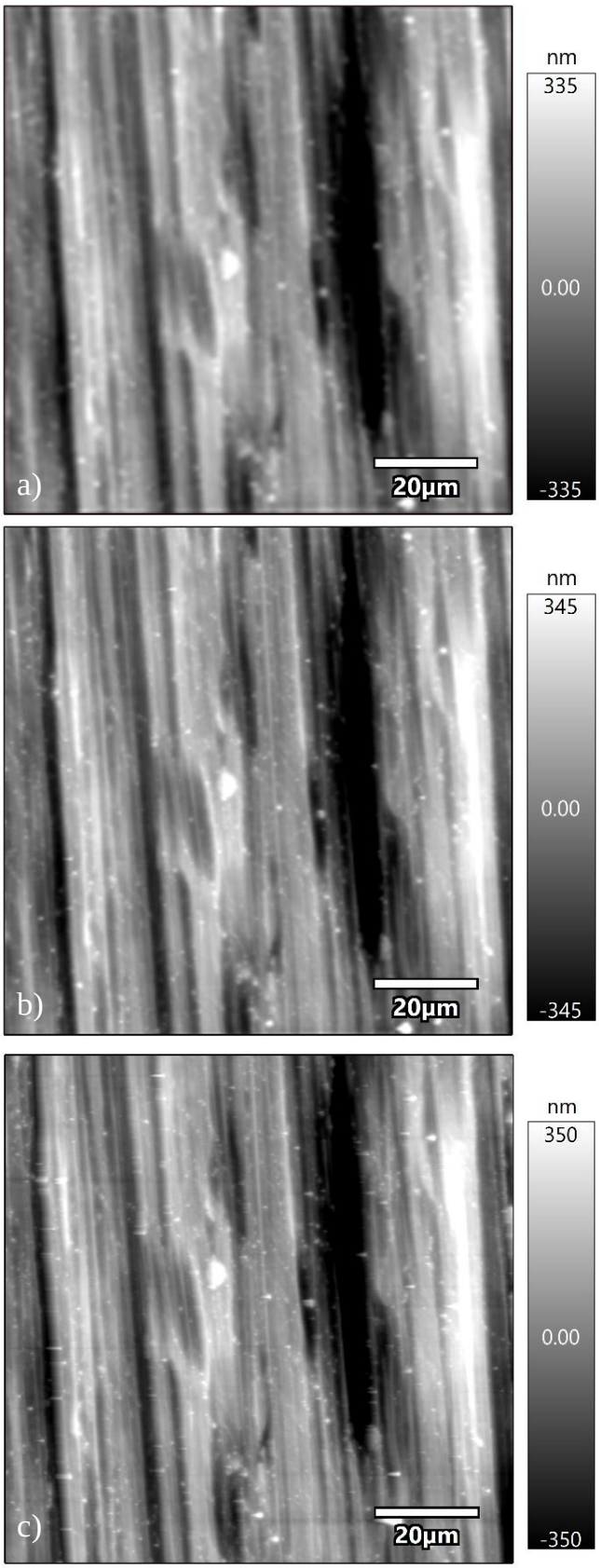
Ulazni parametri mijenjaju se putem računala AFM-a i ključan su faktor za provedbu analize kod koje se želi ispitati njihov utjecaj na određene rezultate. U ovom radu ispitivan je utjecaj ulaznih parametara na amplitudne parametre topografije površine. Ulazni parametri koji su mijenjani za ovaj eksperiment su sljedeći:

- Veličina slike (područja skeniranja):
  - 20 µm × 20 µm
  - 50 µm × 50 µm
  - 100 µm × 100 µm
- Rezolucija skeniranja:
  - 128
  - 256
  - 512
- Brzina skeniranja:
  - 0,25 Hz – 1,8 Hz

Na istom uzorku kombinirani su parametri iz svake od ove tri skupine kako bi se ispitao i usporedio njihov utjecaj na parametre topografije kod istog uzorka. Parametri topografije uzorka su u ovom slučaju izlazni parametri koji se mjere na temelju provedenih mjerenja. Na temelju tih mjerenja će se kasnije donijeti zaključci kako ulazni parametri utječu na izlazne parametre – parametre topografije površine.

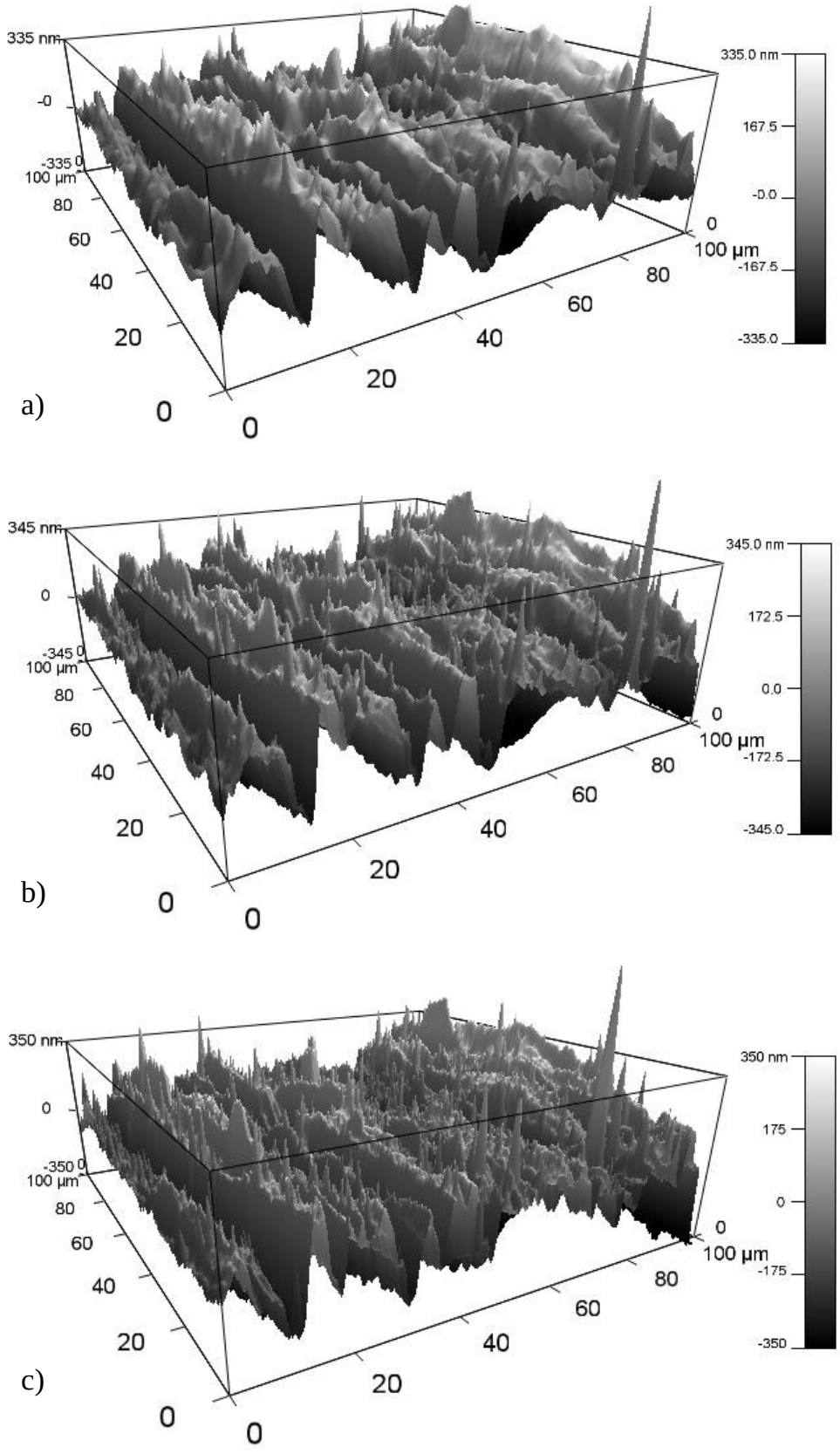
6.1. Skeniranje uzoraka

Sljedeće skeniranje provedeno je u svrhu prikaza razlike u rezoluciji skeniranja. Prema tome, napravljena su tri mjerenja u kojim su parametri veličina slike, odnosno područja skeniranja i brzine skeniranja držani konstantnima, a mijenjana je samo rezolucija. Veličina skeniranog područja iznosi 100 μm × 100 μm, a brzina skeniranja je 0,25 Hz. Slika 22. u nastavku prikazuje usporedbu neobrađenih slika dobivenih na AFM-u mijenjajući samo rezoluciju skeniranja. Ono što je uočljivo je razina detalja koja prevladava na slici skeniranoj u najvećoj rezoluciji (Slika 22. c) 512) dok je na ostale dvije slike uočljiv samo dio tih detalja i to u mnogo manjoj rezoluciji. Dakle, rezultat veće rezolucije skeniranja je detaljnija slika, a pospješena je i veća točnost i vjernost u prikazu slike kao i pri računanju parametara topografije jer računalo radi aproksimaciju rezultata skeniranja na manjim udaljenostima. Negativna strana skeniranja pri većoj rezoluciji je ta što ispitivanje duže traje. Vrijeme skeniranja se obično može skratiti povećanjem brzine skeniranja, no poveća li se previše brzina skeniranja, može doći do oštećenja ticala i vrha ticala što u konačnici ne bi doprinijelo točnosti rezultata. Nadalje, zbog povećanog broja prolaza brže se troši sam vrh ticala. Pravilan odabir parametara skeniranja ovisi o vrsti uzoraka koji se analiziraju, informacijama koje se žele dobiti i često se temelji na iskustvu operatera.



Slika 22. 2D prikaz istog područja skeniranja s parametrima: veličina skeniranog područja 100 µm × 100 µm, brzina skeniranja 0,25 Hz, rezolucija skeniranja: a) 128, b) 256, c) 512

Osim klasičnog dvodimenzionalnog prikaza, AFM nudi i trodimenzionalni prikaz zapisa s površine materijala. Na taj način dobije se još jasnija slika pomoću koje je lakše vizualizirati izgled površine i njezino stvarno stanje koje je nevidljivo golom oku. 3D prikaz nudi model koji je moguće rotirati i pregledavati sa svih strana kako bi se još bolje dobio uvid u stanje skenirane površne. Kvaliteta 3D prikaza također ovisi o rezoluciji skeniranja kao i kod 2D prikaza. Što je veća rezolucija skeniranja, kvalitetniji će biti i 3D prikaz površine. Ta kvaliteta će se također očitovati u detaljnijim i jasnijim prikazima na kojim se lakše mogu raspoznati određeni detalji struktura površine. Slika 23. prikazuje 3D zapise izvedene s iste površine skeniranja provedene kao na prethodnoj slici (Slika 22.). Dakle, Slika 23. prikazuje identična područja skeniranja kao i Slika 22. za odgovarajuće rezolucije skeniranja.



