

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIVIDA ÇALIŞAN ATOMİK ÇÖZÜNÜRLÜKLÜ YÜZEYE DEĞMEYEN
ATOMİK KUVVET MİKROSKOBU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Ümit ÇELİK**

Anabilim Dalı : İleri Teknolojiler Ana Bilim Dalı

Programı : Malzeme Bilimi Ve Mühendisliği

TEMMUZ 2011

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIVIDA ÇALIŞAN ATOMİK ÇÖZÜNÜRLÜKLÜ YÜZEYE DEĞMEYEN
ATOMİK KUVVET MİKROSKOBU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Ümit ÇELİK
(521081024)**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 19 Temmuz 2011
Tezin Savunulduğu Tarih : 20 Temmuz 2011**

**Tez Danışmanı : Doç Dr. H. Özgür ÖZER (İTÜ)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Mustafa ÜRGEN (İTÜ)
Prof. Dr. Ahmet ORAL (SÜ)**

TEMMUZ 2011

Eşim Kübra elik'e ve aileme,

ÖNSÖZ

Her zaman her konuda destek veren, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. H. Özgür ÖZER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans çalışmalarımnda her zaman maddi manevi destek sağlayan ve tezimin ilerlemesinde bilimsel anlamda çok önemli katkılarda bulunan çok sevdiğim değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet ORAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Değerli program kordinatörümüz Prof. Dr. Mustafa ÜRGEN hocama sağladığı sürekli yardım ve destekten dolayı teşekkürlerimi sunarım.

İyi kötü günümüzde benimle beraber olan değerli dostum Ramazan Şahin'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tüm teknik olanaklarını kullanmama imkân sağlayan ve araç-gereç alt yapısını tamamlamada sürekli destek sağlayan Nanomanyetik Bilimsel Cihazlar firmasına teşekkürlerimi sunarım.

Tasarım aşamasında yardımlarından dolayı Nanomanyetik Bilimsel Cihazlar firması bünyesinde çalışan Demet Çatçat ve mekanik üretimde destek veren Serhat Çelik'e teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans çalışmalarım süresince SANTEZ Projeleri kapsamında finansal desteklerinden dolayı T.C. Sanayi ve Ticaret Bakanlığı'na teşekkürlerimi sunarım.

İmkânsızlıklar içinde her zaman imkân oluşturarak arkamda olan çok sevdiğim değerli babam Mehmet Çelik, annem Sebiha Çelik ve tatlı kardeşlerime sonsuz saygı ve sevgilerimi sunarım.

Hayatımın ışığı olan değerli eşim Kübra Çelik'e sonsuz sevgilerimi sunarım.

Temmuz 2011

Ümit Çelik

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
KISALTMALAR.....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ.....	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
SUMMARY.....	xvii
1. GİRİŞ	1
1.1 Tezin Amacı.....	2
1.2 Literatür Özeti	4
2. ATOMİK KUVVET MİKROSKOBU	11
2.1 Giriş	11
2.2 Atomik Kuvvet Mikroskobu ve Görüntüleme Teknikleri	11
2.2.1 Yüzeğe değen kipte Atomik Kuvvet Mikroskobu	12
2.2.2 Genlik modülasyonu AKM.....	13
2.2.3 Frekans modülasyonu AKM (FM-AKM).....	13
2.3 AKM’de Ölçülen Kuvvetler	14
2.4 AKM Yay Sapmasını Ölçme	15
2.4.1 Tünelleme sensörü.....	15
2.4.2 Optik ışın sapması (OIS) yöntemi ile algılama.....	16
2.5 AKM’de Kullanılan Tarayıcılar.....	16
3. SIVIDA FREKANS MODÜLASYONU İLE ATOMİK KUVVET MİKROSKOBU	19
3.1 Sıvı AKM Çalışma Kipi	21
3.2 Sıvıda AKM için Yay Tercihi.....	23
3.3 Osilasyon Genliği.....	24
3.4 Sapma Algılama Sensöründe Gürültü Kaynakları	24
3.5 Düşük Gürültülü Optik Işın Sapması (OIS) Sensörü	28
3.5.1 Optik ışın sapması yöntemi çalışma prensibi.....	28
3.5.2 I-V dönüştürücü	29
3.5.3 Diferansiyel amfi.....	30
3.6 AKM ile Biyolojik Örnek İncelemede Kullanılan Alt Malzeme	31
4. DÜŞÜK GÜRÜLTÜLÜ KAPALI SIVI HÜCRE AKM GELİŞTİRMESİ.....	33
4.1 AKM Yay Tutucu Tasarımı	34
4.2 Örnek Tutucu Tasarımı.....	38
4.3 Lazer Diyot Seçimi.....	38
4.3.1 Lazer ışığı toplama ve odaklamada kullanılan optik mekanizmalar	40
4.3.2 Optik düzeneğe lazer ışık kayıpları analizi.....	41
4.4 Lazer Besleme Akımına RF Sinyal Enjekte Etme	42
4.5 Geniş Bantlı Pozisyon Duyarlı Fotodedektör	44
4.6 Tasarlanan Optik Işık Sapma Algılayıcı Sistem	44

4.7 AKM Yay1 Brownian Hareketi.....	46
4.8 Bant Geçiren Filtre (BGF) Tasarımı	48
4.9 AKM Tarayıcı Tasarımı ve Kalibrasyon.....	50
4.9.1 Sıvı AFM tarayıcı elektronığı geliştirilmesi ve tarayıcı hassasiyeti	52
4.10 Sıvı AKM İçin Akustik Kabin Tasarımı ve Analizi	52
5. DENEYSEL SONUÇLAR.....	55
6. SONUÇ	59
KAYNAKLAR.....	61

KISALTMALAR

TUM	: Taramalı Uç mikroskobu
AKM	: Atomik Kuvvet Mikroskobu
TTM	: Taramalı Tünelleme Mikroskobu
PDFD	: Pozisyon Duyarlı Fotodiyot
GM-AKM	: Genlik Modülasyonu AKM
FM-AKM	: Frekans Modülasyonu AKM
OIS	: Optik Işın Sapması
A	: Titreşim Genliği
Δf	: Frekans Kayması
PBS	: Phosphate Buffer Saline
3B-TKM	: 3 Boyutlu Taramalı Kuvvet Mikroskobu
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
YD-AKM	: Yüzeye değen kipte AKM
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
PLL	: Faz Kilitlemeli Döngü

ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 4.1 : Malzeme akustik empedansları.....	35
Çizelge 4.2 : Kullanılan lenslerin özellikleri.....	41
Çizelge 4.3 : Optik düzenekte lazer ışık kayıpları.....	42
Çizelge 4.4 : BGF parametreleri.....	49
Çizelge 4.5 : Piezo tüp tarama alanı hesaplaması.....	50

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 : Ultra yüksek vakumda Si(111) 7x7 yeniden yapılanmış yüzey birim hücre.	2
Şekil 1.2 : Poly-PTS tek kristalinin FM-AKM görüntüsü (a) Vakumda 7 nm x 7 nm, $\Delta f = -70$ (b) Havada (10 nm x 10 nm), $\Delta f = -50$ Hz, (d) Su içerisinde 15 nm x 15 nm, $\Delta f = +200$ Hz [4].	4
Şekil 1.3 : Sıvıda Atomik çözünürlük Mika görüntüsü. 20 nm x 10 nm, tarama hızı 576 nm/sn, $\Delta f = +3000$ Hz, $A = 0.55$ nm.	5
Şekil 1.4 : (a) FM-AKM tekniği ile elde edilmiş PBS çözeltisinde Mika yüzeyi. Tarama hızı 117 nm/sn, $\Delta f = +500$ Hz, $A = 0.098$ nm. AKM yayı fototermal olarak titreştirilmiştir. (b) Atomik düzeyde Mika yüzeyi modeli [8].	6
Şekil 1.5 : (a) PBS çözeltisinde Mika - Sıvı ara yüzeyi yükseklik (Z) profili (b) Şekil (a)' da işaretlenmiş 4 konum için kuvvet-uzaklık eğrileri [10].	7
Şekil 1.6 : (a) HEPES tampon çözeltisinde Mika yüzeyine bağlanmış GroEL proteinleri (b) GroEL protein kesiti [11].	7
Şekil 1.7 : 1 mM NaCl çözeltisinde HOPG üzerinde dodecylamine ince film (a) Topografi (b) potansiyel haritası [12].	8
Şekil 1.8 : Sıvıda Yüksek çözünürlüklü doğal mitokondri dış membran görüntüsü [13].	8
Şekil 1.9 : (a) Havada (b) Sıvıda NCHAuD yay için termal gürültü spektrumu. (c) Sıvıda atomik çözünürlükte mika yüzeyi [14].	9
Şekil 2.1 : Tipik bir AKM'yi oluşturan bileşenler.	11
Şekil 2.2 : Kuvvet mesafe grafiği.	15
Şekil 2.3 : AKM yayının optik yöntemle salınımının algılanması.	16
Şekil 3.1 : (a) Poly-PTS tek kristali bc düzlemi sıvıda frekans modülasyonu görüntüsü. 30 nm x 30 nm, $A = 0.26$ nm, $\Delta f_c = +167$ Hz, tarama hızı: 839 nm/s. (b) Saf su içerisinde muskovit mika yüzeyi (8 nm x 8 nm, $\Delta f_c = +54$ Hz, $A = 0.24$ nm, tarama hızı: 671 nm/s. Tüm görüntüler sabit yükseklik modunda taranmıştır [41].	19
Şekil 3.2 : Geliştirilen kapalı sıvı hücre AKM bileşenleri.	20
Şekil 3.3 : (a) Tipik frekans modülasyonu AKM kurulumu, (b) Yay titreşim genliği-frekans ve faz-frekans eğrileri şematik modeli. Normal çizgiler tip-örnek etkileşmediğinde ve noktalı çizgiler tip-örnek etkileştiğinde durumu göstermektedir [26].	21
Şekil 3.4 : PPP-NCHR AKM yayı [28].	23
Şekil 3.5 : PPP-NCHR AKM yayı (a) AKM kafası birleşik kameradan (b) Optik kameradan üstten görünüş (c) Optik kameradan alttan görünüş.	24
Şekil 3.6 : OIS sensör ile sıvı ortamında AKM için tipik deneysel kurulum [6].	25
Şekil 3.7 : Sıvı ortamında lazer gücüne RF modülasyonu uygulandığında ve uygulanmadığında ölçülen frekans gürültüsü [76]. $A = 5$ nm, $f_0 = 140$ kHz, $k = 42$ N/m.	27

Şekil 3.8 : Yay termal gürültü spektrumu [76].	27
Şekil 3.9 : (a) OBD metodu ile yay sapma ölçme sensörü deneysel kurulumu (b) Pozisyon Duyarlı fotodiyot, I-V dönüştürücü, Diferansiyel amfi, bant geçiren filtre. (c) Pozisyon Duyarlı foto diyot üzerine düşen yaklaşık lazer spot [4].	28
Şekil 3.10 : Eşdeğer Fotodiyot I-V Dönüştürücü devresi[8].	30
Şekil 3.11 : Basitleştirilmiş differansiyel amfi devresi[8].	31
Şekil 4.1 : Kapalı sıvı hücre – Atomik Kuvvet Mikroskobu kafa tasarımı.	33
Şekil 4.2 : PPP-NCHR (Nanosensors) yay için havada alından rezonans ve faz eğrisi.	35
Şekil 4.3 : (a) İlk tasarım yay tutucu (b) Sıvı ortamda elde edilen genlik eğrisi.	36
Şekil 4.4 : (a) Geliştirilen yay tutucu tasarımı (b) Sıvı ortamda elde edilen genlik eğrisi.	37
Şekil 4.5 : Kapalı sıvı hücre ve yay tutucu tasarımı.	37
Şekil 4.6 : (a) Örnek tutucu tasarımı yandan kesiti (b) örnek tutucu üstten görünüş.	38
Şekil 4.7 : Diyot lazer ışık kaynağı.	39
Şekil 4.8 : Merceklerde numerik darlık.	40
Şekil 4.9 : Mesafeye karşılık fotodiyot üstünden okunan güç.	41
Şekil 4.10 : Optik düzenek yapısı.	41
Şekil 4.11 : Optik düzenekte ışık gücü ölçümü yapılan noktalar.	42
Şekil 4.12 : Sıvıda RF sinyali açık ve kapalı olduğu durumda frekans kayması dalga formu.	43
Şekil 4.13 : Pozisyon Duyarlı Fotodiyot (Hamamatsu S6695-01).	44
Şekil 4.14 : Fotodiyot I-V dönüştürücü, diferansiyel amfi ve bant geçiren filtre (BPF).	45
Şekil 4.15 : Tipik optik ışın sapması yöntemi ile yay sapması algılama [4].	45
Şekil 4.16 : Havada RF Modülasyonu ile Termal Gürültü Spektrumu. $f_0=315$ kHz, $Q=430$. Mavi çizgiler teorik hesaplanmış termal Brownian hareketini, kırmızı çizgiler deneysel elde edilmiş sonuçları göstermektedir. Deneyde arkası alüminyum kaplı Si yay (Nanosensors:PPP-NCHR, $\sim k=30$ N/m) kullanıldı.	47
Şekil 4.17 : Saf suda RF Modülasyonu ile Termal Gürültü Spektrumu $f_0=155$ kHz, $Q=11$. Mavi çizgiler teorik hesaplanmış termal Brownian hareketini, kırmızı çizgiler deneysel elde edilmiş sonuçları göstermektedir. Deneyde arkası alüminyum kaplı Si yay (Nanosensors:PPP-NCHR, $\sim k=30$ N/m) kullanıldı.	47
Şekil 4.18 : (a) Bant geçiren filtre olmadan, (b) Bant geçiren filtre ile.	49
Şekil 4.19 : Bant geçiren filtre şematik tasarımı [37].	49
Şekil 4.20 : (a) Tüp piezo alt kapak, (b) üst kapak, (c) interferometre ile piezo kalibrasyonu, (d) tarayıcı ile örnek tutucu montajı.	50
Şekil 4.21 : (a) Piezo XY yönü için rezonans eğrisi (b) Piezo Z yönü için rezonans eğrisi.	51
Şekil 4.22 : Piezo testi için elde edilen blu-ray görüntüsü ve izler arası boşluk.	51
Şekil 4.23 : (a) Havada atomik çözünürlük mika görüntüsü (b) Mika yüzey modeli. $A=0.519$ nm, $B=0.900$ nm, $C=1.37$ nm.	52
Şekil 4.24 : Akustik izolasyon kabini için frekansa bağlı gürültü geçirme oranı.	53
Şekil 5.1 : Kapalı sıvı hücre AKM de alınan ilk blu-ray disk görüntüsü. (a) topografi (b) Enerji yitimi. Saf suda PPP-NCHR AKM yayı, $f_0=145$ kHz, $Q=11$, $\Delta f=+30$ Hz.	55

Şekil 5.2 :	Atomik çözünürlükte PBS çözeltide görüntülenmiş Mika yüzeyi. Mika yüzeyi tabaka kaldırma tekniği ile temizlenmiştir. Görüntüleme parametreleri $\Delta f = +50$ Hz, $A=0.9$ nm, $Q=11$, Tarama hızı: 300 nm/s, AKM yayı: Nanosensors NCHR, $k=32$ N/m.	56
Şekil 5.3 :	Kapalı sıvı hücre içerisinde PBS çözeltisinde alınmış atomik çözünürlükte mika yüzeyi görüntüsü ve yüzeyin kafes yapısı. Görüntüleme parametreleri $\Delta f = +80$ Hz, $A=0.8$ nm, $Q=10$, Tarama hızı: 400 nm/s, AKM yayı: Nanosensors NCHR, $k=35$ N/m.	56
Şekil 5.4 :	Kapalı sıvı hücre içerisinde PBS çözeltisinde alınmış atomik çözünürlükte mika yüzeyi görüntüleri	57
Şekil 5.5 :	Saf su içerisinde görüntülenmiş altın yüzeyde DSPE-PEG (2000) Lipid	57
Şekil 5.6 :	DSPE-PEG(2000) Lipid 3B yapısı	58

SIVIDA ÇALIŞAN ATOMİK ÇÖZÜNÜRLÜKLÜ YÜZEYE DEĞMEYEN ATOMİK KUVVET MİKROSKOBU

ÖZET

Atomik Kuvvet Mikroskobu (AKM) yöntemi yalıtkan örneklerin özelliklerini bozmadan inceleyebilmeye olanak sağlayan tek yöntemdir. Sadece iletken örnekler Taramalı Tünelleme Mikroskobu ile incelenebilir. AKM ile örnekleri sıvı ortamda incelemek mümkündür. Bu olay biyologları heyecanlandıran bir gelişmedir. AKM yöntemi biyomoleküllerin kendi doğal biyolojik sıvı ortamlarındaki aktivitelerinin yüksek çözünürlükte incelenmesine olanak sağlayan tek yöntemdir. Son gelişmelerle birlikte yüksek kuvvet hassasiyeti ile yüksek hızda ortamı 3 boyutlu olarak karakterize etmek mümkündür. Bu gelişmelerle biyolojik moleküllerin dinamik yapı değişimini ve dinamik etkileşimlerini incelemek mümkündür. Bu tezde AKM ile sıvı ortamda atomik çözünürlük elde edilmesi hedeflenmiştir. Bu çalışmada sıvı ortamda çalışan yüksek çözünürlüklü AKM geliştirilmesinden bahsedilecektir.

Sıvı içerisinde gerçek atomik çözünürlük elde edilebilen ve ‘yüzeye-değmeyen’ modda çalışabilen (Frekans Modülasyonu AKM) bir Atomik Kuvvet Mikroskobu üzerinde çalışılmıştır. Sıvı içerisinde Frekans Modülasyonu AKM (FM-AKM) görüntüleme tekniği, malzemelerin atomik çözünürlükte görüntülenmesine imkân verir. Geliştirilen tasarımla birlikte kapalı sıvı hücre içerisinde görüntüleme sağlanmıştır. Bununla birlikte birçok yeni çalışma alanı ortaya çıkacağı düşünülmektedir. Biyolojik molekülleri kendi doğal sıvı ortamlarında inceleyebilmek mümkün olacaktır. Kapalı hücreye sıvı akışı sayesinde akışa göre ortamdaki değişimler gözlenebilecektir. Örneğin kapalı ortamın pH değerlerine göre proteinlerin yüzeye bağlanma morfolojileri üzerine çalışabilmek mümkün olacaktır. Sensörün kapalı ortamda titreştirilmesi ile yüzey taramanın yanında cantilevere fonksiyon kazandırılarak biyosensör olarak kullanabilmek mümkün olabilecektir.

Çalışmamızda NanoManyetik Bilimsel Cihazlar tarafından üretilmiş Atomik Kuvvet Mikroskobu modifiye edilerek kullanılmıştır. Sensor tutucu akustik olarak titreştirilecek şekilde dizayn edilmiş ve akustik empedans özelliği olan malzemeler ile tasarlanarak AKM yayının sıvı ortamdaki gerçek rezonans eğrilerinin alınması sağlanmıştır. Lazer kaynağı olarak RF modüle edilerek 635 nm dalga boyunda lazer kullanılmıştır. RF modülasyonu optik geri bildirim ve girişim gürültülerinin düşürülmesinde etkilidir. Tasarladığımız mikroskop sisteminde lazer sapma gürültü yoğunluğu havada 20 fm/ $\sqrt{\text{Hz}}$ ve sıvıda 29 fm/ $\sqrt{\text{Hz}}$ kaydedilmiştir. Sıvıda frekans gürültüsü yaklaşık olarak 1Hz_{pp} kaydedilmiştir. Geliştirilen sistemin hassasiyeti PBS sıvısı içerisinde mika yüzeyi atomik çözünürlükte görüntülenerek gösterilmektedir.

ATOMIC RESOLUTION NON-CONTACT ATOMIC FORCE MICROSCOPE OPERATING IN LIQUID

SUMMARY

Atomic Force Microscope (AFM) method is the only way to study insulating samples without deformation. Only conducting or semiconducting surfaces can be imaged with Scanning Tunneling Microscope. It is possible to investigate the samples in liquid using AFM. It is an exciting development for biologists. The Atomic Force Microscope (AFM) has a unique capability of allowing the high-resolution imaging of biological samples on substratum surfaces in physiological solutions. Recent technological progress of AFM in biological research has resulted in remarkable improvements in both the imaging speed and the tip force acting on the sample. These improvements have enabled the direct visualization of dynamic structural changes and dynamic interactions occurring in individual biological macromolecules, which is currently not possible with other techniques.

The first true atomic resolution imaging in liquid excited the biologist. In this thesis, we describe development of a high resolution liquid AFM. We developed a closed liquid cell for liquid AFM. The understanding of biological phenomena at the molecular level requires the direct imaging of individual mobile molecules in real-time as well as in real space under physiological environment. There might be many new applications with closed liquid cell. It might be possible to characterize the samples in different pH values or to use the cantilever in liquid cell as a biosensor.

We modified the Atomic Force Microscope supplied by NanoMagnetics Instruments. Cantilever is excited with acoustic waves. Cantilever holder designed with materials which has acoustic properties. True cantilever resonance peaks were obtained in liquid. We used RF modulated diode laser to decrease laser internal and external noise sources. We have developed a low noise cantilever deflection sensor with a deflection noise density of 20 fm/ $\sqrt{\text{Hz}}$ in air and 29 fm/ $\sqrt{\text{Hz}}$ in liquid by optimizing the parameters used in optical beam deflection (OBD) method. Approximately 1Hz_{pp} frequency noise measured in liquid. True atomic resolution of the developed FM-AFM is demonstrated by imaging mica in PBS solution.

1. GİRİŞ

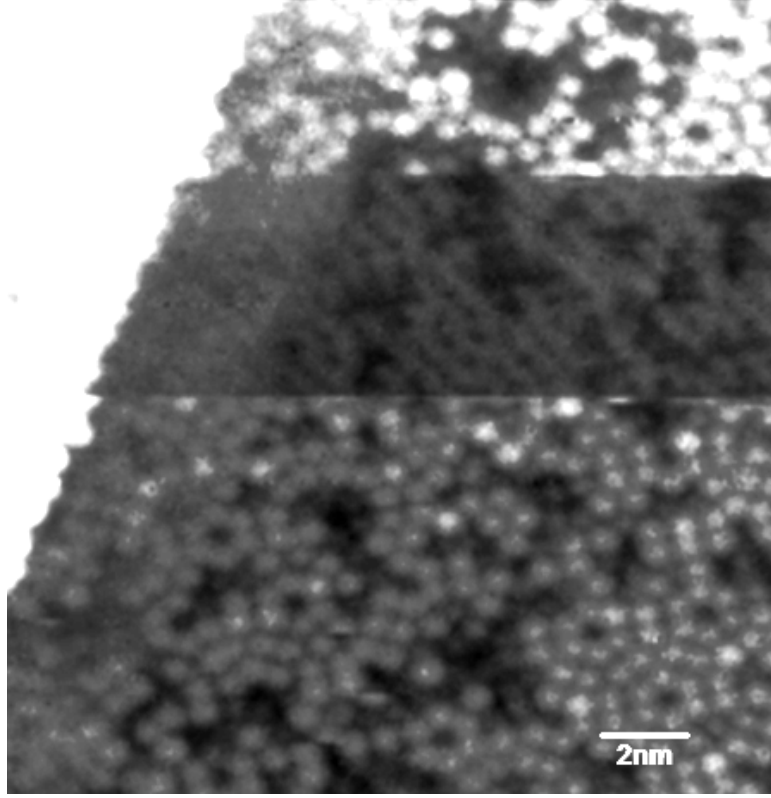
Taramalı Uç Mikroskopları tekniği yüzey görüntüleme ve karakterizasyonu için geliştirilmiş çok önemli bir araçtır. Taramalı Uç Mikroskobu (TUM) tekniklerinde sivri bir iğne bulunur ve bu sensör ile yüzey taranarak topoğrafi elde edilmesi prensibine dayanır. Taramalı uç mikroskobu ailesinde ilk olarak taramalı tünelleme mikroskobu (TTM) 1982 yılında icat edildi [1] ve 4 yıl sonra Atomik Kuvvet Mikroskobu (AKM) Binnig ve arkadaşları tarafından icat edildi [2]. TTM tekniğinde iletken çok sivri bir iğne bulunur. Bu iğne iletken ya da yarı iletken bir yüzeye yeteri kadar yaklaştırıldığında iğne ile yüzey arasında tünelleme akımı oluşur. Tünelleme akımı kontrol edilerek yüzeyin topografisi çıkarılır. TTM tekniğinde yalıtkan malzemeleri incelemek mümkün değilken AKM tekniği yalıtkan malzemeleri incelemeye olanak sağlar. AKM tekniği ile ultra yüksek vakumda ve sıvıda atomik çözünürlükte iletken veya yalıtkan örnekleri inceleyebilmek mümkündür. AKM'nin sıvıda çalışmasıyla biyolojik molekülleri kendi ortamlarında inceleme fırsatı doğmuştur. Şu anki teknoloji ile AKM tekniği biyolojik molekülleri kendi aktif ortamlarında yüksek çözünürlükte görüntülemenin tek yoludur.

