

## **XVII. Microscopia di forza atomica**

<i>XVII.1</i>	<i>Introduzione</i> .....	<i>1</i>
<i>XVII.2</i>	<i>Origine del Microscopio di Forza Atomica (AFM)</i> .....	<i>2</i>
<i>XVII.3</i>	<i>Principio di funzionamento</i> .....	<i>4</i>
<i>XVII.4</i>	<i>Modalità di impiego</i> .....	<i>6</i>
<i>XVII.4.1</i>	<i>Modalità contact</i> .....	<i>6</i>
<i>XVII.4.2</i>	<i>Modalità no-contact</i> .....	<i>8</i>
<i>XVII.4.3</i>	<i>Modalità tapping</i> .....	<i>8</i>
<i>XVII.5</i>	<i>Preparazione dei campioni</i> .....	<i>9</i>
<i>XVII.5.1</i>	<i>Apparecchiatura</i> .....	<i>9</i>
<i>XVII.5.2</i>	<i>Procedimento</i> .....	<i>9</i>
<i>XVII.5.3</i>	<i>Note</i> .....	<i>10</i>
<i>XVII.6</i>	<i>Condizioni operative</i> .....	<i>10</i>
<i>XVII.6.1</i>	<i>Scelta della punta</i> .....	<i>10</i>
<i>XVII.6.2</i>	<i>Ottimizzazione dei parametri per l'osservazione di campioni minerali</i> .....	<i>13</i>
<i>XVII.7</i>	<i>Applicazioni</i> .....	<i>15</i>
<i>XVII.8</i>	<i>Bibliografia</i> .....	<i>19</i>



## *XVII. Microscopia di forza atomica*

di Claudio Massimo Colombo, Fabrizio Fontana e Vidal Barron

### **XVII.1 Introduzione**

Nel 1986 Gerd Binnig e Heinrich Rohrer ricevettero il premio Nobel di fisica come riconoscimento per il contributo allo sviluppo di una nuova tecnica microscopica basata sul cosiddetto "effetto Tunnel", tecnica che successivamente ispirerà la microscopia di forza atomica (*Atomic Force Microscopy*). L'importante riconoscimento fu condiviso con Ernest Ruska, costruttore del primo microscopio elettronico agli inizi degli anni '30. L'assegnazione del Nobel fu alquanto criticata dalla comunità scientifica internazionale dal momento che si mettevano sullo stesso piano, la microscopia elettronica a trasmissione e a scansione, già ampiamente impiegate con successo in campi di indagine diversi, con una tecnica di nuova realizzazione e dalle possibilità di impiego ancora poco note.

Il microscopio di forza atomica (*Atomic Force Microscope* o AFM) è oggi impiegato per lo studio, alla scala delle dimensioni atomiche, delle superfici di composti di varia natura: film sottili o spessi di materiali ceramici, materiali amorfi, vetri, membrane sintetiche o biologiche, metalli, polimeri, semiconduttori, ecc. Il microscopio a forza atomica è in grado di operare in aria, in UHV e in liquido (campioni biologici) e di analizzare sia materiali conduttori che isolanti. Ha una risoluzione di 0.01-1 nm lungo gli assi x, y e di 0.01 nm lungo l'asse z. Con l'AFM è possibile avere la microtopografia di un campione su una scala che varia tra i 100 nm e i 150  $\mu\text{m}$ . L'AFM consente lo studio di dettaglio di fenomeni e processi di abrasione, adesione, pulizia, corrosione, incisione, fotolitografia, attrito, lubrificazione, riguardanti le superfici. La tecnica è in molti campi ancora in fase di sperimentazione, in particolare per quel che riguarda la caratterizzazione delle superfici di fasi minerali. Sulla base dei dati del *Science Citation Index*, considerando i campi ristretti: suolo e mineralogia, negli anni 1992-2002, il numero di articoli che risultano in seguito

all'inserimento della parola chiave "*electron microscopy*" è di 330. Se la ricerca viene condotta inserendo le parole chiave "*atomic force microscopy*", "*scanning tunneling microscopy*" o "*scanning probe microscopy*", si accerta la presenza di sole 7 citazioni nell'ambito della Scienza del Suolo e di 52 in riviste di mineralogia con particolare riferimento ad *American Mineralogist* (26), *Clays and Clay Minerals* (12) e *Clay Minerals* (6).

## **XVII.2 Origine del Microscopio di Forza Atomica (AFM)**

Il microscopio di forza atomica è un membro della famiglia di microscopi genericamente indicata con l'acronimo SPM (*Scanning Probe Microscopes* o microscopi a scansione di sonda). Gli SPM costruiscono un'immagine del campione in osservazione attraverso l'interazione di una sonda con gli strati atomici superficiali, in analogia con quanto fa "la puntina di un giradischi sul disco". In entrambi i casi, un appropriato trasduttore trasforma le variazioni delle proprietà di superficie del campione in segnale elettrico. Mentre nel giradischi, la puntina tocca la superficie del disco, negli SPM tra superficie da studiare e sonda esiste sempre una distanza dell'ordine di qualche nm. L'immagine finale si ottiene in seguito ad una complessa elaborazione dei segnali elettrici raccolti dalla sonda. La geometria della punta è il principale fattore limitante la risoluzione degli SPM.

Il microscopio della famiglia degli SPM più prossimo all'AFM è il microscopio a scansione tunnel o STM (*Scanning Tunnel Microscope*). Nel 1981, Gerd Binnig e Heinrich Rohrer misero a punto un apparato sperimentale STM per l'analisi della conduttività delle superfici. Il principio di funzionamento di un STM è basato sull' "effetto tunnel", un effetto puramente quantistico, nel quale gli elettroni hanno una probabilità piccola, ma non nulla, di attraversare regioni dello spazio in condizioni energetiche non compatibili con le regole della fisica classica, producendo una corrente indicata come corrente di tunnel. La probabilità che ciò avvenga diminuisce esponenzialmente con la lunghezza della regione dello spazio da attraversare, il che comporta una notevole dipendenza della misura dalla distanza tra la superficie del campione ed il sensore. Una variazione di tale distanza dell'ordine di un diametro atomico provoca una modifica della corrente di tunnel di un fattore 1000. In un microscopio a scansione tunnel una sottilissima punta, generalmente di tungsteno, è posta alla distanza di pochi nm dalla superficie del campione. La distanza è tale che le nuvole elettroniche di campione e punta si compenetrano. L'applicazione

di una differenza di potenziale induce un flusso di elettroni nel canale formatosi. Mentre la sonda che sostiene la punta si muove sull'area da studiare, si registrano le variazioni della corrente di tunnel. L'elaborazione di queste informazioni consente la ricostruzione della microtopografia superficiale del campione.

La necessità di eseguire misure su materiali non conduttori senza il ricorso alla metallizzazione della superficie indusse Gerd Binnig e Christoph Gerber a rivedere l'apparato sperimentale del microscopio a scansione tunnel. Il risultato finale del loro lavoro fu un microscopio di forza atomica o *Atomic Force Microscope* (AFM), che, sebbene simile al precedente per alcune caratteristiche generali, si basava su un principio di funzionamento completamente diverso. Nell'AFM, una piccola punta (*tip*) di materiale conduttivo molto rigido (nei primi modelli la punta era di diamante) è fissata all'estremità di una barretta o microleva (*cantilever*) che preme la punta sul campione durante il processo di misura (Figura 1). Ad un'osservazione ravvicinata la punta di un qualunque AFM risulta di forma arrotondata. Il raggio di curvatura terminale (*end radius*) costituisce un parametro importante per la risoluzione dello strumento. La realizzazione di punte con raggi di curvatura sempre più piccoli costituisce uno dei limiti principali allo sviluppo della microscopia di forza atomica.