Slika 23. 3D prikaz istog područja skeniranja s parametrima: veličina skeniranog područja 100 µm × 100 µm, brzina skeniranja 0,25 Hz, rezolucija skeniranja: a) 128, b) 256, c) 512

Svi ovi prikazi su neobrađeni prikazi dobiveni direktno s AFM-a i daju nam uvid u izgled površine ispitivanog uzorka. Ovo su samo neki od primjera kakve se sve slike mogu dobiti pomoću mikroskopa atomskih sila. Ono što ovakve slike ne daju na uvid su kvalitativni podaci prikupljeni skeniranjem uzoraka. Ti podaci su zapisani u samim slikama ili 3D prikazima no da bi se došlo do njih i izvukle se sve moguće informacije potrebno je upotrijebiti neke od dostupnih softverskih paketa namijenjenih za obradu i analizu slika. Postupci obrade slika mijenjaju zapise pohranjene u njima što uključuje operacije poput filtriranja slike i izdvajanja komponente hrapavosti iz stvarnog profila uzorka. Uglavnom slike dobivene na AFM-u trebaju neku vrstu obrade kako bi se eliminirale pogreške mjerenja, no to nije pravilo. Softverski paket korišten za analizu i obradu slika u ovom radu je *Mountains SPIP* (probna verzija).

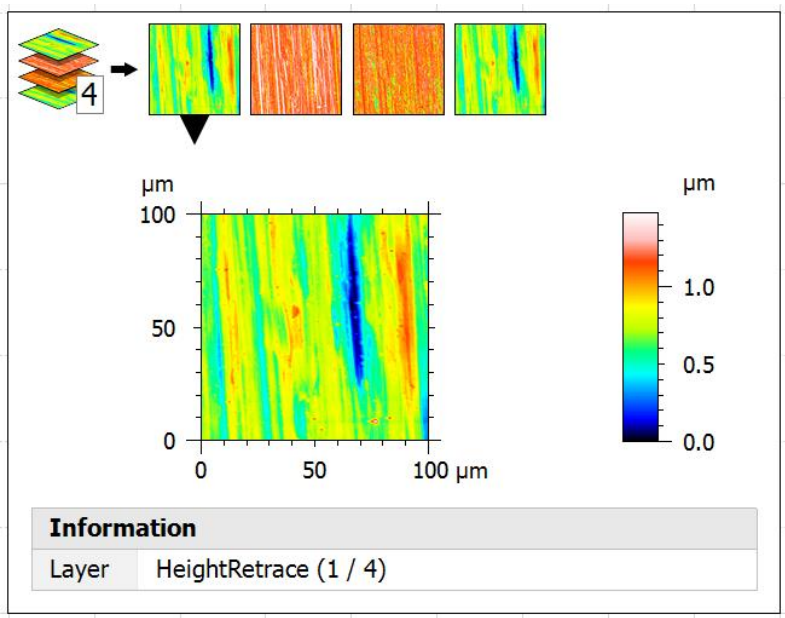
6.2. Obrada slika

Mountains SPIP napredni je softver pomoću kojeg se provodi obrada i analiza slika dobivenih mikroskopima, a koje su na mikro- i nanorazini. Uz širok izbor korisnih značajki, ovaj softver pruža mogućnost istraživanja u industrijskom i akademskom svijetu uz izbor naprednih alata za obradu mikroskopskih slika. Izdvajanje podataka iz datoteka za mikroskopiranje, pročišćavanje i poboljšanje podataka, vizualizacija i analiza rezultata samo su neke od mogućnosti koje pruža Mountains SPIP. Mountains SPIP je prilagodljiv za mnoge vrste mikroskopa poput SEM-a, TEM-a, SPM-a, STM-a, AFM-a, i drugih te upravo zato i nalazi svoju primjenu u farmaceutskoj, kozmetičkoj industriji, industriji proizvodnje polimera, aluminija, itd [26].

Neke od jedinstvenih funkcija koje nudi SPIP su i [27]:

- Spektroskopija sila – vizualiziranje, procesiranje i proučavanje krivulja s dijagrama sila – udaljenost.
- Analiza čestica – detektiranje i kvantificiranje značajki svih oblika i veličina na gotovo svim mogućim površinama.
- Bočna kalibracija – dobivanje najtočnijih mjerenja ponavljanih struktura i procjena točnosti uređaja na linearna izobličenja profila.
- Prosjek korelacije – alat za suzbijanje slučajnih šumova i poboljšanje struktura koje se ponavljaju.

Za primjer obrade slika pomoću navedenog softvera korištena je ranije prikazana Slika 22. c) čiji su parametri: veličina skeniranog područja 100 µm × 100 µm, rezolucija skeniranja 512 i brzina skeniranja 0,25 Hz. Slika 24. prikazuje polazni zapis slike koja je dobivena na AFM-u i potom prebačena u *Mountains SPIP* (probnu verziju).



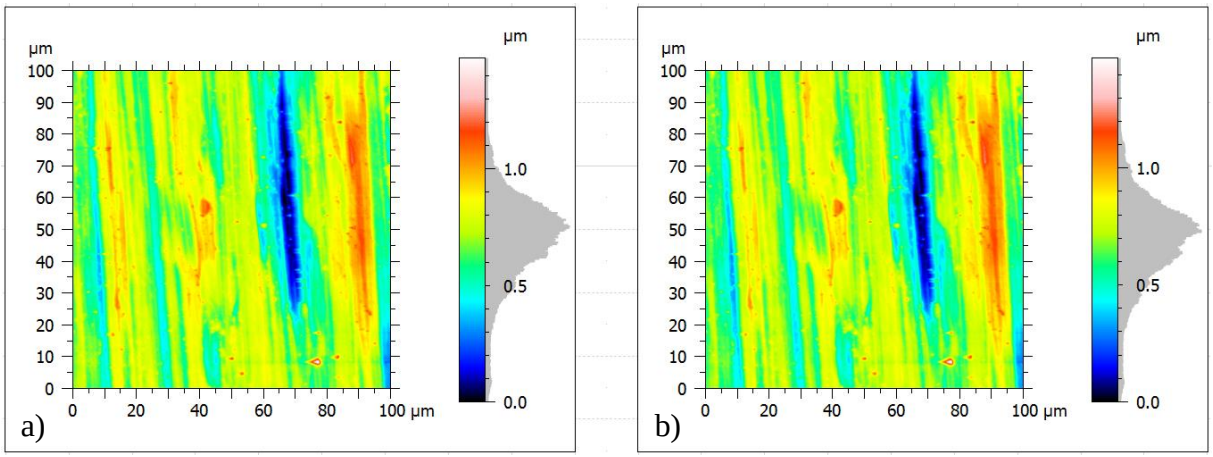
Slika 24. Polazni zapis slike s AFM-a

Sa slike je vidljivo kako ovaj slikovni zapis sadrži 4 razine zapisanih informacija, a za potrebe analize u ovom radu koristit će se samo prva razina koja sadrži informacije o visini područja mjerenja. Nakon što se izvuče željena slika, ona se potom dalje priprema i obrađuje za izvlačenje potrebnih informacija.

6.2.1. Niveliranje

Prva od operacija za obradu koja se primjenjuje na sliku je niveliranje (engl. *Levelling*), a to je ujedno i najvažnija operacija koja se koristi u obradi slika dobivenih na AFM-u. Razlog primjene ove operacije je taj što se uglavnom na dobivenim slikama mjeri visina. Ako je podloga na kojoj je učvršćen uzorak nagnuta pod nekim kutom, promjena visine te podloge će izravno utjecati na izmjerene vrijednosti visine na uzorku. Izostanak ove operacije može dovesti do krivog očitanja vrijednosti parametara hrapavosti te u konačnici do pogrešnih zaključaka. Postoji nekoliko načina kako se slika može nivelirati, a najčešće korištena je metoda koja se temelji na ravnini najmanjih kvadrata (engl. *Least squares plane*)

koja može isključiti neke značajke sa skenirane površine iz kalkulacije kod računanja parametara površine. Slika 25. prikazuje usporedbu originalne i iste te slike uzorka skeniranog u svrhu ispitivanja u ovom radu, na kojoj je provedena operacija niveliranja.



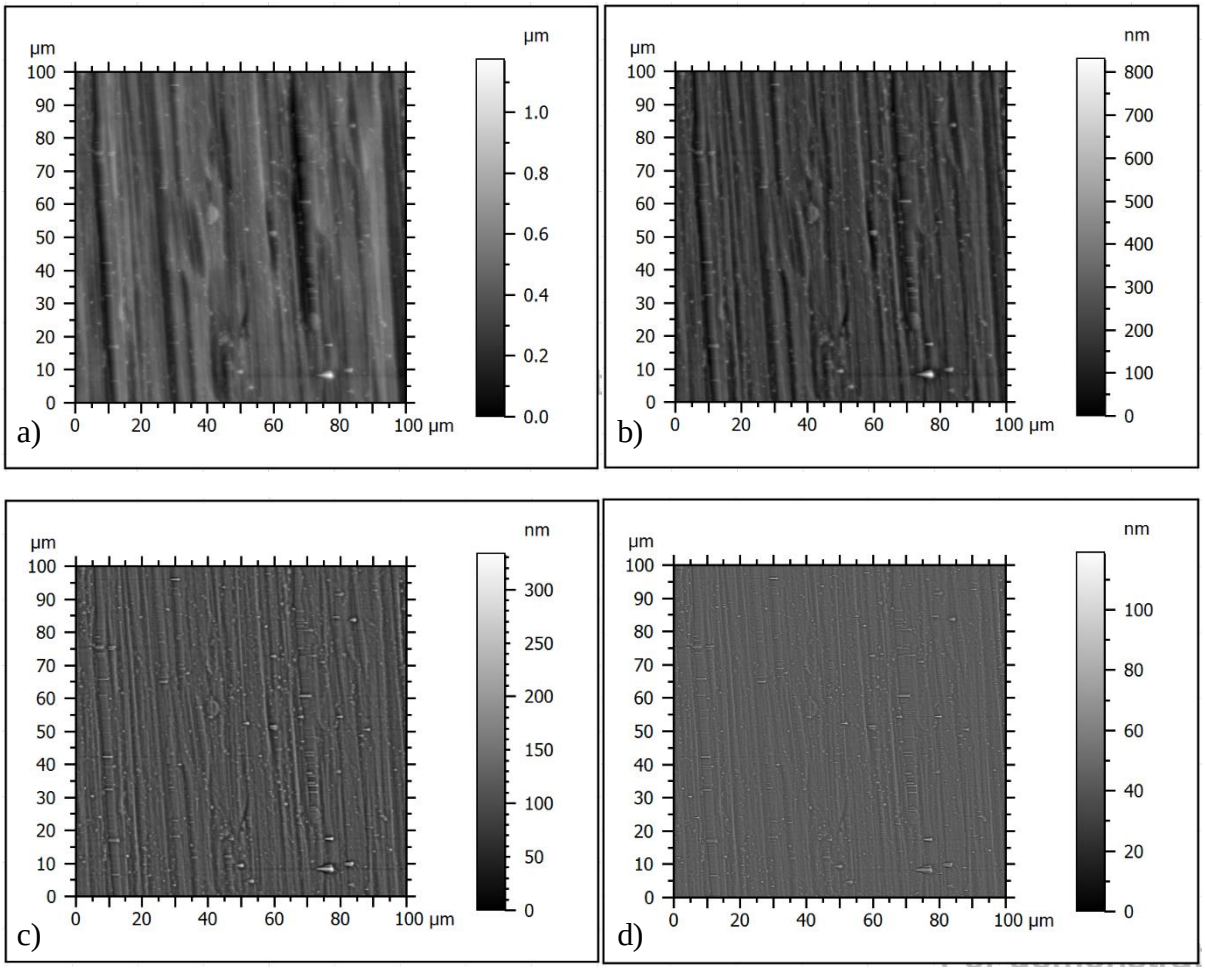
Slika 25. Usporedba područja skeniranja: a) prije niveliranja, b) nakon niveliranja