Atomik Kuvvet Mikroskobunda genelde algılayıcı olarak ucunda sivri bir iğne olan yay kullanılır. Nanometre altı çözünürlük elde edebilmek için yay sapmalarını ölçen bir sensör ve pikometre mertebelerinde çözünürlüğe sahip örnek pozisyonlama düzenekleri gerekir. AKM yayı yüzey üzerinde gezdirildiğinde örnek yüzeyi topoğrafisindeki değişiklikler sensörde elde edilen sinyalin değişimine sebep olur.

AKM'de yüzey ızgara (raster) tarama tekniği ile taranır, yay ile yüzey arasındaki etkileşim kuvveti/kuvvet değişimi sabit tutulacak şekilde sensör dikey olarak hareket ettirilir. Bu hareket 2 boyutlu bir dizide tutularak her bir veriye karşılık renk atandığında 3 boyutlu yüzey topoğrafisi elde edilmiş olur.

AKM sensörü atomlar arası etkileşim kuvveti, fononlar, kapasitif çiftleşme, elektrostatik kuvvet, manyetik kuvvet ve sürtünme kuvvetini ölçmek için kullanılabilir. Son gelişmelerle birlikte yay sapması femtometre mertebesinde algılanabilir. AKM ve TTM tekniği ile tek atomu inceleyebilmek mümkündür. IBM

Zürich'te geliştirilen ilk TTM ile ilk atomik çözünürlükte görüntü elde edildi ve bu çalışma guruba 1986 yılında Nobel ödülü kazandı. Şekil 1.1' de gurubumuz tarafından ultra yüksek vakum altında alınmış Si (111) yüzeyi verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi yüzeydeki atomik terasları görebilmenin yanında örnek yüzeyindeki kusurları görebilmek mümkündür.



Şekil 1.1 : Ultra yüksek vakumda Si(111) 7x7 yeniden yapılanmış yüzey birim hücre.

AKM'de tünelleme akımı yerine iğne ve yüzey atomları arasındaki etkileşim kuvvetinden faydalanılarak yüzey bilgileri toplanır. Etkileşim Kuvvetleri hakkında detaylı bilgiler ilerleyen bölümlerde verilecektir.

1.1 Tezin Amacı

Sıvıda yüksek çözünürlüklü AKM'ler biyomoleküllerin aktivitelerini izleyebilme olanağı sağlayan tek yöntemdir. AKM tekniğinden önce yüksek çözünürlükte biyopolimerleri (protein, DNA) görüntülemenin tek yolu vakum ortamında elektron mikroskopuydu (SEM). Ancak SEM ile yüksek çözünürlükte görüntüleme yapabilmek için yalıtkan örneğin yüzeyi iletken bir malzeme ile kaplanmalı ve

görüntüleme vakum ortamında yapılmalıdır. Bu da biyolojik molekülün aktivitesini kaybetmesi anlamına gelir. Günümüz teknolojisi ile sadece AKM tekniği aktif biyomolekülleri kendi biyolojik ortamlarında inceleyebilme fırsatı verir.

Biyolojik sistemlerin temel özelliklerinden birisi de `dinamik` olmasıdır. Biyopolimerler, biyosupramoleküller, organeller ve hücreler gibi biyolojik sistem fonksiyonları dinamik olarak gerçekleşir. Bu yüzden biyolojik bilimlerde biyomoleküller oluşurken başarılı olarak yüksek çözünürlükte görüntü alınabilmesi için AKM kullanılması gerekmektedir. Bununla birlikte sıradan AKM'lerin aktif biyomolekülleri görüntüleme oranları oldukça düşüktür. Biyolojik örnekleri kendi doğal ortamlarında incelenebilmesine olanak veren AKM'lerin geliştirilmesiyle biyolojik bilimlerde yüksek hızlı görüntüleme yeteneğine devrimci bir etki yaratması bekleniyor.

Son zamanlarda birçok bilim adamı yüksek hızlı AKM üzerinde çalışmaktadır. Son çalışmalarla birlikte 250nmx250nm alan saniyede 20 resimle görüntülenebilmektedir [26]. Örnek-sensör arası etkileşim kuvveti görüntüleme hızından ödün vermeden düşürülmüştür. Bu sayede ortamdaki moleküller üzerindeki kuvvetler değiştirilmeden görüntüleme olanağı artmıştır. Yüksek hızlı AFM ile ilgili yayınlar sınırlı olmasına rağmen görüntüleme hızı video hızına erişmiştir. Bu tür gelişmeler AKM'lerin kullanım alanlarını arttıracaktır.

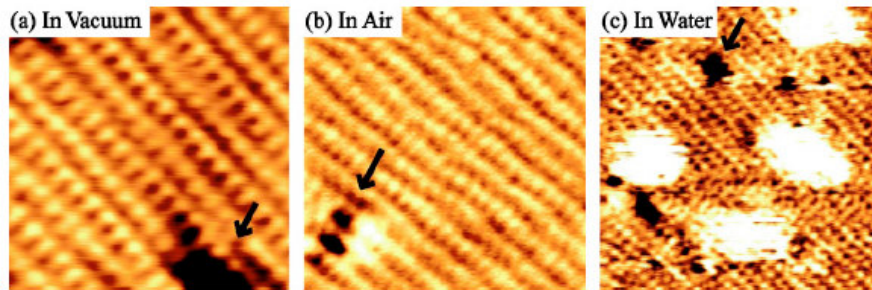
Atomik kuvvet mikroskobu ile hava ortamında ancak yüzeye değen kipte atomik çözünürlükte görüntü alabilmek mümkündür. Ancak bu yöntemle yüzeye uygulanan dikey kuvvet yatay tarama ile birlikte sürtünmeye sebep olur ve örneğe zarar verebilir. Özellikle biyolojik moleküllerin hassas ve yumuşak yapıları göz önüne alınırsa değen kipte yüksek kalitede biyolojik örnek karakterizasyonu mümkün olamamaktadır. Son zamanlarda bu konuda yapılan çalışmalar ile birlikte AKM sensör gürültü seviyesi $30 \text{ fm}/\sqrt{\text{Hz}}$ den küçük elde edilebilmiş ve sıvı ortamda yüzeye değmeyen kipte (Frekans Modülasyonu AKM tekniği) atomik çözünürlükte görüntü alınabilmesi mümkün olabilmektedir.

Bu çalışmada kapalı hücre ortamında malzemeleri ve biyolojik molekülleri yüksek çözünürlükte taramaya olanak verebilecek bir Atomik Kuvvet Mikroskobu geliştirme hedeflenmiştir. Literatürde sıvı ortamda atomik çözünürlüklü görüntüleme ile ilgili çalışmalar çok sınırlı sayıdadır. Biz bu çalışmamızda bu hedefimize ek olarak kapalı

bir ortamda atomik çözünürlük elde edebilmeyi hedefledik. Bununla birlikte birçok yeni çalışma alanı ortaya çıkacağı düşünülmektedir. Biyolojik molekülleri kendi doğal sıvı ortamlarında inceleyebilmek mümkün olacaktır. Kapalı hücreye sıvı akışı sayesinde akışa göre ortamdaki değişimler gözlenebilecektir. Örneğin kapalı ortamın pH değerlerine göre proteinlerin yüzeye bağlanma morfolojileri üzerine çalışabilmek mümkün olacaktır. AKM yayının kapalı ortamda titreştirilmesi ile yüzey taramanın yanında yay fonksiyon kazandırılarak biyosensör olarak kullanabilmek mümkün olabilecektir. Kapalı ortama gaz sürülerek kapalı ortamdaki malzemenin gaz akışına ve yoğunluğuna bağlı olarak malzeme yüzeyindeki değişiklikler incelenebilir. Kısacası karakterize edilecek malzeme için dış dünyadan soyut bir ortam oluşturulduğunda malzeme istenen ortam şartlarında incelenebilecektir.

1.2 Literatür Özeti

Moleküler seviyede biyolojik olayları anlayabilmek için kendi ortamlarında gerçek zamanlı olarak incelemek gerekir. Bundan dolayı biyolojik örnekler için geliştirilen AKM'lerin yatay ve dikey çözünürlüğü çok önemlidir. Son zamanlarda sıvıda çalışan AKM'lerin yatay çözünürlüğü konusunda önemli adımlar atıldı [4,5,6]. 2005 yılında Fukuma ve gurubu tarafından düşük gürültülü sapma sensörü geliştirildi ve poly-PTS zincirlerin sıvı ortamda görüntülenmesi başarıldı [4]. Şekil 1.2' de elde edilen poly-PTS görüntüleri verilmiştir.

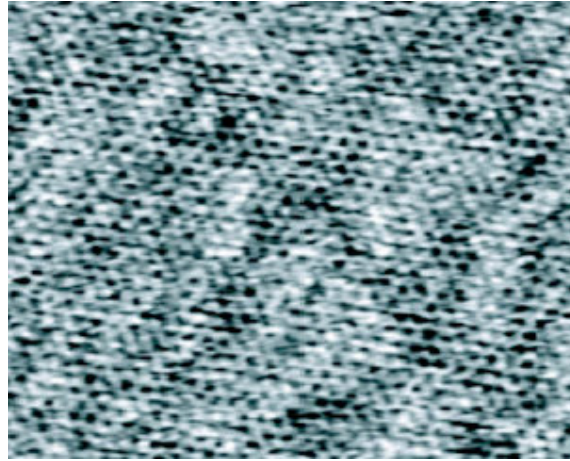


Şekil 1.2 : Poly-PTS tek kristalinin FM-AKM görüntüsü (a) Vakumda 7 nm x 7 nm, $\Delta f = -70$ (b) Havada (10 nm x 10 nm), $\Delta f = -50$ Hz, (d) Su içerisinde 15 nm x 15 nm, $\Delta f = +200$ Hz [4].

Yapılan bu çalışmada yay sapması ölçüm sensörü gürültü yoğunluğu $17 \text{ fm}/\sqrt{\text{Hz}}$ e kadar düşürüldü. Yay sapması ölçmede optik ışın sapması yöntemi kullanılmıştır. Sistemde yer alan parametreler üzerinde çalışılmış ve optimize edilmiştir. Lazer ışık

kaynağından kaynaklanan gürültü, I-V dönüştürücüden kaynaklanan gürültü, optik düzeneği iyileştirme üzerinde çalışılarak $17 \text{ fm}/\sqrt{\text{Hz}}$ gürültü seviyesi elde edildi.

2006 yılında Jarvis ve grubu tarafından yapılan çalışmada değişik boyutlarda yaylar ile sıvı ortamda çalışılmış ve gürültü seviyeleri karşılaştırılmıştır. Çalışmada optik düzenek optimize edilerek, değişik mercekler ile lazer ışını yay arkasında odaklanmıştır. Merceğin gürültü yoğunluğuna etkisi üzerinde çalışmalarda bulunulmuştur. Tüm parametreler matematiksel olarak ifade edilmiş ve deneysel sonuçlarla tutarlılıkları gösterilmiştir. Bu çalışmada ilk defa sıvı ortamda frekans modülasyonu AKM’de (FM-AKM) gerçek atomik çözünürlük görüntü elde edilmiştir. Alınan ilk görüntü Şekil 1.3’te verilmiştir. Bu çalışmada tüm parametrelerin optimizasyonu sonucu $7.3 \text{ fm}/\sqrt{\text{Hz}}$ gürültü seviyesi elde edilmiştir.



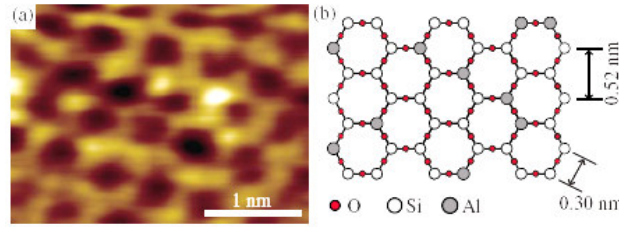
Şekil 1.3 : Sıvıda Atomik çözünürlük Mika görüntüsü. 20 nm x 10 nm, tarama hızı 576 nm/sn, $\Delta f = +3000 \text{ Hz}$, $A = 0.55 \text{ nm}$.

Düşük gürültülü AKM ile 2007 yılında Jarvis ve gurubu tarafından PBS (Phosphate Buffer Saline) çözeltisinden frekans modülasyonu ile biyolojik membran DPPC (Dipalmitoylphosphatidylcholine) çift katman kendi fizyolojik ortamında FM-AKM ile görüntülenmesi başarılı [5].

2009 yılında Fukuma ve gurubu tarafından sıvı ortamda AKM yayının piezo titreştirici ile salındırılmasından kaynaklanan gerçekçi olmayan rezonans eğrilerini yok etmek amacıyla çalışma yapıldı [7]. Bu çalışmada akustik empedansı birbirinden uzak 2 değişik malzeme kullanılarak akustik bariyer oluşturulmuş ve piezo titreştiricinin yayı titreştirirken sıvıyı olabildiğince titreştirmemesi sağlamıştır. Bu

çalışma ile birlikte sıvı ortamda piezo titreştirici kullanarak gerçek rezonans eğrileri elde edebilmek mümkün olmuştur.

2009 yılında Fukuma tarafından gerçekleştirilen çalışma ile 10 MHz kadar çalışabilen $4.7 \text{ fm}/\sqrt{\text{Hz}}$ gürültü seviyesine sahip optik ışın algılama prensibiyle çalışan yay sapması ölçüm sensörü geliştirildi. Bu çalışmada sıvıda ilk defa teorik limitlerde gürültü seviyesine sahip sapma sensörü geliştirildi. Bu çalışmada 2 değişik dalga boyunda lazer ışık kaynağı kullanılmıştır. Lazerlerden biri ile lazer ışık gücü yayın rezonans frekansında modüle edilerek yay fototermal olarak titreştirilmiştir. Diğer lazer ışık kaynağı ile yay sapması ölçülmüştür. Bu sistem ile sadece yay titreştirilmiş ve piezo titreştirici ile yayın salındırılmasından kaynaklanan gerçekçi olmayan rezonans eğrilerinin oluşması engellenmiştir. Değişik boyutlarda ve rezonans frekanslarında AKM yayı kullanabilmek için I-V dönüştürücü 10 MHz kadar çalışacak şekilde tasarlanmıştır [8]. Geliştirilen sensör ile görüntülenen mika yüzeyi Şekil 1.4'te verilmiştir.

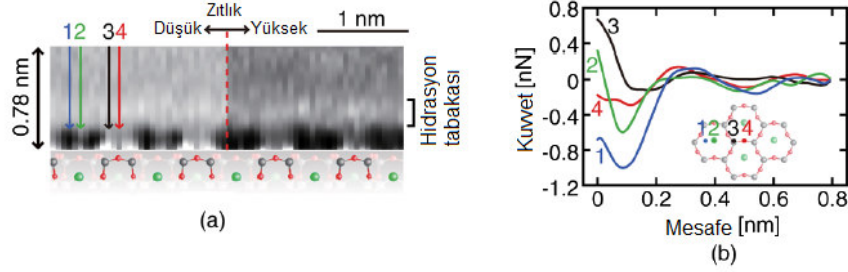


Şekil 1.4 : (a) FM-AKM tekniği ile elde edilmiş PBS çözeltisinde Mika yüzeyi. Tarama hızı 117 nm/sn, $\Delta f = +500 \text{ Hz}$, $A = 0.098 \text{ nm}$. AKM yayı fototermal olarak titreştirilmiştir. (b) Atomik düzeyde Mika yüzeyi modeli [8].

2009 yılında Sugawara ve gurubu tarafından manyetik kuvvet ile yay titreştirme sistemi üzerinde çalışıldı [9]. Yayın ucuna doğru bir manyetik parçacık eklenerek manyetik alan altında yay titreştirildi. Bu çalışma ile yayın rezonans eğrisini sıvıdan kaynaklanan gerçekçi olmayan rezonans eğrilerinden bağımsız olarak elde edebilmek mümkündür. Bu çalışmada amaç sıvıların viskoelastik özelliklerini inceleyebilmektir.

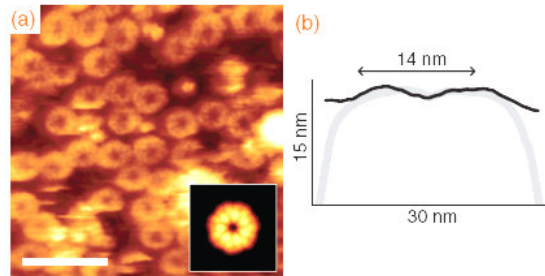
2010 yılında Fukuma ve gurubu tarafından gerçekleştirilen çalışmada katı-sıvı arayüzü 3 boyutlu olarak incelendi. Katı sıvı arası hidrasyon tabakası gözlemlendi. AKM'de örnek XY yönünde taranırken geliştirilen teknikle görüntünün her noktasında kuvvet-uzaklık eğrisi alınarak görüntüye dönüştürüldü ve bu metot 3

boyutlu taramalı kuvvet mikroskobu (3B-TKM) olarak adlandırıldı. Şekil 1.5 (a)'da mika yüzeyinden bir doğru boyunca elde edilmiş XY profili verilmiştir. Her bir noktada kuvvet-uzaklık verisi alınarak veriler görüntüye çevrilmiştir. Şekil 1.5 (b)'de Şekil 1.5 (a)'da işaretlenen noktalarda kuvvet-uzaklık eğrileri ölçülerek çizilmiştir [10].



Şekil 1.5 : (a) PBS çözeltisinde Mika - Sıvı ara yüzeyi yükseklik (Z) profili
(b) Şekil (a)' da işaretlenmiş 4 konum için kuvvet-uzaklık eğrileri [10].

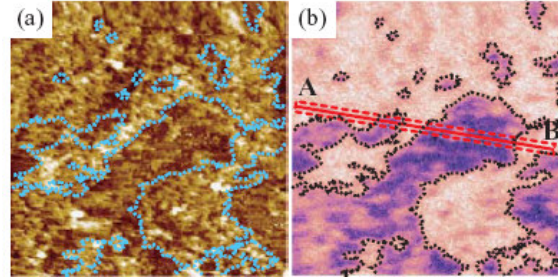
2009 yılında Yamada ve gurubu tarafından yapılan çalışmada izole edilmiş GroEL (chaperonin) proteini mika yüzeyinde sıvı ortamda frekans modülasyonu (FM-AKM) tekniği ile görüntülendi [11]. Kullanılan AKM'de Fukuma tarafından geliştirilen düşük gürültülü optik ışın sapması sensörü kullanıldı. Bu çalışmada sensör gürültüsü seviyesi minimum $45 \text{ fm}/\sqrt{\text{Hz}}$ olarak kaydedilmiştir. Şekil 1.6'da bu çalışma sonucunda sıvıda frekans modülasyonu tekniği ile elde edilen GroEL protein görüntüsü verilmiştir. Bu çalışmada mika yüzeyine GroEL proteinlerinin bulunduğu HELMES tampon çözeltisi damlatılarak beklenmiştir. Daha sonra yay damla içerisine alınarak görüntülenmiştir.



Şekil 1.6 : (a) HEPES tampon çözeltisinde Mika yüzeyine bağlanmış GroEL proteinleri (b) GroEL protein kesiti [11].

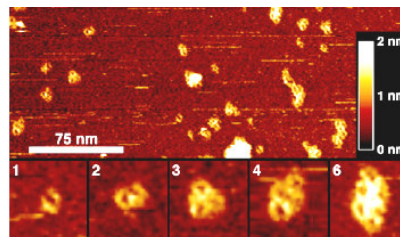
2010 yılında Fukuma ve gurubu tarafından yapılan bir çalışmada sıvı ortamda FM-AKM tekniği ile yerel potansiyel ölçümleri yapılmıştır. Katı-sıvı ara yüzeyinde yerel

potansiyel dağılımı çeşitli kimyasal proseslerde önemli rol oynamaktadır. Sıvı ortamda Kelvin Probe Kuvvet Mikroskobu uygulamak mümkün değildir. AKM yayına AC sinyal, örneğe DC sinyal uygulandığında ortamda elektrokimyasal değişimlere sebep olmaktadır. Bu çalışma ile tüm problemler aşılarak 1 mM NaCl çözelti içerisinde dodecylamine ince filmi yerel potansiyel haritası çıkarılmıştır [12]. Şekil 1.7’de görüntülenen dodecylamine yüzeyi topoğrafi ve yerel potansiyel haritası verilmiştir.



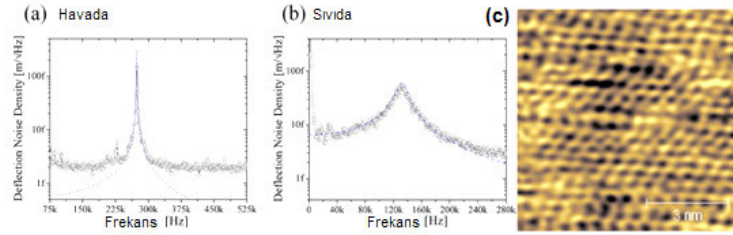
Şekil 1.7 : 1 mM NaCl çözeltisinde HOPG üzerinde dodecylamine ince film (a) Topografi (b) potansiyel haritası [12].

2008 yılında Hug ve gurubu tarafından yapılan çalışmada yay sapmasını ölçmek için Fabry–Perot interferometre tekniği kullanarak sıvıda doğal membranlar başarıyla incelendi. Grup tarafından düşük gürültülü interforemetre yapıldı. Fiber kablonun uç kısmına yerleştirilen merceklerle lazer spot büyüklüğü $<3 \mu\text{m}$ indirildi. Dış mercek yüzeyi dielektrik ayna ile kaplanarak iç yansıtması %90 seviyesinde tutuldu. Lazer spot büyüklüğü AKM yayının genişliğinden çok küçük olduğu için yayın burulma gibi değişik titreşim modlarını ölçmek mümkündür. Bu sayede yanıl kuvvetler de ölçülebilir [13]. Şekil 1.8’de görüntülenen doğal mitokondri dış membran görüntüsü verilmiştir.



Şekil 1.8 : Sıvıda Yüksek çözünürlüklü doğal mitokondri dış membran görüntüsü [13].

2010 yılında Gimzewski ve gurubu tarafından yapılan bir çalışmada $2m/\sqrt{Hz}$ Fabry–Perot interferometre geliştirilerek sıvı ortamda AKM için kullanıldı. Sıvı içerisinde mika yüzeyinden atomik çözünürlük elde edildi. İnterferometrede kullanılan lazer ışık kaynağı RF ile modüle edilerek lazer kaynaklı gürültü düşürüldü. Fiber kablonun uç kısmı dielektrik ayna ile kaplanarak iç yansıma sinyali (referans sinyal) arttırıldı. Şekil 1.9’da PPP-NCDAuD yayın hava (a) ve sıvı (b) ortamında elde edilen termal gürültü spektrumları ve sıvıda mika yüzeyinden elde edilen görüntü (c) verilmiştir [14].



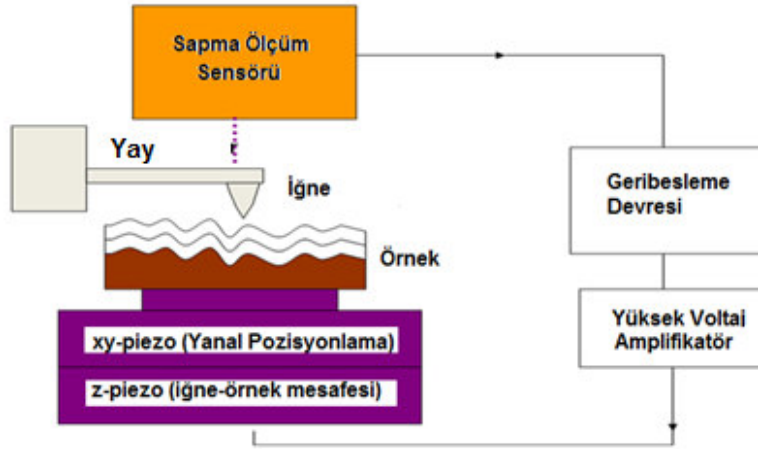
Şekil 1.9 : (a) Havada (b) Sıvıda NCHAuD yay için termal gürültü spektrumu. (c) Sıvıda atomik çözünürlükte mika yüzeyi [14].

Sıvıda yüksek çözünürlüklü AKM’lerin sayısının artmasıyla uygulamaların hızla artması beklenmektedir.

