

С. О. Білокін, *к.т.н., старший викладач*
Черкаський державний технологічний університет,
б-р Шевченка, 460, м. Черкаси, 18006, Україна
marsaua001@gmail.com

КОМПЛЕКСНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ФІЗИКО-МЕХАНІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ

В роботі описано методику модифікування зондів атомно-силового мікроскопа методом термовакуумного осадження з подальшою електронною обробкою для дослідження біологічних об'єктів (на прикладі людського волосся) в контактному режимі. Показано можливість надійного електростатичного кріплення об'єктів на підкладці та обрано оптимальні режими дослідження. Показано, що конічні зонди з кутом схилу близько 70°, радіусом вістря близько 50 нм, закріплені на консолі з жорсткістю не більше 0,05 Н/м, позбавляють таких артефактів, як контактна деформація та конволюція. Проаналізовано результати дослідження чотирьох типів волосся, що піддавались різного роду хімічній обробці, а також встановлено, що використання хімічних засобів для обробки волосся дуже впливає на його геометричні параметри. Показано, що використання хімікатів для фарбування, а також хімічної завивки призводить до розшарування волосся, в результаті чого можлива втрата здатності волосся утримувати вологу, порушується однорідна провідність поживних речовин.

Ключові слова: атомно-силова мікроскопія; біологічні об'єкти; підготовка біологічних зразків; хімічна обробка волосся.

На сьогоднішній день все більш стрімких темпів розвитку набуває така галузь науки, як нанотехнології, що пов'язано з мініатюризацією об'єктів і компонентів майже в усіх галузях науки і техніки. Проте вирішення такої задачі неможливе без сучасних методів і засобів маніпулювання та дослідження в нанометричному діапазоні [1]. Серед існуючих методів найбільшої популярності набув метод атомно-силової мікроскопії як такий, що має високу точність, надійність та відтворюваність отриманих результатів [2]. Окрім цих переваг, метод АСМ не має обмежень по середовищах [3, 8, 9], в яких проходить дослідження (вакуум, повітряне середовище або рідина). Оскільки основною умовою дослідження структури біологічних об'єктів (білків, мембранних клітин, внутрішньобіоструктурованих клітин тощо) є їх перебування в фізіологічних розчинах, то метод атомно-силової мікроскопії є практично єдиним і унікальним методом для дослідження біологічних об'єктів, а саме дослідження є актуальним через можливість виявлення причин порушень у біологічних структурах з подальшим їх униканням [4, 7].

Метою роботи є вивчення і аналіз людського волосся різних типів (як оброблених різними хімічними засобами, так і необроблених) методом АСМ для визначення ступеня та

причин їх пошкодження залежно від типу хімічної обробки.

В роботі автором досліджувалось людське волосся різного типу з попередньою різноманітною хімічною обробкою з метою порівняння і виявлення механізму впливу тих чи інших засобів на стан волоссяного покриву людини.

Як досліджувані зразки використовувались зразки волосся чотирьох типів, а саме: 1 – нефарбоване, натуральне волосся; 2 – фарбоване волосся після хімічної завивки; 3 – сиве волосся; 4 – фарбоване волосся без хімічної завивки.

Як підкладку при дослідженні біологічних об'єктів зазвичай використовують підкладки з рівною поверхнею, такі як атомарно-гладкі сколи слюди, високоорієнтований піролітичний графіт, плівки металів та напівпровідників. Такий вибір обумовлений можливістю подальшої модифікації біологічних об'єктів, а гладкість поверхні, близької до ідеальної, зменшує кількість артефактів.

При скануванні біологічних об'єктів важливим етапом є закріплення досліджуваного зразка на підкладці, оскільки недотримання цього етапу може призвести до зміщення і навіть відриву об'єктів від підкладки через латеральний рух зонду. В цьому випадку досліджуваний зразок закріплювався неру-

хомо за допомогою дії електростатичних сил. Для цього зразок, що знаходиться в робочому розчині буфера, наносять на підкладку, а сама підкладка попередньо оброблюється катіонами металів (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , La^{2+}). Іони в цьому випадку виступають своєрідними «містками» між негативно зарядженим зразком і негативно зарядженою слидою. Попередньо також оброблювалася підкладка: свіжесколоту слидою на кілька годин розміщують у розчин, що містить іони металів, після чого промивають дистильованою водою для видалення надлишку катіонів, за чим йде нанесення зразка із буфера [5].