L'entità della deflessione della barretta, accertata rilevando la corrente di tunnel che si crea tra la barretta e una seconda punta posta al disopra della barretta, costituisce una misura della forza che agisce tra la superficie del campione e la punta. Il primo modello di AFM consentiva una risoluzione laterale di 30 nm e sarebbe rimasto solo una curiosità di laboratorio se non fosse stata messa a punto la tecnica di preparazione di barrette dotate di caratteristiche tali da rendere possibile l'osservazione della disposizione

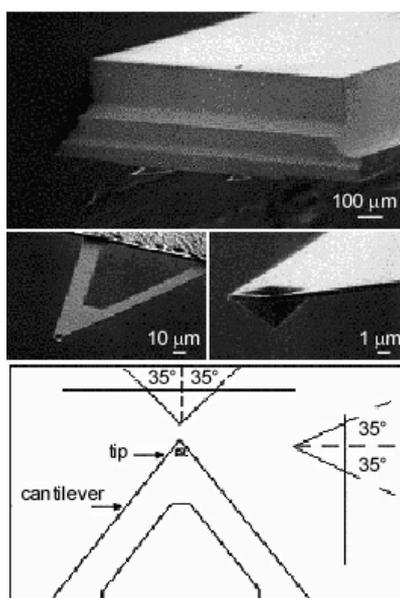


Figura 1. Immagini al SEM della sonda del microscopio di forza atomica. Si può osservare che la punta è posta nella parte terminale di una sottilissima e flessibile barretta detta anche microleva o cantilever

degli atomi sulle superfici del nitruro di boro (BN) e, subito dopo, la produzione di immagini della superficie del piano cristallino (111) dell'ossido di silicio. Nei moderni AFM le barrette hanno punta di silicio e sono ricoperte da materiale ad alta riflettività (per esempio oro).

### **XVII.3 Principio di funzionamento**

Nell'AFM la punta (della dimensione di pochi  $\mu\text{m}$ ) scorre sulla superficie di un campione che si muove lungo i tre assi cartesiani mediante un movimento indotto da un meccanismo piezoelettrico. Un sistema di servocollaboro (*feedback*) consente di tenere la punta in condizioni di "forza costante" (per acquisire informazioni sulla forza di interazione tra la superficie del campione e la punta) o di "altezza costante" (per acquisire informazioni sulle variazioni in altezza del campione). Le oscillazioni del cantilever sono rilevate da un sistema ottico che registra anche lievissimi movimenti della barretta che sostiene la punta. Un diodo laser è focalizzato sulla parte posteriore riflettente della barretta. Nella misura a "forza costante", durante il movimento di scansione della superficie del campione, le variazioni in altezza provocano la deflessione del fascio laser.

Un fotoanalizzatore misura le differenze di intensità luminosa tra i due componenti del fotodiodo binario che raccoglie il fascio deflesso e le converte in una tensione che rappresenta il risultato della misura (Figura 2).

Nella misura ad "altezza costante" la tensione misurata è proporzionale alla forza necessaria affinché la distanza tra superficie del campione e punta sia sempre costante. Questa modalità d'impiego implica la conoscenza di parametri di calibrazione che devono essere inseriti prima dell'operazione di misura.

Il sistema piezoelettrico della maggior parte degli SPM usa cilindri di *piezoceramics* come generatori della scansione superficiale. Con piccoli spostamenti del campione questi microscopi sono in grado di misurare quantitativamente la microtopografia delle superfici, con una risoluzione laterale di 5 nm e verticale di 0.01 nm.

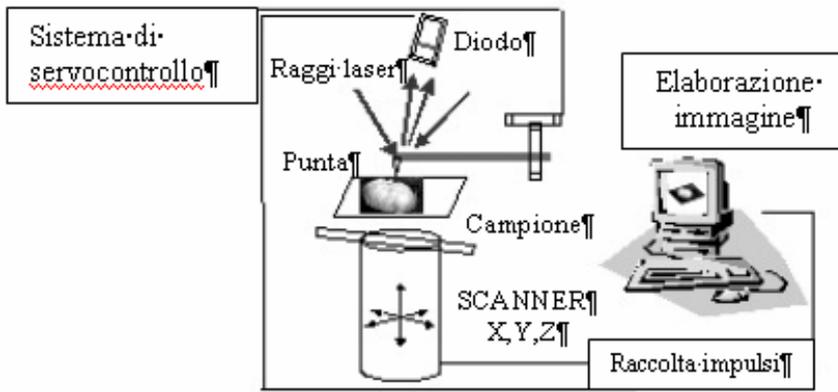


Figura 2. Schema generale del microscopio di forza atomica

Il risultato dell'osservazione consiste nella produzione di una matrice tridimensionale (x, y, z) della superficie che è stata oggetto di scansione (Figura 3). Le prime due coordinate forniscono informazioni monodimensionali dell'oggetto, la terza fornisce la misura delle altezze (distanze tra superficie del campione e punta).

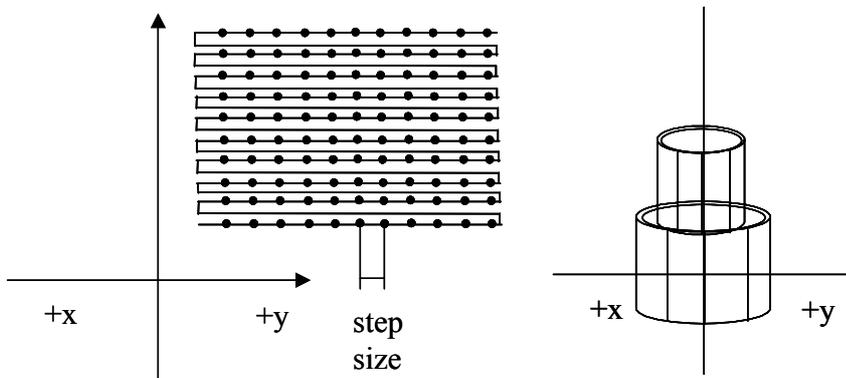


Figura 3. Schema del sistema piezoelettrico: il campione si muove per piccoli spostamenti costruendo una matrice con informazioni nelle tre direzioni dello spazio

La microtopografia effettiva del campione è ricostruita elaborando le informazioni relative a (i) modalità di movimento relativo tra campione e punta e (ii) risultati puntuali sulla distanza campione-punta (Figura 4).

Le forze che tipicamente agiscono tra punta e campione variano tra  $10^{11}$  e  $10^{-6}$  N. Considerando che tra due atomi uniti da legame covalente alla distanza di  $\sim 0.1$  nm agisce una forza di  $10^{-9}$  N all'incirca, si comprende che le misure eseguite con l'impiego dell'AFM non sono distruttive.

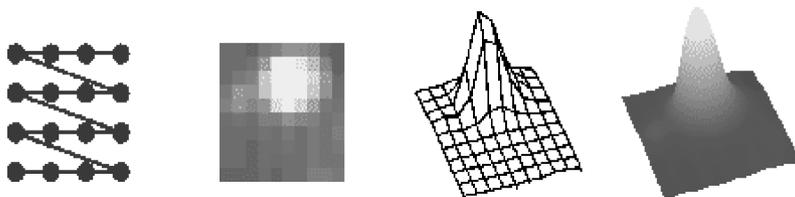


Figura 4. Elaborazione della immagine ottenuta con l'AFM diagrammando i punti della matrice corrispondenti alle tre coordinate cartesiane (x,y,z)

#### XVII.4 Modalità di impiego

In base alla modalità di interazione della punta con la superficie del campione gli AFM possono essere impiegati in modalità: (i) *repulsive* o *contact* (se la punta tocca effettivamente il campione, ossia la distanza tra punta e campione è inferiore alla dimensione media di un raggio atomico), (ii) *attractive* o *no contact* se, pur essendo prossima alla superficie del campione, la punta non lo tocca effettivamente e (iii) *tapping* nel caso in cui la punta esplora il campione in modo da avere un contatto discontinuo determinato da una successione regolare di movimenti oscillatori (passando cioè continuamente dalla condizione *contact* a quella *no contact*). Nell'AFM tipologie differenti di forze che si stabiliscono tra campione e punta possono essere impiegate per produrre immagini. Nella modalità *no contact* (con distanze tra punta e campione superiori a 1 nm) le immagini sono prodotte da forze di van der Waals, o da forze elettrostatiche, magnetiche e capillari. Nella modalità *contact* prevalgono le forze di repulsione ionica. Oltre a tali forze particolarmente importante ai fini di un'analisi completa e dettagliata del campione è la forza di attrito che agisce tra punta e superficie. Oltre ad essere un indicatore delle proprietà del campione, l'attrito o "forza laterale" o "deflessione laterale" fornisce informazioni circa le modalità di interazione tra punta e superficie.