2. ATOMİK KUVVET MİKROSKOBU

2.1 Giriş

İlk Atomik Kuvvet Mikroskobu'nu Gerd Binnig, Quate ve Gerber tarafından 1987 yılında yapıldı [2]. İnce bir altın folyodan yay yapılarak uç kısmına çok küçük elmastan iğne yerleştirildi. Bu yayı örnek yüzeyine yeterince yaklaştırılarak yay sapması yayın arka kısmına yerleştirilen Taramalı Tünelleme Mikroskobu sensörü ile algılandı. Bu metot ile elmas iğne ile seramik yüzey arası kuvvet haritası elde edildi. AKM'de yüzey topoğrafisi çıkarmak için iğne-örnek arası etkileşim kuvvetlerinden faydalanılır. AKM yayının uç kısmında çok sivri bir iğne bulunur. Yayın diğer ucu ise bir gövdeye bağlanmıştır. Keskin iğne yüzeye dokunarak ya da bir kaç nanometre uzaklığında tutularak yüzey taranır. Bir geri besleme devresi tarafından iğne-örnek arası kuvvet kullanıcının belirlediği oranda sabit tutularak yüzey topoğrafisi elde edilir. Tipik bir AKM'yi oluşturan bileşenler Şekil 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.1 : Tipik bir AKM'yi oluşturan bileşenler.

2.2 Atomik Kuvvet Mikroskobu ve Görüntüleme Teknikleri

İlk AKM görüntüleri yüzeye değen kipte alındı. Bu çalışma kipinde iğne direk olarak yüzeye dokunur. İğne ucu ve yüzey arasında itici kuvvetler etkindir. Daha sonraları

Martin ve çalışma grubu tarafından hafif kuvvetleri ölçmek için dinamik çalışma modunun temelleri atıldı [21]. Yay rezonans frekansında titreştirilerek iğnenin yüzeye yaklaşması sırasında yay osilasyon genliği ölçüldü.

İlk AKM’de kullanılan yaylar el ile yapılmakta olduğundan 1mm’den küçük olamıyordu. Bundan dolayı yay rezonans frekansı birkaç kHz’i geçmiyordu. Bu tarama hızı ve hassasiyetini olumsuz olarak etkileyen bir faktördür. Bundan dolayı daha sonra mikro fabrikasyon teknikleri ile üretilmeye başlandı. Bu teknik ilk olarak Albrecht ve gurubu tarafından uygulanmaya başlandı [15]. SiO₂ ve Si₃N₄ AKM yayları üretilmeye başlandı. Bugünkü teknoloji ile MHz seviyesinde rezonans frekansına sahip yaylar bulmak mümkündür.

2.2.1 Yüzeye değen kipte Atomik Kuvvet Mikroskobu

Değen mod AKM’de yumuşak bir keskin iğne numune yüzeyine dokunarak 2 boyutlu olarak taranır ve konuma göre yükseklik değişimi kaydedilerek yüzey topografisi elde edilir. Yay ucundaki iğne yüzeye değdiğinde yay sapar. Yayıdaki sapmayı ölçmenin değişik metotları vardır ancak en çok tercih edilen metot basitliği sebebiyle optik ışın sapması (OIS) metodudur. Bir diyot lazer kaynağı toplayıcı mercekle toplanır ve odaklayıcı mercek ile yay üstüne odaklanır. Geri yansıyan ışınlar pozisyon duyarlı fotodiyot (PDFD) üzerine odaklanır. Fotodiyotta oluşan foto akım bir diferansiyel amfiye girilir ve voltaja dönüştürülür, voltaj değişimi yayın bükülmesi ile orantılıdır. Örneği tararken okunan sapma sinyali hedeflenen sapma sinyali ile karşılaştırılarak bir hata sinyali elde edilir. Sistemde yer alan geri beslemeli kontrol (PID) algoritması ile hata sinyali dikey ekseninde örnek ya da yay hareket ettirilerek hedeflenen sapma sinyali geri besleme tarafından sabit tutulmaya çalışıldığında hata minimize edilir. Genelde örneği 3 boyutlu olarak tarayabilmek için piezo tarayıcılar kullanılır. Piezo tarayıcılar kalibre edilerek uygulanan elektriksel sinyalin ne kadarlık yer değiştirmeye denk geldiği bilinir. Örneği tarama sırasında yüzeye dikey ekseninde (Z) hareket için üretilen elektrik sinyalleri 2 boyutlu bir dizide tutulur. Dizide bulunan sinyaller kalibrasyon verisi ışığında işlenerek yüzey topoğrafisine çevrilir. Değen mod AKM’de yüzeye yay ucundaki iğne sürekli kontak halindedir. Yay yüzeyde yanal olarak sürüklendiğinde yüzeye zarar verme riski fazladır çünkü yayın yanal yay sabiti yüksektir. Yüzey yanal olarak tarandığında yüzeyin yanal kuvvetlerini ölçmek mümkündür.

AKM'ler ile itici ve çekici kuvvetleri algılamak mümkündür. Örneğin değen mod olarak bildiğimiz yöntemde yay ucundaki iğne yüzeye itilir ve Pauli Exclusion Prensibi gereği yüzeydeki atomlar yayı güçlü bir itici kuvvetle iterler. Bu bölgede diğer kuvvetler de bulunmasına karşın itici kuvvet daha etkindir. Bu olay yalnızca AKM iğnesi ile yüzey arasındaki mesafe çok küçük olduğunda gerçekleşir. Yüzeyden bir miktar uzaklaşıldığında artık çekici kuvvetler etkin hale gelir. Bu bölgede Van der Waals, elektrostatik kuvvetler gibi kuvvetler aktiftir. İtici kuvvetler pozitif, çekici kuvvetler ise negatif kuvvetler olarak tanımlanır. Lennard Johns potansiyeli r kadar mesafeli 2 atom arasındaki potansiyel enerjiyi tanımlar.

2.2.2 Genlik modülasyonu AKM

Değen mod AKM' de sürtünmeden dolayı örnek zarar görebileceğinden bu problemi aşmak için genlik modülasyonu AKM icat edildi [16]. Bu kipte yay yüzeye dikey yönde rezonans frekansında (ya da rezonansa yakın bir frekansta) titreştirilir. AKM yayı yüzey ile etkileştiğinde salınım genliği iğne ile yüzey arasındaki itici kuvvetlerden dolayı küçülür. Yaydan salınması optik ışık sapması yöntemi ile elektriksel sinyale dönüştürülür. Sensörden gelen alternatif akım (AC) sinyal RMS-DC dönüştürücü ile DC sinyale dönüştürülür. Geri besleme kontrol mekanizması tarafından sürekli olarak yaya dikey ekseninde örnek hareket ettirilerek salınım büyüklüğü kullanıcının belirlediği titreşim genliğinde tutulur.

GM-AKM'de enerji kaybının tek sebebi iğne-örnek etkileşimi değildir, ayrıca etkileşimden dolayı rezonans frekansındaki kaymadan da kaynaklanır [39-40]. Yay sabit şekilde rezonans frekansında titreştirilir. Yüzeyle etkileşim sırasında yayın efektif kütlesi değiştiğinden rezonans frekansında kayma olur. Rezonans frekansındaki bu kayma faz kaymasına sebep olur. Geri besleme elektroniği faz kaymasını referans alarak dikey ekseninde yay-örnek arası mesafe kontrol edilirse bu çalışma kipi faz modülasyonu olarak geçer. GM-AKM' de yüzeyi tarama sırasında faz kaymaları kaydedilirse faz zıtlığı içeren bir veri alınabilir. Faz verisi görüntüsü yüzey kompozisyonu hakkında bilgi verir.

2.2.3 Frekans modülasyonu AKM (FM-AKM)

AKM yayını sabit bir frekansta sürmek yerine sürekli olarak bir geri besleme devresi ile rezonans frekansında sürmek mümkündür. Bu çalışma kipi Frekans Modülasyonu AKM (FM-AKM) olarak bilinir [17, 18]. Frekans Modülasyonu AKM Albrecht ve

gurubu tarafından geliştirildi [17]. Çalışmalarında rezonans frekansındaki kaymayı ölçmek için Frekans Modülasyonu devresi kullanıldı. Frekans Modülasyonu AKM üzerinde yapılan çalışmalarla birlikte çok yüksek yatay çözünürlüklere ulaşılabilir ve Meyer ve grubu tarafından yay titreşim genliği düşürülerek ultra yüksek vakumda (UYV) atomik çözünürlük görüntü elde edilebilir [18].

Frekans modülasyonu AKM’de yay rezonans frekansında belirli bir genlikte titreştirilir. Yüksek çözünürlük görüntü elde edebilmek için titreşim genliği 1 nm den küçük olmalıdır. Bu sayede uzun menzilli kuvvetlerden değil sadece kısa menzilli kuvvetlerden yay etkilenir. Rezonans frekansında titreştirilen yay yüzeye yaklaştığında yüzeye etkileşmesinden dolayı yayın rezonans frekansı yay sabitinin karekökü ile orantılı olarak değişir. Ayrıca yay yüzey ile etkileştiğinde yay sabiti etkileşme kuvvetine göre değişir. Yay ile yüzey arası etkileşim kuvveti grafiği mesafeye bağlı olarak Şekil 2.2’de verilmiştir.

Yay ile yüzey etkileştiğinde etkileşme kuvveti ile orantılı olarak rezonans frekansı kayar. Bu kayma miktarı yani etkileşim kuvveti bir geri besleme devresi tarafından kullanıcı tarafından belirlenen düzeyde sabit tutulacak şekilde yüzeye dik eksende (Z) sürülerek yüzey topoğrafisi elde edilebilir. Bu çalışma modu sabit kuvvet modu olarak tanımlanır. Ya da yay yüzey ile etkileştiğinde geri besleme devresi kapalı tutularak yüzey sabit yükseklik modunda taranarak yüzeyin kuvvet değişim görüntüsü elde edilebilir.

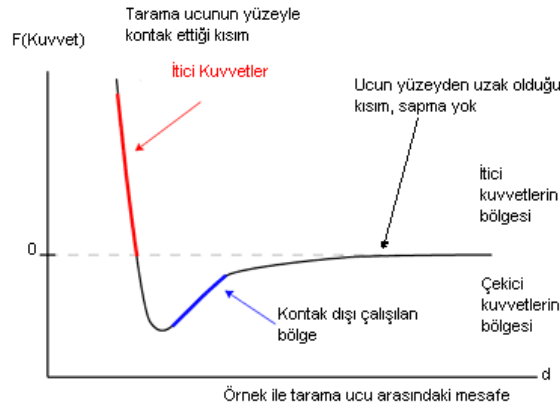
2.3 AKM’de Ölçülen Kuvvetler

AKM iğnesi ile yüzey arası etkileşimi algılayabilmek için birçok Taramalı Uç Mikroskobu (TTM) tekniği geliştirilmiştir. İğne ile yüzey arası kuvvetler iki sınıfa ayrılabilir. Bunlar kısa ve uzun menzilli kuvvetler olarak ifade edilebilir. İğne ile yüzey arası mesafe $<1\text{nm}$ ise kısa menzilli kuvvetler etkindir ve bu kuvvetler itici kuvvetlerdir. Eğer bu mesafe $>1\text{nm}$ ise uzun menzilli kuvvetler etkin olmaya baslar. Bu kuvvetler çekici kuvvetlerdir. Kısa menzilli kuvvetlere örnek olarak kimyasal kuvvetler verilebilir. Uzun menzilli kuvvetler için ise elektrostatik kuvvetler, manyetik kuvvetler, Van der Waals kuvvetleri örnek verilebilir.

Kimyasal kuvvetler oldukça etkin itici kuvvetlerdir. Bu bölgede iğne-yüzey arası mesafede çok küçük bir değişim kuvvette yüksek değişime sebep olur. Kuvvet-Mesafe grafiği Şekil 2.2’de verilmiştir.

Uzun menzilli çekici kuvvetler arasında etkin olarak Van der Waals etkileşim kuvveti bulunur. Bu kuvvet katıları bir arada tutan kuvvet olarak tanımlanabilir. Yay yeteri kadar yüzeye yaklaştığında yüzey yayı kendisine doğru çekmeye başlar. Bu durumda yayda örneğe doğru bükülme görülür.

Diğer uzun menzilli kuvvetler olarak manyetik ve elektrostatik kuvvetlerden bahsedilebilir. Eğer yüzeyde yük birikmesi varsa yük yoğunluğuna ve çeşidine bağlı olarak elektrostatik kuvvetler AKM yayını çekebilir ya da itebilir.



Şekil 2.2 : Kuvvet Mesafe Grafiği

2.4 AKM Yayı Sapmasını Ölçme

AKM’de yay sapmasını algılamak en önemli adımlardan birisidir. Yay sapması ne kadar hassas algılanabilirse buna karşılık o kadar küçük kuvvetler algılanabilir. AKM yayı salınımı algılamanın değişik yöntemleri mevcuttur. 1986 yılında geliştirilen ilk AKM de tünelleme sensörü ile yay sapması ölçülmüştür.

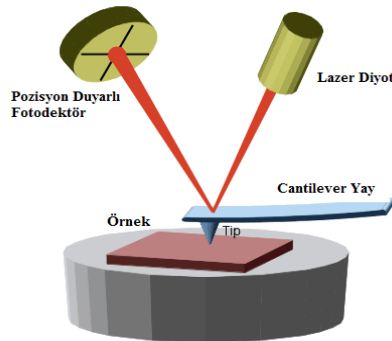
2.4.1 Tünelleme sensörü

İlk Atomik Kuvvet Mikroskobu geliştirilirken bir tünelleme sensörü yayın arkasına yerleştirilmiş ve iğne ile yay arasında oluşan tünelleme akımından yay sapması ölçülmüştür. Bu yöntemin uygulanması çok kolay olmadığından daha basit teknikler geliştirilmiştir. Ayrıca bu yöntemde yüksek genlikli yay salınımlarında tünel akımı

elde edilemeyeceğinden yüksek genlikli salınımları algılamak mümkün olamamaktadır.

2.4.2 Optik ışın sapması (OIS) yöntemi ile algılama

Optik Işın Sapması yöntemi Meyer ve Amer [19] tarafından geliştirildi. Tünelleme yönteminden sonra kullanılmaya başlayan optik ışın sapması (OIS) yöntemi hala en çok tercih edilen yöntemlerin başında yer almaktadır [20]. Bu yöntemde lazer ışın kaynağı yayın arkasına açılı bir şekilde odaklanır. Yayın arka yüzeyi ayna görevi görerek gelen lazer ışını geri yansıtır. Yansıyan ışın pozisyon duyarlı fotodetektöre (PDFD) odaklanır. Yay saptığında lazer fotodiyot üzerine düşen lazer ışınının konumu değişir. PDFD üzerine düşen ışın şiddetinin fotodiyot elemanları arasındaki farkı yayın sapması ile orantılı olur. Bu yöntemle femtometre mertebesinde yay sapmasını ölçmek mümkün olabilmektedir. 4 fotodiyot elemanına sahip PDFD kullanarak lazerin sapması yanal ve dikey olarak ölçülebilir. Bu da normal kuvvetin yansıra yanal kuvvetlerin ölçülebilmesini sağlar. Şekil 2.3'te tipik optik yöntemle yay salınımı algılanma sistemi verilmiştir.



Şekil 2.3 : AKM yayının optik yöntemle salınımının algılanması.

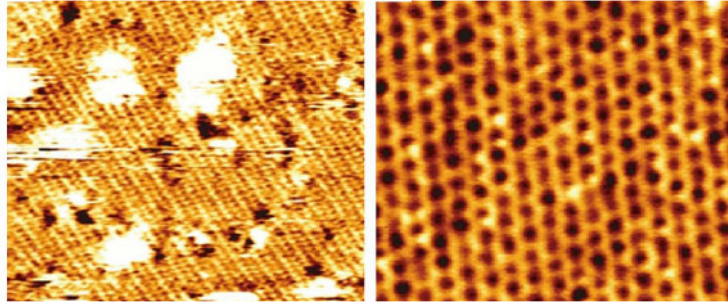
2.5 AKM'de Kullanılan Tarayıcılar

Atomik çözünürlükte yüzey topografisini elde etmek için sadece hassas bir sensör yeterli değildir. Yayın örnek yüzeyini pikometre seviyesinde hassas bir şekilde tarayabilmesi gereklidir. Neredeyse Taramalı Uç Mikroskopları ailesinin tümünde örnek taramada piezoelektrik tarayıcılar tercih edilmektedir. Genelde silindirik şeklinde tüp piezoelektrik tarayıcılar kullanılmaktadır. Tüp piezoelektrik tarayıcının iç ve dış elektrotları arasına potansiyel fark uygulandığında piezonun polaritesine göre tüpün boyunda uzama ya da kısalma olur.

Silindir şeklindeki tüp piezonun dış elektrotu tüpün uzunluğu boyunca eşit 4 parçaya bölündüğünde hangi elektrotta voltaj uygulanırsa piezo tüp o yönde bükülme gösterir. Tüp piezoda karşılıklı elektrotlara zıt voltajlar uygulandığında bükülme miktarı 2 kat artar. Tüp piezoda uzama miktarı uygulanan voltaj ile doğru orantılıdır. Kullanılan tarayıcı hakkında ki detaylara ilerleyen bölümlerde yer verilecektir.

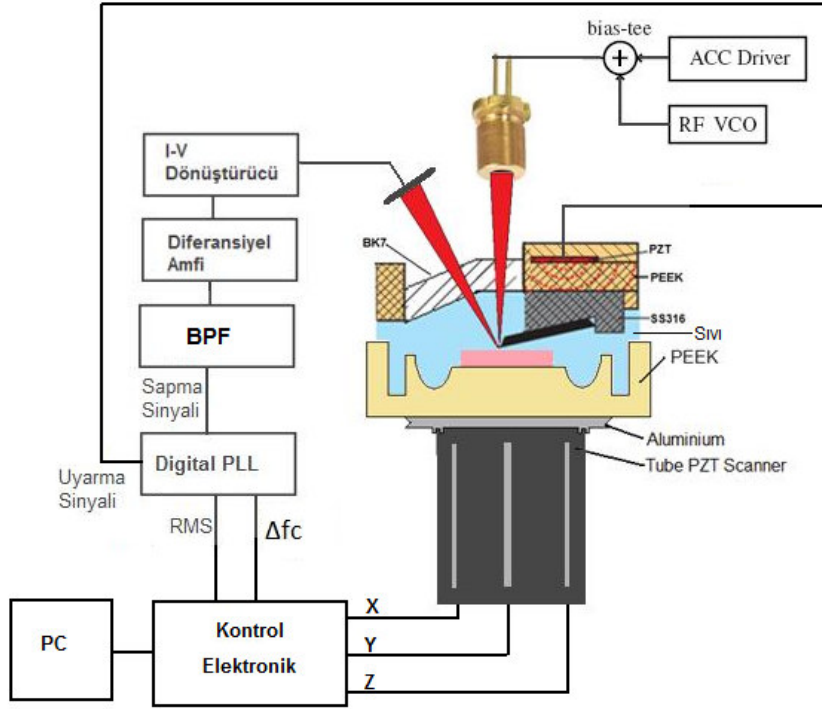
3. SIVIDA FREKANS MODÜLASYONU İLE ATOMİK KUVVET MİKROKOBU

Sıvı ortamda AKM yayının salınımı akışkan direncinden dolayı büyük ölçüde sönümlenir, bundan dolayı yay kalite faktörü (Q) aşırı şekilde azalır. Q faktörünün çok azalması frekans gürültüsünü artırır. Bundan dolayı sıvı ortamda atomik çözünürlük elde edebilmek için AKM sisteminin gürültüsünü $<30\text{fm}/\sqrt{\text{Hz}}$ düşürmek gerekir. Bunun için AKM bileşenlerinden yay sapması ölçüm sensörünün gürültüsü, lazer ışın kaynağı gürültüsü ve devre elemanlarından kaynaklanan gürültüyü minimum düzeye çekmek gerekir. Sıvı ortamda tek problem yayın Q faktörünün çok düşmesi değildir. Diğer bir problem AKM yayının bulunduğu ortamda sıvı dolu olduğundan yayın rezonans frekansını elde etmek zordur. Çünkü yay piezo titreştirici ile akustik dalgalarla yada mekanik olarak titreştirildiğinde sıvıda titreşmektedir. Bu titreşim gerçekçi olmayan birçok rezonans eğrisinin görülmesine sebep olur. Düşük gürültülü sıvıda çalışan AKM'ler ile ilgili literatürde ciddi gelişmeler görülüyor. Frekans modülasyonu tekniği ile ilk atomik çözünürlükte görüntü ultra yüksek vakum ortamında (UYV) 1995 yılında elde edildi [18]. Daha sonra 2005 yılında Fukuma ve gurubu tarafından geliştirilen ultra düşük gürültülü yay sapma ölçüm sensörü ile, kullanılan sert yay ve düşük titreşim genliği sayesinde sıvı ortamda yüksek çözünürlüklü görüntü elde etmeyi başardılar [4].



Şekil 3.1 : (a) Poly-PTS tek kristali bc düzlemi sıvıda frekans modülasyonu görüntüsü. 30 nm x30 nm, $A = 0.26\text{ nm}$, $\Delta f_c = +167\text{ Hz}$, tarama hızı: 839 nm/s. (b) Saf su içerisinde muskovit mika yüzeyi (8 nm x 8 nm, $\Delta f_c = +54\text{ Hz}$, $A = 0.24\text{ nm}$, tarama hızı: 671 nm/s. Tüm görüntüler sabit yükseklik modunda taranmıştır) [41].

İlk kez tek kristal polydiacetylene (poly-PTS) sıvı ortamda nanometre altı çözünürlükte görüntülendi. Aşağıdaki şekilde 0.75 nm aralıklı şeritler halinde PTS zincirleri görülüyor. Poly-PTS atomik çözünürlükte görüntülendikten sonra yine Fukuma gurubu tarafından mika yüzeyinin ilk kez atomik çözünürlükte görüntülenmesi başarılı [41]. Şekil 3.1 (b)'de mika yüzeyinin karakteristik petek desen benzeri yapısı görülmektedir.

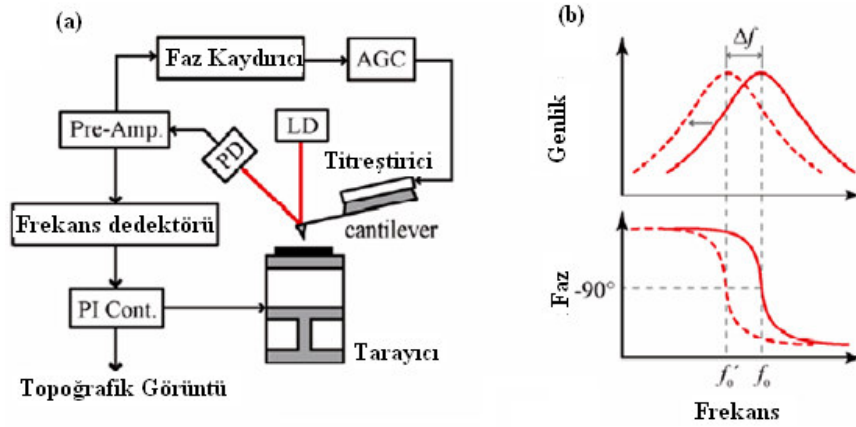


Şekil 3.2 : Geliştirilen kapalı sıvı hücre AKM bileşenleri.

Çalışmamızda tasarlanan AKM'nin şematik tasarımı Şekil 3.2'de verilmiştir. Sistemde RF modülasyonu ve otomatik güç kontrolcüsü ile desteklenen bir diyet lazer ışın kaynağı mevcuttur. Kapalı sıvı hücre PEEK malzemesinden tasarlanmıştır. Optik pencere olarak BK7 lazer ışını geri yansıtmayan cam kullanılmıştır. Sistemde geniş frekans aralığında çalışan fotodiyot yer almaktadır. Fotodiyot sinyali düşük gürültülü I-V dönüştürücü ile voltaja dönüştürülmüştür. Diferansiyel amfi kullanılarak sinyal x10 ve x100 ile çarpılmıştır. Bant geçiren filtre kullanılarak istenmeyen frekans bileşenleri atılmıştır. Yay titreşimi optik ışık sapması yöntemi ile algılanarak sensörden gelen sinyalin frekansı dijital PLL ile ölçülmüştür. Kontrol elektroniği ile AKM sistemi sürülmüştür.

3.1 Sıvı AKM Çalışma Kipi

Sıvıda AKM uygulamaları için temel olarak değen mod-AKM [2] ve genlik modülasyonu tekniği kullanıldı [21]. Değen mod AKM nanometre altı çözünürlükte proteinlerin görüntülenmesinde kullanıldı [22]. Ayrıca değen mod AKM biyolojik lipidlerin görüntülenmesinde kullanıldı [23]. Genlik modülasyon tekniği izole edilmiş biyolojik moleküllerin görüntülenmesinde kullanıldı [24,25]. Frekans modülasyonu tekniği yüzeye değmeden atomik çözünürlükte görüntüleme yatay çözünürlüğüne sahip bir yöntemdir. Bununla birlikte sıvı ortamda biyolojik örneklerin yüksek yatay çözünürlükte görüntülenmesi için bu teknik üzerine yoğunlaşıldı. Bu kısımda Frekans Modülasyonunun basit çalışma tekniği diğer tekniklerle kıyaslamalı olarak verilecektir.