Vizualno uspoređujući ovo područje skeniranja, ne mogu se utvrditi gotovo nikakve razlike u promjeni visine. To indicira da je uzorak vjerojatno bio relativno precizno horizontalno položen, odnosno nije bilo većeg odstupanja između ravnine površine koja je skenirana i ravnine podloge na kojoj uzorak leži. Jedina razlika se može primijetiti na histogramu na skali boja. Kako je ova razlika koja se dobije niveliranjem mala u vizualnoj usporedbi, isto tako je i ta razlika zanemariva u usporedbi parametara topografije površine. Iz tog razloga ova operacija nije provedena na slikama u daljnjoj analizi u ovom radu.

6.2.2. Filtriranje

Sljedeća operacija koja se provodi nakon niveliranja je filtriranje. Filtriranje se primjenjuje u svrhu uklanjanja određenih značajki primarnog profila. Drugim riječima, filtriranjem se može izdvojiti komponenta hrapavosti od komponenata odstupanja od oblika i valovitosti u svrhu analize parametara hrapavosti. Česta pojava na slikama skeniranih područja je neželjen šum visokih ili niskih frekvencija koji se jednostavno može otkloniti primjenom filtara. Najčešće primjenjivani filtri na slikama dobivenim na AFM-u su matrični filtar i Fourierov filtar. Matrični filtri se temelje na aproksimaciji susjednih točaka na slici te se na taj način uklanjaju određene komponente nekih frekvencija. Matrični filtri obično se

grupiraju u filtre koji propuštaju komponente niskih frekvencija, a smanjuju prolaz onih komponenata visokih frekvencija i one koji propuštaju komponente visokih frekvencija, a smanjuju prolaz komponenata niskih frekvencija. Kombiniranje ovih filtara omogućuje dobivanje efekta zaglađivanja ili izoštravanja slike kako bi se lakše uočili rubovi značajki površine. Fourierov filtar može imati slične učinke kao i matrični, no fleksibilniji je i pomoću njega je moguće potpuno ukloniti ili pak naglasiti neke komponente slike. Još jedan od često korištenih filtara je Median filtar koji omogućuje smanjenje šumova bez utjecaja na zamućivanje rubova. Filtar koji se još koristi, a koji je moguće primijeniti u softverskom paketu *Mountains SPIP* je filtar Gaussian (prema normi ISO 16610-61). Granična vrijednost filtra (engl. *Cut-off*) mijenjana je kako bi se prikazao utjecaj filtra na analiziranu površinu (Slika 26.).



Slika 26. Usporedba iste površine filtrirane Gaussovim filtrom granične vrijednosti: a) 25 µm, b) 8 µm, c) 2,5 µm, d) 0,8 µm

Na slici se uočava kako različita vrijednost propuštanja filtra mijenja prikaz slike. Što je niža granična vrijednost filtra, na slici se uočava veća razina detalja i pojedine značajke su izraženije. Na tim značajkama se uz primjenu filtra jasnije uočavaju rubovi čime se pospješuje njihova karakterizacija. Primjenom ovog filtra smanjene su niskofrekventne razlike u visini radi čega se te spomenute značajke jasnije uočavaju.

U nastavku slijedi usporedba parametara topografije površine i parametara hrapavosti površine za slike filtrirane ovim ranije navedenim filtrom (Slika 26.). Dakle radi se o području skeniranja 100 µm × 100 µm, rezoluciji skeniranja 512, brzini skeniranja 0,25 Hz i primijenjen je Gaussovim filtar različitih graničnih vrijednosti. Rezultati su prikazani u tablici u nastavku (Tablica 1.).

Tablica 1. Usporedba parametara topografije nefiltrirane i filtriranih slika

Parametar topografije		***Sq***	***Ssk***	***Sku***	***Sp***	***Sv***	***Sz***	***Sa***
Mjerna jedinica		**nm**	**-**	**-**	**nm**	**nm**	**nm**	**nm**
Granična vrijednost filtra / µm	-	173,90	-0,765	4,461	774,52	701,68	1476,20	131,79
	25	104,45	-0,398	3,601	784,73	389,59	1174,31	81,61
	8	54,69	0,166	4,883	628,89	202,62	831,51	42,50
	2,5	19,98	1,055	7,594	228,45	105,11	333,55	15,01
	0,8	5,08	1,905	16,101	75,43	43,52	118,94	3,45

Uspoređujući ove tablice može se zaključiti kako različita granična vrijednost filtra značajno utječe na dobivene rezultate hrapavosti površine. To je dobar pokazatelj kako općenito kod analize rezultata treba prethodno pažljivo odabrati graničnu vrijednost filtra pri obradi slika na kojima će se analizirati hrapavost površine. Krivim odabirom granične vrijednosti filtra za određeno područje, dobiveni rezultati bi se mogli krivo izračunati i interpretirati što bi u konačnici dovelo pogrešnih zaključaka o analiziranoj površini.

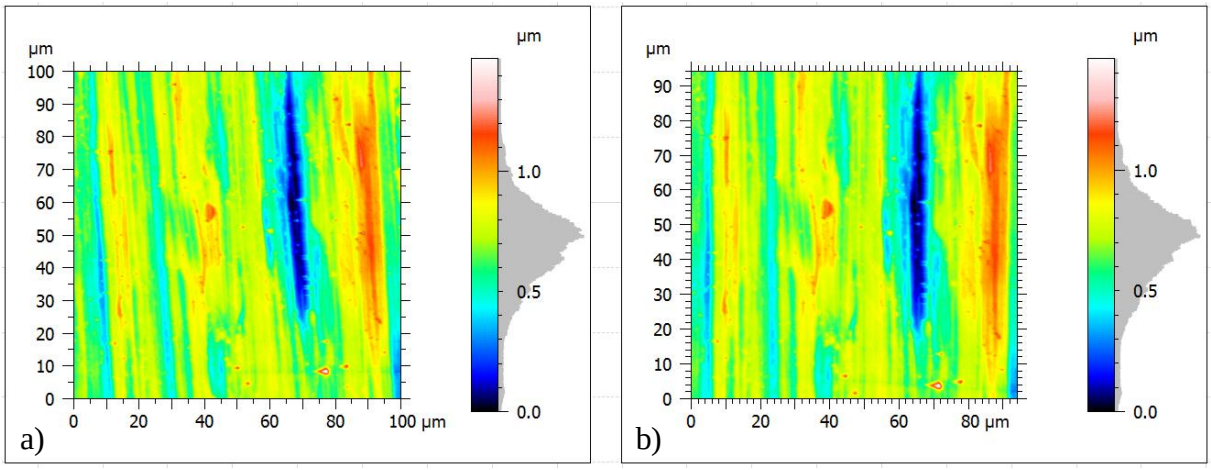
6.2.3. Rotiranje, izrezivanje i skaliranje

Rotiranje je jedna od uobičajenih procedura u analizi slika i neophodna je ako postoji zahtjev da značajke površine moraju biti poravnate s osima skeniranog područja. Rotiranje se uglavnom koristi kod nekih tehničkih uzoraka koji zahtijevaju specifične softverske analize. Ponekad je potrebno analizirati uzorak prije i poslije određenih tretiranja nekim sredstvima pa je u tom slučaju poželjno poravnati prikaz površine uzorka s osima skeniranog područja.

Izrezivanje se koristi kada se želi maknuti neke neželjene značajke površine s rubova skeniranog područja ili ako se želi izolirati pojedina područja slike za daljnje analize. Na primjer, hrapavost pojedinih područja skenirane slike može biti zasebno analizirana umjesto hrapavosti cijelog skeniranog područja.

Skaliranje u ovom kontekstu predstavlja mijenjanje omjera slike. Ova operacija se rijetko koristi s obzirom da bi svaki AFM trebao biti točno kalibriran prije samog skeniranja uzoraka. Uglavnom se koristi u slučaju direktne usporedbe istih značajki slike koje su skenirane na različitim uređajima [7].

Slika 27. prikazuje usporedbu iste slike snimljene na AFM-u prije i poslije primjene alata za rotiranje slike. Slika je rotirana u smjeru kazaljke na satu kako bi se značajke površine poravnale s vertikalnom osi.