##### XVII.4.1 Modalità *contact*

È la modalità di impiego più comunemente utilizzata. Le forze elettrostatiche che agiscono sulla punta sono di tipo repulsivo ed hanno un valo-

re medio di  $10^{-9}$  N. In modalità *contact* la punta poggia sul campione in seguito all'azione esercitata dal sistema piezoelettrico sulla leva che alloggia la punta. La deflessione della microleva è misurata e confrontata con il valore atteso. Se la deflessione misurata è diversa dal valore atteso il sistema di servocontrollo esercita una tensione sul sistema piezoelettrico in modo che, allontanando o avvicinando la punta dalla superficie, si ripristina il valore atteso della deflessione. La tensione applicata al sistema piezoelettrico è una misura del profilo della superficie del campione. L'immagine finale si ottiene esprimendo questa tensione in funzione della posizione relativa del campione (immagine in deflessione).

Solo un piccolo numero di AFM lavora in ultravacuo. La maggior parte lavora in atmosfera ambiente o con il sistema punta/campione immerso in un liquido con il grande vantaggio di poter osservare i campioni senza necessità di pretrattamenti. I problemi di attrito possono essere solo parzialmente eliminati riducendo il più possibile l'accoppiamento "meccanico" tra punta e campione. Il controllo di tali problemi è fortemente limitato in conseguenza della natura delle forze coinvolte. Nel caso di osservazioni effettuate in condizioni di atmosfera ambiente, la superficie del campione è coperta da uno strato di gas adsorbito spesso tra 10 e 30 atomi e costituito di vapor acqueo e azoto. Quando la punta tocca questo strato, si forma un menisco che, per effetto della tensione superficiale, schiaccia la punta sulla superficie del campione. La forza complessiva risultante dipende dalla geometria della configurazione sperimentale ma, tipicamente, essa è dell'ordine di 100 nN. Inoltre, un'ampia classe di materiali, tra cui i semiconduttori e gli isolanti, può intrappolare carica elettrostatica che contribuisce ad incrementare la forza attrattiva tra punta e campione. La combinazione di tali forze crea l'effetto di attrito che influenza il moto della punta sul campione e limita il controllo dell'interazione tra punta e campione. La forza di attrito sembra sia la causa principale dei danni che possono prodursi durante la misura sia sul campione sia sugli strumenti di misura (punta e barretta), nonché, della realizzazione di artefatti, in termini di distorsione dei dati misurati.

Le forze di menisco e altre forze attrattive possono essere neutralizzate operando con il sistema punta/campione immerso in un liquido. Questa configurazione consente di eliminare le forze di capillarità e di ridurre le forze di van der Waals. Essa, inoltre, consente l'impiego dell'AFM nello studio dei processi che avvengono all'interfaccia solido/liquido. I limiti d'uso principali di questa configurazione risiedono nella possibile reazione tra liquido e campioni da osservare.

#### XVII.4.2 Modalità *no-contact*

La modalità *no-contact* prevede che tra punta e superficie del campione rimanga sempre una distanza compresa tra 5 e 15 nm. Le forze di van der Waals che agiscono tra la punta ed il campione sono valutate quantitativamente e in base a tale misura viene prodotta un'immagine microtopografica del campione. Le forze misurate in questa modalità sono sostanzialmente più deboli di quelle misurate in modalità *contact*. Per questo motivo alla punta viene applicata una piccola oscillazione e le deboli forze in gioco vengono misurate analizzando i cambiamenti in ampiezza, fase e frequenza delle oscillazioni della punta. In generale, la produzione di immagini mediante la modalità *no-contact* può risultare inadeguata sia in conseguenza dello spessore del fluido che avvolge la superficie dei campioni, più esteso della regione spaziale di efficacia delle forze che devono essere misurate, sia nel caso in cui ci si allontana dalla superficie del campione ad una distanza tale da non essere più nella sfera di azione delle forze di van der Waals.

#### XVII.4.3 Modalità *tapping*

La modalità *tapping* rappresenta un perfezionamento della modalità *no-contact* in cui è affinata l'oscillazione applicata alla microleva che sostiene la punta. Questa modalità consente di produrre immagini microtopografiche di elevata risoluzione anche di campioni le cui superfici possono essere facilmente danneggiate o non analizzabili con le modalità discusse in precedenza. La modalità *tapping* supera i problemi relativi alle forze di attrito, di adesione ed elettrostatiche che si stabiliscono tra punta e superficie.

La modalità *tapping* viene normalmente impiegata in atmosfera ambiente applicando al *cantilever* una oscillazione prossima a quella di risonanza mediante un sistema piezoelettrico. L'ampiezza della oscillazione della punta, in questo modo, è di circa 20 nm. La frequenza con cui la punta si muove durante la scansione della superficie del campione varia tra 50 e 500 kHz. La misura inizia con la punta non in contatto con il campione. Una volta posta in oscillazione la punta si avvicina progressivamente alla superficie fino a quando non inizia il contatto ciclico. Da tale momento in poi la misura delle variazioni di oscillazione, indotte dalle proprietà di superficie del campione, consente di produrre l'immagine della superficie. Durante la misura l'ampiezza di oscillazione del *cantilever* è mantenuta costante da un sistema di servocontrollo. La frequenza di oscillazione ottimale viene selezionata mediante una appropriata procedu-

ra di calcolo in funzione della tipologia del campione e della configurazione di misura.

## **XVII.5 Preparazione dei campioni**

### *XVII.5.1 Apparecchiatura*

Attrezzatura da laboratorio di uso comune.

In particolare:

bilancia

agitatore

centrifuga

bagno o sonda ad ultrasuoni

provette di vetro o materiale plastico resistenti a centrifuga ed ultrasuoni

supporti di mica muscovite

### *XVII.5.2 Procedimento*

I campioni su cui, di solito, vengono condotte le osservazioni all'AFM sono particelle minerali con dimensioni comprese tra 10  $\mu\text{m}$  e alcuni nm, ben separate in modo da mettere in risalto la morfologia dei singoli cristalli. Molti studi che hanno applicato l'AFM nel campo della mineralogia hanno utilizzato cristalli di dimensioni elevate e con superfici molto regolari. Queste sono condizioni ideali per l'impiego dell'AFM in quanto semplificano notevolmente la preparazione del campione. Infatti, in questi casi l'osservazione viene condotta su campioni tal quali direttamente essiccati sul portacampione. Tuttavia, quando si intende osservare campioni eterogenei per dimensione e morfologia è necessario operare per la preparazione del campione con modalità molto simili a quelle impiegate nella microscopia tradizionale. In primo luogo, in analogia con quanto riportato nel procedimento di preparazione dei campioni per il SEM e TEM (Capitoli XIV e XV), è necessario disperdere pochi mg di campione in un mezzo liquido, generalmente da 20 a 40 ml di  $\text{H}_2\text{O}$  deionizzata, anche con l'impiego degli ultrasuoni. In alcuni casi può essere opportuno controllare il pH della sospensione per garantire un'ottimale dispersione delle particelle. Se, infatti, il punto di carica zero (*PCZ*) delle superfici minerali è molto diverso dal valore del pH del mezzo liquido le particelle, assumendo una determinata carica di superficie, tendono a respingersi ed a mantenere lo stato disperso. Ottenuta una sospensione stabile, si preleva con una pipetta una aliquota di campione dal contenitore e si deposita una o due gocce sul supporto specifico per le osservazioni con l'AFM.