Şekil 3.3 : (a) Tipik frekans modülasyonu AKM kurulumu, (b) Yay titreşim genliği-frekans ve faz-frekans eğrileri şematik modeli. Normal çizgiler tip-örnek etkileşmediğinde ve noktalı çizgiler tip-örnek etkileştiğinde durumu göstermektedir [26].

Şekil 3.3'te temel olarak frekans modülasyonu tekniği kurulumu gösterilmiştir. Yay rezonans frekansında mekanik olarak osilasyon devresi ile salındırılır. Osilatörden üretilen elektrik sinyali yaya yakın yerleştirilmiş piezo ile mekanik titreşime dönüştürülür. Yayın titreşimi genelde optik ışın sapması (OIS) metodu ile algılanır. Yaydan geri yansıyan lazer ışığı pozisyon duyarlı fotodedektör üzerine odaklanır. Fotodiyot sinyali bir ön amfiden geçirilerek elde edilen salınım sinyali faz kaydırıcı devreye girilir. Sürekli olarak gelen faz bilgisi kontrol edilerek uyarma sinyali ile yayda okunan sinyalin faz farkı -90 derece de tutulur. Faz kaydırıcı sinyali çıkışı ayrıca otomatik kazanç kontrolcüsüne (AGC) girilerek yay titreşim genliği sabit tutulur.

Yay yüzeye yaklaştığında yay yüzeyle etkileşmeye başlar ve bu etkileşme yayın rezonansında kaymaya sebep olur. İğne-örnek etkileşme kuvvetine F_{ts} , frekansı kayması Δf_c [27] :

$$\Delta f_c(z) = \frac{f_c}{2k_c} \int_{-A}^A \frac{\partial F_{ts}}{\partial z} (z + \Delta z) \frac{\sqrt{A^2 - \Delta z^2}}{\pi A^2/2} d(z) \quad (3.1)$$

şeklinde ifade edilir. K_c yay sabiti ve z dikey iğne pozisyonunu göstermektedir. Bu davranış yukarıdaki Şekil 3.1 (b) de gösterilmiştir. Formül (3.1) Δf_c 'nin yay osilasyon aralığında entegre edilmiş kuvvet gradyeni ile orantılı olduğunu göstermektedir. Eger titreşim genliği A yeterince küçükse kuvvet gradyeni sabit kabul edilebilir. Bu durumda Δf_c daha basit bir ifadeyle [17]:

$$\Delta f_c(z) = - \frac{f_c}{2k_c} \frac{\partial F_{ts}}{\partial z} \quad (3.2)$$

Δf_c ile genlik-frekans eğrisi kaydığı gibi faz-frekans eğrisi de kaymaktadır. Self osilasyon devresi ile faz (faz işareti f_i) -90° sabit tutulduğunda yay osilasyon frekansı (f) rezonans frekansındaki (f_c) değişme ile birlikte değişir. Frekans modülasyonu AKM kurulumunda salınım sinyali frekans detektörüne girilir ve frekans detektöründen çıkan voltaj frekans kayması ile orantılı olur. Faz kilitlemeli döngü (PLL) devresi frekans kayması ölçmede yaygın olarak kullanılır. Δf_c sinyali PI kontrolcüsüne girilerek dikey tip-örnek pozisyonunu kontrol eder. Belirlenen frekans kayması PI kontrolcüsü tarafından sabit tutularak yüzeyin topoğrafi haritası çıkarılabilir.

Frekans modülasyonu AKM'nin değen mod AKM ye göre avantajı tip pozisyonunun kısa menzilli kuvvet etkileşimlerinin bulunduğu bölgede kararsızlıklardan bağımsız olarak hassas olarak kontrol edilebilmesidir. Değen mod AKM'de örnek zarar görebilir. Kısa menzilli etkileşim kuvvetlerinin bulunduğu bölgede daha yüksek yatay çözünürlük elde edilir [18]. Genlik değişim sinyali frekans değişim sinyaline göre çok daha yavaş değişir. Bundan dolayı daha hassas tip-örnek arası mesafe daha hassas kontrol edilebilir [41]. Özetlenen nedenlerden dolayı FM-AKM diğer AKM çalışma modlarına göre daha yüksek çözünürlükte görüntü alınabilmesine olanak vermektedir. Ayrıca yüzeye değmeden yüzey taranabildiğinden örnek yapısının bozulabilme olasılığı düşmektedir. Dolayısıyla elde edilen sonuçlar gerçek yüzey yapısını belirlemede daha güvenilir bir tekniktir.

3.2 Sıvıda AKM için Yay Tercihi

Değen mod AKM ve genlik modülasyonu AKM de biyolojik örnekler için yumuşak yaylar ($k_c < 0.1 \text{ N/m}$) tercih edilir. Ancak frekans modülasyonu ile yüksek çözünürlüklü görüntülemelerde sert yaylar ($k_c > 10 \text{ N/m}$) kullanılmaktadır.

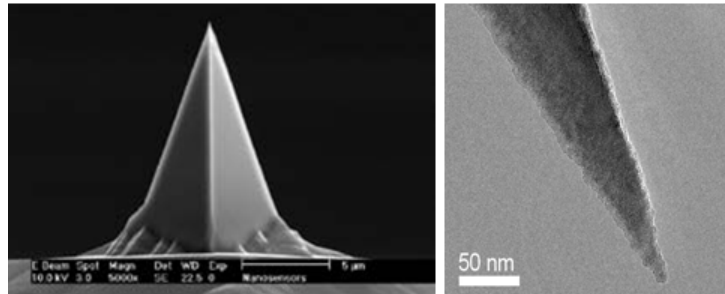
Termal enerji sebebiyle AKM yayı Brownian titreşimi RMS genlik spektral yoğunluğu (n_{zB}) aşağıdaki gibi verilir [9]:

$$n_{zB} = \sqrt{\frac{2k_bT}{\pi f_0 k Q_c} \frac{1}{\left[1 - \left(\frac{f}{f_0}\right)^2\right]^2 + \left[\left(\frac{f}{f_0 Q_c}\right)\right]^2}} \quad (3.3)$$

k_b Boltzman sabitini, f titreşim frekansı, f_0 yayın rezonans frekansı, k yay sabitini, Q_c yay kalite faktörünü göstermektedir. Termal enerji sebebiyle oluşan toplam RMS titreşimi genliği $\overline{z_B}$ [17]:

$$\overline{z_B} = \sqrt{\frac{k_B T}{k_c}} \quad (3.4)$$

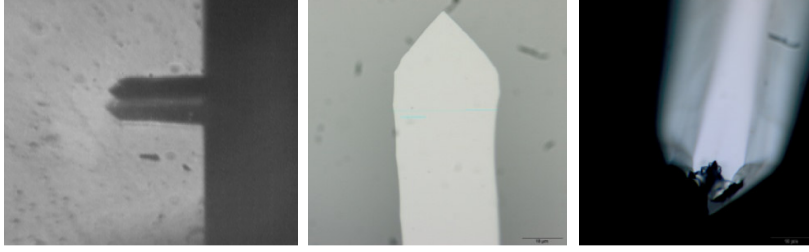
$k_c = 0.1 \text{ N/m}$ olan bir yay termal salınım genliği 0.2 nm ve $k_c = 10 \text{ N/m}$ olan bir yay termal salınım genliği 0.02 nm elde edilir. Termal salınım genliği dikey tip-örnek mesafesi kontrolünde çok büyük etkiye sahiptir. Atomik çözünürlükte görüntüleme ve manipülasyon çok hassas tip-örnek dikey pozisyonu kontrolüne bağlı olduğundan frekans modülasyonu AKM’ de sert yayların kullanılmasını gerektirmektedir. Pratik olarak yay sabiti arttıkça yayın rezonans frekansı ve kalite faktörü artar, ancak yay sabitinin çok yüksek olması kuvvet hassasiyetini düşürür. Şekil 3.5’ te PPP-NCHR yayın uç kısmındaki iğnenin SEM görüntüsü verilmiştir.



Şekil 3.4 : PPP-NCHR AKM yayı [28].

Şekil 3.5 (a)’da geliştirilen AKM kafasında gömülü yer alan optik mikroskoptan alınmış yay görüntüsü verilmiştir. Üsteki yayı gösterirken alttaki kısım yayın yüzey üzerine düzen gölgesini göstermektedir. (b)’de alüminyum kaplı PPP-NCHR

(Nanosensors) yayın arka yüzeyinin optik kamera görüntüsü verilmiştir. (c)'de yayın uç kısmında yer alan yüzeyle etkileşen iğnenin optik mikroskop görüntüsü verilmiştir.



Şekil 3.5 : PPP-NCHR AKM yayı (a) AKM kafası birleşik kameradan (b) Optik kameradan üsten görünüş (c) Optik kameradan alttan görünüş.

3.3 Osilasyon Genliği

Genelde genlik modülasyonu AKM de yay titreşim genliği 5-50 nm arasında değişir. Ancak yüksek genlikli yay titreşimi kararsızlıklara sebep olur. Frekans modülasyonu AKM de titreşim genliği 0.1-1 nm arasında değişmektedir. F_{ts} (tip-örnek etkileşme kuvveti) uzun menzilli etkileşme kuvvetleri (elektrostatik kuvvet, Van der Waals kuvveti) ve kısa menzilli kuvvetleri (kimyasal etkileşimleri) içermektedir. Gerçek atomik çözünürlük elde edebilmek için örnek ile yayın ucunda bulunan iğnenin en uç atomu arasındaki kısa menzilli kuvvetin elektronik geri beslemede baskın olması gerekmektedir. Yüzey ile iğne arası kuvvet değişimini kontrol etmede değen modda yayın Z hareketi, genlik modülasyonunda yayın titreşim genliği ve frekans modülasyonunda frekans kayması geri beslemeye bilgisi olarak kullanılır.

Titreşim genliğinin küçük olması yayın kısa menzilli kuvvetlerin etkin bulunduğu bölgede titreşmesi ve özellikle bu bölgedeki kuvvetlerin algılanması anlamına gelir. Bu bölgede uzun menzilli kuvvetler ihmal edilebilecek kadar küçük kalır. Bundan dolayı düşük titreşim genliğinde çalışmak yatay çözünürlüğü artırır [29].

3.4 Sapma Algılama Sensöründe Gürültü Kaynakları

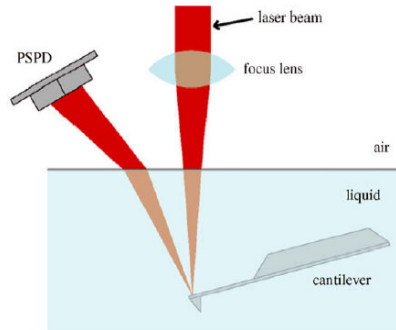
Yay sapma sensörü gürültü seviyesi genelde $100-1000 \text{ fm}/\sqrt{\text{Hz}}$ arasında değişmektedir [42]. Sıvıda yüksek çözünürlüklü görüntüleme için gürültü seviyesinin $30 \text{ fm}/\sqrt{\text{Hz}}$ den küçük olması beklenmektedir [4].

Sapma sinyali iki önemli gürültü kaynağını barındırmaktadır. Bunlardan birincisi yayın ve detektörün termal Brownian titreşiminden kaynaklanan gürültüdür. Termal gürültü nedeniyle oluşan gürültünün RMS'i formül (3.5)' te verilmiştir. Yayın termal salınım eğrisini görebilmek için sapma ölçme sensörünün gürültü seviyesinin (n_{zs}) yay Brownian titreşiminden kaynaklanan gürültü seviyesinden (n_{zB}) küçük olması gerekir. Eğer rezonanstaki gürültü seviyesine bakarsak $f=f_c$ ise

$$n_{zB}(f_c) = \sqrt{\frac{2k_b T Q_c}{\pi f_c k_c}} \quad (3.5)$$

şeklinde verilir [26]. Yumuşak bir yay için ortalama salınım genliği $2.5 \text{ pm}/\sqrt{\text{Hz}}$ iken sert bir yay için bu değer yaklaşık $80 \text{ fm}/\sqrt{\text{Hz}}$ büyüklüğündedir. Bundan dolayı teorik gürültü seviyesine yaklaşabilmek için termal gürültü seviyesi daha düşük olan sert yay kullanılması gerekmektedir. Termal gürültü spektrumunu görebilmek için n_{zs} gürültü seviyesi n_{zB} gürültü seviyesinden en az 3 kat daha düşük olmalıdır. Tipik sapma ölçme sensör gürültüsü $1000 \text{ fm}/\sqrt{\text{Hz}}$ olduğundan termal gürültüleri algılayabilmek mümkün olamamaktadır. Sapma ölçme sensörü gürültü seviyesinin çok düşük olması frekans modülasyonu tekniğinde küçük genlikli çalışabilmek için çok önemlidir.

Yay sapmasını ölçmede kullanılan değişik teknikler mevcuttur, ancak en fazla optik ışın sapması (OIS) tekniği kolaylığı ve performansından ötürü tercih edilmektedir.



Şekil 3.6 : OIS sensör ile sıvı ortamında AKM için tipik deneysel kurulum [6].

Şekil 3.6'da OIS sensör ile sıvı ortamında AKM için tipik deneysel kurulumunu göstermektedir. Küçük spota sahip bir lazer ışık kaynağı yayın arkasına açılı olarak odaklanır. Geri yansıyan ışın PSD ile algılanır. Yayıdaki sapma ile PSD ye düşen lazer ışının konumu değişir. PSD lazer spot yer değiştirmesi ile orantılı diferansiyel akım oluşturur. Akım sinyali I-V dönüştürücü kullanılarak voltaj sinyaline

dönüştürülür ve sinyal diferansiyel amfiye girilir. Üretilen voltaj sinyali yay sapması ile orantılıdır.

OIS metodunda ana gürültü sensörde kullanılan lazer ışık kaynağından ve fotodiyottan kaynaklanır. Teorik olarak minimum gürültü seviyesini fotodiyot shot-noise belirler ancak pratikte gürültü seviyesini lazer ışık kaynağı belirlemektedir.

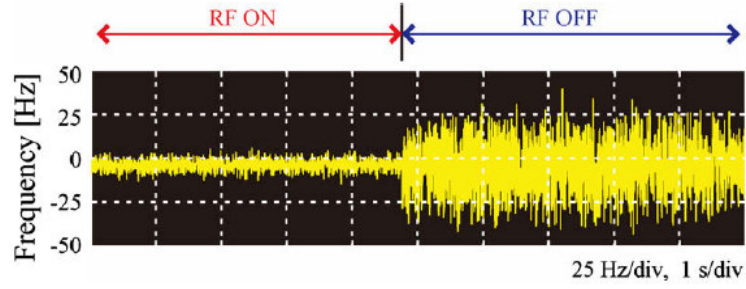
Lazer ışık kaynağından kaynaklanabilecek iç ve dış gürültü kaynakları vardır. İç gürültü kaynakları olarak kuantum ve mode-hop gürültüsü sayılabilir. Lazer diyet düşük güçte çalıştırıldığında kendiliğinden ışık emisyonundan dolayı ışık yoğunluğu zamana göre dalgalanmaktadır. Bu gürültü kuantum gürültüsü olarak adlandırılır. Lazer gücü arttıkça ortalama güce karşılık kuantum gürültüsü ihmal edilebilir. Lazer gücü artırıldıkça lazer osilasyon modunun sıçramasından dolayı lazer ışık yoğunluğunun dalgalanmasına sebep olur. Bu gürültü “mode hop gürültüsü” olarak adlandırılır.

Mod hop gürültüsünün genliği güce göre monoton olarak değişmemektedir. Lazer gücü belli bir eşik değerini geçince bir anda gürültü çok fazla artmaktadır [76]. Bundan dolayı lazer gücü bu eşik değerinden küçük tutulmalıdır.

Lazer ışığından kaynaklanan iki tane dış gürültü kaynağı vardır. Lazer ışınlarının lazer kaynağının optik rezonatörüne geri yansması ile yeni osilasyon modlarının oluşmasına sebep olur. Bu gürültü optik geri besleme gürültüsü olarak adlandırılır. Diğer bir gürültü kaynağı da yaldan yansıyıp PSD ye giden ışınla istenmeyen değişik optik yollardan geçip PDFD'ye ulaşan ışın girişim oluşturur. Optik yol stabil olmadığından zamana göre değişir ve PDFD'de geniş zaman aralığında gürültüye sebep olur. Bu gürültü optik girişim gürültüsü olarak adlandırılır. Sıvı ortamda geri yansımalar çoğaldığından optik geri besleme ve optik girişim gürültüsü daha baskın hale gelmektedir.

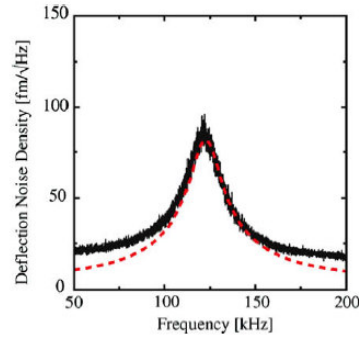
Dış lazer gürültü kaynakları lazer gücü RF sinyali ile modüle edilerek azaltılabilir. Genelde RF sinyalinin frekansı 300-500 Mhz arasında değişmektedir [30-31]. RF modülasyonu lazerin tek modda çalışması yerine çoklu modda çalışmasına sebep olur. Değişik lazer osilasyon modlarından kaynaklanan optik geri besleme gürültüsü çoklu modda çalışan lazer ışık kaynağında etkisini kaybeder. Ayrıca çoklu mod lazer ışın uyumluluğu tek mod lazer ışın uyumluluğundan daha

zayıftır. Bundan dolayı RF modülasyonu optik girişim gürültüsünü de azaltmada etkindir.



Şekil 3.7 : Sıvı ortamında lazer gücüne RF modülasyonu uygulandığında ve uygulanmadığında ölçülen frekans gürültüsü [76]. $A=5$ nm, $f_0=140$ kHz, $k=42$ N/m.

Şekil 3.7’de sıvı ortamda titreştirilen bir yayın frekans kaymasını RF modülasyonu uygulandığı ve uygulanmadığı durumu göstermektedir. Lazer RF modülasyonu kapatıldığında bir anda frekans gürültüsünün 10 kat kadar arttığı görülmektedir. Bu durum lazer RF modülasyonunun lazer dış gürültülerini azaltmada efektif bir yöntem olduğunu göstermektedir.



Şekil 3.8 : Yay termal gürültü spektrumu [76].

Şekil 3.8’de geliştirilen düşük gürültülü ODB sensör sıvı içerisinde salınan bir yayın sapma gürültü yoğunluğunu göstermektedir [6]. Siyah çizgi deneysel olarak elde edilen termal gürültü spektrumunu, kesik kırmızı çizgiler ise teorik olarak hesaplanan termal titreşim genliğini göstermektedir. Teorik ve deneysel olarak elde edilen sonuçların oldukça tutarlı olduğu görülmektedir.

OIS metodunda en önemli gürültü kaynaklarından birisi fotodiyot shot gürültüsüdür. Lazer ışık kaynağından yayılan foton miktarı sabit değildir. Bundan dolayı fotodiyot üzerine düşen ışık akımda gözlenebilir dalgalanmalara sebep olabilir. Işık şiddeti zayıfladığında bu gürültünün etkisi daha belirgin olmaktadır. Shot gürültü olarak

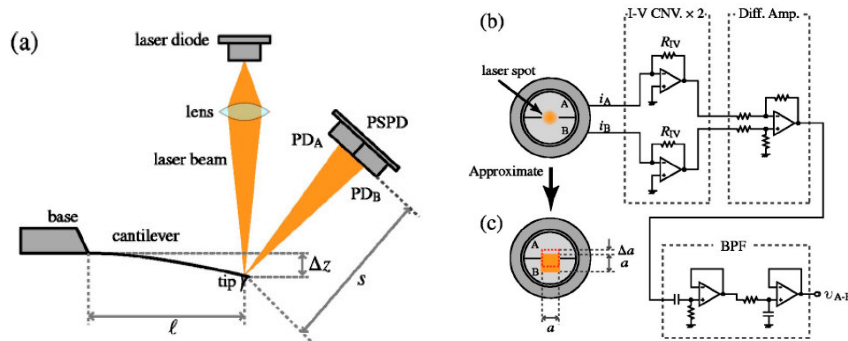
tanımlanan diğer bir gürültü kaynağı karanlık akımıdır. Karanlık akım fotodiyot aktif olarak ışığa maruz bırakılmadığında fotodiyotun sabit davranışdır [32].

Önemli diğer bir gürültü kaynağı I-V dönüştürücüde kullanılan dirençten kaynaklanan Johnson gürültüsüdür. Diğer bir gürültü kaynağı ise lazer ışık şiddetinin zamana göre salınmasıdır. Lazer sürücü otomatik güç kontrol (APC) devresi ile sürülerek ışık şiddeti zamana göre sabit tutulabilir.

3.5 Düşük Gürültülü Optik Işın Sapması (OIS) Sensörü

3.5.1 Optik ışın sapması yöntemi çalışma prensibi

Şekil 3.9 :’de tipik bir OIS tekniği ile yay sapma ölçüm sensörü kurulumunu göstermektedir. OIS metodunda bir lazer ışık demeti yayın arkasına odaklanır. Geri yansıyan ışık pozisyon duyarlı fotodiyot (PDFD) ile algılanır. Kullanılan PDFD’ ler genelde bitişik 2 (PD_A ve PD_B) ya da 4 fotodiyot bileşeninden oluşur. Sadece dikey salınımları algılayabilmek için bitişik iki fotodiyot yeterlidir ancak yanal ve dikey sapmaları aynı anda ölçebilmek için 4 bitişik foto diyot gereklidir. Lazer spot ilk durumda Şekil 3.9(b)’deki gibi bitişik fotodiyotların merkezine odaklanır. Yay salındığında bitişik fotodiyotlar üzerine düşen ışık sapacak ve fotodiyot üstüne düşen konumu değişecektir.



Şekil 3.9 : (a) OBD metodu ile yay sapma ölçme sensörü deneysel kurulumu (b) Pozisyon Duyarlı fotodiyot, I-V dönüştürücü, Diferansiyel amfi, bant geçiren filtre. (c) Pozisyon Duyarlı foto diyot üzerine düşen yaklaşık lazer spot [4].

yay Δz kadar salındığında lazer spot fotodiyot üzerinde Δa kadar yer değiştirir ve aşağıdaki formül ile hesaplanabilir [4].

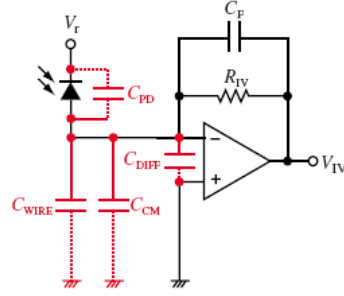
$$\Delta a = 3 \frac{s}{\ell} \Delta z \quad (3.7)$$

S yay ile fotodiyot arası mesafeyi, l yayın boyunu göstermektedir. Büyütme faktörüne β dersek; $\beta = \Delta a / \Delta z$ olur. Bu değer genelde 10^3 seviyesindedir. β büyüdükçe sapma ölçme hassasiyeti artmaktadır.

Birleşik fotodiyotlar üzerine düşen lazer ışık demeti yarı iletken olan fotodiyotun iletkenliğini değiştirmektedir. Bundan dolayı yaydan yansıyıp fotodiyot üzerine düşen lazer ışık demetinin şiddetine göre fotodiyottan geçen akım değişir. Pozisyon duyarlı fotodiyot (PDFD) üzerinde yer alan her fotodiyot parçasından geçen akım (i_A ve i_B) I-V dönüştürücü devre kullanılarak voltaja dönüştürülür. Elde edilen voltaj sinyali bir diferansiyel amfiye girilerek i_{A-B} ile orantılı V_{A-B} elde edilir. Daha sonra ilgilenmediğimiz frekans bileşenleri bant geçiren filtre ile yok edilir. Yay salındığında PSPD üzerinde yer alan fotodiyot bileşenleri üzerine düşen ışık şiddeti salınımla orantılı olarak değişir. Statik mod AKM’de yay dinamik olarak salınmaz. Yay yüzeye değdiğinde yayda bükülme olur ve bükülme ile orantılı olarak lazer spotun konumu PSPD üzerinde yer değiştirir. Bir geri besleme devresi ile yay bükülmesi sabit tutulacak şekilde örnek ileri geri hareket ettirilerek yüzey tarandığında değen modda yüzey topografisi çıkarılır. Dinamik mod AKM de yay rezonans frekansında titreştirilir. Yay titreşim genliği ve frekansı PDFD üzerine düşen lazer ışık demetinden ölçülür. Genelde AKM yaylarının ortalama rezonans frekansı 300kHz civarında olduğundan seçilen fotodedektörün bant genişliğinin elverişli olması gerekmektedir.