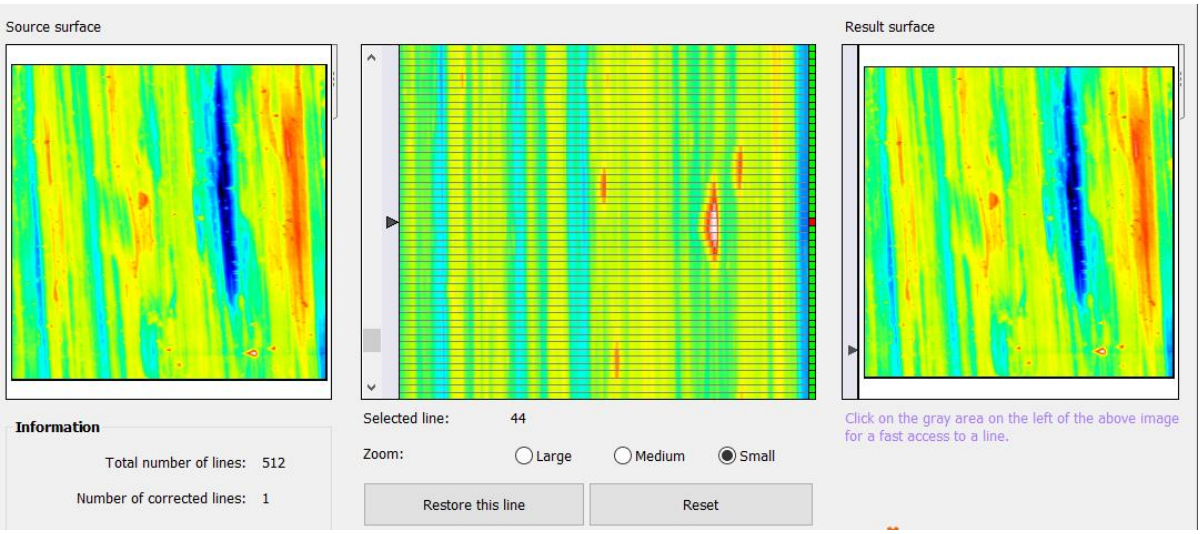


Slika 27. Usporedba područja skeniranja: a) prije, b) nakon poravnanja s vertikalnom osi

Na slici se može vidjeti kako je na prikazu nakon poravnanja promijenjeno prikazano područje skeniranja. Kako bi se prilikom rotiranja slike zadržao pravokutan oblik, slika je automatski uvećana i izrezani su joj rubovi pa je radi toga smanjeno prikazano područje analize. Sva mjerenja za ovaj rad provedena su na istom uređaju pod istim uvjetima i značajke površine (tragovi mehaničke obrade) su relativno dobro poravnate s osima skeniranog područja. S obzirom na te uvjete, mjerenja rezultata hrapavosti ne pokazuju relevantna odstupanja kod slike poravnate s vertikalnom osi u usporedbi s izvornom slikom tako da nijedna od ovih spomenutih operacija neće biti primijenjena u obradi slika u ovom istraživanju.

6.2.4. Ispravak pogrešaka

Slike snimljene na AFM-u često sadrže neke pogreške koje su uglavnom rezultat neželjenih interakcija vrha ticala s uzorkom, kao npr. pomicanje uzorka ili pojava jakih sila između vrha ticala i uzorka koje dovode do vibracija. Pogreške također mogu biti rezultat pojave vanjskih sila poput vibracije ili akustičke buke. Ako nije moguće napraviti skeniranje bez utjecaja vanjskih sila, postoje specijalni softverski alati za otklanjanje takvih pogrešaka. Jedan od najčešće primjenjivanih takvih alata radi na principu uklanjanja linije skeniranja na kojoj se nalazi greška tako što je zamijeni aproksimacijom vrijednosti dviju susjednih linija mjerenja. Pogreška u jednom pikselu može se ispraviti tako što se taj jedan piksel zamijeni s prosjekom vrijednosti osam susjednih piksela oko tog za koji se smatra da je pogreška. Takve ispravke pogrešaka treba raditi s oprezom jer slike na kojima se naprave ovakve korekcije sadrže nove promijenjene vrijednosti i ne bi se trebale koristiti u daljnjoj analizi. Na primjer, vrijednosti hrapavosti površine će biti smanjene, a to više ne predstavlja stvarnu hrapavost površine [7]. Slika 28. prikazuje način na koji se primjenjuje tehnika uklanjanja linije skeniranja na kojoj se nalazi greška.



Slika 28. Tehnika uklanjanja linije skeniranja s pogreškom

Ispod slike s lijeve strane nalazi se informacija o ukupnom broju linija (koja odgovara rezoluciji skeniranja) i broj linije koja je odabrana za korekciju. Srednja slika prikazuje sve linije skeniranja, a ispod same slike nalazi se podatak o rednom broju odabrane linije skeniranja (engl. *Selected line*). S lijeve strane srednje slike je crna strelica koja pokazuje

odabranu liniju skeniranja. S lijeve strane desne slike se također nalazi crna strelica, ali u ovom slučaju pokazuje lokaciju odabrane linije na slici cijelog područja skeniranja.

6.3. Prikaz slika

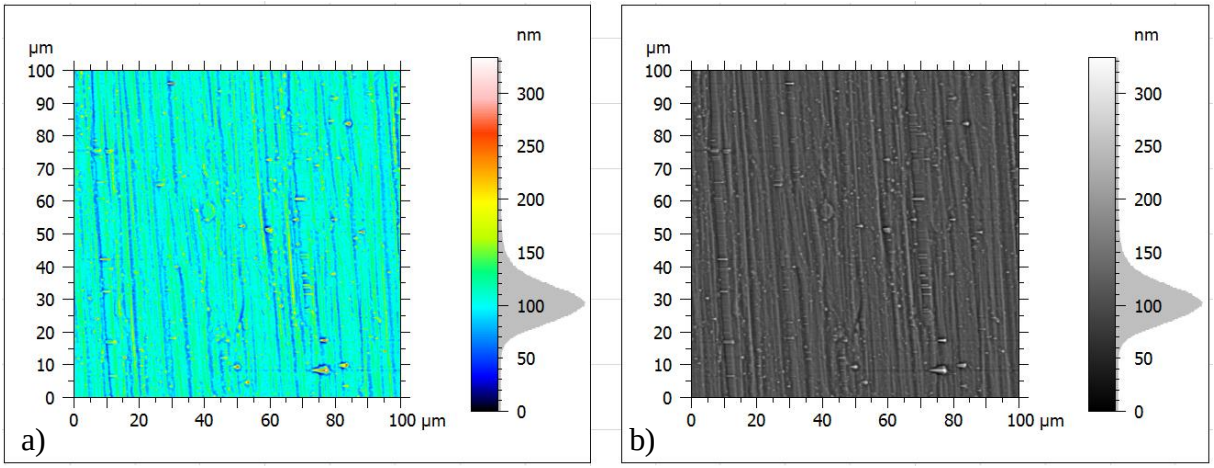
Samo gledanjem u slike dobivene AFM-om može se prikupiti velika količina informacija. Međutim, podaci vidljivi na slici uvelike ovise o načinu na koji je slika prikazana. Velik dio interpretiranja i objašnjavanja slika ovisi o tehnikama koje se koriste u svrhu izvlačenja što više podataka sa slika. Promjena parametara prikaza često olakšava naglašavanje i jasnije uočavanje pojedinih značajki slike. Softverske funkcije pomoću kojih se mijenja prikaz slika ne mijenjaju podatke zapisane u samim slikama [7].

6.3.1. Prilagodba histograma

Histogram slike je prikaz visine (ili nekog drugog parametra zabilježenog na *Z* osi) svakog piksela u odnosu na frekvenciju. Najčešće se podaci s AFM-a prikazuju kao paleta boja gdje svaka boja, odnosno nijansa boje, predstavlja određenu visinu. Softver automatski cijeloj vertikalnoj osi pridružuje cijelu paletu boja što nekad može otežati razlikovanje određenih značajki površine. Korištenjem alata za prilagodbu histograma, korisnik može odlučiti želi li odbaciti više i/ili niže točke na paleti boja kako bi se ta paleta boja bolje rasporedila preko većine podataka zabilježene visine. To za posljedicu ima veliko povećanje kontrasta na većini slike i često pomaže u jasnijem prikazu detalja slike. Ako softverski paket nema ovu opisanu mogućnost, vrlo vjerojatno će imati barem jednu od slijedeće dvije navedene (sjenčanje i promjene palete boja) pomoću kojih se postiže isti utjecaj na dobivene slike [7].

6.3.2. Paleta boja

Jedan od glavnih alata za pospješivanje prikaza detalja na površini je odabir boje prikaza. U nekim slučajevima odabirom specijalizirane palete boja može se postići bolja vizualizacija određenih značajki slike [7]. Slika 29. prikazuje usporedbu slika u paleti tonova duginih boja i paleti tonova sive boje kako bi se istaknula razlika u razini prikazanih detalja.



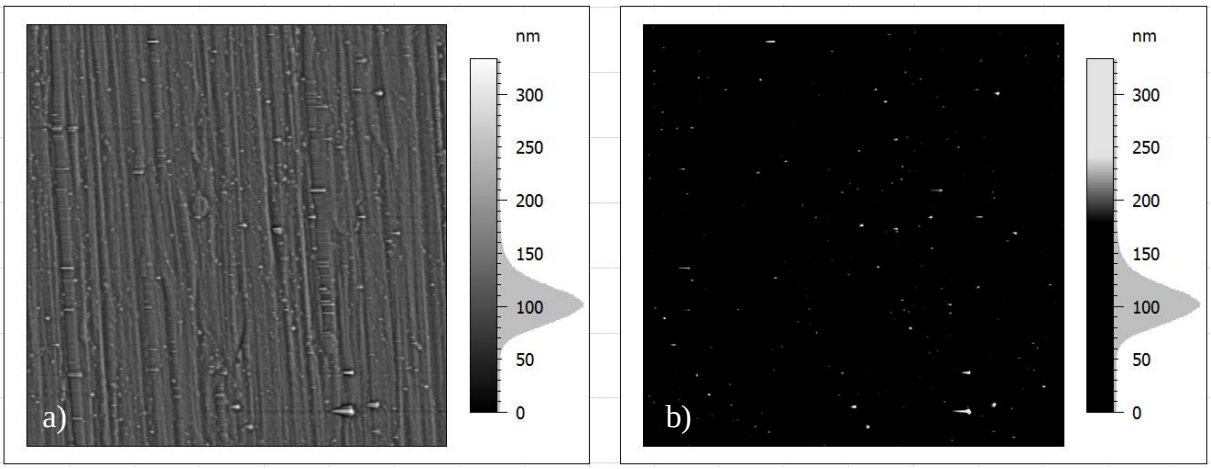
Slika 29. Usporedba iste slike u različitim paletama boje: a) dugine boje, b) sivi tonovi

Na slici se može uočiti isto skenirano područje prikazano u dvije različite palete boja. Slika a) prikazuje područje u paleti duginih boja dok slika b) prikazuje isto to područje u paleti sivih boja. U ovom slučaju je na slici a) teže uočiti i vizualizirati razlike u visini prikazane na ovaj način jer kao što i histogramska distribucija na skali boja prikazuje, sve boje sa slike se kreću u rasponu nekoliko nijansi plave boje. Isto to područje na prikazu b) se kreće u nekoliko tonova sive boje, no ljudskom oku je lakše u toj skali vizualizirati pojedine značajke površine.

