

# 利用原子力显微镜探测化学基团间的单键力

魏钟晴 王 琛 白春礼

(中国科学院化学研究所纳米科学与技术青年实验室 北京 100080)

**摘 要** 原子力显微镜 (AFM) 不仅可用于形貌测量, 而且还可在纳米尺度上测量微观组分间的相互作用力。本文简要介绍了 AFM 的一种令人非常感兴趣的用途——测量和推算单个化学基团对之间的作用力 (单键力)。单键力的测量和推算涉及 AFM 针尖的自组装单分子膜的化学修饰和 Poisson 统计方法的利用, 文中概述了测量和推算的步骤和原理。AFM 应用范围的拓宽必将促进它的进一步改进和发展。

**关键词** 原子力显微镜 (术) 粘附力 单键力 自组装单分子膜 Poisson 统计

## 1 引言

原子力显微镜 (AFM)<sup>[1]</sup> 自发明以来已被广泛地用于各种材料 (无机、有机、高分子、生物等样品) 的成像。许多样品的成像已达到原子级分辨率。它克服了扫描隧道显微镜 (STM) 只能成像导电性材料的局限, 对导体或非导体均可在大气、液体或真空条件下进行成像, 从而大大拓宽了扫描隧道显微镜 (SPM) 的成像范围。

AFM 的用途远不止于形貌测量, 它的另外一个最重要的用途就是在纳米尺度 ( $10^{-9}$  牛顿) 上探测 AFM 针尖和样品间的相互作用力, 进而提供样品表面的局域化学信息。AFM 力曲线表示了针尖和样品间距与二者之间作用力的关系 (如

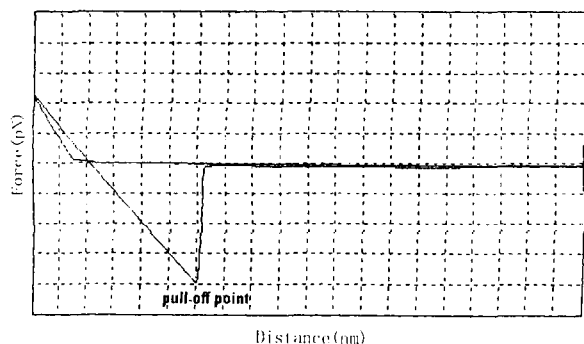


图 1 典型的 AFM 力曲线。

图中示出了 AFM 针尖和样品表面间距离与二者间相互作用力的关系

图 1 所示)。一般来讲, 物质的各种存在形式是分子间相互作用的结果, 对分子间力的研究有助于我们提高对一些微观现象, 诸如粘附、摩擦、润滑等的认识。许多探测技术, 如表面力仪

(SFA)<sup>[2-3]</sup>、界面力显微镜 (IFM)<sup>[4]</sup>、光钳 (optical tweezer)<sup>[5-7]</sup> 以及生物力分子探针技术 (BFP)<sup>[8]</sup> 都可用于分子间力的测量。然而, 虽然这些技术能够测量相互作用力, 但是在测量单个分子——分子间的相互作用力方面, 它们大多缺乏足够的分辨率。在这方面, 化学力显微镜 (CFM)<sup>[9]</sup> 应运而生并成为一种有效的手段来测量单个分子对间或单个化学基团对间的相互作用。化学力显微镜是 AFM 的一种改进和发展, 它涉及到 AFM 针尖的化学修饰, 使用不同的分子进行修饰可以使我们灵活地选择不同的研究体系。CFM 将 AFM 的测量灵敏性和针尖化学修饰的灵活性相结合使其成为一种方便而又强有力的工具去研究各种体系的分子间力。有鉴于此, C. M. Lieber 研究小组<sup>[9-10]</sup> 首先提出了力滴定的概念, 并研究了各种化学基团间的粘附力性质, 进而得到了样品表面的局域信息。本文介绍 AFM 的另外一种应用, 即通过对 AFM 力测量结果的分析推算出单个分子对间或单个化学基团对间的相互作用力 (我们统称其为单键力)。AFM 的这一应用正引起人们的极大兴趣和关注。