3.5.2 I-V dönüştürücü

Şekil 3.10’da fotodiyota bağlanmış bir I-V dönüştürücünün eşdeğer devresini göstermektedir. Devrede I-V dönüştürücü geri besleme direnci (R_{IV}), filtreleme için C_F ve OPAMP bulunmaktadır. Bilindiği üzere standart yayların rezonans frekansı 150 kHz ile 300 kHz arasında değişmektedir. Bundan dolayı kullanılan OPAMP’in GBP(gain bandwidth product) değerinin yüksek olması gerekmektedir. Ancak yüksek hızlı OPAM’lar çok fazla enerji harcamaktadır ve termal salınımlar fazla olmaktadır. Bundan dolayı I-V dönüştürücünün yaydığı ısının fotodiyotu etkilememesi için fotodiyottan uzak yerleştirilmelidir. Ancak fotodiyot ile I-V dönüştürücü arasındaki kablo uzunluğu kapasitif etkisinden dolayı fazla uzun olmamalıdır.



Şekil 3.10 : Eşdeğer Fotodiyot I-V Dönüştürücü devresi [8].

OPAMP' in harcadığı gücü azaltmak için çalışma voltajını daha düşük tutabiliriz. Fukuma çalışmasında Texas Instrument tarafından üretilen OPA4354 yüksek hızlı OPAMP kullanmış ve I-V dönüştürücü devreyi +/-2.5V ile sürülmüştür. Fotodiyot üzerine düşen ışık gücüne bağlı olarak I-V dönüştürücünün voltaj çıkışı aşağıdaki formül ile hesaplanabilir [8].

$$V_{IV} = R_{IV} \eta \alpha \frac{P_0}{N_{PD}} \quad (3.8)$$

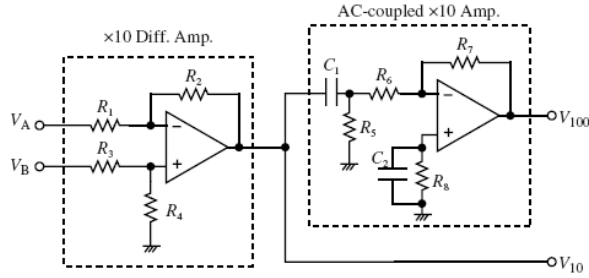
α optik düzenden kaynaklı olarak lazer güç zayıflama faktörü, η fotodiyot fotoakım dönüşüm verimliliği, P_0 odaklama lensinden çıkan lazer ışık gücü, N_{PD} PDFD üzerine yer alan fotodiyot sayısını göstermektedir.

3.5.3 Diferansiyel amfi

Şekil 3.11 :Şekil 3.11'de basitleştirilmiş diferansiyel amfi devresi verilmiştir [8]. Devrede güç kaynağı, giriş, çıkış kapasitörleri gösterilmemiştir. 4 parçalı pozisyon duyarlı fotodiyottan (PDFD) gelen sinyal I-V dönüştürücü ile voltaja dönüştürüldükten sonra üst ve alt fotodiyot elemanları kendi aralarında diferansiyel amfiye girilerek toplanır. V_A (üst fotodiyot elemanları) ve V_B (alt fotodiyot elemanları) olmak üzere iki voltaj sinyali elde edilir. V_A ve V_B sinyalleri tekrar x10 diferansiyel amfiye girilerek üst ve alt fotodiyot elemanları arasındaki voltaj farkı ($V_A - V_B$) alınır. Devrede ayrıca sapma sinyalinin 100 kat çarpılmış halini elde etmek için ayrıca AC-coupled amfi devresi eklenmiştir.

Havada yayın titreşim genliği ortalama 1-20 nm arasında değişmektedir. Havada yüksek titreşim genliği yayın Van der Waals ve elektrostatik kuvvetlerden dolayı yüzeye yapışmaması için gereklidir. Sıvı ortamda bu tür uzun menzilli kuvvetler etkisini büyük oranda yitirmektedir. Bundan dolayı 0,1-1 nm arası titreşim

genliklerinde yüzeyi görüntüleyebilmek mümkündür. Düşük titreşim genliği yatay çözünürlüğü artırmaktadır [33].



Şekil 3.11 : Basitleştirilmiş differansiyel amfi devresi [8].

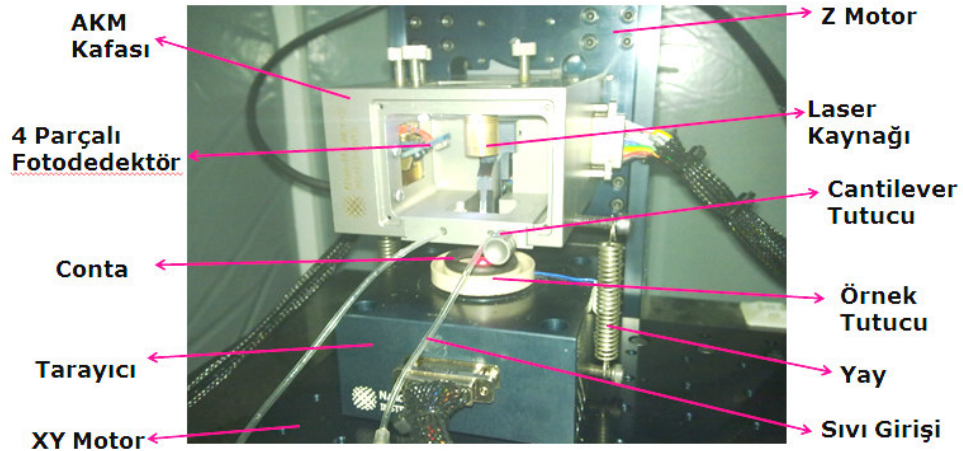
Yüksek hızlı OPAMP Fotodiyot sapma sinyalinin 100 mV'tan büyük olması gerekmektedir. Çünkü düşük AC sinyal genliğinde frekans kayması ölçen PLL (Faz Kilitlemeli Döngü) devresi daha gürültülü çalışır.

3.6 AKM ile Biyolojik Örnek İncelemede Kullanılan Alt Malzeme

Biyomoleküler dinamik prosesi izleyebilmek için örneğin tutturulduğu yüzey bazı özelliklere sahip olmalıdır: (a) örneğin bağlandığı yüzeyde çok hızlı hareket edememesi için örneğin tutturulduğu yüzey yeterli düzeyde örneği bağlayıcı afiniteye sahip olması gereklidir, (b) Örnekte birden fazla biyolojik yapıdan oluşuyorsa örneğin bağlanacağı yüzeyin incelenmek istenen biyolojik yapıyı spesifik olarak tanıyıp bağlaması gereklidir. (c) incelenmek istenen biyolojik yapı bağlandığı yüzeyde fonksiyonelliğini kaybetmemelidir, (d) örnek istenen oryantasyonda yüzeye bağlanabilmelidir. Genelde alt yüzeye olarak mika tercih edilmektedir, çünkü atomik mertebe düz ve geniş yüzey alanına sahiptir. Mika yüzeyi negatif yüklüdür bundan dolayı yüzey oldukça hidrofilitir. Mika yüzeyi ekstra işlem uygulamadan elektrostatik olarak bazı proteinleri bağlayabilir [26] .

4. DÜŞÜK GÜRÜLTÜLÜ KAPALI SIVI HÜCRE AKM GELİŞTİRMESİ

Bu bölümde özellikle düşük gürültülü kapalı sıvı hücre AKM geliştirmek için yaptığımız çalışmalardan bahsedilecektir. Geliştirilen sistem şu an için kapalı sıvı hücre ortamında atomik çözünürlük elde edilebilen tek sistemdir. Biyolojik molekülleri karakterize ederken ya da izlerken kendi ortamlarında incelemek çok önemlidir. AKM sisteminizin kapalı sıvı hücreyi desteklemesi uygulama çeşitliliğini çok fazla artırır. Bu sayede biyomoleküllerin bulunduğu ortam direk olarak simule edilebilir. Ortamın pH değeri değiştirilerek biyomeleküllerin ya da proteinlerin malzeme yüzeyine bağlanmaları incelenebilir. Malzemelerin sıvı ortamdaki davranışları incelenebilir. Kapalı hücreye akış sayesinde ortamın karakteristiği istenen şekilde değiştirilebilir. Elektrokimyasal deneyler yapılabilir. Ya da kapalı ortam sıvı yerine gaz akışı sağlanarak gaz molekülleri ile yüzey etkileşimleri incelenebilir. Bahsedilen çalışmaları başarabilmek için çok küçük gürültü seviyesine sahip olmak gerekir. Ayrıca sıvı ortamda görüntülemekten kaynaklanan zorlukları aşmak gerekir. İlerleyen kısımlarda bu problemleri aşmak için gerçekleştirdiğimiz adımlardan bahsedilecektir. Çalışmada Nanomagnetics Instrument tarafından üretilen AKM modifikasyonlar yapılarak kullanıldı. Şekil 4.1’de geliştirilen AKM verilmiştir.



Şekil 4.1 : Kapalı sıvı hücre – Atomik Kuvvet Mikroskobu kafa tasarımı.

Şekil 4.1’de AKM kafası, piezo tarayıcı, kaba yaklaşma için servo motorlar verilmiştir. AKM kafasının üstünde fotodedektörü ve lazeri odaklamak için vidalar verilmiştir. AKM kafasının soluna ve sağına iki tane yay eklenmiştir. Bu yaylar sistemin doğal salınım frekansını artırmak için eklenmiştir. Bu sayede sistemimiz mekanik gürültülerden daha az etkilenecektir. AKM kafasında ayrıca kapalı sıvı hücre için sıvı giriş ve çıkış hortumları eklenmiştir.

4.1 AKM Yay Tutucu Tasarımı

Frekans modülasyonu AKM’de yay mekanik olarak rezonans frekansında titreştirilir. Yay yüzey ile etkileştiğinde rezonans frekansında kaymalar olur ve bu kaymalar ölçülerek bir geri besleme devresi ile sensor-örnek mesafesi sabit tutulur. Genelde yaylar yay tutucuların gövdelerine yerleştirilen küçük bir piezo ile titreştirilir. Ancak piezoelektrik titreştirme yöntemi ile yay tutucu yada yayın gerçek olmayan bir çok rezonans frekansı elde edilmesine sebep olur. Özellikle sıvı ortamda klasik yaklaşımla yay rezonans eğrisi almak mümkün olmaz, çünkü yay tutucu titreşimi sebebi ile oluşan gerçekçi olmayan rezonans frekansları ayrıca sıvının titreşmesine ve dalgalar oluşmasına sebep olur. Bu gibi etkilerle daha fazla gerçekçi olmayan rezonans genlikleri görülür. Çalışmamızın önemli bir bölümünde sıvı ortamda deney yapılabilecek düzeyde yay rezonans eğrisi alınması üzerine çalışıldı. Kapalı sıvı hücre tasarımının büyük bir kısmı Nanomanyetik Bilimsel Cihazlar firması bünyesinde çalışan Demet Çatçat tarafından yapılmıştır.

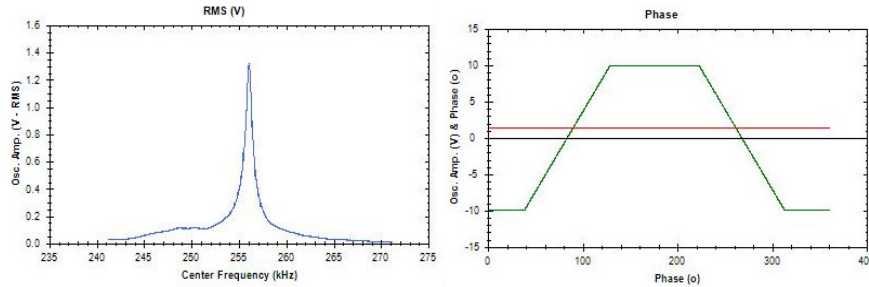
Yayı mekanik olarak titreştirmenin değişik yolları mevcuttur. Bunlardan biri yay kaldırıcının arka tarafına manyetik bir parçacık eklenerek manyetik olarak titreştirilebilir. Böylece sadece yayın titreştirilmesi sağlanabilir ancak yayın arkasında manyetik parçacık ekleme çok zahmetli bir iştir. İkinci bir yöntem olarak yayı fototermal olarak titreştirmek mümkündür. Ancak bu yöntemde kullanışlılık açısından oldukça zahmetli bir yöntemdir. Biz çalışmamızda yayı piezo ile akustik olarak titreştirme yöntemi üzerine çalıştık. Gerçek olmayan rezonans eğrilerini yok etmek amacıyla kapalı sıvı hücre gövdesi akustik bariyer özeliği olan bir malzemeden yapıldı. Akustik dalgaların üretilmesi ve yayılması akustik bariyer özelliği olan malzemeler ile engellenir. 2 malzemenin akustik empedansları birbirinden çok farklı olduğunda malzemeler akustik bariyer özelliği gösterir [7]. Tasarımda kullanılan malzemelerin akustik empedansları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1 : Malzeme akustik empedansları.

Malzeme	Akustik Empedans
PEEK	$3.3 \times 10^6 \text{ kg/m}^2\text{s}$
PZT	$33 \times 10^6 \text{ kg/m}^2\text{s}$
SS316	$36 \times 10^6 \text{ kg/m}^2\text{s}$
BK7	$11 \times 10^6 \text{ kg/m}^2\text{s}$

Cantilver tutucu değişik denemelerden sonra Fukuma gurubu tarafından geliştirilen yay tutucuya bazı düzenlemeler eklenerek Şekil 4.4 : (a)'daki gibi tasarlandı. Bu tasarımla yay tutucudan kaynaklanan gerçekçi olmayan rezonans eğrileri engellenerek yayın gerçek rezonans ve faz eğrileri elde edildi. Detaylar ve geliştirme süreci aşağıdaki bölümde verilecektir.

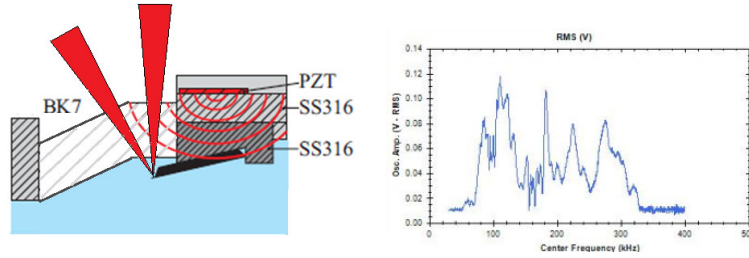
Geliştirilen ilk tasarımımızda titreştirici olarak piezo, optik pencere olarak BK7 geri yansıtmasız cam ve gövde malzemesi olarak SS316 çelik kullanıldı. Tasarım detayları Şekil 4.3(a)'da görülebilir. Deneylerde Nanosensors firması tarafından üretilen PPP-NHCR yay kullanıldı. NHCR AKM yayı için havada alınan rezonans eğrisi Şekil 4.2'de gösterilmektedir, X eksenı yayın titreştiği frekans (kHz), Y eksenı titreşim genliğini(V) göstermektedir. NHCR yayın havadaki 1. Rezonans frekansı 255 KHz ve Q (kalite faktörü) 426 civarındadır. Bu tip yaylarda sıvı ortamda sıvının özelliklerine bağlı olarak rezonans frekansı 130 kHz' e, kalite faktörü yaklaşık 10 değerine düşmesi beklenmektedir. İlk tasarımda beklenen netice alınamadı. Yayın rezonans eğrisine bu tasarımla beklendiği şekilde ulaşılamadı.



Şekil 4.2 : PPP-NCHR (Nanosensors) yay için havada alından rezonans ve faz eğrisi.

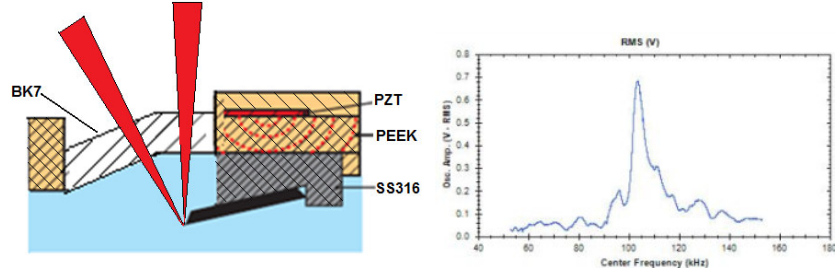
İlk yay tutucu tasarımı sonucunda sıvı ortamda yapılan deneylerde gerçekçi olmayan bir çok rezonans eğrisi Şekil 4.3(b)'deki gibi oluştuğu görüldü. Bu tasarımda BK7 camın akustik empedansı SS316 çeliğin akustik empedansına çok yakın olduğundan akustik bariyer özelliği sağlayamadığından sıvının ve BK7 camın da titreşmesine sebep olarak değişik birçok rezonans frekansı değerlerinin çıkmasına neden

olmuştur. Bu yay için rezonans eğrisinde 120-160 kHz frekans aralığında rezonans frekansının bir noktada maksimuma ulaşması beklenmektedir. Ancak deneysel elde ettiğimiz sonuçlarda 300 kHz kadar değişik frekanslarda değişik genlikler görülmüştür. Bu durumda deneylerde frekans modülasyonu ya da genlik modülasyonu AKM tercih edileceğinden yayın gerçek rezonansının bulunamaması görüntülemenin başarısızlıkla sonuçlanmasına neden olacaktır. Gerçekçi olmayan rezonans eğrileri ortamdaki sıvının, hava kabarcığının, yayın oturtulduğu çelik malzemenin, AKM yayının üstüne basan yayın yada optik pencerenin titreşmesinden kaynaklı olarak ortaya çıkabilir. Bu problemten dolayı ikinci bir tasarım üzerinde çalışıldı.



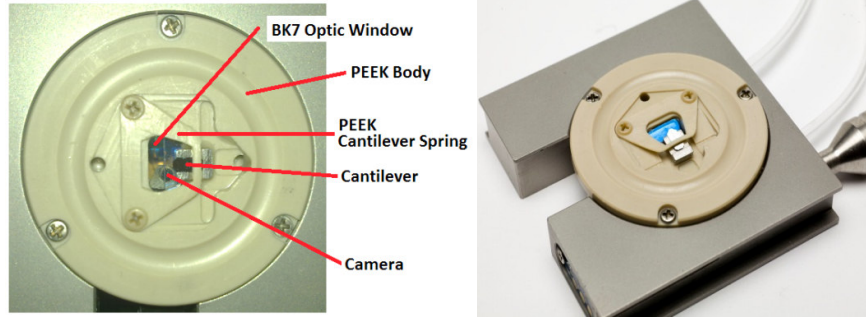
Şekil 4.3 : (a) İlk tasarım yay tutucu (b) Sıvı ortamda elde edilen genlik eğrisi.

Geliştirilen ikinci tasarımda titreştirici olarak piezo, gövde malzemesi olarak PEEK, optik pencere olarak BK7 geri yansıtma cam kullanıldı. PEEK malzemesinin akustik empedansı BK7 cam ve piezo (PZT) malzemesinin akustik empedansından çok farklı olduğundan akustik empedans özelliği gösterir. Bu tasarım ile birlikte temel olarak yayın sıvı ortamda akustik dalgalar ile titreştirilmesi sağlandı. Şekil 4.4(a)'da görülen nihai tasarım ile yapılan deneyler sonucu elde edilen rezonans eğrisinde; sıvı ortam ve yay tutucudan kaynaklanan gerçek olmayan rezonans eğrilerinin engellendiği görülmüştür. Şekil 4.4(b)'de görülen rezonans frekansı eğrisindeki tek pik yay aittir. Beklenen şekilde rezonans eğrisi elde edilmiştir. Tasarımda sıvı ortama giren lazer ışığın kırılmaya uğramadan geri çıkmaması için lazer ışığın sıvı ortama dik olarak girip çıkması sağlanmıştır. Snell yasasına göre ($n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2$) giriş açısı 0 derece olduğunda $\sin(0)=0$ olduğundan ortamların kırılma indisinden bağımsız olarak ışık tekrar sıfır derece kırılma ile diğer ortama geçer. Bu sayede lazer spotu yay ucuna odaklamak ve yansıyan ışığı fotodedektöre odaklamak daha kolay olmaktadır.



Şekil 4.4 : (a) Geliştirilen yay tutucu tasarımı (b) Sıvı ortamda elde edilen genlik eğrisi.

Şekil 4.5'te tasarlanan AKM yay tutucusu ve kapalı hücrenin alttan görünüşü verilmiştir. Detaylara bakılacak olursa tüm gövde PEEK malzemesinden yapılmıştır. Tasarımda en önemli ayrıntılardan biri AKM yayı üstüne basan yayın tasarımıdır. Bu yayın yapısı ve AKM yayının üstüne basma şekli sonucu çok ciddi anlamda etkilemektedir. Tasarımda çok değişik yaylar kullanılmıştır. İlk tasarımda AKM yayı üstüne çelik bir yay ile basılmıştır. Bu tasarımda yine gövdenin PEEK malzemesinden yapılmış olmasına rağmen istenmeye değişik rezonans eğrileri elde edilmiştir. Daha sonra yay, oturtulduğu gövdeye yapıştırıcı ile yapıştırıldığında beklenen sonuçların alındığı görülmüştür. Ancak böyle bir tasarım kullanışlılık açısından hiç verimli değildir. Ayrıca yapıştırıcının sıvı ortamda zamanla çözülmesi sıvı ortamı kirletmektedir. Bundan dolayı geliştirmelere devam edilerek en son AKM yayı üstüne basan yayın PEEK malzemesinden yapılması kararlaştırıldı. Ortamdaki vidalar dâhil PEEK malzemesinden yapıldı.



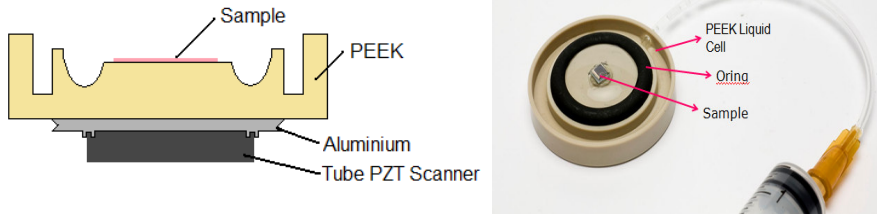
Şekil 4.5 : Kapalı sıvı hücre ve yay tutucu tasarımı.

DeneySEL sonuçlara göre son tasarıma karar verildi. Son tasarımda PEEK'ten yapılmış ince bir yayın AKM yayını tutan gövdenin üzerine orta noktasından sertçe basmasıyla problemler aşılmıştır. Yay gövdesinin ön ve arka kısmına kapalı hücreye sıvı giriş ve çıkış delikleri bırakılmıştır. Bu şekilde bir tasarımla tüm hücre sıvı ile dolduktan sonra sıvı çıkış deliğinden boşalmaya başlaması sağlanmıştır. AKM yay

gövdesinin oturtulduğu çelik parça U şeklinde tasarlanmıştır. Bu sayede yayı yerine takarken düşmesi engellenmiştir.

4.2 Örnek Tutucu Tasarımı

Örnek tutucu kapalı sıvı hücre yapısına uygun olarak tasarlandı. Örnek tutucu hücre dalga sönümlendirme etkisinden dolayı PEEK malzemesinden yapıldı. Örnek tutucu tüp piezonun üstünde bulunan alüminyumdan üst kapağa vidalanarak sıkı şekilde tutması sağlandı. Sıvı ortamda örneği tutucuya monte etmek ciddi problemlerden biridir. Örnek çift yüzlü bant ile tutturulduğunda ortama sıvı doldurulduğunda bant örneği bir süre sonra bırakmaktadır. Genelde örnek sıvıda çözünmeyen EPOXY türü yapıştırıcılarla örnek tutucuya yapıştırılmaktadır. Yay tutucu ile örnek tutucu arasına conta kanalı açılmıştır. Kanala esnek bir conta sıkıştırılarak kapalı ortamda örneklerin görüntülenebilmesi sağlanmıştır. Geliştirilen tasarım Şekil 4.6'da verilmiştir. Conta kanalının dış tarafına hücreden sıvı taşması durumunda ortamın kirlenmemesi için bir havuz yapılmıştır. Bu havuzda biriken atık sıvı bir şırınga yardımı ile çekilebilir.

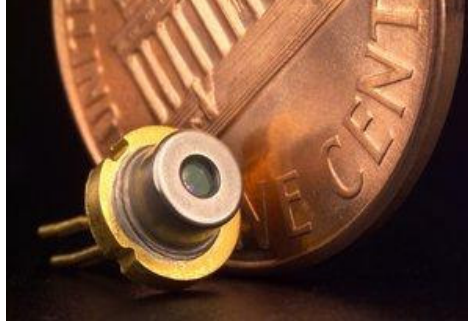


Şekil 4.6 : (a) Örnek tutucu tasarımı yandan kesiti (b) örnek tutucu üsten görünüş.