Для дослідження біологічних об'єктів основною проблемою є вибір зондів, оскільки вибір гострих тонких зондів призводить до деформації досліджуваного зразка, а кулькоподібні зонди є причиною виникнення такого артефакту, як конволюція. Довжина і ширина зонда не мають впливу на результат дослідження, на відміну від геометрії зондів. Так, кут сходження конуса вістря повинен бути якомога більшим (близько 70°). Не менш важливим є радіус округлення вістря зонда, а саме: чим більший радіус (близько 50 нм), тим більша якість отриманих результатів.

Одним із основних матеріалів, що використовуються для виготовлення зондів АСМ, є кремній, який за своєю природою є гідрофобним матеріалом. Проте на повітрі на поверхні кремнію утворюється шар діоксиду кремнію, який адсорбує вуглеводневі молекули та молекули води, внаслідок чого поверхня зонда набуває гідрофільних властивостей, що є неприпустимим для дослідження біологічних об'єктів.

Для зменшення кута змочування зондів пропонується їх модифікація тонким вуглецевим покриттям методом резистивного нанесення в вакуумі з подальшою електронною обробкою.

Процес комбінованого отримання тонких вуглецевих покриттів на зондах АСМ ґрунтується на методі комбінованого термовакуумного формування впорядкованих наноструктур на діелектричних поверхнях, в основу якого покладене термічне осадження у вакуумі тонких та ультратонких (близько 5...8 нм) високооднорідних покриттів з подальшим формуванням на них впорядкованих структур нанометричних розмірів.

Особливістю такого комбінованого методу є здійснення його в одному технологічному циклі «термовакuumне осадження – еле-

ктронно-променева модифікація покриття» за незмінних умов робочого середовища (вакуум $p = 5 \cdot 10^{-5}$ Па), що виключає утворення хімічних сполук осаджуваного покриття з елементами доквілля на проміжному етапі формування наноструктури.

Процес формування покриття (рис. 1) здійснюється резистивним осадженням порошка С (графітна форма, дисперсність 0,12...0,32 мкм) за таких режимів: струм нагрівача – 90 А; час осадження – 7 с; відстань від навіски з порошком до поверхні, на яку здійснюється осадження, становить 30 мм (кут розпилювання – 120°).

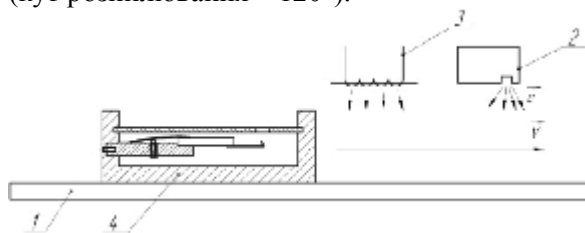


Рис. 1. Схема пристрою для обробки зразків:

- 1 – механізм переміщення; 2 – піч нагріву;
- 3 – електронно-променева гармата; 4 – зразок

На наступному етапі здійснюється формування наноструктур на покриттях шляхом їхньої термічної обробки. Застосування в цьому випадку стрічкового електронного потоку, генерованого електронно-променевою гарматою Пірса, пов'язане з високою однорідністю і керованістю розподілу енергії в такому потоці, що дозволяє досягти більш ошадного режиму прецизійної електронно-променевої обробки ультратонких покриттів на поверхнях кремнієвих зондів. Це, у свою чергу, виключає відшарування і розтріскування таких покриттів, чим обов'язково супроводжується процес різкого перерозподілу теплової енергії, пов'язаний з термічним ударом, який спостерігається при обробці точковими джерелами.

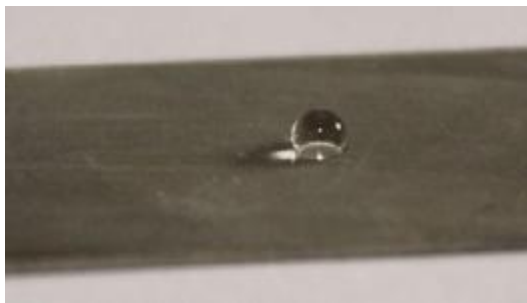
Електронно-променева модифікація покриттів здійснюється через маску за таких режимів: питома потужність електронного потоку – 500 Вт/м^2 ; струм електронного потоку – 60 мА; час дії – $4 \cdot 10^{-6}$ с.