目前主要有三种方法可以用于估测单个分子间对的相互作用或者单个化学基团对间的相互作用。第一种方法涉及到多次测量得到的针尖提拉力差别 (pull-off force differences) 的频率分布。这种频率分布呈现出锯齿状的峰, 从峰的宽度可推算出克服单个分子对间相互作用所需的力, 即所谓的“力量子” (force quantum)。Hoh 等人<sup>[11]</sup> 探测到了量子化的粘附力, 并将其归结为单个氢

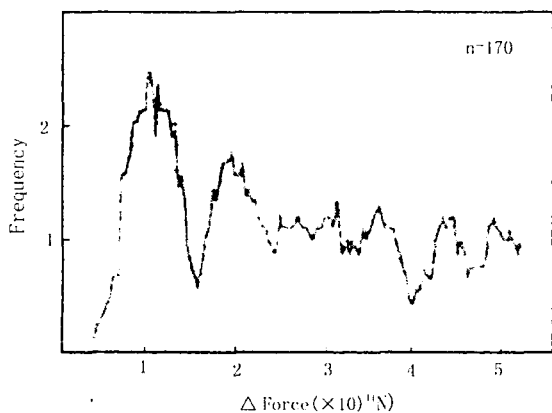


图2 Hoh等人利用“力量子”方法推算单键力的示意图<sup>[11]</sup>

键的相互作用(如图2所示)。然而,这种方法需要大量的力曲线,多次的针尖-样品接触很有可能导致样品的损坏。第二种方法涉及到JKP(Johnson-Kendall-Roberts)理论<sup>[12]</sup>,利用它推测单键力的前提是必须知道针尖的半径和表面自由能。但事实上针尖的结构是很难准确确定的。第三种方法是由Beebe等人发展起来的Poisson统计方法。一些文献<sup>[13-18]</sup>详细报道了利用这种方法推测单键力的过程。Poisson统计方法不需要假定表面自由能和针尖-表面间的接触面积,也不受仪器的力的分辨率的限制。在结合我们的研究工作的基础上,本文主要介绍Poisson统计方法在推算单键力方面的应用。

## 2 用原子力显微镜测量单键力的原理

众所周知,当经自组装单分子膜修饰的AFM针尖脱离样品表面时,在针尖和样品间就会产生粘附力。如果力的测量在液体中进行,那么在针尖和样品间将不会存在毛细力。粘附力只能来源于针尖和样品上化学基团间的相互作用。Poisson统计方法基于下列两点假设:1.由AFM力曲线测得的粘附力( $F$ )是许多分立的化学键作用和非共价键作用(如氢键、范德华力等)的总和。每对基团间总的相互作用抽象为单键力。2.所有单键力( $F_i$ )具有相同的数值。该方法涉及多组粘附力的测量值。在针尖和样品接触面积保持相对恒定的情况下,多次测量粘附力,可以得到一组分立的数值。在样品的不同位置重复这一过程,就可得到多组分立的粘附力值。在每一组测量中,在针尖提拉点(pull-off point)处,发

生相互作用的基团对的数目( $n$ )将服从Poisson分布,这一分布可表示为:

$$P(n) = \frac{(n_{av})^n}{n!} e^{-n_{av}} \quad (1)$$

$$\sigma_n^2 = n_{av} \quad (2)$$

其中, $P(n)$ 表示形成某一数目的键的几率, $n_{av}$ 和 $\sigma_n^2$ 分别表示在提拉点处形成的许多键的平均数和方差。如果将任何可能的非特异性的力(non-specific force)  $F_0$ (不包含化学键、氢键和范德华力)考虑进去,那么,每组测量的粘附力值将遵从下列方程:

$$F_{av} = n_{av} F_i + F_0 \quad (3)$$

和  $\sigma_F^2 = (\sigma_n F_i)^2 = n_{av} F_i^2$  (See eq. 2) (4)