4.3 Lazer Diyot Seçimi

Yay bükülmesi ölçmede kullanılan lazer ışık kaynağı seçimi gürültü seviyesi açısından önemli bir konudur. Çalışmamızda birçok diyot lazer ışık kaynağı denendi ama gürültü seviyesi bakımından en iyi sonuçlar Sanyo dl-3147-260 ve Hitachi HL6340MG lazer ışık kaynaklarından alındı. Hitachi HL6340MG lazer oval ışık huzmesi oluşturuyor ve üretilen ışığın dalga boyu 635 nm'dir. Zamana göre ışın yoğunluğu kararlılığı açısından Hitachi HL6340MG diyot lazerin Sanyo dl-3147-260 lazer ışık kaynağından daha kararsız olduğu görüldü. Bundan dolayı çalışmalarda

Sanyo dl-3147-260 Lazer ışık kaynağı tercih edildi. Sanyo lazer ışık kaynağı maksimum 7 mW güç üretebilmektedir. Üretilen ışığın dalga boyu 650 nm'dir. Şekil 4.7'de diyot lazerin boyutlarının anlaşılması açısından bir bozuk para yanında görüntüsü verilmiştir.

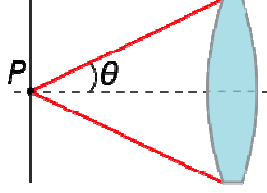


Şekil 4.7 : Diyot lazer ışık kaynağı

Lazeri yay üzerine çok iyi bir şekilde odaklayabilmek için yüksek kalitede toplanmış ve odaklanmış bir lazer ışık kaynağı olmalıdır. Lazer spot kesiti dairesel ya da eliptik olmalıdır. Toplanmış lazerin odak noktasında spot büyüklüğü yayın genişliğinden küçük olmalıdır. Lazer diyot tarafından tek dalga boyunda noktasal bir kaynaktan lazer ışığı üretilmektedir. Üretilen lazer ışık asferik lens ile toplanarak ışın hüzmesi paralelleştirilir. Daha sonra paralel olan ışık hüzmesi tekrar bir asferik lens ile bir noktaya odaklanır. Odak noktası yayın arka kısmına düşürülür. Üretilen lazer ışık kaynaklarının spot şekli genelde eliptik olarak üretilmiştir. Bu AKM yayı arkasına lazer ışığı odaklanmasını olumsuz etkileyen bir faktördür. Biz çalışmamızda ticari olarak bulunan Sanyo dl-3147-260 lazer diyot tercih ettik. Lazer diyot çipinde üretilen tüm ışık yüksek numerik darlığa (NA) sahip asferik bir lens ile toplanmış ve paralelleştirilmiştir. Paralleleşen ışık tekrar daha düşük NA'ya sahip bir asferik lens ile belli bir noktaya odaklanmıştır. Olabildiğince spot çapının küçük olması önemlidir. Toplayıcı lensin NA'si yüksek seçilmiştir, çünkü lazer diyot noktasal bir kaynaktan ışınları üretmektedir. Dışarı çıkan lazer ışın hüzmesi açılarak diyot dışına doğru yayılmaktadır. Üretilen tüm ışığın çok fazla yayılmadan lazer çipin önüne yerleştirilmiş asferik merceğe girerek olabildiğince ışığı kaybetmeden paralel hale getirilmesi hedeflenmektedir. Odaklayıcı lensin NA'si düşük seçilmiştir, çünkü yay lazer ışık kaynağından uzakta bulunduğundan daha düşük NA'lı bir mercek ile odak uzaklığının daha yüksek olması sağlanmıştır.

4.3.1 Lazer ışığı toplama ve odaklamada kullanılan optik mekanizmalar

Numerik darlık (Numerical aperture–NA) optik sistemlerin ışık yayabileceği veya kabul edebileceği açı alanını tanımlayan birimimiz bir sayıdır. Numerik açıklık basitçe merceğin dış çapının odak uzaklığına oranı Şekil 4.8’de gösterilebilir.

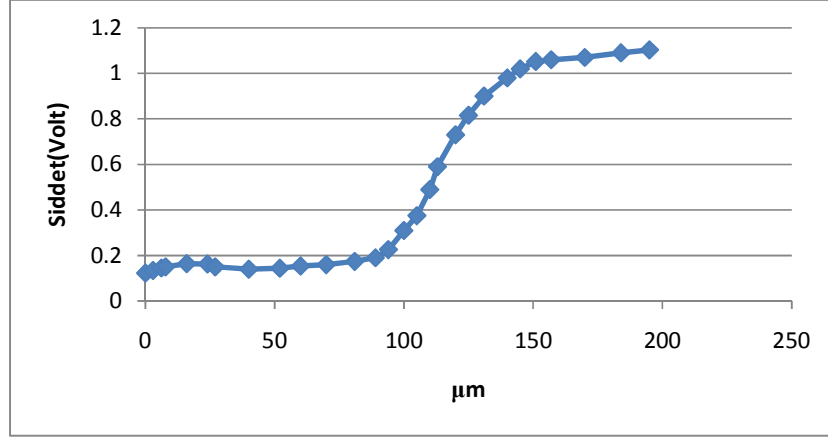


Şekil 4.8 : Merceklerde numerik darlık.

$$NA = n \sin \theta \quad (4.1)$$

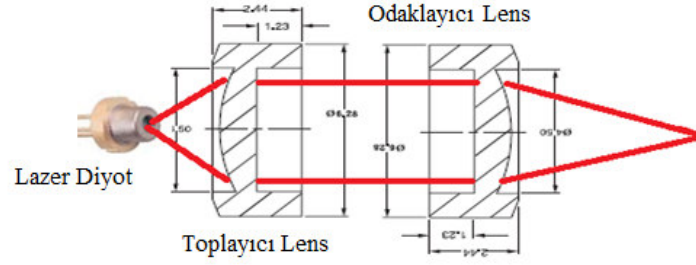
n kırılma indisi (havada 1, saf suda 1.33), θ merceğe giren veya çıkan ışığın maksimum koni yarı açısını göstermektedir. Numerik darlık artıkça spot çapı küçülmektedir. Buna karşılık lens çalışma uzaklığı da küçülmektedir.

Çalışmamızda diyot lazerden çıkan ışığı toplayıp paralelleştirmek için C390TM asferik toplayıcı lens kullanıldı. Diyot lazer lense çok yakın olduğundan NA=0.68 numerik açıklığa sahip lens tercih edildi. Yay üzerine ışığı odaklamak için asferik odaklayıcı lens kullanıldı. Lazer ışık kaynağı yaydan 20mm kadar uzakta bulunduğundan NA = 0.12 numerik açıklığa sahip lens tercih edildi. Üzerinde çalışılan optik düzeneğin lazer spot büyüklüğü 40µm ölçüldü. Ölçüm düzeneginde lazerin ışığın odak noktasına bir fotodiyot yerleştirildi. Fotodiyot 50 nm çözünürlüğüne sahip bir servo motor üzerine monte edildi. Motor sürülerek mesafeye karşılık fotodiyottaki okunan voltaj değişikliği kaydedildi. Fotodiyot üzerinde okunan voltajın minumumdan maksimuma ulaştığı mesafe aralığı lazer spot genişliğini vermektedir. Kullanılan yayın genişliği 30 µm olduğundan ışığın büyük bir kısmından faydalanılmaktadır. Şekil 4.9’da mesafeye karşılık fotodiyot üzerinde okunan voltaj gösterilmiştir. Grafikte eğimin maksimum noktaya eriştiği aralığı göz önünde tutularak lazer spot büyüklüğü hesaplanmıştır. Grafikte görüldü üzere lazer spot Gauss profiline uygundur. Spotun dışına doğru daha zayıf ışın yoğunluğu varken spotun merkezine doğru ışın yoğunluğu artmaktadır.



Şekil 4.9 : Mesafeye karşılık fotodiyot üstünden okunan güç

Şekil 4.10'da lazer diyot ve optik düzenek verilmiştir. Diyot lazerden çıkan ışınlar asferik lense girmiş ve paralel çıkan ışık demeti tekrar asferik bir lens ile tekrar bir noktaya odaklanmıştır. Kullanılan lenslerin özellikleri Çizelge 4.2'de özetlenmiştir.



Şekil 4.10 : Optik düzenek yapısı.

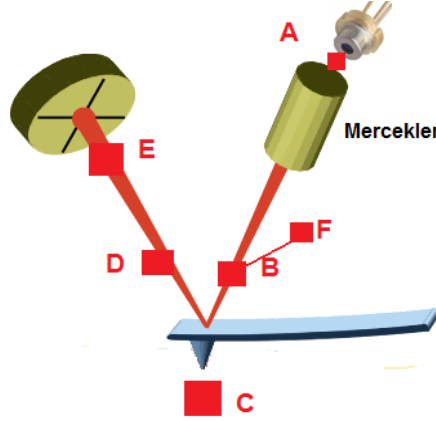
Çizelge 4.2 : Kullanılan lenslerin özellikleri.

Model	C390TM	CAX183
Lens tipi	Cam Asferik Lens	Plastik Asferik Lens
Numerik darlık	NA :0.68	NA :0.12
Çalışma mesafesi	1.56mm	16.48mm

4.3.2 Optik düzende lazer ışık kayıpları analizi

Çalışmamızda lazer ışığının maksimum fayda sağlayabilmek için kayıp analizleri yapıldı ve optik düzenek optimize edildi. Optik düzende ışığın izlediği yolda her geçiş noktasında ölçüm yapılarak kayıp miktarları hesaplandı. Işık kayıp miktarları Çizelge 4.3'te özetlenmiştir. Yay seçimi lazer ışık kaybını azaltmak açısından önemlidir. Kaplamasız silikon yada silikon nitrid yayların ışık soğurmasından kaynaklanan ışık kaybı %76' yı bulmaktadır. Alüminyum kaplamalı yaylarda ışık

kaybı %31 civarındadır. Tüm optimizasyon çalışmalarından sonra altın yada alüminyum kaplı yaylar ile üretilen lazer gücünün %30' undan faydalandığı ölçülmüştür. Şekil 4.11'de AKM için kurulan optik düzenekte tüm ara geçiş noktaları verilmiştir. Bu noktalarda değişik lazer güçlerinde fotodiyot yardımı ile ışık gücü ölçülerek her geçiş noktasındaki kayıp miktarı belirlenmiştir.



Şekil 4.11 : Optik düzenekte ışık gücü ölçümü yapılan noktalar.

Çizelge 4.3 : Optik düzenekte lazer ışık kayıpları

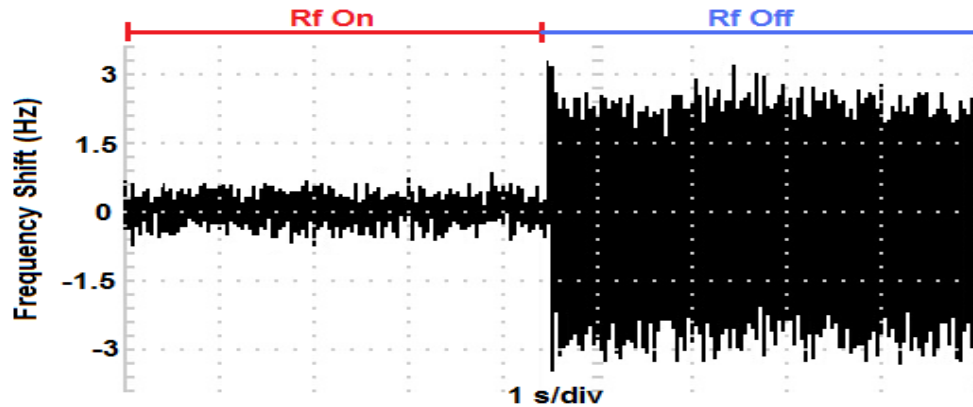
Kayıp Noktaları	Kayıp Miktarı
A noktasından B noktasına geçişte	%13 kayıp
Yaydan tasan ışık kaybı (C noktası)	%17 kayıp
Yay Işık Soğurmasından kaynaklanan kayıp	%31 kayıp
Fotodetektörden geri yansımadan kaynaklanan kayıp	%9 kayıp

4.4 Lazer Besleme Akımına RF Sinyal Enjekte Etme

Lazer ışık kaynağının iç gürültülerinin yani sıra kuantum gürültü ve mod-hop gürültü olmak üzere ayrıca iki dış gürültü kaynağı vardır. Lazer ışık demetinin lazer diyotta bulunan optik rezonatöre geri yansıma ile başka bir lazer osilasyon modu oluşur ve bu mod lazer ışık demetinin kararlılığını azaltır, zamana göre stabil olmayan güç elde edilmesine sebep olur. Bu gürültü kaynağı optik geri besleme gürültüsü olarak tanımlanır. Diğer taraftan yay ve başka optik yollardan geri yansıyan ışık foto diyot üzerinde girişim oluşturur. İstenmeyen optik yol sıcaklık değişimlerinden ve mekanik kaymalardan dolayı zamana karşı değişmektedir. Optik yol değişimi PDFD üzerine düşen gücü değiştireceğinden gürültü kaynağı olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu gürültü kaynağı optik girişim gürültüsü olarak adlandırılır.

Sıvı ortamda AKM’de kullanabilmek için optik yola cam ve sıvı eklenmektedir. Bu gibi etkenler bahsedilen gürültü etkisini artırmaktadır. Optik gürültüleri lazer gücünü RF sinyali ile genellikle 200-500 MHz de modüle ederek azaltmak mümkündür. RF ile lazer güç modülasyonu tek mod da çalışan lazer osilasyon modunu çoklu osilasyon moduna çevirmektedir. Lazer çoklu modda sürüldüğünde optik geri besleme gürültüsünden tekli modda sürülmesine göre daha az etkilenmektedir. Sonuç olarak RF modülasyonu lazer gürültü kaynaklarını büyük ölçüde azaltmaktadır. Ayrıca çoklu mod lazer ışık demeti daha düşük tutarlılığa sahip olduğundan optik girişim gürültüsü azaltmada etkindir.

Çalışmamızda RF sinyali VCO (voltage kontrollü osilator) kullanılarak üretildi. Mini-Circuits: POS-400+ VCO kullanıldı. Değişik frekanslarda lazer gürültü miktarları ölçülerek gürültünün minimum olduğu frekans bulundu. Deneyler sonucunda RF sinyalinin frekansı 320Mhz ve genliği +9dBm olduğunda minimum gürültü seviyesine ulaşıldı. RF sinyali OGK (otomatik güç kontrolcüsü) tarafından üretilen akım sinyaline Bias-Tee kullanılarak toplandı. Bias-Tee olarak Mini- Circuits PBTC-1GW+ kullanıldı. Şekil 4.12’de RF modülasyonu lazer ışık kaynağına uygulandığında ve uygulanmadığında frekans gürültüsünü göstermektedir. Ölçümlerde PPP-NCHR yay PLL ile rezonans frekansında titreştirilerek AKM kafasından gelen salınım sinyali PLL cihazına girilmiştir. Frekans çıkışı zamana göre RF açık ve kapalı olduğunda kaydedilmiştir. Elde edilen deneysel sonuç RF modülasyonunun gürültü düşürmesinde çok etkin olduğunu göstermektedir. Ayrıca RF modülasyonu lazer ışık kaynağı tarafından üretilen gücün stabil olarak tutulmasında etkindir.



Şekil 4.12 : Sıvıda RF sinyali açık ve kapalı olduğu durumda frekans kayması dalga formu.

4.5 Geniş Bantlı Pozisyon Duyarlı Fotodedektör

Fotodetektor ile yayın salınımlarının algılanabilmesi için yeterli bant genişliğine sahip olmalıdır. Sensörde fotodiyot olarak $2 \times 2 \times 1.8 \text{ mm}^3$ alana sahip Si PIN Hamamatsu fotonik (S6695-01) tarafından üretilmiş 4 parçalı fotodiyot kullanıldı. Kullanılan fotodiyot 635 nm dalga boyunda 1 Watt ışık gücü için 0.4513 amper akım (0.4513 A/W) üretmektedir. Şekil 4.13'te kullanılan PDFD resmi verilmiştir.

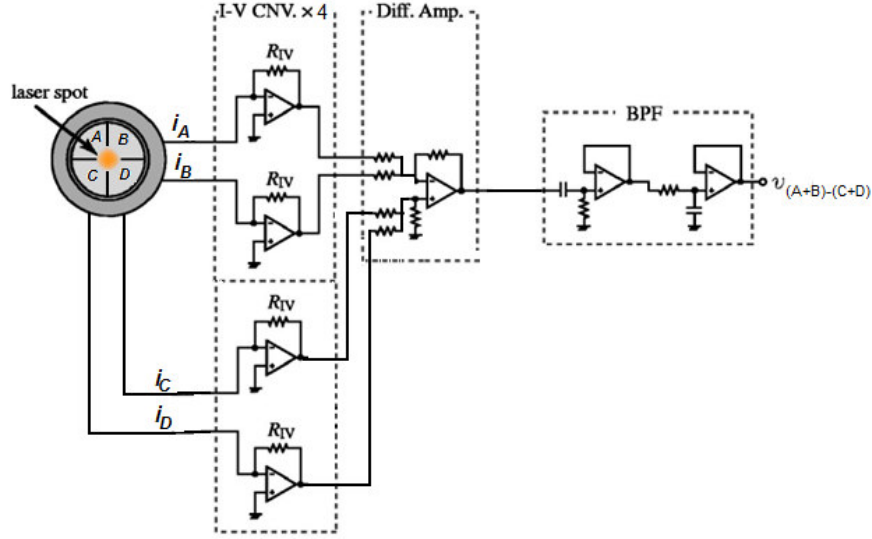


Şekil 4.13 : Pozisyon Duyarlı Fotodiyot (Hamamatsu S6695-01).

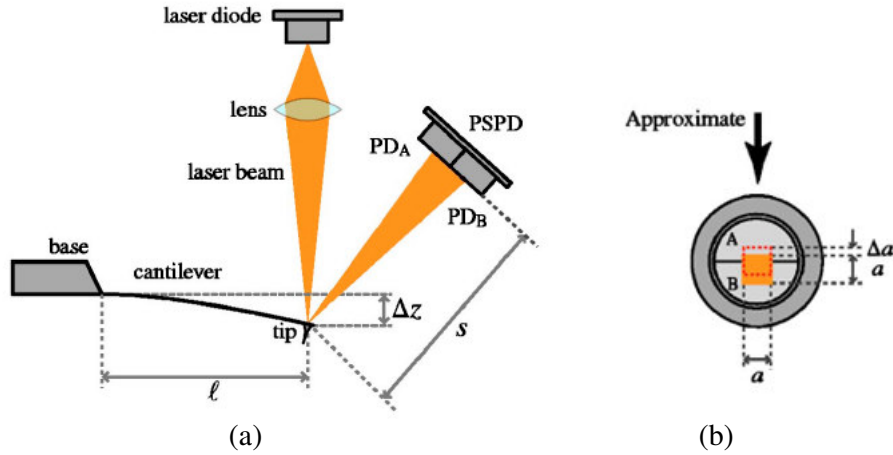
4.6 Tasarlanan Optik Işık Sapma Algılayıcı Sistem

Çalışmamızda dikey kuvvetleri algılayanın yanı sıra yanal kuvvetleri de ölçebilmek için 4 fotodiyot elemanına sahip PDFD tercih edildi. Fotodiyotlarda üzerine düşen lazer ışık şiddeti ile ilintili olarak iletkenliği değişir. Diğer bir deyişle ışık şiddeti ile orantılı olarak diyottan akım geçer. Çalışmamızda I-V (Akım voltaj) dönüştürücü devre kullanılarak fotodiyotun ürettiği akım voltaja dönüştürüldü. Şekil 4.14'te tasarlanan amfinin şematik tasarımı verilmiştir. PDFD'de yer alan her fotodiyot elemanı I-V dönüştürücü ile voltaja dönüştürüldü. Diferansiyel amfi ile $(V_A + V_B) - (V_C + V_D)$ voltaj farkı elde edildi. İstenmeyen frekans bileşenleri yok edilebilmesi için bant geçiren filtre kullanıldı.

Yay titreştiğinde fotodiyotun merkezine odaklanmış lazer spot fotodiyot elemanları arasında titreşim frekansında konum değişmesine sebep olur. Bu durumda $(V_A + V_B) - (V_C + V_D)$ voltaj farkını zamana göre okunduğunda titreşim frekansı ve genliği ile orantılı olarak voltaj okunur. Sinyal diferansiyel amfiye girilerek x10 yada x100 ile çarpılarak işlenmesi daha kolay duruma getirilir. İstenmeyen frekans bileşenlerini yok etmek amacı ile sinyal bant geçiren filtreden geçirilerek sadece ilgilendiğimiz sinyal bileşeni elde edilir.



Şekil 4.14 : Fotodiyot I-V dönüştürücü, diferansiyel amfi ve bant geçiren filtre (BPF).



Şekil 4.15 : Tipik optik ışın sapması yöntemi ile yay sapması algılama [4].

Optik ışın sapması yönteminde yaydaki sapma miktarı ile fotodedektör üzerine düşen lazer spotun yer değiştirme miktarı arasındaki ilişki aşağıdaki formülde verilmiştir [4]. Şekil 4.15(a)'da formül (4.2)'de kullanılan parametreler şekilsel olarak gösterilmiştir. Formül yayın salınımı ile lazer spotun fotodiyot üzerindeki yer değiştirmesi arasındaki ilişkiyi vermektedir. Şekil 4.15(b)'de lazer ışın demetinin fotodiyot üzerinde yer değiştirme gösterilmiştir.

$$\Delta a = 3 \frac{s}{\ell} \Delta z \quad (4.2)$$

S: yay ile fotodiyot arası mesafe

L: yayın boyu

Δz : sensor yer değiştirme miktarı

Δa : yay titreşmesine karşılık gelen fotodiyotta lazer spotun yer değiştirme miktarı

Amplifikasyon miktarına β dersek; $\beta = \Delta a / \Delta z$ olur.

Amplifikasyon miktarını yukarıdaki formül kullanılarak hesaplırsak;

Δz	0.000001	mm	(=1nm)
s	35	mm	
l	0.125	mm	
Δa	0.00084	mm	
β (Amplifikasyon)	840		

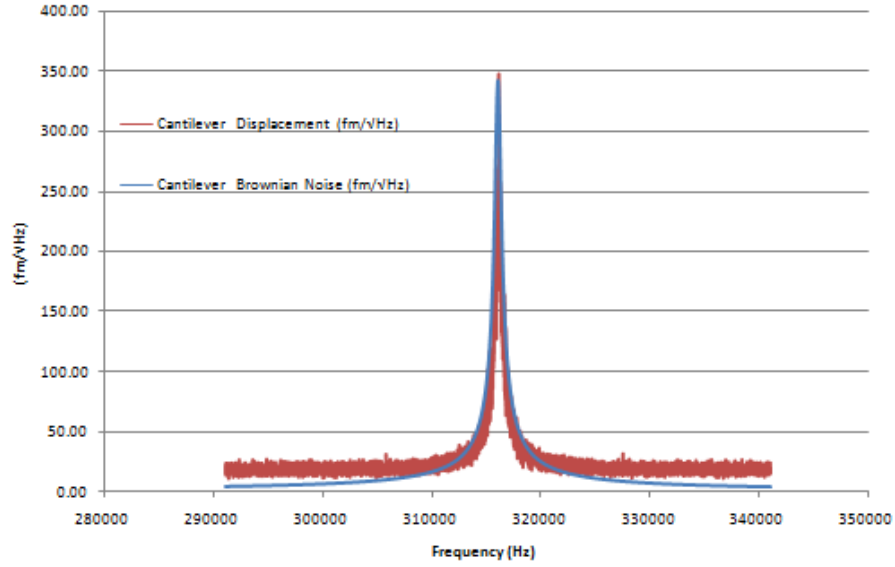
$\beta=840$ bulunur. Yukarıdaki hesaplamaıa bakarsak yaydaki salınım 1 nm ise fotodedektör üzerinde lazer spotun yerdeğiştirmesi 840 nm olur. Bu değer genellikle 1000 civarı olması beklenir. Amplifikasyon değeri ne kadar yüksek olursa o kadar fotodiyottan hassas yer değiştirme bilgisi alınabilir. Ancak fotodiyot yaydan uzaklařtıķça fotodiyot üzerine dūřen lazer spot genişliği artacağından spotun fotodiyottan taşmamasına özen gösterilmelidir.