Після припинення процесу осадження відбувається витримка протягом 10...15 с при постійній температурі $360 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Сканування проводилось у контактному режимі за таких параметрів: швидкість сканування по горизонталі – $V_{\text{гор}} = 9,08 \dots 10,2$ мкм/с, час затримки перед вимірюванням – $\tau \geq 6$ мс, крок сканування – $h \leq 82$ нм. Слід зазначити, що жорсткість консолі не повинна перевищувати

0,01 Н/м, оскільки великий тиск на біологічні об'єкти призводить до їх руйнації [6, 10].

Поєднання оптимальних режимів дослідження і використання зондів, модифікованих вуглецевим покриттям, дозволяє збільшити кут змочування зондів з 60° до 110° (рис. 2).



а)



б)

Рис. 2. Фотознімки крапель дистильованої води на гідрофобній кремнієвій пластині (а) та гідрофільній пластині, поверхня якої містить діоксид кремнію (б)

Аналіз АСМ-топограми першої групи зразків, а саме нефарбованого, натурального волосся, показав рівномірний розподіл (перепад шорсткості не перевищує 80 нм) структури такого волосся, що може свідчити про цілісність волоссяного стовбура і нормальний обмін речовин у ньому (рис. 3).

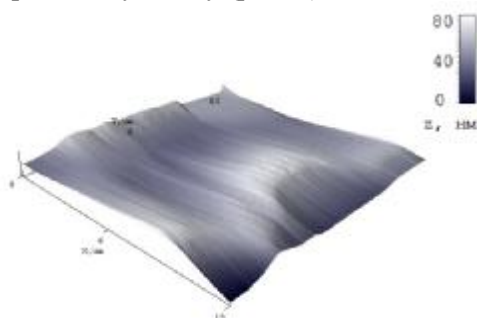


Рис. 3. Тривимірне АСМ-зображення нефарбованого, натурального волосся

При дослідженні другої групи волосся (фарбованого після хімічної завивки) спостерігається високий контраст рельєфу волоссяного стовбура (рис. 4), а максимальний перепад шорсткості сягає 450 нм.

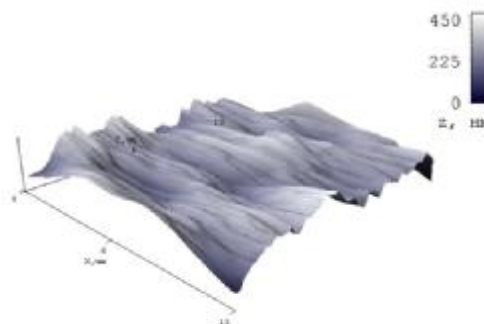


Рис. 4. Тривимірне АСМ-зображення фарбованого волосся після хімічної завивки

Це може свідчити про пошкодження поверхні волосся, внаслідок чого змінюється процес обміну поживними речовинами в структурі волосся і відбувається «омертвіння» волоссяного стовбура.

АСМ-зображення третьої групи волосся (сиве волосся) вказує на збільшення лусок (рис. 5), проте мікрогеометрія волоссяного стовбура залишається нерозвиненою (порівняно з мікрогеометрією волосся другої групи).

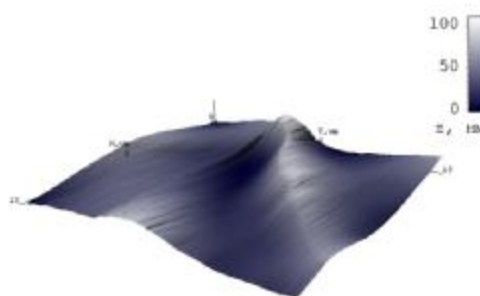


Рис. 5. Тривимірне АСМ-зображення сивого волосся

Результат дослідження четвертої групи волосся (рис. 6) схожий з результатом другої групи, проте розподіл мікрогеометрії не такий сильний (на 20-30 % менший) порівняно з волоссям третього типу.