La scelta del materiale da utilizzare come supporto di osservazione o portacampione deve tenere conto dei seguenti aspetti:

- a) Il materiale del supporto deve avere superfici piane e regolari di dimensioni più elevate di quelle delle particelle che si vuole osservare.
- b) La struttura atomica e la microtopografia del supporto dovrebbero essere ben distinguibili da quelle delle particelle in osservazione.
- c) Il materiale del supporto non deve dar luogo a reazioni chimiche e, pertanto, a modificazioni del campione.
- d) La superficie del supporto dovrebbe esercitare una “forza di attrazione” tale da assicurare l’adesione delle particelle del campione in modo da evitare che durante l’osservazione vengano spostate dalle forze esercitate su di esse dalla punta della sonda.

La mica muscovite è il substrato più utilizzato come supporto per le osservazioni all’AFM, sebbene non soddisfi del tutto le condizioni sopra elencate. La mica risulta caratterizzata da superfici perfettamente piane e regolari, che, essendo dotate di carica negativa, esercitano un’attrazione elettrostatica nei confronti di particelle cariche positivamente (ossidi di Fe, Al, ecc.). Altri supporti variamente impiegati sono le membrane di policarbonato (MAURICE E LOWER, 1998), i cristalli di grafite (BAILEY ET AL., 1997), i prismi di quarzo (WEIDLER ET AL., 1996).

### *XVII.5.3 Note*

Lo studio all’AFM di minerali argillosi richiede che le particelle siano perfettamente aderenti alla superficie del supporto. Per realizzare tale condizione Bickmore et al. (1999) hanno proposto: i) l’impiego di un cristallo di zaffiro ( $\alpha$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) con superficie regolare; ii) la ricopertura della superficie di un foglietto di mica con un monostrato di polyethyleneimine (sale cationico); in tal modo la superficie assume carica positiva ed attrae elettrostaticamente i minerali argillosi; iii) il montaggio delle particelle direttamente sul portacampione mediante l’impiego di un adesivo termoplastico.

## **XVII.6 Condizioni operative**

### *XVII.6.1 Scelta della punta*

In microscopia di forza atomica sono, in genere, impiegati tre tipi di punte:

- a) la punta normale (*normal tip*), costituita da una piramide schiacciata alta ~3  $\mu$ m con raggio di curvatura di ~30 nm;

- b) la superpunta (*supertip*), prodotta mediante bombardamento elettronico di una punta normale, con conseguente deposizione di materiale carbonioso. La superpunta è più lunga e sottile di una punta normale ed ha anche un migliore raggio di curvatura;
- c) le *ultralever*, commercializzate dalla *Park Scientific Instruments* e prodotte attraverso un processo fotolitografico. Le *ultralever* sono ancora più sottili e lunghe (100  $\mu\text{m}$ ) delle superpunte e possono avere raggi di curvatura fino a  $\sim 10$  nm. Le più diffuse sono la punta standard di nitruro di silicio ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ) e le punte di silicio.

La punta standard di nitruro di silicio è la più utilizzata nella modalità di impiego *contact*. La sonda è formata da un *cantilever* con una particolare configurazione a V, con la punta a forma di piramide con il vertice rivolto verso la superficie (Figura 5)

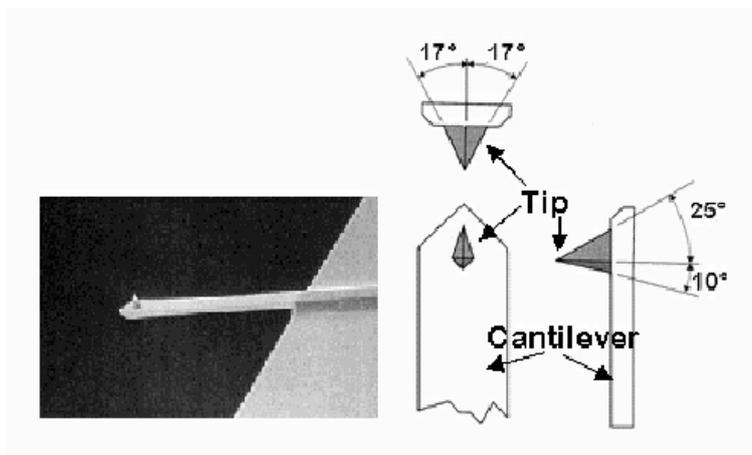
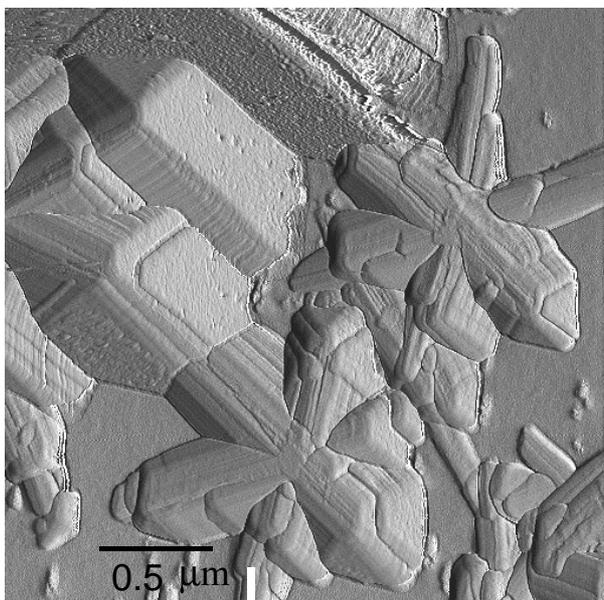


Figura 5. Immagine SEM e schematizzazione del cantilever e della punta dell'AFM

Le proprietà e le dimensioni della punta svolgono un ruolo importante nel determinare la risoluzione e la sensibilità delle misure condotte con l'AFM. In un'unica sonda possono essere montate quattro o più microleve ciascuna dotata di punta, ognuna caratterizzata da una costante elastica (*spring constant*). Per l'osservazione di campioni con superfici deformabili o solo leggermente aderenti al portacampione è ottimale l'utilizzo di una sonda con basso valore di *spring constant* in considerazione del fatto che eserciterà una minore forza laterale durante la scansione. Il raggio di curvatura (generalmente compreso tra 20 a 60 nm) e l'angolo (compreso tra 60 a 75°, in funzione dell'orientamento della punta rispetto alla superficie del campione) della punta sono i fattori che maggiormente control-

lano la risoluzione a scala microtopografica (Figura 5). Le limitazioni imposte dalle caratteristiche strutturali delle punte devono essere opportunamente considerate tenuto conto che da esse possono avere origine artefatti. La Figura 6 mostra un tipico esempio di convoluzione della punta dove l'immagine AFM non è altro che un artefatto che si produce quando le superfici delle particelle in osservazione sono più inclinate dell'angolo della punta. L'immagine riflette il disegno piramidale della punta piuttosto che la microtopografia delle particelle in osservazione.

L'immagine riflette il disegno piramidale della punta piuttosto che la microtopografia delle particelle in osservazione.