4.7 AKM Yayı Brownian Hareketi

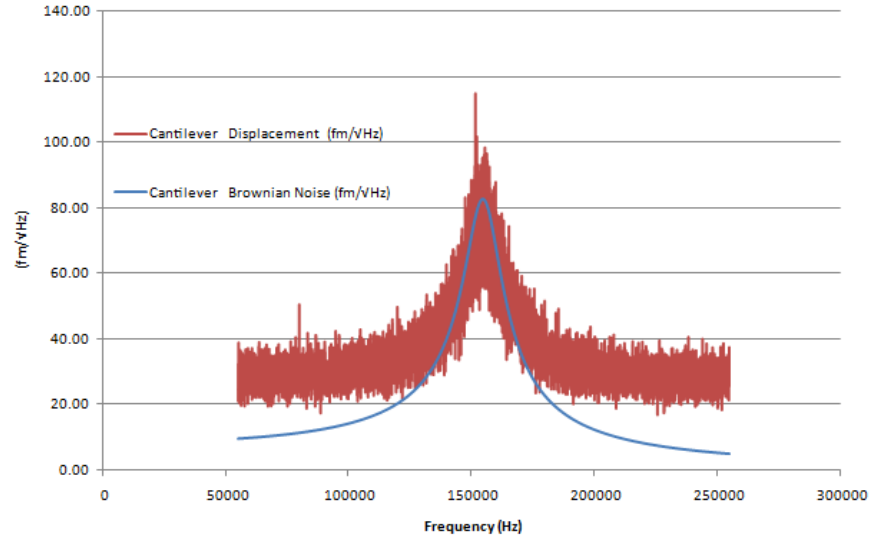
Yay Brownian hareketi ortamdaki termal enerjiden dolayı yayda oluşan rastlantısal salınımdır. Yay tarafından maksimum enerji rezonans frekansında soğurulduğundan en büyük salınımı rezonans frekansında yapacaktır. Yay hareketi ölçme sensörünün hassasiyeti ölçülürken yay Brownian hareketi referans alındı. Termal enerjiden dolayı yayda oluşan titreşim aşağıdaki formül ile tanımlanır [36].

$$n_{zB} = \sqrt{\frac{2k_b T}{\pi f_0 k Q} \frac{1}{\left[1 - \left(\frac{f}{f_0}\right)^2\right]^2 + \left[\left(\frac{f}{f_0 Q}\right)\right]^2}} \quad (4.3)$$

Formül (4.3)'te f titreşim frekansı, f_0 yay rezonans frekansı, k yay sabitini göstermektedir. Formül kullanılarak teorik olarak bir yayın frekansa bağımlı olarak salınım genliği hesaplanabilir.



Şekil 4.16 : Havada RF Modülasyonu ile Termal Gürültü Spektrumu. $f_0=315$ kHz, $Q=430$. Mavi çizgiler teorik hesaplanmış termal Brownian hareketini, kırmızı çizgiler deneysel elde edilmiş sonuçları göstermektedir. Deneyde arkası alüminyum kaplı Si yay (Nanosensors:PPP-NCHR, $\sim k=30$ N/m) kullanıldı.



Şekil 4.17 : Saf suda RF Modülasyonu ile Termal Gürültü Spektrumu $f_0=155$ kHz, $Q=11$. Mavi çizgiler teorik hesaplanmış termal Brownian hareketini, kırmızı çizgiler deneysel elde edilmiş sonuçları göstermektedir. Deneyde arkası alüminyum kaplı Si yay (Nanosensors:PPP-NCHR, $\sim k=30$ N/m) kullanıldı.

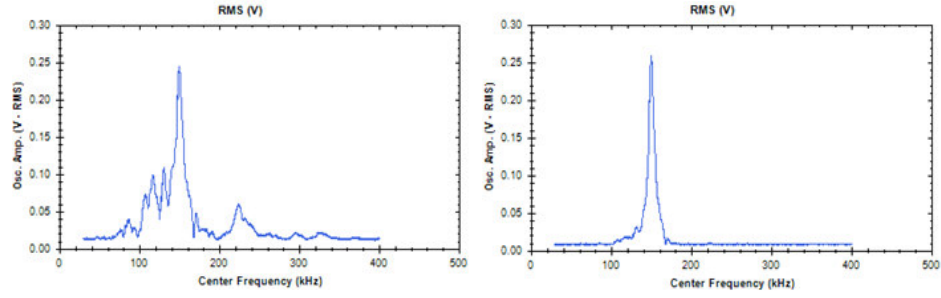
Şekil 4.16 ve Şekil 4.17’de yayın hava ve sıvı ortamdaki Brownian hareketini göstermektedir. Katı çizgiler deneysel sonuçları gösterirken kırmızı çizgiler teorik eşitlik ile hesaplanan değerleri göstermektedir.

Teorik hesaplamaların üstünde kalan gürültü kaynağı yay salınım algılama sensöründen kaynaklanmaktadır. Yay salınım algılama sensöründen kaynaklanan gürültü seviyesi sıvıda $29 \text{ fm}/\sqrt{\text{Hz}}$, havada $20 \text{ fm}/\sqrt{\text{Hz}}$ ölçüldü. Genelde AKM salınım sensöründen kaynaklanan gürültü seviyesi 100-1000 fm civarındadır. Elde edilen gürültü seviyesi sıvıda atomik çözünürlük elde edebilmek için yeterli düzeydedir.

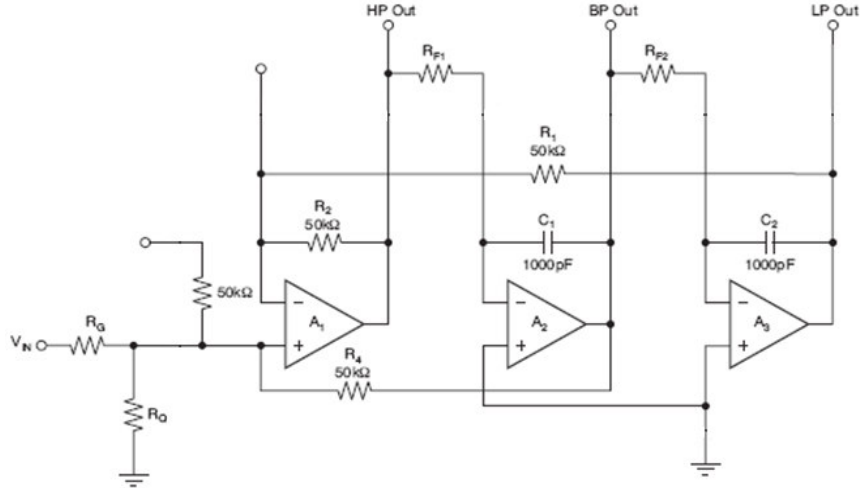
4.8 Bant Geçiren Filtre (BGF) Tasarımı

Genelde dinamik mod AKM’ de yay gövdesinin altına yerleştirilen piezoelektrik titreştirici ile salındırılır. Sıvı ortamda bu titreşim yayı titreştirmesinin yanında sıvının da titreşmesine sebep olmaktadır. Bundan dolayı yayın genlik eğrisinde bir çok istenmeyen rezonans görülmesine sebep olmaktadır. Tasarlanan sistemimizde fotodiyotdan gelen yayın gerçek rezonansı dışında istenmeyen frekans bileşimlerini yok etmek için ayarlanabilir bant geçirmeli filtre yapıldı. Yaydan yaya rezonans frekansı değiştiğinden yazılım aracılığıyla merkez frekansı ve kalite faktörü ayarlanabilir bant geçiren filtre tasarlandı. AKM yaylarının genlik-frekans cevabının filtreden etkilenmemesi için tasarlanan filtrenin Q faktörü (kalite faktörü) yayın Q faktöründen küçük olmalıdır. Sıvı ortamda klasik yayların Q faktörü yaklaşık 10 civarı çıkmaktadır. Bant geçiren filtrenin (BGF) Q faktörü 3’ e ayarlanarak yayın gerçek rezonans eğrisinin filtreden etkilenmesi engellendi. Şekil 4.18’de yayın BGF’siz ve BGF’li rezonans genlik eğrileri verilmiştir. BGF’ siz alınan rezonans eğrisinde istenmeyen değişik genlikler görülmektedir. BFG ile istenmeyen ilgilenmediğimiz frekans bileşenleri atılmıştır.

Genlik eğrileri PEEK malzemesinden geliştirilen yay tutucu ile PBS çözeltisi içinde elde edildi. Tasarlanan yay tutucu ve örnek tutucu gerçekçi olmayan rezonans genliklerinin görülmesini engelliyor; ancak yine de değişik frekanslarda daha düşük genliklerde eğriler görülüyor. Bu eğriler PLL (Faz kilitlemeli döngü)’ in frekansa kitlenmesi sırasında frekans gürültüsü oluşturabileceğinden bant geçiren filtre ile sadece yayın rezonans frekansını geçiren bir filtre yapıldı. Tasarlanan filtrede kullanılan dirençler yerine dijital pot kullanılarak yazılım arayüzünden filtrenin merkez frekansının ayarlanması sağlandı. Yayın gerçek kalite faktörünü görebilmek için filtrenin kalite faktörü yayın kalite faktöründen çok küçük tutuldu.



Şekil 4.18 : (a) Bant geçiren filtre olmadan, (b) Bant geçiren filtre ile.



Şekil 4.19 : Bant geçiren filtre şematik tasarımı [37].

Çizelge 4.4 : BGF parametreleri.

Eleman İsmi	Değer	Birim	Değer	Birim
Rf1	1.1	k W	1,100	W
Rf2	1.1	kW	1,100	W
C1	470	pF	4.7E-10	F
C2	470	pF	4.7E-10	F
R_Q	3	kW	3,000	W
R_G	10	kW	10000	W
w_n	1,934,236	rad/s		
f(Hz)	307,843	Hz		Merkez frekansı
Q	3			Kalite Faktörü
PassBant	115,441	Hz		Geçirme aralığı

BGF tasarımında RF1 ve RF2 dirençleri dijital pot ile kontrol edilerek filtrenin merkez frekansı ayarlandı. RQ direnci aynı şekilde dijital pot ile kontrol edilerek filtrenin kalite faktörü ayarlandı. Filtrenin kalite faktörü yayın kalite faktöründen çok küçük olması gerekmektedir. Aksi takdirde yayın değil filtrenin kalite faktörü dikkate alınmış olur.

4.9 AKM Tarayıcı Tasarımı ve Kalibrasyon

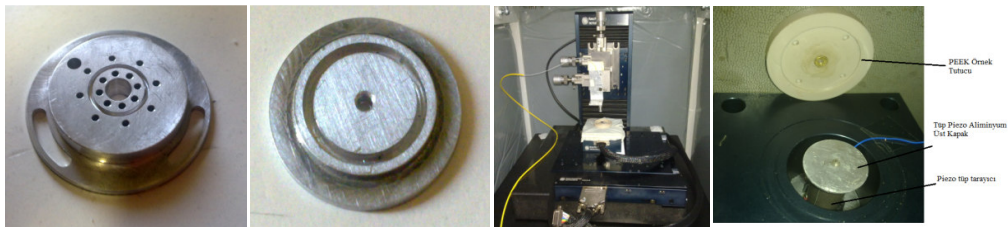
Atomik kuvvet mikroskoplarının yatay ve dikey çözünürlüklerini belirleyen en önemli faktörlerden birisi de tarayıcıdır. Tarama alanı, tarama hızı, beklenen yatay ve dikey çözünürlük gibi parametrelere uygun tasarım yapmak gerekir. Bu çalışmada elde edilmek istenen moleküler ve atomik çözünürlüğe yönelik tarayıcı tasarımı yapıldı. Yapılan teorik hesaplamalar sonucunda tasarımda 25.5 mm uzunluğunda, 12.7 mm çapında, 1 mm duvar kalınlığında tüp piezo kullanıldı. Teorik hesaplamalara göre tarayıcının +/- 200V potansiyel fark ile 1793 nm alan tarayabilmesi beklenmektedir. Tüp piezo toplam yer değiştirmesi aşağıdaki formül ile ifade edilir [38]:

$$\Delta L = \frac{0.9d_{31}VL^2}{(OD+ID)/2} \quad (4.4)$$

Çizelge 4.5 : Piezo tüp tarama alanı hesaplaması.

Özellik	PZT	Parametreleri	Birim
Sabit EBL2	d31	1.73	A/V
Uzunluk	L	25.4	mm
Voltaj	U	200	V
İç çap	ID	10.7	mm
Duvar kalınlığı	d	1	mm
Dış çap	OD	11.7	mm
Tarama alanı	DeltaL	1.79E-06	m

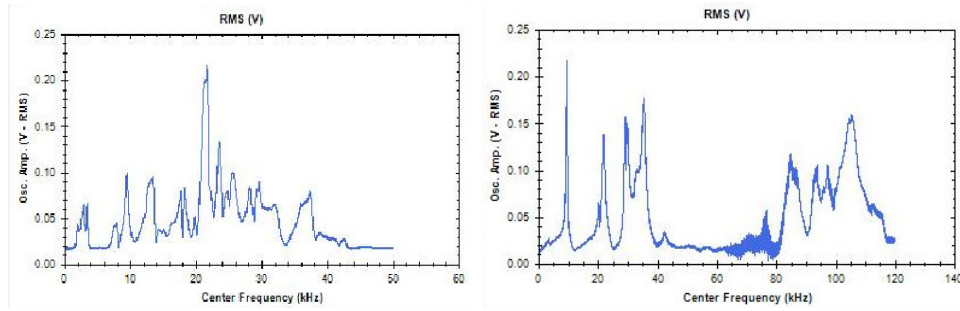
EBL firmasından alınan tüp piezo için alt-üst kapak tasarlanarak epoxy ile yapıştırıldı. Tarama sırasında esnemeleri minimize etmek için örnek tutucu hücre vida ile alüminyum parçaya sabitlendi. Şekil 4.20’de üretilen tarayıcı parçaları gösterilmiştir.



Şekil 4.20 : (a) Tüp piezo alt kapak, (b) üst kapak, (c) interferometre ile piezo kalibrasyonu, (d) tarayıcı ile örnek tutucu montajı.

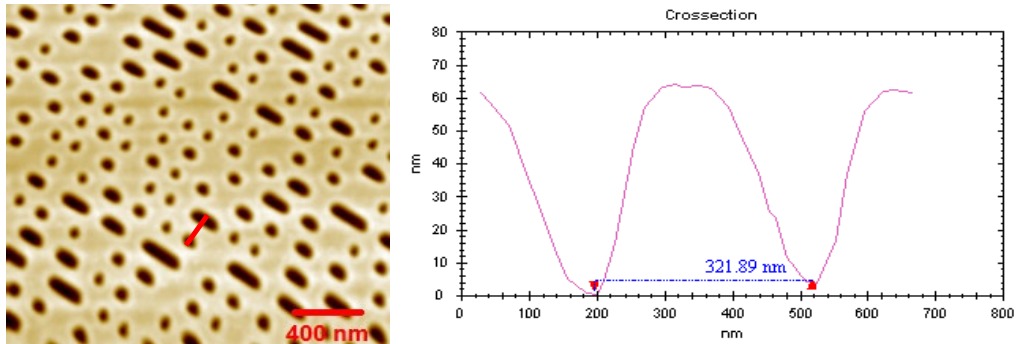
Üretilen tarayıcı ilk aşamada interferometre ile karakterize edildi. Piezo tarayıcının üst ve yanlarına ayna yapıştırılarak piezoya voltaj sürülerek yer değiştirmesi ölçüldü. Buradan piezonun kalibrasyon katsayıları elde edildi. Ayrıca tarayıcının XY ve Z

yönlerindeki rezonans frekans eğrileri incelendi. Şekil 4.21’de piezo tarayıcı için XY ve Z rezonans eğrileri verilmiştir. Eğrilerde yatay eksen frekansı (kHz) ve dikey eksen genliği (V) göstermektedir. Şekilde görüldüğü üzere XY ekseninde 21 kHz civarında bir rezonans peaki görülmektedir. Piezo Z eksenini için 10 kHz civarında rezonans peaki görülmüştür. Sıvı ortamda atomik çözünürlük deneyleri için tarama hızının yaklaşık olarak 500 nm/sn olması beklenmektedir. Eğer deneylerde 10 nm² alan 256 piksel çözünürlükte taranırsa görüntünün 5.2 sn alınması beklenir. Bu durumda bir satır görüntünün 40 ms de alınması beklenir. Buradan tarayıcının 50 Hz de salınması beklenir. Bu değer piezonun rezonans frekansından çok uzak olduğundan problem teşkil etmez.



Şekil 4.21 : (a) Piezo XY yönü için rezonans eğrisi (b) Piezo Z yönü için rezonans eğrisi.

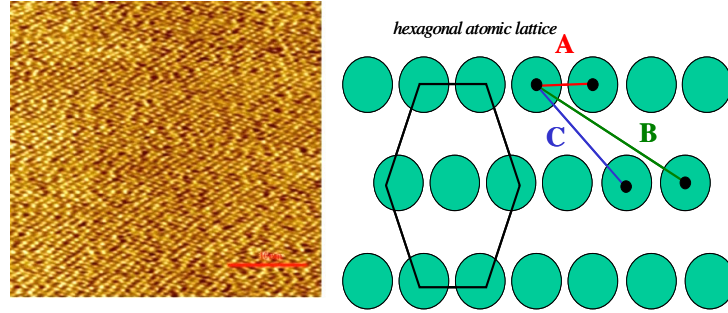
İnterferometre ile bulunan piezo kalibrasyon katsayılarının doğruluğunu anlayabilmek için yapısı bilinen blu-ray disk ile test edildi. Blu-ray diskte izler arası boşluğun ~320 nm olduğu bilinmektedir. Test sonucunda izler arası boşluk Şekil 4.22’de de görüldüğü gibi beklenen değerde çıkmıştır.



Şekil 4.22 : Piezo testi için elde edilen blu-ray görüntüsü ve izler arası boşluk.

Tarayıcı daha sonra AKM ile değen modda atomik çözünürlük görüntü için test edildi. BudgetSensors tarafından üretilen oksit bilmiş SiNi değen mod AKM yayı

kullanılarak havada mika yüzeyi atomik çözünürlükte görüntülenmesi başarıldı. Şekil 4.23'te mika yüzeyinden alınan atomik çözünürlükte görüntü verilmiştir.



Şekil 4.23 : (a) Havada atomik çözünürlük mika görüntüsü (b) Mika yüzey modeli.
A=0.519 nm, B=0.900 nm, C=1.37 nm.

4.9.1 Sıvı AFM tarayıcı elektroniği geliştirilmesi ve tarayıcı hassasiyeti

Çalışmalarda tarayıcıyı sürmek için 18 bit DAC kullanıldı. Tasarlanan tarayıcıya +/- 200V uygulandığında 2160 nm yer değiştirdiği interferometre ile ölçüldü. Teorik hesaplamalara göre 1793 nm yer değiştirme beklenmektedir. Bu durumda teorik olarak her DAC ara adımı ile 0.082 A yatay çözünürlük elde edilebilir.

1 inç Piezo ile ~2.16 µm yatay tarama

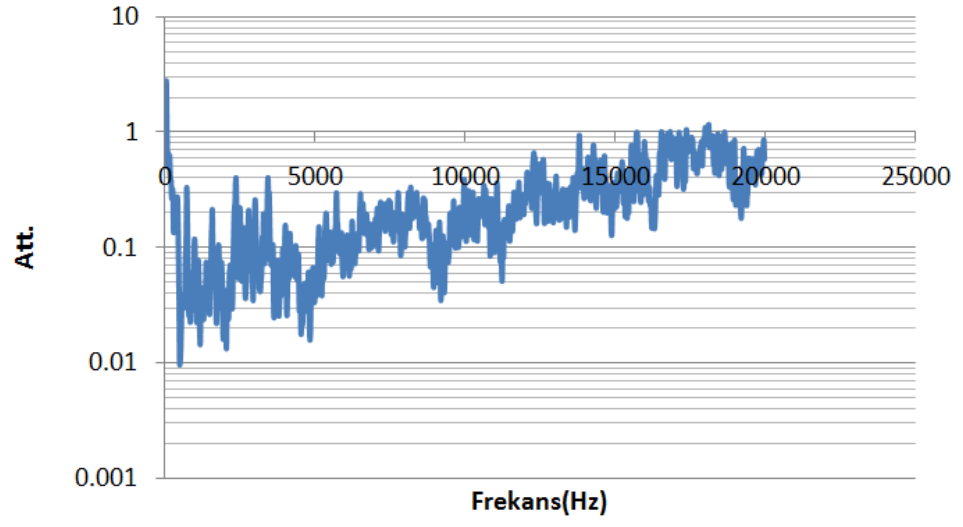
18 bit: 262144 ara adım

$21600\text{A} / 262144 = 0.082\text{ A}$ yatay çözünürlük

Bu durumda 256 piksel çözünürlüğünde bir görüntü en az $0.082\text{ A} * 256 = 2.1\text{ nm}$ alan taranabilir.

4.10 Sıvı AKM İçin Akustik Kabin Tasarımı ve Analizi

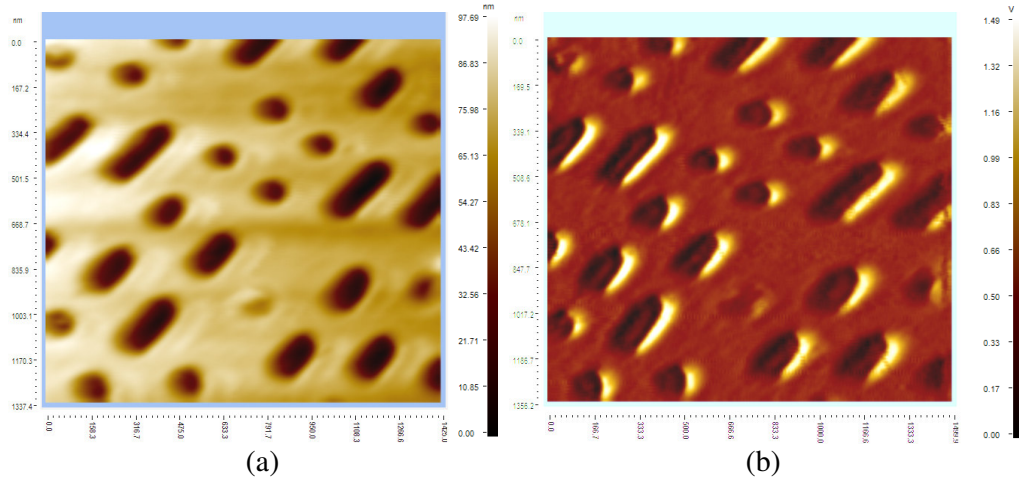
Çalışmamızda alüminyum iskelet ve 2 mm kalınlığında alüminyum duvarlardan oluşan bir akustik yalıtım kabini kullanıldı. Bu kabinin içine akustik gürültü geçirme oranları frekansa bağlı olarak ölçüldü. Şekil 4.24 :’ de X eksen frekansı, Y eksen zayıflama (Attenuation) oranını vermektedir. Grafikte görüldüğü gibi kabin 230 Hz frekansın altında beklenen şekilde çalışmamaktadır. Kabin dışındaki gürültü içeriye 2-3 kat büyüyerek etki oluşturmaktadır. Bu analiz sonucunda iyileştirme için kabin duvarları kalınlaştırılmaya çalışılmış ve kabin ayaklarına ağırlıklar eklenmiştir. Ancak test sonuçlarında ciddi anlamda olumlu bir gelişme kaydedilememiştir.



Şekil 4.24 : Akustik izolasyon kabini için frekansa bağlı gürültü geçirme oranı.

5. DENEYSEL SONUÇLAR

AKM’de geliştirmeler belirli bir düzeye oluşturulduktan sonra deneysel sonuçlara geçildi. İlk denemede FM-AKM (değmeyen mod) tekniğı ile saf su içerisinde blu-ray disk görüntülendi. şekil 5,1(a)’da blu-ray diskten sıvı ortamda alınmış görüntü verilmiştir. şekil 5,1(b) yüzeydeki enerji yitimini göstermektedir.

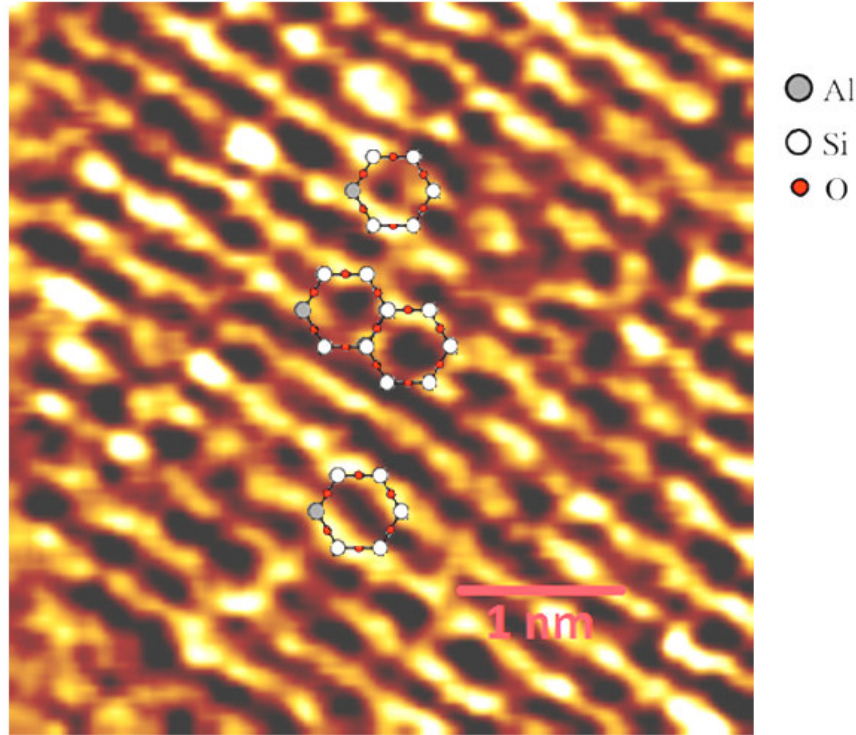


şekil 5.1 : Kapalı sıvı hücre AKM de alınan ilk blu-ray disk görüntüsü. (a) topografi (b) Enerji yitimi. Saf suda PPP-NCHR AKM yayı, $f_0=145\text{kHz}$, $Q=11$, $\Delta f=+30\text{Hz}$.