Рис. 6. Тривимірне АСМ-зображення фарбованого волосся без хімічної завивки

Таким чином, як показали результати дослідження, використання хімічних засобів для обробки волосся дуже впливає на його геометричні параметри. Показано, що викори-

стання хімікатів для фарбування, а також хімічної завивки призводить до розшарування волосся (максимальний перепад шорсткості становить 450 нм, в результаті чого можлива втрата здатності волосся утримувати вологу) і викликає порушення однорідної провідності поживних речовин. При дослідженні нефарбованого, натурального волосся спостерігався неконтрастний розподіл рельєфу (максимальний перепад шорсткості становить близько 80 нм), що свідчить про нормальний розподіл поживних речовин по волоссяному стовбуру. АСМ-зображення сивого волосся вказує на збільшення лусок, проте мікрогеометрія волосяного стовбуру залишається нерозвиненою (порівняно з мікрогеометрією фарбованого волосся з хімічною завивкою).

Список літератури

1. Приборы и методы зондовой микроскопии / Дедкова Е. Г. [и др.] – М. : Можайский полиграфический комбинат, 2011. – 160 с.
2. Мікроскопія в нанотехнологіях : монографія / Антонюк В. С. [та ін.]. – К. : НТУУ «КПІ», 2013. – 336 с.
3. Методи та засоби мікроскопії : монографія / Антонюк В. С. [та ін.]. – К. : НТУУ «КПІ», 2014. – 260 с.
4. Дрозд Е. С. Метод оценки локальных упругих свойств биологических клеток на базе атомно-силовой микроскопии / Е. С. Дрозд, С. А. Чижик // Методологические аспекты сканирующей зондовой микроскопии : материалы IX Междунар. конф., 12-15 октября 2010 г. – Минск, 2010. – С. 124–129.
5. Моделивання електростатичної взаємодії зонда атомно-силового мікроскопа з діелектричною поверхнею / С. О. Білокінь, В. С. Антонюк, В. О. Андрієнко, С. В. Храпатий // Збірник наукових праць. – 2014. – Вип. 2 (41). – С. 233–237. – (Серія «Галузеве машинобудування, будівництво»).
6. Формування зносостійких покриттів на кремнієвих зондах для атомно-силової мікроскопії термовакuumним випаровуванням / [В. С. Антонюк, С. О. Білокінь, М. О. Бондаренко та ін.] // Сверхтвердые материалы. – 2015. – № 2. – С. 60–69.
7. Перспективи використання методу атомно-силової мікроскопії при комплексному контролі елементів приладів точного приладобудування / [В. С. Антонюк, Ю. Ю. Бондаренко, М. О. Бондаренко та ін.] // Перспективні технології та прилади : зб. наук. праць. – 2014. – Вип. 5. – С. 5–9.
8. Исследование микротвердости тонких пленок методом наноиндентирования с помощью атомно-силовой микроскопии / С. А. Билоконь, М. А. Бондаренко, В. С. Антонюк, В. А. Андриенко // Качество, стандартизация, контроль: теория и практика : 13-я Междунар. науч.-практ. конф., 30 сентября – 04 октября 2013, материалы докл. – Крым, Ялта, Киев, 2013 – С. 20–21.
9. Минимизация влияния капиллярных сил при исследовании поверхностей изделий нанoeлектроники в контактном режиме атомно-силового микроскопа / [С. А. Билоконь, М. А. Бондаренко, Ю. Ю. Бондаренко и др.] // Методологические аспекты сканирующей зондовой микроскопии : XI Междунар. конф., 21-24 октября 2014 г., сб. докл. – Минск, Беларусь, 2014. – С. 164–168.
10. Формування функціональних наноструктур на діелектричних поверхнях термічним випаровуванням у вакуумі / В. С. Антонюк, С. В. Храпатий, С. О. Білокінь, В. О. Андрієнко // Вісник Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут». – 2014. – № 1 (70). – С. 31–35. – (Серія «Машинобудування»).

References

1. Dedkova, E. G. et al. (2011), Devices and methods of probe microscopy. Moscow: Mozhajskij poligraficheskij kombinat, 160 p. [in Russian].
2. Antoniuk, V. S. et al. (2013), Microscopy in nanotechnology. Kyiv: NTU "KPI", 336 p. [in Ukrainian].
3. Antoniuk, V. S. et al. (2014), Methods and means of microscopy. Kyiv: NTU "KPI", 260 p. [in Ukrainian].
4. Drozd, E. S. and Chizhyk, S. A (2010), The method of estimation of local elastic properties of biological cells based on atomic force microscopy. *Metodologicheskiye aspekty skaniruyushchey zondovoy mikroskopii*: proceed. of IX Internat. conf., October 12-15. Minsk, pp. 124–129 [in Russian].
5. Bilokin', S. O., Antoniuk, V. S., Andrienko, V. A. and Hrapaty, S. V. (2014), Simulation of electrostatic interaction of the probe of atomic force microscope with dielectric surface. *Zbirnyk naukovykh prats'. Seriya: Haluzeve mashynobuduvannya, budivnytstvo*, Vol. 2 (41), pp. 233–237 [in Ukrainian].