6.3.3. Sjenčanje

Još jedna od mogućnosti pojačavanja kontrasta kako bi se olakšala interpretacija slika dobivenih pomoću AFM-a je sjenčanje. Ova operacija primjenjuje umjetni filtar za sjenčanje na podatke sa slike i rezultira većim kontrastom i u nekim slučajevima možda potpomogne realističniji prikaz slike na štetu podataka o visini. Sjenčanjem se mijenja položaj i intenzitet svjetla na slici i može se postići bolje izražavanje i najmanjih visokofrekventnih struktura na površini. Primjenom ovog filtra se često lakše prepozna i oblik samih značajki na površini [7].

Slika 30. prikazuje usporedbu slika prije i poslije primjene softverskog alata za sjenčanje na prikazu slike u paleti tonova sive boje.



Slika 30. Usporedba istog područja skeniranja a) prije i b) poslije primjene sjenčanja

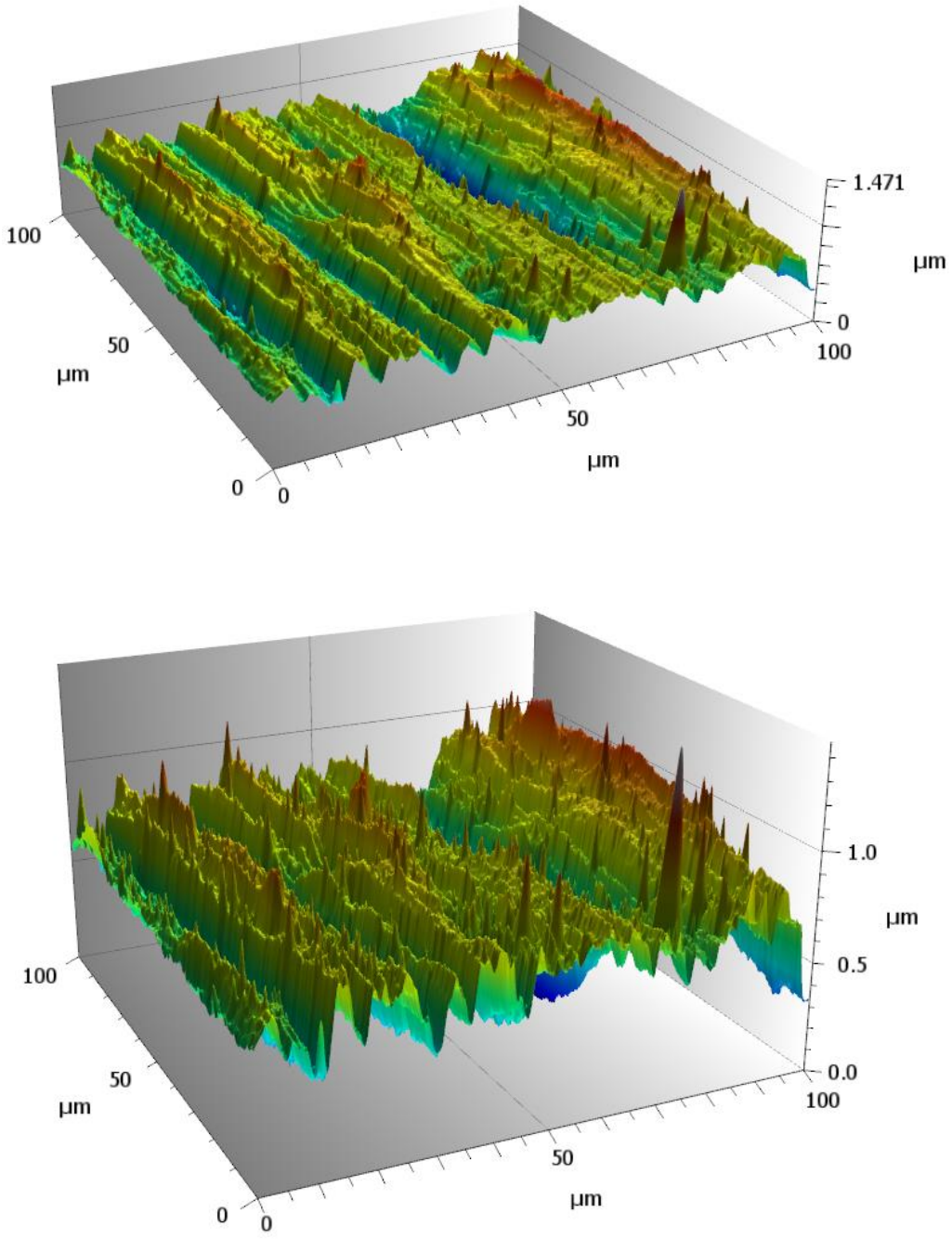
Na slici se može uočiti značajna razlika u naglašavanju visokofrekventnih signala na prikazu b). Jednostavnom primjenom filtra za sjenčanje te su značajke površine naglašene i moguće ih je lakše razlikovati od ostatka slike (pozadine). Također, tim značajkama se na ovaj način može lakše odrediti oblik obzirom da više nisu vizualno stopljene s pozadinom.

6.3.4. 3D prikaz

3D prikazi područja skeniranja su već ranije prikazani slikama dobivenim direktno na AFM-u (Slika 23.). Svaki slikovni zapis dobiven na AFM-u koji ima podatke o visini se vrlo lako u softverskom programu korištenom u ovom radu može pretvoriti također u 3D prikaz. Standarda metoda prikazivanja podataka je 2D slika na kojoj se koristi neka paleta boja kako bi se prikazali podaci o visini. Takav način prikaza visine ponekad može biti zbunjujući i težak za tumačenje. Zato se 2D slikovni zapisi pretvaraju u 3D prikaze koji često poboljšavaju interpretaciju podataka o visini. Treba napomenuti kako ti prikazi koje se naziva trodimenzionalnima koji su ranije prikazani su zapravo pseudo-trodimenzionalni. Pravi trodimenzionalni prikazi zahtijevaju korištenje posebne opreme koja uključuje specijalne naočale za korisnika kako bi se razlikovao pogled lijevog i desnog oka i kako bi se lakše vizualizirala topografija uzorka [7]. Za pojednostavnjenje tumačenja, u ovome radu će se i dalje za sve pseudo-trodimenzionalne prikaze koristiti izraz 3D prikaz.

Ono što softverski programi poput *Mountains SPIP-a* omogućuju je povećanje ili smanjenje skale *Z* osi što u konačnici dovodi do 3D prikaza s manje izraženom topografijom

površine. Slika 31. prikazuje usporedbu istog područja skeniranja s drugačijom primijenjenom skalom *Z* osi.



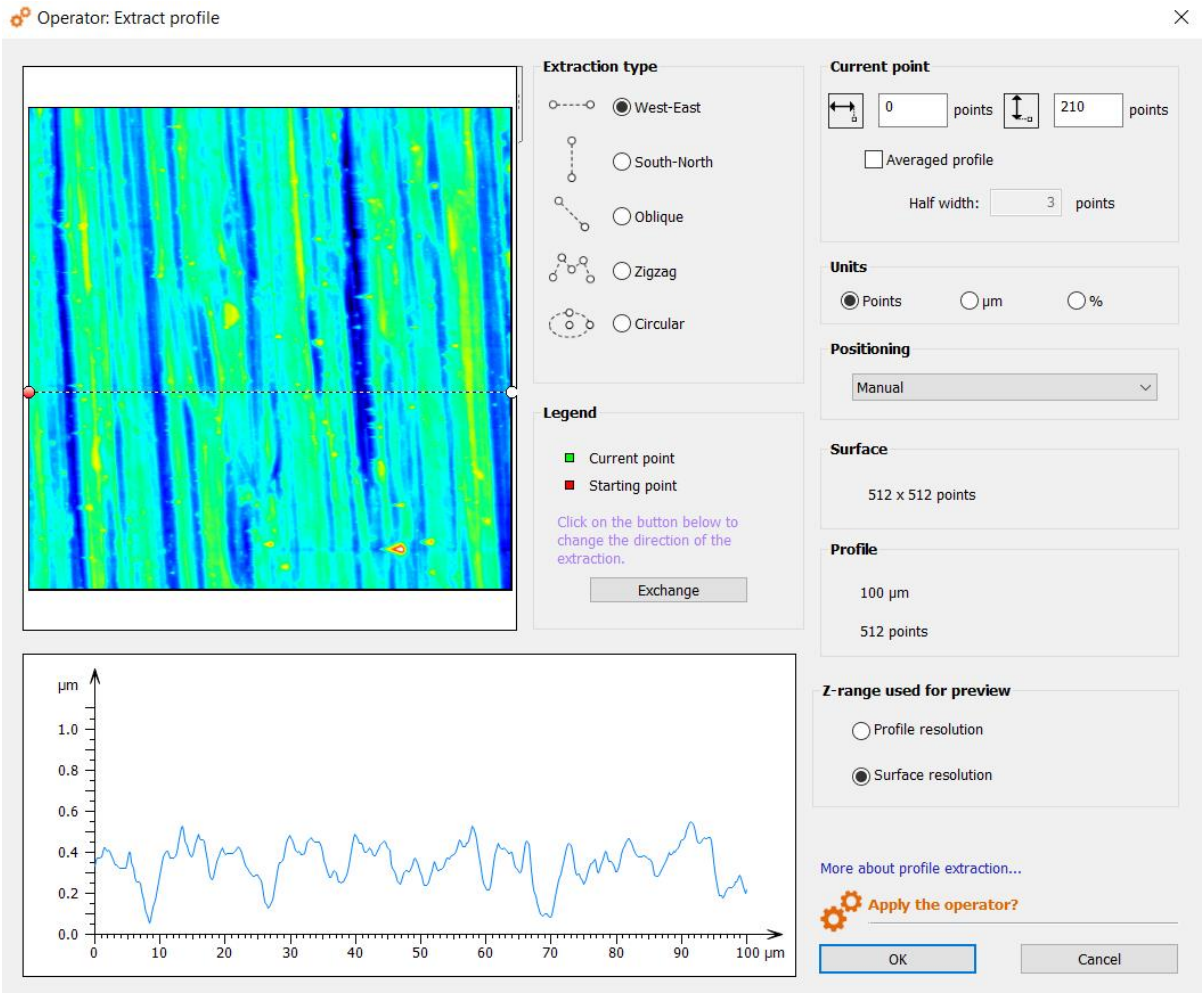
Slika 31. Usporedba istog područja skeniranja s promijenjenom skalom *Z* osi

6.4. Analiza slika

Sama vizualna interpretacija slika ne daje dovoljno informacija o skeniranim uzorcima. Slike skenirane na AFM-u sadrže mnogo više informacija koje takvi zapisi nose u sebi, a koje treba izvući pomoću raznih alata za obradu slika. Kako bi se provela kvalitetna kvantitativna analiza slika, preduvjet je da je prethodno kvalitetno provedeno i samo mjerenje. Što znači da ako slike imaju greške zbog loše odabranih ulaznih parametara, oštećenog vrha ticala ili ako su slike loše obrađene prije analize, to sve će se reflektirati na rezultate mjerenja [7].