其中 $F_i$ 表示单键力值, $F_{av}$ 和 $\sigma_F^2$ 分别表示每组测量中粘附力的平均值和方差。由方程(3)和(4)我们可进一步得到下列方程:

$$\sigma_F^2 = n_{av} F_i^2 = F_{av} F_i - F_i F_0 \quad (5)$$

很明显,分别以 $\sigma_F^2$ 、 $F_{av}$ 为纵、横坐标作图,就可以得到一条斜率和截距分别为 $F_i$ 和 $-F_i F_0$ 的直线。这样,利用多组测量数据,我们就可以获得单键力 $F_i$ 。图3给出了由此步骤得到单键力的一个具体实例。我们在此简单介绍了利用AFM测得的粘附力数据,通过Poisson统计方法推算出单键力的基本轮廓。在具体应用这种方法时,还要注意一些问题。有兴趣的读者可参阅有关参考文献<sup>[13-18]</sup>。

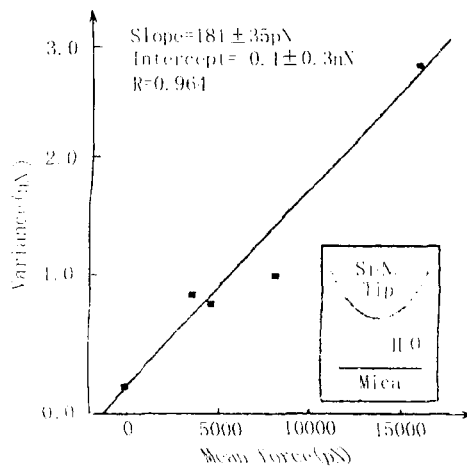


图3 利用Poisson统计方法推算单键力示意图<sup>[13]</sup>

## 3 利用原子力显微镜测量单键力工作介绍

Beebe及其合作者研究了许多自组装单分子

膜(SAM)间的单键力,这些SAM具有各种不同的末端官能团。最先见诸报道的是,对末端为 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_3$ 等基团的硫醇分子的研究<sup>[14]</sup>。他们详细研究了这些分子在水、1-丙醇和环己烷等溶剂中的单键力。结果表明,若针尖和基底(都先镀上金层)都修饰上 $\text{HS}(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$ 分子,测得的单键力分别为 $16.6 \pm 1.8 \text{ pN}$ (水中)、 $57.1 \pm 10.3 \text{ pN}$ (1-丙醇)和 $70.6 \pm 2.4 \text{ pN}$ (环己烷中)。与之对比,不被任何分子修饰的针尖和镀金基底间的单键力分别是 $59.7 \pm 4.2 \text{ pN}$ (水中)和 $229.2 \pm 4.2 \text{ pN}$ (1-丙醇中)。他们将推算得到的各种溶剂条件下的 $-\text{COOH}$ 间的单键力主要归结为 $-\text{COOH}$ 间的氢键作用,并根据不同溶剂介电常数的不同外推得到了真空下 $-\text{COOH}$ 间的单键力为 $144 \pm 7 \text{ pN}$ ,进而推算出了 $-\text{COOH}$ 间的氢键能为 $7.6 \pm 0.4 \text{ kJmol}^{-1}$ 。另外,将测得的总的粘附力值除以单键力得到了在提拉点处发生相互作用的 $-\text{COOH}$ 基团对数 $n$ 。结果表明,基于每组粘附力测量值的 $n$ 服从Poisson分布,在 $n_{\text{avg}}$ 的右端显示出相对较长的拖尾,这是Poisson分布的标准特征。实验测量和利用上面的理论分析得到的结果吻合得较好,如图4所示。令人感兴