6. Antoniuk, V. S., Bilokin', S. O., Bondarenko, M. O. et al. (2015), Formation of wear-resistant coatings on silicon probes for atomic force microscopy by thermovacuum evaporation. *Sverkhtverdnye materialy*, (2), pp. 60–69 [in Ukrainian].
7. Antoniuk, V. S., Bondarenko, Ju. Ju., Bondarenko, M. O. et al. (2014), Prospects for the use of the method of atomic force microscopy with integrated control of precision instrumentation elements. *Perspektyvni tekhnolohiyi ta pryklady*: collected works, (5), pp. 5–9 [in Ukrainian].
8. Bilokon', S. A., Bondarenko, M. A., Antoniuk, V. S. and Andrienko, V. A. (2013), A study of microhardness of thin films by nanoindentation method with the help of atomic force microscopy. *Kachestvo, standarti-zatsiya, kontrol'*: teoriya i praktika: 13th Internat. scient. and pract. conf., September, 30 – October, 4, reports materials. Crimea, Yalta, Kiev, pp. 20–21 [in Russian].
9. Bilokon', S. A., Bondarenko, M. A., Bondarenko, Ju. Ju. et al. (2014), Minimization of the effect of capillary forces in the study of surfaces of nanoelectronics products in AFM contact mode. *Metodologicheskiye aspekty skaniruyushchey zondovoy mikroskopii*: XI Internat. conf., October, 21–24, reports collection. Minsk, Belarus, pp. 164–168 [in Russian].
10. Antoniuk, V. S., Hrapaty, S. V., Bilokin', S. O. and Andrienko, V. A. (2014), Formation of functional nanostructures on dielectric surfaces by vacuum thermal evaporation. *Visnyk Natsional'noho tekhnichnoho universytetu Ukrayiny "Kyivskyy politekhnichnyy instytut"*. Seriya: Mashynobuduvannya, 1 (70), pp. 31–35 [in Ukrainian].

S. O. Bilokin', *Ph.D., senior lecturer*
Cherkasy State Technological University
Shevchenko blvd, 460, Cherkasy, 18006, Ukraine
marsaua001@gmail.com

COMPLEX STUDY OF PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF BIOLOGICAL OBJECTS

The aim of this work is to study and analyze various types of human hair (both processed by various chemicals and non-processed) by atomic force microscopy (AFM) to determine the degree and causes of damage depending on the type of chemical treatment. In this paper, the author has researched human hair of various types with preliminary diverse chemical treatment in order to compare and identify the mechanism of influence of various things on the hair-covering state. The paper describes a research method of biological objects (for example, of human hair) using AFM in contact mode. The possibility of safe electrostatic bindings of objects on surface-supported has been shown and the optimal modes of research have been selected. It is shown that cone-shaped probe with rake angle of about 70°, the edge radius of about 50 nm, fixed on the console with hardness not exceeding 0.05 N/m to minimize artifacts, such as contact deformation and convolution. The results of the research of four hair types, which has been undergone by kinds of chemical treatment, have been analyzed and it is found that the use of chemicals for hair treatment strongly affects its geometrical parameters. It is shown that the use of chemicals for coloring and perming leads to hair stratification (maximum of roughness difference is 450 nm) and in the result it is possible to lose the hair's ability to retain moisture and cause a breach of homogeneous conductivity of nutrients. Through studies of uncolored, natural hair there was no contrast of relief distribution and it indicates normal distribution of nutrients on the hair shaft. AFM images of gray hair indicate scales increase, however microgeometry of hair shaft is well-developed (compared to microgeometry of colored hair with perming).

Keywords: atomic force microscopy; biological objects; preparation of biological samples; chemical hair treatment.

*Рецензенти: В. А. Ващенко, д.т.н., професор,
В. С. Антонюк, д.т.н., професор*