6.4.1. Linijski profili

Jedna od široko primjenjivih tehnika analize je izvlačenje i mjerenje linijskih profila. Softver za analizu dopušta korisniku da proizvoljno odabere liniju na površini koju će analizirati, a koja može biti vodoravna, okomita ili pod nekim kutom. Softver tada prikaže izmjereni profil duž te linije s podacima o udaljenosti na horizontalnoj osi i podacima o visini na vertikalnoj osi. Na tako dobivenom profilu se mogu lako izmjeriti visina, širina i kutovi pojedinih značajki površine. Ručno mjerenje linijskih profila je vrlo jednostavna metoda mjerenja značajki površine, no ako treba izmjeriti velik broj značajki na površini ovaj postupak može biti iznimno dugotrajan. Rezultati mjerenja mogu varirati od mjeritelja do mjeritelja obzirom da je mjeritelj taj koji definira točke mjerenja pojedinih značajki. Kako bi se to izbjeglo, koriste se neke naprednije funkcije s precizno definiranim algoritmima koji automatski mjere određene parametre poput visine i širine značajki površine [7]. Kako bi se pravilno provela mjerenja na profilu, sliku koja se analizira potrebno je prethodno filtrirati kako što je opisano u poglavlju 6.2.2. Slika 32. prikazuje kako se na skeniranom području odabire područje na kojem se želi napraviti linijska analiza.



Slika 32. Linijski profil odabran na skeniranom području

Na slici se može vidjeti prikazano cijelo skenirano područje i jedna linija koju je moguće pomicati. Ta linija predstavlja liniju skeniranja koju je ticalo prošlo tijekom skeniranja uzorka i ispod te slike prikazuje zapis o visini profila koji je ostvaren upravo na toj liniji. Željenu liniju profila je moguće orijentirati u svim smjerovima, a sama linija ne mora biti ravna već može biti i izlomljena ili zavinuta tako da poprima kružni oblik.

7. ANALIZA UTJECAJNIH VELIČINA NA PARAMETRE TOPOGRAFIJE

Nakon što se pripremi odabirući željene alate, slika je spremna za analizu. Analiza slike podrazumijeva izvlačenje parametara topografije površine i njihovu interpretaciju. Parametri topografije koji će se proučavati i uspoređivati u ovom radu su amplitudni parametri propisani normom ISO 25178-2:2012, Geometrijske specifikacije proizvoda – Tekstura površine: Područje – Dio 2: Pojmovi, definicije i parametri teksture površine:

- *Sq* – predstavlja srednje kvadratno je odstupanje unutar vrha profila i matematički se prikazuje (2) [28]:

$$Sq = \sqrt{\frac{1}{A}\iint_A z^2(x,y)dxdy} \quad \textbf{(2)}$$

- *Ssk* – predstavlja asimetričnost raspodjele visine na referentnoj duljini. Ako je ovaj parametar jednak nuli, razlika u visini je ravnomjerno (normalno) raspoređena. Ako je *Ssk* veći od nule, odstupanja su ispod granice srednje vrijednosti, a ako je manji od nule odstupanja su iznad granice srednje vrijednosti. Matematički se računa (3) [28]:

$$Ssk = \frac{1}{Sq^3}\left[\frac{1}{A}\iint_A z^3(x,y)dxdy\right] \quad \textbf{(3)}$$

- *Sku* – je parametar koji se odnosi na geometriju vrhova i dolova i prikladan je za analiziranje stupnja kontakta dva objekta. Još se naziva i mjera oštrine profila. Matematički se opisuje (4) [28]:

$$Sku = \frac{1}{Sq^4}\left[\frac{1}{A}\iint_A z^4(x,y)\,dxdy\right] \quad \textbf{(4)}$$

- *Sp* – najveća je visina vrha izmjerenog profila na referentnoj dužini [10].

- *Sv* – najveća je dubina dola izmjerenog profila na referentnoj dužini [10].
- *Sz* – najveća je izmjerena visina profila na referentnoj dužini, a mjeri se kao (5) [10]:

$$Sz = Sp + Sv \tag{5}$$

- *Sa* – najčešće je korišteni parametar i predstavlja aritmetičku sredinu apsolutnih odstupanja neravnina profila od srednje linije. Ovaj parametar opisuje se matematičkom formulom (6) [13]:

$$Sa = \sqrt{\frac{1}{A}\iint_A |z(x,y)|dxdy} \tag{6}$$

7.1. Promjena brzine skeniranja

U nastavku je provedeno ispitivanje utjecaja brzine skeniranja na parametre topografije površine. Mjerenje je provedeno na području 20 μm × 20 μm pri rezoluciji skeniranja od 256. Brzine su varirane u rasponu 0,5 Hz – 1,8 Hz. Tablica 2. prikazuje rezultate mjerenja.

Tablica 2. Usporedba parametara topografije za različite brzine skeniranja

Brzina skeniranja	**Parametar topografije**	***Sq***	***Ssk***	***Sku***	***Sp***	***Sv***	***Sz***	***Sa***
Hz	**Mjerna jedinica**	**nm**	**-**	**-**	**nm**	**nm**	**nm**	**nm**
0,50	Mjerenje br. 1	76,98	-0,834	4,837	247,45	305,51	552,96	57,65
	Mjerenje br. 2	77,45	-0,844	4,806	251,25	305,43	556,68	57,99
	Mjerenje br. 3	77,72	-0,849	4,792	252,62	305,77	558,39	58,15
	$\bar{x}$	77,381	-0,843	4,812	250,441	305,569	556,010	57,931
	s	0,373	0,008	0,023	2,681	0,175	2,775	0,256
0,80	Mjerenje br. 1	76,81	-0,810	4,845	249,80	306,80	556,60	57,59
	Mjerenje br. 2	78,35	-0,842	4,779	254,31	309,97	564,27	58,55
	Mjerenje br. 3	78,54	-0,842	4,764	253,92	310,39	564,31	58,66
	$\bar{x}$	77,899	-0,831	4,796	252,675	309,055	561,730	58,266
	s	0,950	0,018	0,043	2,496	1,961	4,438	0,590
1,20	Mjerenje br. 1	76,26	-0,786	4,834	251,79	301,66	553,44	57,33
	Mjerenje br. 2	78,14	-0,813	4,711	259,30	305,94	565,24	58,47
	Mjerenje br. 3	78,30	-0,814	4,682	256,35	307,49	563,84	58,63
	$\bar{x}$	77,569	-0,804	4,742	255,812	305,029	560,841	58,142
	s	1,135	0,016	0,081	3,787	3,022	6,447	0,709
1,40	Mjerenje br. 1	77,85	-0,797	4,741	254,36	307,48	561,84	58,12
	Mjerenje br. 2	77,21	-0,796	4,813	249,97	306,07	556,04	57,42
	Mjerenje br. 3	76,77	-0,802	4,845	247,06	305,41	552,47	56,97
	$\bar{x}$	77,277	-0,798	4,800	250,463	306,319	556,782	57,502
	s	0,546	0,003	0,053	3,673	1,058	4,728	0,583
1,60	Mjerenje br. 1	75,52	-0,778	4,844	243,28	303,44	546,72	56,03
	Mjerenje br. 2	74,12	-0,790	4,872	236,58	298,52	535,10	54,92
	Mjerenje br. 3	74,02	-0,791	4,876	236,63	298,42	535,05	54,82
	$\bar{x}$	74,555	-0,786	4,864	238,830	300,129	538,959	55,257
	s	0,841	0,007	0,018	3,853	2,872	6,725	0,672
1,80	Mjerenje br. 1	72,83	-0,747	4,788	233,50	295,04	528,54	54,12
	Mjerenje br. 2	72,53	-0,742	4,779	233,73	293,15	526,88	53,89
	Mjerenje br. 3	72,65	-0,735	4,765	234,02	293,52	527,53	53,98
	$\bar{x}$	72,669	-0,742	4,777	233,751	293,900	527,651	53,994
	s	0,148	0,006	0,011	0,258	1,004	0,839	0,116

Analiza utjecaja brzine skeniranja provedena je sa šest različitih brzina skeniranja i za svaku brzinu je mjerenje ponovljeno tri puta. Na taj način je osigurano kvalitetnije provođenje analize utjecajnosti pojedine brzine na rezultate skeniranja. Utjecaj brzine skeniranja na parametre topografije analiziran je statističkim testom analize varijanci (engl. *Analysis of variance* – ANOVA). Analiza varijanci provodi se za svaki parametar topografije.

Prije samog statističkog testa potrebno je postaviti nultu i alternativnu hipotezu. Nulta i alternativna hipoteza glase:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 \quad \textbf{(7)}$$

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6 \quad \textbf{(8)}$$

Gdje su μ_i očekivane vrijednosti pojedinog parametra topografije, a i = 1 … 6 određena brzina skeniranja. Analiza varijanci provedena je statističkim paketom *Minitab 19* (probna verzija). Odabrana razina značajnosti testa je α = 0,05.

Provedenom analizom dolazi se do informacija o *P*-vrijednosti svakog amplitudnog parametra topografije površine (Tablica 3.).