*Figura 6. Esempio di immagine AFM artefatto ottenuta con punta piramidale in modalità di contatto; è evidente che l'immagine che è stata ottenuta non è altro che una serie di sezioni della punta piramidale e può essere facilmente confusa con un aggregato di particelle*

Le punte di silicio, di cui si riportano le immagini al SEM in Figura 7, sono di norma utilizzate per le osservazioni in modalità *tapping*. La punta di silicio presenta un raggio di curvatura compreso tra 5 e 10 nm, ed un angolo, compreso tra 20° e 50°, più piccolo rispetto al nitrato di silicio. Per tale ragione l'impiego di questa punta è consigliato nelle applicazioni che richiedono un elevato grado di stabilità della punta. Ciò riduce la

formazione di artefatti dovuti alla convoluzione della punta piramidale (BARRÓN ET AL.,1997).

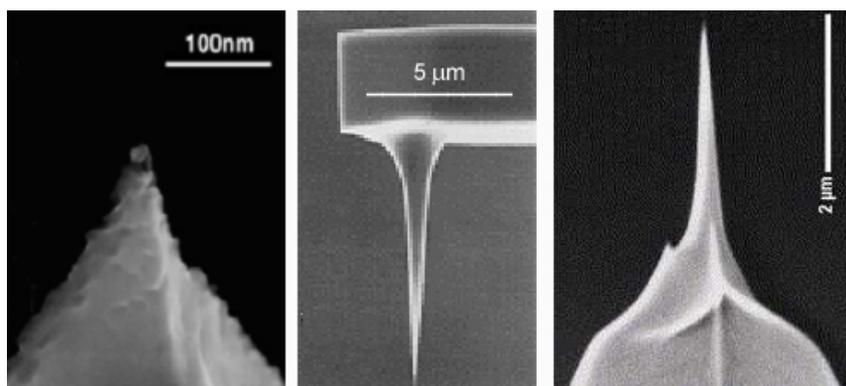


Figura 7. Immagini al SEM di punte di silicio caratterizzate da raggi di curvatura molto piccoli

Di recente, con l'impiego di raggi ionici focalizzati (*focused ion beam*), sono state realizzate punte di silicio ancora più sottili e dotate di un più elevato grado di stabilità. Tali punte presentano, inoltre, un'elevato rapporto lunghezza/spessore (*high aspect ratio*) che consente di utilizzarle su superfici molto inclinate (con angoli prossimi a 90°). Esse, per contro, sono molto delicate ed hanno un tempo di utilizzo limitato.

#### X.6.2 Ottimizzazione dei parametri per l'osservazione di campioni minerali

I manuali che illustrano il funzionamento e l'impiego del microscopio di forza atomica riportano un numero piuttosto elevato (all'incirca 2000) di parametri operativi. L'automatizzazione delle procedure operative e l'impiego di sistemi computerizzati di gestione hanno, tuttavia, notevolmente semplificato l'uso dell'AFM riducendo ad un numero limitato i parametri da impostare e controllare manualmente, in particolare per l'ottimizzazione delle immagini.

##### X.6.2.1 Parametri di scansione

Attraverso il controllo del sistema piezoelettrico è possibile variare:

- la dimensione della scansione (*scan size*), che agisce sulla risoluzione delle immagini e rappresenta il campo di osservazione del campione.

- l'angolo di scansione (*scan angle*), che permette di controllare l'angolo con cui la punta si muove sulla superficie del campione; è un parametro importante per ridurre la formazione degli artefatti associata alla particolare geometria della punta.
- la velocità di scansione (*scan rate*), che determina il numero di linee che vengono sottoposte a scansione per secondo. Riducendo la velocità di scansione si ottengono immagini di migliore qualità ma aumenta il tempo di interazione tra punta e campione con il rischio che si possano verificare spostamenti delle particelle.
- il limite verticale (*Z limit*), che fissa la variazione verticale di scansione. Per ottenere elevate risoluzioni spaziali è necessario ridurre il più possibile questo parametro.

#### XVII.6.2.2 Sistema di servocontrollo

Il sistema di servocontrollo (*feedback controls*) differenzia l'AFM da altri strumenti basati sull'uso di una punta di rilevazione (giradischi, profilometri, etc.). L'AFM, infatti, non solo misura le forze che si sviluppano tra superficie del campione e punta, ma permette di regolarle consentendo l'acquisizione di immagini con valori molto bassi di interazione atomica. Il sistema di servocontrollo è costituito: (i) dal sistema piezoelettrico di controllo della posizione geometrica relativa punta - superficie del campione; (ii) dalla barretta e dal sistema ottico di misura della distanza tra campione e punta; (iii) dal circuito di controllo che tende a conservare costante la deflessione della barretta correggendo la tensione applicata al cilindro piezoelettrico. Quanto più è veloce il sistema di servocontrollo, in termini di velocità di correzione della deflessione della barretta, tanto più rapidamente l'AFM può acquisire l'immagine. Negli strumenti più sofisticati il sistema di servocontrollo vibra periodicamente con un'ampiezza delle oscillazioni di alcune decine di kHz ed un tempo di acquisizione per immagine di circa un minuto. Il sistema di servocontrollo è considerato la parte più rilevante dell'AFM, tenuto conto che controlla il movimento del sistema piezoelettrico sia in senso orizzontale (lungo i due assi X e Y) sia in senso verticale (lungo l'asse Z) (Figure 3 e 4).

Attraverso il controllo del sistema piezoelettrico è possibile operare variazioni di:

- guadagno integrale e proporzionale (*integral and proportional gain*), o controllo dell'ampiezza dell'errore integrale e proporzionale di calcolo del *feedback*. Innalzando i valori dei parametri di guadagno (*proportional and integral gain*) si permette alla punta di oscillare generando nell'immagine un rumore periodico ad alta frequenza. Al

contrario, se i valori di guadagno sono troppo bassi la punta tocca con forza eccessiva la superficie e la scansione può generare elevate forze di frizione con danneggiamento della superficie del campione;

- voltaggio a punto fisso (*setpoint voltage*), parametro importante nelle misure in modalità *contact*, in cui è proporzionale alla forza di contatto con la superficie, e in modalità *tapping*, in cui permette di ridurre la forza esercitata tra punta e superficie.

L'ottimizzazione dei parametri operativi avviene in molti casi sulla base dell'esperienza ed è frutto del classico metodo scientifico per "prova ed errore". E' buona norma per ottenere un'immagine corretta confrontare le immagini ottenute con diversi metodi di preparazione del campione, più tipi di punte e differenti condizioni strumentali. E' consigliabile ottenere l'immagine in deflessione in modalità *contact* e in ampiezza in modalità *tapping*, facendo variare il guadagno integrale e proporzionale fino ad ottenere un fondo pulito e senza rumori strumentali. Una volta ottenuta una immagine AFM di buona qualità è indispensabile acquisire altre immagini con lo stesso campo variando alcune condizioni strumentali (per esempio angolo e velocità di scansione) per verificare l'esattezza della microtopografia.

L'immagine AFM può essere "migliorata" utilizzando una serie di comandi *off-line* o ricorrendo a programmi di fotoritocco. Le modifiche possono eliminare difetti ed imperfezioni, quali inclinazioni e curvature irreali, dovuti a rumore di fondo di alta o bassa frequenza o ad oscillazioni localizzate, ma possono anche incidere sulla veridicità della osservazione (EGGESTON,1994).

## **XVII.7 Applicazioni**

La microscopia di forza atomica si è rivelata di notevole interesse per lo studio micromorfologico dei minerali del suolo, con riferimento particolare a caolinite, illite, smectite e ossidi di ferro (BLUM, 1994; NAGY,1994; ZBIK E SMART, 1998; NESPOLO E KUWAHARA, 2001; JOHNSON ET AL., 1991; BARRÓN ET AL., 1997; CUMPLIDO ET AL., 2000; ROLDÁN ET AL., 2002). Sono stati analizzati dettagli morfologici di microcristalli di ossidi di sintesi a scala nanometrica. Indagini condotte su sezioni trasversali e l'impiego di *software* per l'analisi delle immagini hanno permesso di distinguere differenze tra pori, microcavità e difetti cristallini di superficie valutabili a pochi nanometri (LIU E HUANG, 1999). E' stata descritta la nanomorfologia di cristalli di goethite con crescita epitassiale di cristalli di ematite (BARRÓN ET AL., 1997) (Figura 8).