Blu-ray diskten sonra mika yüzeyini atomik çözünürlükte görüntüleme üzerinde çalışıldı. Mika yüzeyinin atomik çözünürlükte çözülmesi sistemin performansının anlaşılabilmesi için en uç noktadaki örneklerden birisidir. Eğer mika yüzeyinin atomik yapısı başarılı bir şekilde görntlenebilirse diğer uygulamaların da başarılı bir şekilde sonulandırılabilineceği dşnld.

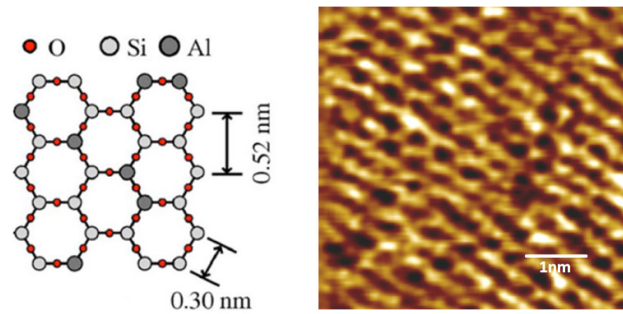
Bir yüzeyden atomik çözünürlükte görüntü alınabilmesi için, kullanılan yay iğnesinin en ucunda tek atom bulunması gereklidir. Eğer iğnenin ucu atomik yapıyı çözmeye elverişli değilse yüzeyden atomik çözünürlükte görüntü alabilmek mümkün olamaz. Tüm deneylerde Nanosensors firması tarafından üretilen PPP-NCHR AKM yayı kullanılmıştır. Deneylerde mika yüzeyinden atomik çözünürlükte görüntü alınabilmesi başarıldı. Yüzeyin kafes yapısı beklenen ölçülerde çözülmüştür. Mika yüzeyinden alınan atomik çözünürlük görüntü şekil 5,2’de verilmiştir. Görüntü

üzerine mika yüzeyi modeli yerleştirilerek yapıdaki atomlar belirtilmiştir. Uzun süre yapılan deneylerden sonra denenen yayların sadece %10' unda atomik çözünürlük alınabildiği görüldü.



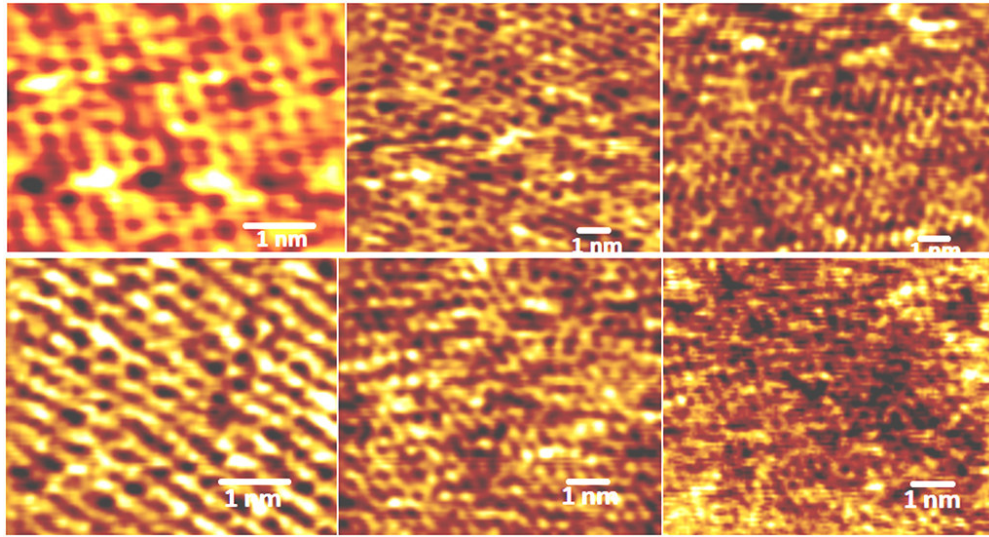
Şekil 5.2 : Atomik çözünürlükte PBS çözeltide görüntülenmiş Mika yüzeyi. Mika yüzeyi tabaka kaldırma tekniği ile temizlenmiştir. Görüntüleme parametreleri $\Delta f = +50$ Hz, $A=0.9$ nm, $Q=11$, Tarama hızı: 300 nm/s, AKM yayı: Nanosensors NCHR, $k=32$ N/m.

Mika yüzeyinden alınan diğer bir atomik çözünürlük görüntü ve yüzey modeli Şekil 5.3'te verilmiştir.



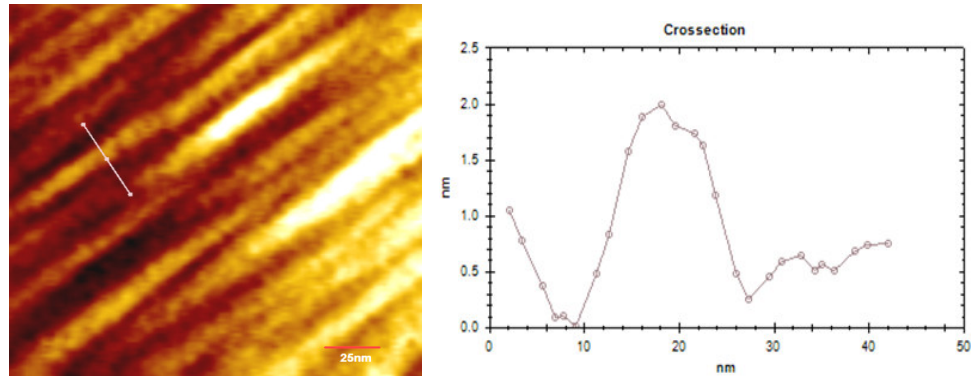
Şekil 5.3 : Kapalı sıvı hücre içerisinde PBS çözeltisinde alınmış atomik çözünürlükte mika yüzeyi görüntüsü ve yüzeyin kafes yapısı. Görüntüleme parametreleri $\Delta f = +80$ Hz, $A=0.8$ nm, $Q=10$, Tarama hızı: 400 nm/s, AKM yayı: Nanosensors NCHR, $k=35$ N/m.

Alınan sonuçların doğruluğu birçok kontrol ile test edildi. Atomik çözünürlük alınan bir bölge değişik açılarla taranarak kafes çizgilerinin döndüğü görüldü. Tarama alanı değiştirilerek kafes parametresinin tutarlı olup olmadığı kontrol edildi. Tarama sırasında yayın gidişinde ve dönüşünde görüntü alınarak birebir tutarlı olup olmadığı incelendi. Tüm testler sonucunda alınan görüntülerin gerçekten mika yüzeyinin atomik yapısını gösterdiği anlaşıldı. AKM sisteminin çalışmasında süreklilikte çok önemli faktörlerden birisidir. Bundan dolayı değişik zamanlarda mika yüzeyinde atomik çözünürlükte birçok görüntü alınarak sistemin sürekliliği Şekil 5.4'te gösterilmektedir.

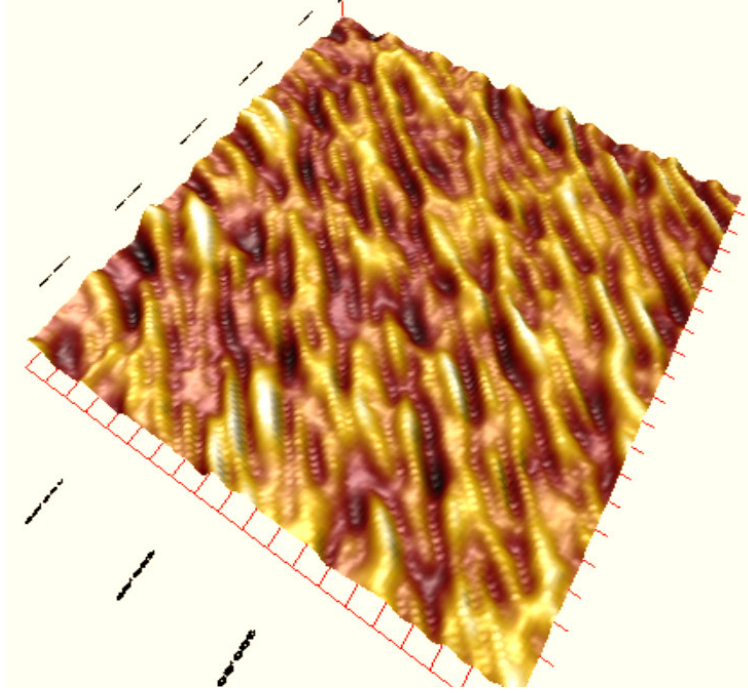


Şekil 5.4 : Kapalı sıvı hücre içerisinde PBS çözeltisinde alınmış atomik çözünürlükte mika yüzeyi görüntüleri.

Daha sonra AKM sistemi biyolojik örnekler üzerinde test edildi. İlk deneyde saf su içerisinde DSPE-PEG (2000) Lipid yapısı görüntülendi. Elde edilen görüntü ve 3 boyutlu yapısı Şekil 5.5 ve Şekil 5.6'da verilmiştir.



Şekil 5.5 : Saf su içerisinde görüntülenmiş altın yüzeyde DSPE-PEG (2000) Lipid



Şekil 5.6 : DSPE-PEG(2000) Lipid 3B yapısı

6. SONUÇ

Bu çalışmada kapalı sıvı hücre içerisinde ortamın atomik çözünürlükte görüntülenmesini sağlayan bir Atomik Kuvvet Mikroskobu geliştirildi. Biyolojik molekülleri kendi doğal ortamlarında yüksek çözünürlükte görüntülemenin tek yolu sıvı AKM' dir. Geliştirilen sistem örnek yüzeyinin kapalı sıvı hücre içerisinde görüntülenmesine imkân vermektedir. Düşük gürültülü AKM sistemi ile biyolojik örnekleri kendi ortamlarında incelemenin yanı sıra malzemelerin özel şartlar altında karakterize edilmesine fırsat vermektedir.

Nanomanyetik bilimsel cihazlar firması tarafından üretilen AKM optimize edilerek gürültü seviyesi düşürüldü. Yapılan geliştirmelerle birlikte AKM sisteminin gürültü seviyesi havada 20 fm/ $\sqrt{\text{Hz}}$ ve sıvıda 29 fm/ $\sqrt{\text{Hz}}$ olarak kaydedildi. Gürültü düşürme için lazer ışık kaynağına RF modülasyonu uygulanarak lazerin çoklu modda çalışması sağlandı. Bu durumda lazerin iç ve dış gürültü kaynakları düşürüldü. Yay tutucu tasarlanarak sıvı ortamda yayın gerçek rezonans eğrisinin elde edilebilmesi sağlandı. Kapalı sıvı hücreye uygun olarak PEEK malzemesinden yay ve örnek tutucu tasarlandı. Atomik çözünürlük elde edebilmek için uygun piezo tasarlanarak test edildi. AKM sisteminin optik düzenek verimi yükseltildi.

Geliştirme aşamasından sonra deneysel sonuçlar için ilk olarak sıvı ortamda blu-ray disk görüntüldü. Daha sonra sistem performansını test amacıyla mika yüzeyi FM-AKM tekniği ile atomik çözünürlükte görüntüldü. Biyolojik moleküller arasında DSPE-PEG (2000) Lipid yapılar altın yüzeyine bağlanılarak incelendi. İlerleyen çalışmalarda biyolojik örnek ve uygulama çeşitliliğinin artırılması hedeflenmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] **Binnig, G., Rohrer, H., Gerber, Ch., Weibel, E.,** 1982: Surface studies by scanning tunneling microscopy, *Phys. Rev. Lett.*, **49**, 57–61.
- [2] **Binnig, G., Quate, C.F., Gerber, Ch.,** 1986: Atomic force microscope, *Phys. Rev. Lett.*, **56**, 930–933.
- [3] **Albrecht, T. R., Grütter, P., Horne, D. and Ruger, D.,** 1991: *J. Appl. Phys.*, **69**, 668.
- [4] **Fukuma, T., Kimura, M., Kobayashi, K., Matsushige, K., Yamada, H.,** 2005: Development of low noise cantilever deflection sensor for multienvironment frequency-modulation atomic force microscopy, *Rev. Sci. Instrum.*, **76**, 053704.
- [5] **Fukuma, T., Higgins, M.J., Jarvis, S.P.,** 2007: Direct imaging of lipid-ion network formation under physiological conditions by frequency modulation atomic force microscopy, *Phys. Rev. Lett.*, **98**, 106101.
- [6] **Fukuma, T., Jarvis, S. P.,** 2006: Development of liquid-environment frequency modulation atomic force microscope with low noise deflection sensor for cantilevers of various dimensions, *Rev. Sci. Instrum.*, **77**, 043701.
- [7] **Asakawa, H., Fukuma, T.,** 2009: Spurious-free cantilever excitation in liquid by piezoactuator with flexure drive mechanism, *Rev. Sci. Instrum.*, **80**, 103703.
- [8] **Fukuma, T.,** 2009: Wideband low-noise optical beam deflection sensor with photothermal excitation for liquid-environment atomic force microscopy”, *Rev. Sci. Instrum.*, **80**, 023707.
- [9] **Kageshima, M., Chikamoto, T., Ogawa, T., Hirata, Y., Inoue, T., Naitoh, Y., Li, Y. J. and Sugawara, Y.,** 2009: Development of atomic force microscope with wide-band magnetic excitation for study of soft matter dynamics, *Review of Scientific Instruments*, **80**, 023705.
- [10] **Fukuma, T., Ueda, Y., Yoshioka, S. and Asakawa H.,** 2010: Atomic-Scale Distribution of Water Molecules at the Mica-Water Interface Visualized by Three-Dimensional Scanning Force Microscopy, *Phys. Rev. Lett.*, **104**, 016101.
- [11] **Yamada, H., Kobayashi, K., Fukuma, T., Hirata, Y., Kajita T. and Matsushige, K.,** 2009: Molecular Resolution Imaging of Protein Molecules in Liquid Using Frequency Modulation Atomic Force Microscopy, *Appl. Phys. Express*, **2**, 095007.
- [12] **Kobayashi, N., Asakawa, H., Fukuma, T.,** 2010: Nanoscale potential measurements in liquid by frequency modulation atomic force microscopy, *Rev. Sci. Instrum.*, **81**, 123705.

- [13] **Hoogenboom, B. W., Frederix, P. L. T. M., Fotiadis, D., Hug, H. J. and Engel, A.,** 2008: Potential of interferometric cantilever detection and its application for SFM/AFM in liquids, *Nanotechnology*, **19**, 38.
- [14] **Rasool, H. I., Wilkinson, P.R., Stieg, A. Z., and Gimzewski, J. K.,** 2010: A low noise all-fiber interferometer for high-resolution frequency modulated atomic force microscopy imaging in liquids. *Review of Scientific Instruments*, **81**, 2, 023703-1-023703-10.
- [15] **Albrecht, T. R., Akamine, S., Carver, T. E., and Quate, C. F.,** 1990: Microfabrication of cantilever styli for the atomic force microscope, *J. Vac. Sci. Technol. A.*, **8**, 3386
- [16] **Zhong, Q., Inniss, D., Kjoller, K., Elings, V. B.,** 1993: Fractured polymer/silica fiber surface studied by tapping mode atomic force microscopy, *Surf. Sci.*, **290**, L688–L692.
- [17] **Albrecht, T. R., Grutter, P., Horne, H. K. and Rugar, D.,** 1991: Frequency modulation detection using high-Q cantilevers for enhanced force microscope sensitivity, *J. Appl. Phys.*, **69**, 668-673.
- [18] **Giessibl, F. J.,** 1995: Atomic resolution of the silicon (111)–(7 x 7) surface by atomic force microscopy, *Science*, **267**, 68–71.
- [19] **Meyer, G., Amer, N. M.,** 1990: Simultaneous measurement of lateral and normal forces with an optical-beam-deflection atomic force microscope, *Appl. Phys. Lett.*, **57**, 2089-2091.
- [20] **Alexander, S., Hellemans, L., Marti, O., Schneir, J., Elings, V., Hansma, P. K., Longmire, M. and Gurley, J.,** 1989: An atomic-resolution atomic-force microscope implemented using an optical lever, *J. Appl. Phys.*, **65**, 164.
- [21] **Martin, Y., Williams, C. C., Wickramasinghe, H. K.,** 1987: Atomic force microscope–force mapping and profiling on a sub 100-Å° scale, *J. Appl. Phys.*, **61**, 4723–4729.
- [22] **Müller D. J., Büldt G., Engel A.,** 1995: Force-induced conformational change of bacteriorhodopsin, *J. Mol. Biol.*, **249**, 239–243.
- [23] **Weisenhorn, A. L., Egger, M., Ohnesorge, F., Gould, S. A. C., Heyn, S. P., Hansma, H. G., Sinsheimer, R. L., Gaub, H. E. and P. K. Hansma,** 1991: Molecular-resolution images of Langmuir–Blodgett films and DNA by atomic force microscopy, *Langmuir*, **7**, 8–12.
- [24] **Hansma, P. K., Cleveland, J. P., Radmacher, M., Walters, D. A., Hillner, P. E., Bezanilla, M., Fritz, M., Vie, D., Hansma, H. G., Prater C. B., Massie, J., Fukunaga, L., Gurley, J. and Elings, V.,** 1994: Tapping mode atomic force microscopy in liquids, *Appl. Phys. Lett.*, **64**, 1738–1740.
- [25] **Putman, C. A. J., Werf, K. O. V. der, Grooth, B. G. D., Hulst, N. F. V. and Greve, J.,** 1994: Tapping mode atomic force microscopy in liquid, *Appl. Phys. Lett.*, **64**, 2454–2456.
- [26] **Ando, T., Uchihashi, T. and Fukuma, T.,** 2008: High-speed atomic force microscopy for nano-visualization of dynamic biomolecular processes, *Prog. Surf. Sci.*, **83**, 337-437.

- [27] **Giessibl, F. J.**, 2001: A direct method to calculate tip-sample forces from frequency shifts in frequency-modulation atomic force microscopy, *Appl. Phys. Lett.*, **78**, 123–125.
- [28] <<http://www.nanosensors.com/PPP-NCHR.htm>>, alındığı tarih 20.01.2011.
- [29] **Giessibl, F. J., Bielefeldt, H., Hembacher, S. and Mannhart, J.**, 1999: Calculation of the optimal imaging parameters for frequency modulation atomic force microscopy, *Appl. Surf. Sci.*, **140**, 352–357.
- [30] **Ojima, M., Arimoto, A., Chinone, N., Gotoh, T. and Aiki, K.**, 1986: Diode laser noise at vide frequencies in optical videodisc players, *Appl. Opt.*, **25**, 1404–1410.
- [31] **Arimoto, A., Ojima, M., Chinone, N., Oishi, A., Gotoh, T., Ohnuki, N.**, 1986: Optimum conditions for the high frequency noise reduction method in optical videodisc players, *Appl. Opt.*, **25**, 1398–1403.
- [32] <<http://optical-technologies.info>>, alındığı tarih 05.03.2011
- [33] **Giessibl, F. J., Hembacher, S., Bielefeldt, H. and Mannhart, J.**, 2000: *Science*, **289**, 422.
- [34] **Ojima, M., Arimoto, A., Chinone, N., Gotoh, T., Aiki, K.**, 1986: Diode laser noise at vide frequencies in optical videodisc players, *Appl. Opt.*, **25**, 1404–1410.
- [35] **Arimoto, A., Ojima, M., Chinone, N., Oishi, A., Gotoh, T. and Ohnuki, N.**, 1986: Optimum conditions for the high frequency noise reduction method in optical videodisc players, *Appl. Opt.*, **25**, 1398–1403.
- [36] **Albrecht, T. R., Grütter, P., Horne, D. and Ruger, D.**, 1991: Frequency modulation detection using high-Q cantilevers for enhanced force microscope sensitivity, *J. Appl. Phys.*, **69**, 668.
- [37] <<http://focus.ti.com/docs/prod/folders/print/uaf42.html>>, alındığı tarih 20.02.2011
- [38] <<http://www.eblproducts.com/piezotube.html>>, alındığı tarih 20.08.2010
- [39] **Tamayo, J., Garcia, R.**, 1996: Deformation, contact time, and phase contrast in tapping mode scanning force microscopy, *Langmuir*, **12**, 4430–4435.
- [40] **Bar, G., Thomann, Y., Brandsch, R., Cantow, H. J. and Whangbo, M. H.**, 1997: Factors affecting the height and phase images in tapping mode atomic force microscopy. Study of phase-separated polymer blends of poly (etheneco-styrene) and poly (2,6-dimethyl-1,4-phenylene oxide), *Langmuir* **13**, 3807–3812.
- [41] **Fukuma T., Kobayashi K., Matsushige K., Yamada H.**, 2005: True molecular resolution in liquid by frequencymodulation atomic force microscopy, *Appl. Phys. Lett.*, **86**, 193108.
- [42] **Morita, S., Wiesendanger, R., Meyer, E., Giessibl, F. J.**, 2000: *Noncontact Atomic Force Microscopy*, Springer, New York, 11–46.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Ümit Çelik

Doğum Yeri ve Tarihi: 01.03.1984

Lisans Üniversitesi: Çankaya Üniversitesi – Bilgisayar Mühendisliği

Yayın Listesi:

- H. Eren, **Ü. Çelik**, M. Poyraz, "Stereo Vision and Statistical Based Behaviour Prediction of Driver", 2007 IEEE Intelligent Vehicles Symposium, Istanbul, Turkey, June 13-15.
- H. Eren, **Ü. Çelik**, M. Poyraz, "Medical Image Segmentation Using Semiautomatic Methods: Experimental Analysis Of Tibial Tunnel Enlargement", 4th FAE International Symposium, Lefke, Cyprus, 30 Nov - 1 Dec 2006.
- H. Eren, **Ü. Çelik**, M. Poyraz, "Experimental Investigation On Accuracy Of Camera Calibration Performed By Standard Webcams", 4th FAE International Symposium, Lefke, Cyprus, 30 Nov - 1 Dec 2006.
- H. Eren, **Ü. Çelik**, M. Poyraz, "Factors Affected On The Performance Of Stereo Vision And Key Aspects", 4th FAE International Symposium, Lefke, Cyprus, 30 Nov - 1 Dec 2006.
- H. Eren, **Ü. Çelik**, M. Poyraz, "Analysis Of Effective Face Detection Algorithms: Experimental Evaluations Using Low Cost Cameras", 4th FAE International Symposium, Lefke, Cyprus, 30 Nov - 1 Dec 2006.
- H. Eren, **Ü. Çelik**, M. Poyraz, "Affordable Cost Effective Vision Systems For Computer Vision Applications: Experimental Comparisons", 4th FAE International Symposium, Lefke, Cyprus, 30 Nov - 1 Dec 2006.
- H. Eren, **Ü. Çelik**, M. Poyraz, "Software Development Tools In Computer Vision: An Experimental Overview To Opencv", 4th FAE International Symposium, Lefke, Cyprus, 30 Nov - 1 Dec 2006.
- Eren, **Ü. Çelik**, M. Poyraz, "Evaluation Of 3D High Resolution Images Using Inexpensive Distributed Parallel System: Application Fields On Medical Images", IEEE 15th. Signal Processing and Communications Applications Conference, Eskisehir, Turkey, June 11-13, 2007.
- H. Eren, **Ü. Çelik**, M. Poyraz, "The Calibration Targets for Stereo Vision Using Web Camera", IEEE 14th. Signal Processing and Communications Applications Conference, Antalya, Turkey, April 17-19, 2006.
- A. Atay, , H. Eren, **Ü. Çelik**, "Evaluation of Tibial Tunnel Widening on X-Ray Images Using Live-Wire and Active Contour Methods Following ACL Reconstruction ", BIYOMUT 2006, Istanbul,Turkey, May 25-27, 2006