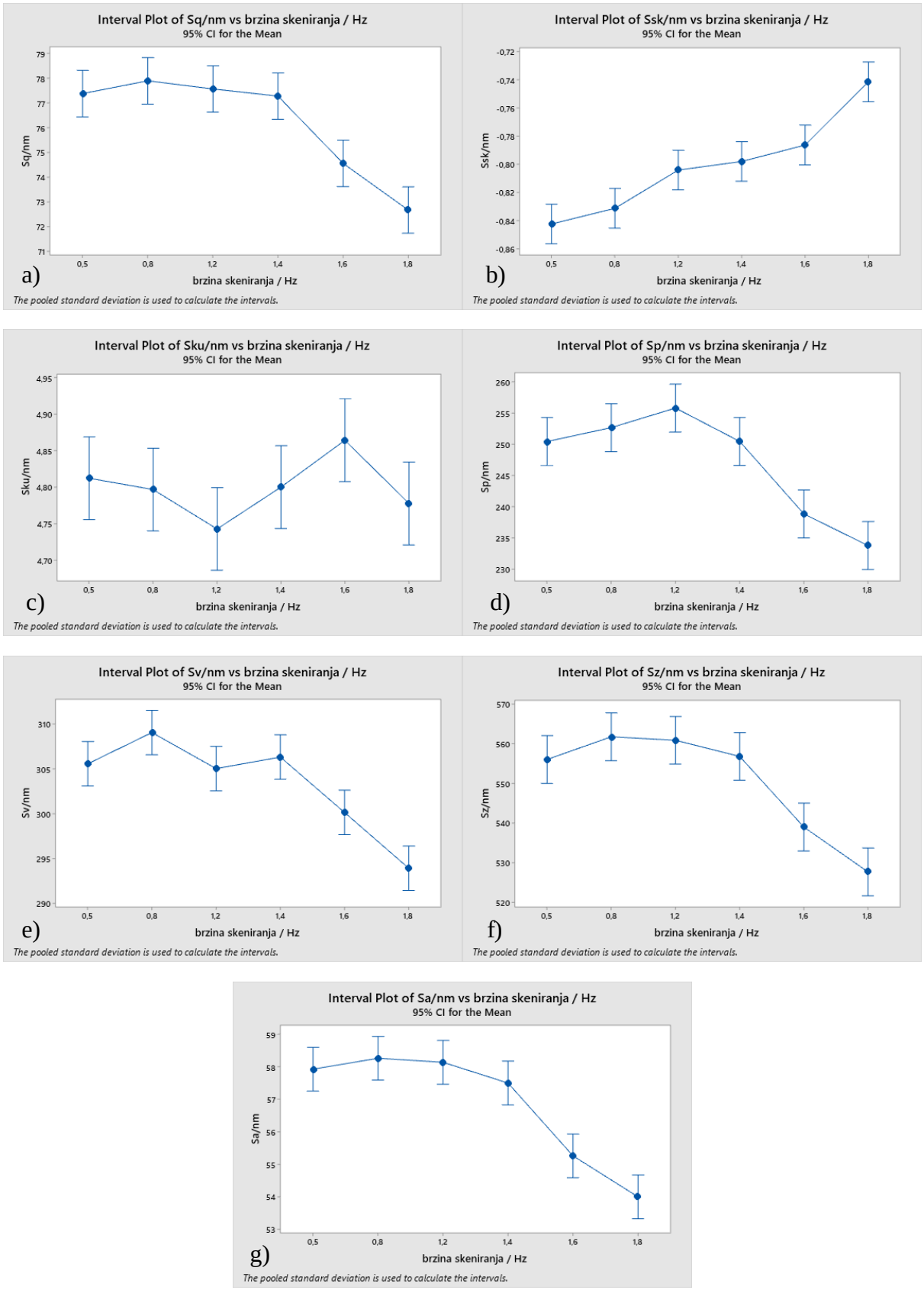
Tablica 3. *P*-vrijednosti amplitudnih parametara topografije

Parametar topografije	***P*-vrijednost**
Sq	0,000
Ssk	0,000
Sku	0,102
Sp	0,000
Sv	0,000
Sz	0,000
Sa	0,000

Vidi se da *P*-vrijednosti svakog parametra topografije, osim *Sku*, iznosi 0,000. S obzirom na to da je *P*-vrijednost manja od razine značajnosti testa α = 0,05, zaključuje se da kod svih provedenih analiza (osim kod parametra *Sku*) postoji dovoljno dokaza da se odbaci nulta hipoteza H_0. Drugim riječima, postoji statistički značajna razlika između aritmetičkih sredina pojedinog parametra topografije i različite brzine skeniranja. Odnosno, brzina skeniranja značajno utječe na parametre topografije. Bez obzira što kod parametra *Sku* ne

postoji statistički značajna razlika, svejedno se može zaključiti kako brzina skeniranja značajno utječe na parametre topografije, što i pokazuju svi ostali parametri topografije kod kojih postoji statistički značajna razlika. To uključuje i parametre *Sz* i *Sa* koji se najčešće koriste u ovakvim i sličnim analizama.

Grafički prikazi također su dobiveni obradom rezultata u navedenom statističkom paketu *Minitab 19* (probna verzija). Slika 33. prikazuje intervale pouzdanosti svake aritmetičke sredine u ovisnosti o brzini skeniranja za sve spomenute parametre topografije.



Slika 33. Intervali pouzdanosti svake aritmetičke sredine parametara u odnosu na brzinu skeniranja: a) *Sq*, b) *Ssk*, c) *Sku*, d) *Sp*, e) *Sv*, f) *Sz*, g) *Sa*

Proučavajući grafički prikazane parametre *Sz* i *Sa* u ovisnosti o brzini skeniranja (Slika 33.), vidljivo je kako porastom brzine skeniranja pada vrijednost parametra topografije. Može se pretpostaviti kako bi se daljnjim povećanjem nastavio ovakav padajući trend krivulje no naravno treba napomenuti kako nije moguće brzinu povećavati do bilo koje vrijednosti jer bi došlo do oštećenja ili pucanja ticala. To je jedan od dokaza koliko je bitno odabrati pravilnu brzinu skeniranja želi li se provesti kvalitetno mjerenje parametara topografije površine.

7.2. Promjena rezolucije skeniranja

U nastavku ispitivanja provedena je analiza utjecaja rezolucije skeniranja na parametre topografije površine na području skeniranja 100 µm × 100 µm i brzine skeniranja 0,25 Hz. Odabrane vrijednosti rezolucije skeniranja su 128, 256 i 512. Tablica u nastavku (Tablica 4.) prikazuje vrijednosti parametara topografije površine za različite rezolucije skeniranja za navedene ulazne parametre skeniranja.

Tablica 4. Parametri topografije za područje 100 µm × 100 µm i brzinu skeniranja 0,25 Hz

Parametar topografije		***Sq***	***Ssk***	***Sku***	***Sp***	***Sv***	***Sz***	***Sa***
Mjerna jedinica		**nm**	**-**	**-**	**nm**	**nm**	**nm**	**nm**
Rezolucija skeniranja	128	167,81	-0,890	4,772	611,60	668,60	1280,19	125,92
	256	172,05	-0,858	4,661	684,65	685,56	1370,21	129,64
	512	173,90	-0,765	4,461	774,52	701,68	1476,20	131,79

Uspoređujući vrijednosti ove tablice (Tablica 4.) može se primijetiti povećanje vrijednosti parametara topografije kako se povećava rezolucija skeniranja, osim parametra *Sku* koji se smanjuje.

Sljedeće mjerenje provedeno je na području skeniranja 50 µm × 50 µm, a brzina skeniranja iznosi 0,5 Hz. Rezultati mjerenja prikazani su u tablici u nastavku (Tablica 5.).

Tablica 5. Parametri topografije za područje 50 µm × 50 µm i brzinu skeniranja 0,5 Hz

Parametar topografije		***Sq***	***Ssk***	***Sku***	***Sp***	***Sv***	***Sz***	***Sa***
Mjerna jedinica		**nm**	**-**	**-**	**nm**	**nm**	**nm**	**nm**
Rezolucija skeniranja	128	198,72	0,199	-0,739	547,33	762,38	1309,70	149,38
	256	199,64	-0,684	3,990	576,07	761,54	1337,61	150,39
	512	197,84	-0,628	3,876	592,73	759,05	1351,78	149,43

Na području skeniranja 50 µm × 50 µm uz brzinu skeniranja od 0,5 Hz može se primijetiti manja razlika između parametara topografije prilikom promjene rezolucije u odnosu na područje skeniranja 100 µm × 100 µm.

Sljedeće mjerenje provedeno je na području skeniranja 20 µm × 20 µm, a brzina skeniranja iznosi 1 Hz. Rezultati mjerenja prikazani su u tablici u nastavku (Tablica 6.).

Tablica 6. Parametri topografije za područje 20 µm × 20 µm i brzinu skeniranja 1 Hz

Parametar topografije		***Sq***	***Ssk***	***Sku***	***Sp***	***Sv***	***Sz***	***Sa***
Mjerna jedinica		**nm**	**-**	**-**	**nm**	**nm**	**nm**	**nm**
Rezolucija skeniranja	128	116,18	0,060	2,185	278,45	421,68	700,13	98,05
	256	116,34	0,072	2,167	290,08	419,33	709,41	98,24
	512	118,53	0,025	2,244	293,86	446,45	740,31	99,94

Na području skeniranja 20 µm × 20 µm uz brzinu skeniranja od 1 Hz još manja razlika rezultata nego u prethodna slučaja.

Konkretno, razlika parametara skeniranja *Sq* i *Sa* u različitim rezolucijama skeniranja iznosi 2 nm, što ne predstavlja razliku rezultata.

7.3. Promjena veličine područja skeniranja

Kao što je ranije navedeno kako najveća rezolucija skeniranja daje najvjernije rezultate skeniranog područja, u sljedećoj usporedbi prikazani su rezultati skeniranja provedenog pri jednakoj rezoluciji od 512 na različitim veličinama područja skeniranja. Treba napomenuti kako je treći ulazni parametar, brzina skeniranja, odabrana za svaku veličinu skeniranog područja posebno tako da bude proporcionalna njihovoj veličini i da bude približno jednaka za sva ta područja. To je razlog zašto se brojčana vrijednost brzine

skeniranja razlikuje za drugačiju veličinu područja skeniranja. Brzina skeniranja izražava u Hz pa to znači da vrijednost u Hz predstavlja koliko je linija skenirano u sekundi na tom području skeniranja [29]. Zbog toga se brzina skeniranja uzima kao druga veličina stalnog iznosa pa se može uspoređivati promjena parametara topografije u ovisnosti o promjeni veličine područja. U nastavku su usporedno prikazani već ranije navedeni parametri topografije za različita područja skeniranja pri rezoluciji od 512 i njihovim pripadajućim brzinama skeniranja – 0,25 Hz za područje 100 µm × 100 µm, 0,5 Hz za 50 µm × 50 µm i 1 Hz za područje 20 µm × 20 µm (Tablica 7.).