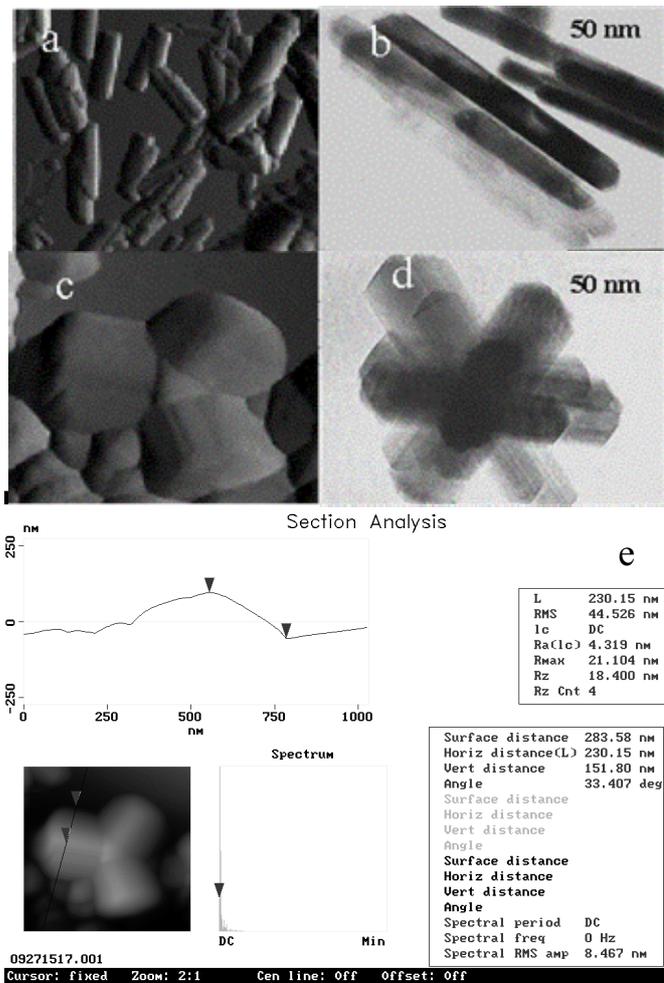


Figura 8. Immagini tridimensionali AFM (a,c) e bidimensionali TEM (b,d) di microcristalli di goethite di sintesi. (a) immagine AFM ottenuta con segnale in deflessione (derivata prima dei punti x,y,z dell'immagine microtopografica AFM). (c) immagine AFM ottenuta in deflessione che mostra un particolare della crescita epitassiale di cristalli di goethite su ematite (BARRON ET AL., 1997). Dall'immagine AFM (c) è ottenuta la sezione verticale del cristallo di goethite (e) da cui è stato calcolato lo spessore della particella (vert distance = 151.80 nm)

E' stato possibile studiare il meccanismo di adsorbimento dei fosfati sulle superfici di cristalli di ematite caratterizzati da diversa morfologia e porosità (BARRON ET AL. 1998; COLOMBO ET AL., 2003) (Figura 9).

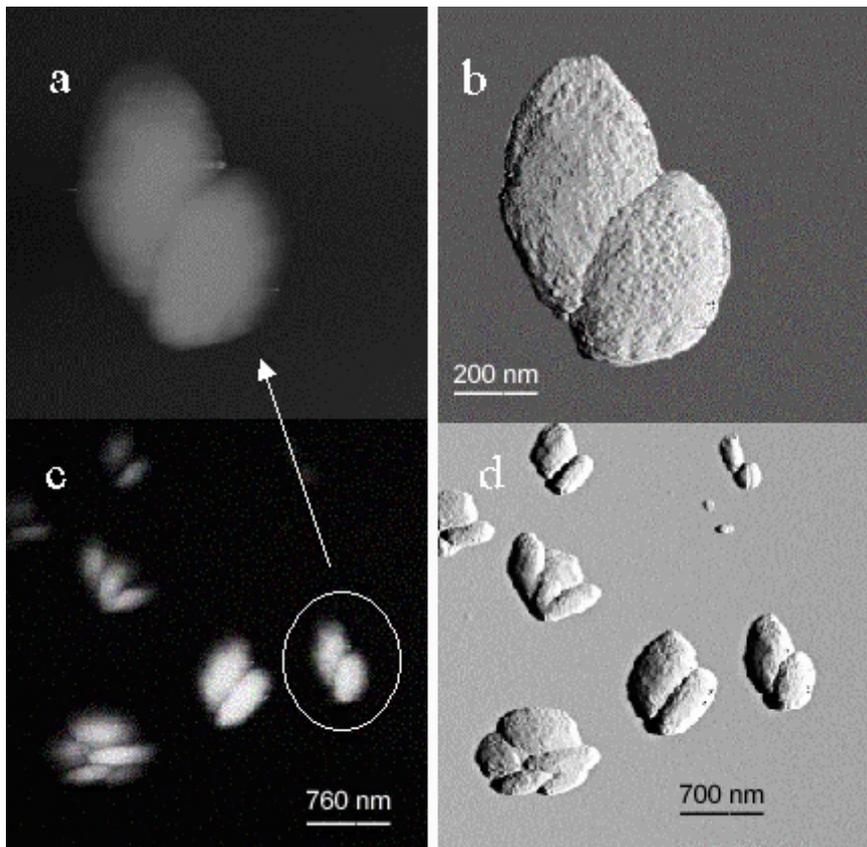


Figura 9. Immagini AFM di cristalli di ematite di sintesi. (a,c) immagini microtopografiche ottenute dall'insieme dei punti degli assi  $x$ ,  $y$  e  $z$ . (b,d) immagini ottenute con il segnale in deflessione (derivata prima dei punti  $x$ ,  $y$  e  $z$ ) (BARRON et al., 2003)

Attenzione ha ricevuto lo studio dei meccanismi di accrescimento di cristalli di illite (KUWAHARA ET AL., 2001), jarosite (BECKER E GASHAROVA, 2001), nordstrandite e pseudoboehmite (COLOMBO ET AL., 1999; 2003; 2004) (Figura 10).

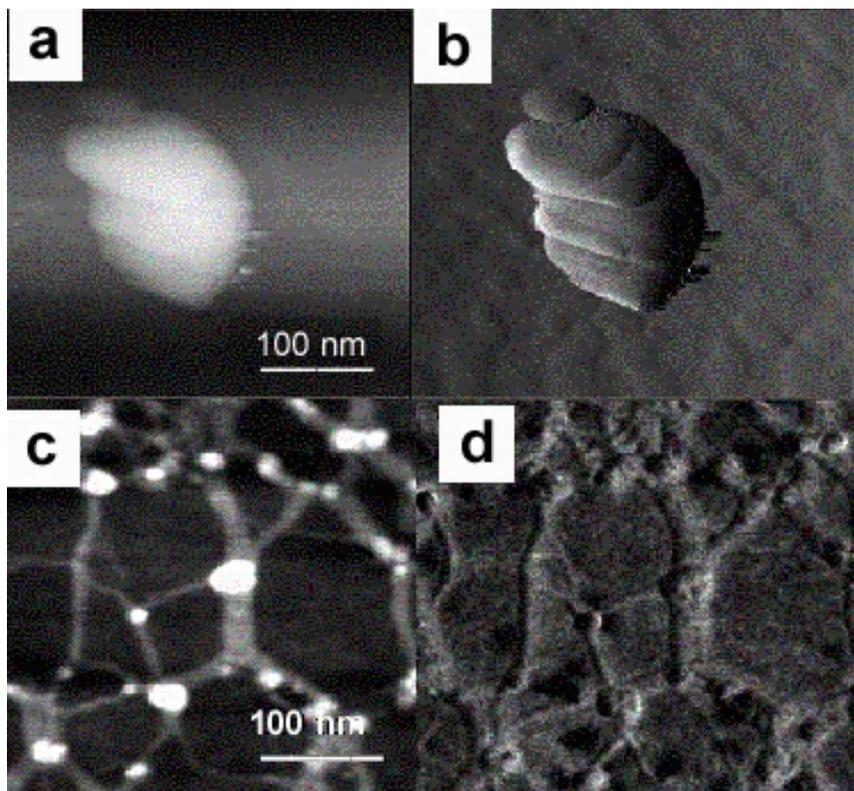


Figura 10. Immagini AFM di microcristalli di ossidrossidi di alluminio di sintesi (COLOMBO ET AL., 1999; COLOMBO ET AL., 2003). (a) immagine microtopografia di un cristallo piramidale di bayerite. (b) immagine ottenuta in deflessione (derivata prima dei punti  $x,y,z$  dell'immagine (a)). (c) microtopografia di cristalli filamentosi di pseudoboehmite di sintesi e di nanoparticelle formate da complessi acido tannico-polimeri di alluminio. (d) immagine ottenuta in deflessione

Oltre alla definizione delle caratteristiche micromorfologiche, la microscopia di forza atomica ha anche fornito utili informazioni sui meccanismi di alterazione chimica di diversi minerali nel suolo (NUGENT ET AL., 1998; RUFÉ E HOCELLA, 1999; SUTHEIMER ET AL., 1999; BICKMORE ET AL., 2001; GRATZ ET AL., 1993; BOSBACH E RAMMENSEE, 1994; MAURICE ET AL., 1995; WELLS ET AL., 2001; JORDAN E RAMMENSEE, 1996; HILLNER ET AL., 1992; DOVE E HOCELLA, 1993).

Di recente Maurice et al. (1996, 2000, 2001) hanno osservato all'AFM la dissoluzione di minerali argillosi ed ossidrossidi di ferro in condizioni riducenti indotte da microrganismi. Sono state misurate le forze di interazione che si stabiliscono alla scala dei nN tra il batterio riduttore *Shewanella oneidensis*, comune in suoli e sedimenti, ed il minerale goethite (LOWER ET AL., 2001). I risultati di queste indagini hanno contribuito a chiarire meccanismi e processi coinvolti nel ciclo biogeochimico del ferro e con esso nella dinamica del fosforo e dei metalli pesanti.

Sono state osservate la nucleazione *in situ* del minerale piromorfite [ $Pb_5(PO_4)_3 Cl$ ], in seguito a reazione di sali di Pb con apatite (MANECKI ET AL., 2000, LOWER ET AL., 1998) e la precipitazione di Cr(III) e Pb(II) sulle superfici dei minerali muscovite e smectite (ZHANG E BAILEY, 1998; GAN ET AL., 1996). Altre indagini hanno riguardato le reazioni di adsorbimento tra acidi fulvici e minerali argillosi o ossidi di Fe (NAMJESNIK-DEJANOVIC ET AL. 2000a, 2000b).

Ulteriori ingrandimenti hanno messo in evidenza la disposizione spaziale degli atomi di ossigeno delle superfici minerali (BARRON ET AL. 1998) e le deformazioni o difetti delle strutture cristalline della calcite (OHNESORGE E BINNING, 1993), di vari silicati primari (WICKS ET AL. 1994, 1998) e dell'ematite (EGGLESTON, 1999, BECKER ET AL., 1996).

## XVII.8 Bibliografia

- Barrón V., Gálvez N., Hochella M.F., Torrent, J. 1997. *Epitaxial overgrowth of goethite on hematite synthesized in phosphate media: A scanning force and transmission electron microscopy study*. American Mineralogist 82: 1091-1100.
- Barrón, V., Colombo C., Torrent J. 1998. *Nanomorfologia de hematites colloidales*. Actas de el Congreso Español de microscopia de Efecto Tunnel, de Fuerza Atomica y Tecnicas Afines. Barcelona. 30 de noviembre- 2 de diciembre. pp. 117-120.
- Barrón V., Colombo C., Fontana F., Violante A., Torrent J. 2003. *Nanomorphy and surface area of hematites by atomic force microscopy*. Euroclay 2003 10th Conference of the European Clays Groups Association. 25 pp.
- Bailey G.W., Shevchenko S.M., Shane Yu Y., Kamermans H. 1997. *Combining scanning tunneling microscopy and computer simulation of humic substances: citric acid, a model*. Soil Science Society of America Journal 61: 92-101.
- Becker U, Gasharova B. 2001. *AFM observations and simulations of jarosite growth at the molecular scale: probing the basis for the incorporation of*

- foreign ions into jarosite as a storage mineral*. Physics and Chemistry of Minerals 28: 545-556.
- Becker U, Hochella MF, Apra E. 1996. *The Electronic-Structure of Hematite(001) Surfaces - Applications to the Interpretation of STM Images and Heterogeneous Surface-Reactions*. American Mineralogist 81: 1301-1314.
- Bickmore B.R., Bosbach D., Hochella M.F., Charlet L., Rufe E. 2001. *In situ atomic force microscopy study of hectorite and nontronite dissolution: Implications for phyllosilicate edge surface structures and dissolution mechanisms*. American Mineralogist 86: 411-423.
- Bickmore B.R., Hochella Jr. M.F., Bosbach, D., Charlet L. 1999. *Methods for performing atomic force microscopy imaging of clay minerals in aqueous solutions*. Clays and Clay Minerals 47: 573-581.
- Blum A.E. 1994. *Determination of illite/smectite particle morphology using scanning force microscopy*. In *CMS Workshop Lectures Vol. 7, Scanning Probe Microscopy of Clay Minerals*, K. Nagy and A.E. Blum, eds., The Clay Minerals Society, Boulder, CO, pp. 171-203.
- Bosbach D., Rammensee W. 1994. *In situ investigation of growth and dissolution on the (010) surface of gypsum by Scanning Probe Microscopy*. Geochimica and Cosmochimica Acta 58: 1843-849.
- Colombo C., M. Ricciardella, V. Barron, J. Torrent, Violante A. 1999 *Osservazioni micromorfologiche di ossidi ed ossidrossidi di alluminio mediante microscopia di forza atomica*. Atti del XVII Convegno Naz. Società Italiana Chimica Agraria, Portoferraio. 29 Settembre – 1 Ottobre, 1999, pp. 241-247.
- Colombo C., Di Cerce A., Maiuro L., Violante A. 2003. *Effect of tannate, pH, aging and temperature on the formation and nature of Al-oxyhydroxides*. Euroclay 2003 10th Conference of the European Clays Groups Association. 68 pp.
- Colombo C., Ricciardella M.R., Di Cerce A., Maiuro L., Violante A. 2004. *Effect of tannate, pH, ageing sample preparation and temperature on the formation and nature of Al-oxyhydroxides*. Clays and Clay Minerals (in press)
- Dove P.M., Hochella Jr. M.F. 1993. *Calcite precipitation mechanisms and inhibition by orthophosphate: In situ observation by scanning force microscopy*. Geochimica and Cosmochimica Acta 557: 705-714.
- Eggleston C. 1994. *High resolution scanning probe microscopy: tip-surface interactions, artifacts, and applications in mineralogy and geochemistry*. In *CMS Workshop Lectures Vol. 7, Scanning Probe Microscopy of Clay Minerals*, K. Nagy and A.E. Blum, eds., The Clay Minerals Society, Boulder, CO, pp. 171-203.
- Eggleston CM. 1999. *The surface structure of alpha-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (001) by scanning tunneling microscopy: Implications for interfacial electron transfer reactions*. American Mineralogist 84: 1061-1070.
- Gan H., Bailey G.W., Yu Y.S. 1996. *Morphology of Lead(II) and Chromium(III) Reaction-Products on Phyllosilicate Surfaces as Determined by Atomic-Force Microscopy*. Clays and Clay Minerals 44: 734-743.