Tablica 7. Parametri topografije za rezoluciju skeniranja 512 i pripadajuće brzine skeniranja odabranih područja

Parametar topografije		***Sq***	***Ssk***	***Sku***	***Sp***	***Sv***	***Sz***	***Sa***
Mjerna jedinica		**nm**	**-**	**-**	**nm**	**nm**	**nm**	**nm**
Veličina područja skeniranja	100 µm × 100 µm	173,90	-0,765	4,461	774,52	701,68	1476,20	131,79
	50 µm × 50 µm	197,84	-0,628	3,876	592,73	759,05	1351,78	149,43
	20 µm × 20 µm	118,53	0,025	2,244	293,86	446,45	740,31	99,94

Uspoređujući vrijednosti iz tablice ne može se sa sigurnošću utvrditi postojanost nekog trenda rasta ili pada, no ako se usporede vrijednosti najvećeg i najmanjeg skeniranog područja vidljiv je pad vrijednosti parametara topografije površine na području skeniranja 20 µm × 20 µm u odnosu na područje skeniranja 100 µm × 100 µm.

8. ZAKLJUČAK

Popularizacija nanomaterijala u svakodnevnoj primjeni dovela je razvoja opreme i tehnologije potrebne za analizu takvih naprednih materijala. Jedan od takvih uređaja je mikroskop atomskih sila koji zahvaljujući svojoj jednostavnoj primjeni i visokoj rezoluciji skeniranja omogućuje analizu materijala na nanorazini. U ovom diplomskom radu opisan je rad i primjena AFM-a te je ispitana utjecajnost ulaznih veličina na parametre topografije površine.

U svrhu analize topografije površine, mikroskopom atomskih sila provedeno je mjerenje odabranog uzorka od nehrđajućeg čelika. Mijenjani su ulazni parametri koji utječu na proces i rezultat mjerenja s ciljem dobivanja informacija o njihovom utjecaju na površinske parametre topografije. Provedeno je ukupno 27 mjerenja u kojima je mijenjana veličina područja skeniranja, rezolucija te brzina skeniranja.

Slike dobivene pomoću AFM-a pripremljene su za analizu podataka pomoću softverskog paketa *Mountains SPIP* (probna verzija). Priprema slika za analizu uključuje njihovu obradu pomoću alata za niveliranje, filtriranje, rotiranje, izrezivanje, skaliranje i ispravak pogrešaka u svrhu dobivanja što točnijih rezultata mjerenja. Osim obrade slika, pomoću navedenog softvera podešava se i prikaz samih slika u svrhu bolje vizualne interpretacije.

Uz *Mountains SPIP* (probna verzija) koji je služio za obradu i pripremu slika za provođenje što kvalitetnije analize rezultata, korišten je i statistički paket *Minitab 19* (probna verzija) kako bi se provela statistička analiza testom analize varijanci (ANOVA). Iz prikupljenih i analiziranih rezultata ispitivanja može se zaključiti sljedeće:

- Statistički gledano, brzina skeniranja značajno utječe na parametre topografije na način da povećanjem brzine skeniranja pada vrijednost izmjerenih parametara.
- Povećanjem rezolucije skeniranja povećavaju se i izmjerene vrijednosti parametara topografije.
- Smanjenjem područja skeniranja smanjuju se razlike vrijednosti parametara topografije.
- Smanjenjem veličine područja skeniranja može se zamijetiti pad vrijednosti parametara topografije površine.

Nakon provedenog ispitivanja i analize rezultata može se zaključiti kako rezultati u većoj ili manjoj mjeri ovise o određenim ulaznim parametrima skeniranja. To ukazuje kako provedbi obrade rezultata mjerenja provedenih na AFM-u treba pristupiti pažljivo. Ulazne parametre treba odabrati sukladno materijalu koji se ispituje i informacijama koje se želi dobiti. Tek kada su ti uvjeti zadovoljeni, može se sa sigurnošću prihvatiti dobivene rezultate.

LITERATURA

[1] D. Fazarro, "Promoting Nanotechnology Safety [Guest Editorial]," *IEEE Nanotechnol. Mag.*, vol. 14, no. 5, pp. 6–6, Oct. 2020, doi: 10.1109/MNANO.2020.3009771.

[2] "This is nanotechnology – one of the fastest growing markets in the world | GAEU." https://gaeu.com/artiklar/this-is-nanotechnology-one-of-the-fastest-growing-markets-in-the-world/ (pristupljeno 21. listopada 2020.).

[3] G. Baršić, "Razvoj etalona hrapavosti za nanomjeriteljstvo," Doktorska disertacija, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2011.

[4] "The History of NANOSENSORS^{TM} Probes for Atomic Force Microscopy," *The History of NANOSENSORS^{TM} Probes for Atomic Force Microscopy*. https://www.nanosensors.com/blog/the-history-of-nanosensors-probes-for-atomic-force-microscopy/ (pristupljeno 21. listopada 2020.).

[5] M. H. Korayem, H. Khaksar, and M. Taheri, "Simulating the impact between particles with applications in nanotechnology fields (identification of properties and manipulation)," *Int. Nano Lett.*, vol. 4, no. 4, pp. 121–127, Dec. 2014, doi: 10.1007/s40089-014-0127-2.

[6] N. Crampton *et al.*, "Fast-scan atomic force microscopy reveals that the type III restriction enzyme EcoP15I is capable of DNA translocation and looping," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 104, no. 31, pp. 12755–12760, Jul. 2007, doi: 10.1073/pnas.0700483104.

[7] P. J. Eaton and P. West, *Atomic force microscopy*. Oxford ; New York: Oxford University Press, 2010.

[8] B. O. Alunda and Y. J. Lee, "Review: Cantilever-Based Sensors for High Speed Atomic Force Microscopy," *Sensors*, vol. 20, no. 17, p. 4784, 2020, doi: 10.3390/s20174784.

[9] M. K. Khan, Q. Y. Wang, and M. E. Fitzpatrick, "Atomic force microscopy (AFM) for materials characterization," in *Materials Characterization Using Nondestructive Evaluation (NDE) Methods*, Elsevier, 2016, pp. 1–16.

[10] B. Runje, "TEORIJA I TEHNIKA MJERENJA," Predavanja iz kolegija Teorija i tehniha mjrenja, FSB, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2014.

[11] "IP - vezba 6 - topografija povrsine deo1 2017.pdf.". Dostupno na: http://www.dpm.ftn.uns.ac.rs/predmeti/Inzenjerstvo%20povrsina/IP%20-

%20vezba%206%20-%20topografija%20povrsine%20deo1%202017.pdf. (pristupljeno 22. listopada 2020.).

[12] K. J. Stout and L. Blunt, *Three Dimensional Surface Topography*. Elsevier, 2000.

[13] F. Razumić, "Analiza topografije površine primjenom mikroskopa atomskih sila," Završni rad, Sveučilište u Zgarebu, Zagreb, 2020.

[14] J. M. Bennet, "Characterization of Surface Roughness," *Michelson Lab. NavalAir Waifare Cent. ChinaLake CA 93555*, vol. Introduction to Surface Roughness and Scattering, 2nd edn., p. 33, 1999.

[15] D.-H. Lee and N.-G. Cho, "Assessment of surface profile data acquired by a stylus profilometer," *Meas. Sci. Technol.*, vol. 23, no. 10, p. 105601, Oct. 2012, doi: 10.1088/0957-0233/23/10/105601.

[16] "Non-Contact Surface Roughness/Profile Measuring Instruments | Instruments Used For Roughness Measurements | Introduction To Roughness | KEYENCE America," https://www.keyence.com/ss/products/microscope/roughness/equipment/non-contact-instruments.jsp (pristupljeno 27. listopada 2020.).

[17] "ESR Technology - 3D non-contact, white light optical profilometry," *ESR Technology - 3D non-contact, white light optical profilometry*. https://www.esrtechnology.com/index.php/news/news-archive/44-news/archived-news-articles/138-3d-non-contact-white-light-optical-profilometry (accessed Oct. 27, 2020.).

[18] D. Pavić, "Rasterski elektronski mikroskop," Diplomski rad, PMF - Matematički odjel, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2001.

[19] S. Pešić, "Analiza GSR čestica upotrebom elektronskog mikroskopa (SEM/EDX)," Diplomski rad, Sveučilišni studijski centar za forenzične znanosti, Split, 2011.

[20] "SPM Microscopes - Learn about Scanning Probe Microscopy | Bruker," https://www.bruker.com/products/surface-and-dimensional-analysis/atomic-force-microscopes/campaigns/spm-microscopes-intro-to-scanning-probe-microscopy.html (pristupljeno 28. listopada 2020.).

[21] B. Cujzek, "Mogućnost primjene elipsometrijske metode u određivanju dubine brazde na referentnim etalonima hrapavosti LFSB," Sveučilište u Zagrebu, Fakultet strojarstva i brodogradnje, 2009.

[22] Korisnički vodič za rukovanje MFP-3D uređajima, Verzija 16, Revizija: A-2043, Asylum Research, Oxford Instruments company, 09.06.2018.

[23] "AR_ApplicationsGuide_16A.pdf." https://mmrc.caltech.edu/Asylum/Manuals/AR_ApplicationsGuide_16A.pdf. (pristupljeno 2. studenoga 2020.)

[24] J. Penha, "Atomic Force Microscopy," 2014., https://www.slideserve.com/penha/atomic-force-microscopy (pristupljeno 3. studenoga 2020.).

[25] "Non-contact Mode," www.spmtips.com/how-to-choose-by-AFM-technique-noncontact-mode.html?gclid=EAIaIQobChMIp9i-xJrp7AIVQflRCh3GnQQWEAAYAiAAEgKFp_D_BwE (pristupljeno 4. studenoga 2020.).

[26] "SPIP™ - Scanning Probe Image Processor Software," *Image Metrology*. https://www.imagemet.com/products/spip/ (pristupljeno 10. studenoga 2020.).

[27] "MountainsSPIP 8," *MountainsSPIP 8 - Image Metrology*. https://www.imagemet.com/products/mountainsspip-8/ (pristupljeno 10. studenoga 2020.).

[28] "Surface Roughness Measurement—Parameters | Olympus," https://www.olympus-ims.com/en/metrology/surface-roughness-measurement-portal/parameters/ (pristupljeno 10. studenoga 2020.).

[29] "Confocal tutorial Optimization: Scan speed. AMU Dept Pathol Univ Hel." http://www.hi.helsinki.fi/amu/AMU%20Cf_tut/Opt_ScanSpeed.htm (pristupljeno 17. studenoga 2020.).