- Gratz A.J., Manne S., Hansma P.K. 1993. *Atomic force microscope of atomic-scale ledges and etch pits formed during dissolution of quartz*. *Science* 251: 1343-1346.
- Hillner P.E., Gratz A.J., Hansma P.K. 1992. *Atomic-scale imaging of calcite growth and dissolution in real time*. *Geology* 20: 359-362.
- Johnsson P.A., Eggleston C.E., Hochella Jr. M.F. 1991. *Imaging molecular scale structure and microtopography of hematite with the atomic force microscope*. *American Mineralogist*, 76: 1442-1445.
- Jordan G., Rammensee W. 1996. *Dissolution rates and activation energy for dissolution of brucite (001): A new method based on the microtopography of crystal surfaces*. *Geochimica and Cosmochimica Acta* 60: 5055-5062.
- Kuwahara Y., Uehara S., Aoki Y. 2001. *Atomic force microscopy study of hydrothermal illite in Izumiyama pottery stone from Arita, Saga Prefecture, Japan*, *Clays and Clay Minerals* 49: 300-309.
- Liu C, Huang PM 1999. *Atomic force microscopy and surface characteristics of iron oxides formed in citrate solutions*. *Soil Science Society of America Journal* 63: 65-72.
- Lower S.K., Hochella Jr. M.F., Beveridge T.J. 2001. *Bacterial recognition of mineral surfaces: nanoscale interactions between Shewanella and a FeOOH*. *Science* 292: 1360-1363.
- Lower S.K., Maurice P.A., Traina S.J., Carlson E.H. 1998. *Aqueous Pb sorption by hydroxylapatite: applications of atomic force microscopy to dissolution, nucleation, and growth studies*. *American Mineralogist*, 83: 147-158.
- Maneck M., Maurice P.A., Traina S.J. 2000. *Uptake of aqueous Pb by Cl-, F-, and OH- apatites: Mineralogic evidence for nucleation mechanisms*. *American Mineralogist*, 85: 932-942.
- Maurice P., Forsythe J., Hersman L., Sposito G. 1996. *Application of atomic force microscopy to studies of microbial interactions with hydrous Fe(III) oxides*. *Chemical Geology* 132: 33-43.
- Maurice P.A., Hochella MF., Parks GA., Sposito G., Schwertmann U. 1995. *Evolution of Hematite Surface Microtopography upon Dissolution by Simple Organic-Acids*. *Clays and Clay Minerals* 43: 29-38.
- Maurice P.A., Lee Y.J., Hersman L.E. 2000. *Dissolution of Al substituted goethites by an aerobic Pseudomonas mendocina var. bacteria*. *Geochimica and Cosmochimica Acta* 64: 1363-1374.
- Maurice P.A., Lower S.K. 1998. *Using atomic force microscopy to study soil mineral reactions*. *Advances in Agronomy* 62: 1-43.
- Maurice P.A., Vierkom M.A., Hersman L.E., Fulghum J.E. 2001a. *Dissolution of well and poorly ordered kaolinites by an aerobic bacterium*. *Chemical Geology* 180: 81-97.
- Maurice P.A., Vierkorn M.A., Hersman L.E., Fulghum J.E., Ferryman A. 2001b. *Enhancement of kaolinite dissolution by an aerobic Pseudomonas mendocina bacterium*. *Geomicrobiology Journal* 18: 21-35.

- Nagy K. 1994. *Application of morphological data obtained using scanning force microscopy to quantification of fibrous illite growth rates*. In *CMS Workshop Lectures Vol. 7, Scanning Probe Microscopy of Clay Minerals*, K. Nagy and A.E. Blum, eds., The Clay Minerals Society, Boulder, CO, pp. 203-239.
- Namjesnik Dejanovic K., Maurice P., Aiken G.R., Cabaniss S., Chin Y.P., Pullin, M.J. 2000. *Adsorption and fractionation of a muck fulvic acid on kaolinite and goethite at pH 3.7, 6, and 8*. *Soil Science* 265: 545-559.
- Namjesnik Dejanovic K., Maurice P. 2000. *Conformations and aggregate structures of sorbed natural organic matter on muscovite and hematite*. *Geochimica and Cosmochimica Acta*, 65: 1047-1057.
- Nespolo M., and Kuwahara Y. 2001. *Apparent polytypism in the Ruiz peak ferric phlogopite*. *European Journal of Mineralogy* 13: 1047-1056.
- Nugent M.A., Brantley S.L., Pantano C.G., Maurice P.A. 1998. *The influence of natural mineral coatings on feldspar weathering*. *Nature* 395: 588-591.
- Ohnesorge F., Binning G. 1993. *True atomic resolution by atomic force microscopy through repulsive and attractive forces*. *Science* 260: 1451-1456.
- Roldán R., Barrón V., Torrent J. 2002. *Experimental alteration of vivianite to lepidocrocite in a calcareous medium*. *Clay minerals*, 37: 709-718.
- Rufe E., Hochella Jr. M.F. 1999. *Quantitative assessment of reactive surface area of phlogopite during acid dissolution*. *Science* 285: 874-876.
- Sutheimer S.H., Maurice P.A., Zhou Q. 1999. *Dissolution of well and poorly crystallized kaolinites: Al speciation and effects of surface characteristics*. *American Mineralogist* 84: 620-628
- Weidler P.G., Schwinn T., Gaub H.E. 1996. *Vicinal faces on synthetic goethite observed by atomic force microscopy*. *Clays and Clay Minerals* 44: 437-442.
- Wells MA, Gilkes RJ, Fitzpatrick RW 2001. *Properties and acid dissolution of metal-substituted hematites*. *Clays and Clay Minerals* 49: 60-72.
- Wicks F.J., Henderson G.S, Hawthorne FC, Kjoller K. 1998. *Evidence for atomic-scale resolution in atomic-force microscopy of layer silicates*. *Canadian Mineralogist* 36: 1607-1614.
- Wicks F.J., Henderson G.S, Vrdoljak, A. 1994. *Atomic and molecular scale imaging of layered and other mineral structures*. In *CMS Workshop Lectures Vol. 7, Scanning Probe Microscopy of Clay Minerals*, K. Nagy and A.E. Blum, eds., The Clay Minerals Society, Boulder, CO, pp. 91-139.
- Zbik M, Smart RS 1998. *Nanomorphology of kaolinites: Comparative SEM and AFM studies*. *Clays and Clay Minerals* 46:153-160.
- Zhang ZZ, Bailey GW. 1998. *Reactivity of basal surfaces, steps and edges of muscovite: An AFM study*. *Clays and Clay Minerals* 46: 290-300.

**Posizione Italiana**

Metodo Ufficiale n° XI  
Supplemento Ordinario G.U. n° 79  
del 6 aprile 2005

**Posizione Internazionale**

Assente

<b><i>Claudio Massimo Colombo</i></b> Dipartimento di Scienze Animali, Vegetali e dell'Ambiente Università degli Studi del Molise Via De Sanctis 86100 Campobasso e-mail: colombo@unimol.it	1 <sup>a</sup> ed. 2005 Coordinatore dei metodi: <i>Paola Adamo</i>  Direttore della collana: <i>Paolo Sequi</i>
<b><i>Fabrizio Fontana</i></b> Dipartimento di Scienze Animali, Vegetali e dell'Ambiente Università degli Studi del Molise Via De Sanctis 86100 Campobasso e-mail: fontana@unimol.it	
<b><i>Vidal Barron</i></b> Departamento de Ciencias y Recursos Agrícolas y Forestales Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes Universidad de Córdoba ,Apdo 3048 14080 Córdoba (España) Fax +34 957 218440 e-mail: cr1balov@uco.es	