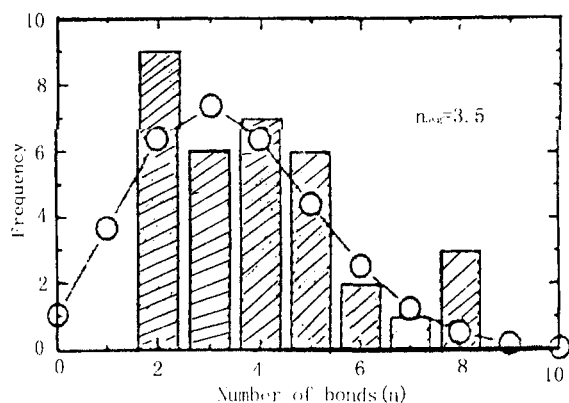


图4 由Poisson统计分布方法测得的发生相互作用的化学基团的对数( $n$ ) (方柱)和理论Poisson统计分布(圆圈+线)的对比。

二者右端显示出较长的拖尾,这是Poisson分布的标准特征

有趣的是,他们甚至可以从不同溶剂下的力曲线的逼近部分推断出相互作用的性质(斥力或是引力),并对这些相互作用进行了理论拟合。结论为,以 $-\text{COOH}$ 基功能团化的针尖和基底表面间的相互作用在水中是斥力(许多力的总和,如静电斥力、静电双层斥力、水合层斥力等),而在环己烷

中却是引力(氢键作用)。Williams等人<sup>[13]</sup>研究了在水溶剂中未被任何分子修饰的 $\text{Si}_3\text{N}_4$ 针尖与云母、镀金云母间的单键力,并将前者归结为 $-\text{OH}$ 间的氢键作用,而将后者归结为 $-\text{OH}$ 与金之间的范德华力作用。同时,对Poisson统计方法和上面提及的“力量子”方法进行了对比和分析。

Beebe研究小组的Wenzler等人<sup>[18]</sup>进一步研究了更为复杂的有机硅烷自组装单分子膜间的单键力。这些膜包括 $-\text{Si}(\text{CH}_2)_{11}\text{OC}=\text{O}(\text{CH}_3)$ 、 $-\text{Si}(\text{CH}_2)_{11}\text{OH}$ 、 $-\text{Si}(\text{OH})_2$ 、 $-\text{Si}(\text{CH}_2)_{11}\text{SC}=\text{O}(\text{CH}_3)$ 、 $-\text{Si}(\text{CH}_2)_{11}\text{SH}$ ,所使用的溶剂为水、DMSO和1-丙醇。用X射线光电子能谱(XPS)对这些单层膜进行了表征。在另外一篇文献<sup>[17]</sup>中,Wenzler等人报道了另外一些针尖和基底组合体系间的单键力。这些经自组装单分子膜修饰后的针尖-基底组合包括(1) $-\text{OH}(\text{Si}_3\text{N}_4) \sim -\text{OH}(\text{SiO}_2)$ ; (2) $-(\text{OCH}_3)_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{Br} \sim -(\text{OCH}_3)_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{Br}$ ; (3) $-(\text{OCH}_3)_3(\text{CH}_2)_{17}\text{CH}_3 \sim -(\text{OCH}_3)_3(\text{CH}_2)_{17}\text{CH}_3$ ; (4) $-(\text{OCH}_3)_3(\text{CH}_2)_{17}\text{CH}_2\text{Br} \sim \text{OH}(\text{SiO}_2)$ 。他们还用XPS和飞秒级二次离子质谱(TOF-SIMS)等手段对这些自组装单分子膜进行了表征。所使用的测量介质分别为水、甲醇和1-丙醇。他们将推算得到的单键力进行了归属和分类。(1)-(4)体系的单键力分别归属为氢键作用、范德华力和憎水作用力。我们把所有这些单键力总结在表1中。

随后,Beebe研究小组的Stevens等人<sup>[16]</sup>又进一步发展了一种计算机模型来验证Poisson统计方法的可靠性,并对用于推算单键力的“力量子”方法和Poisson统计方法进行了比较。他们的结论是,不管噪音和粘附力方差的来源是什么,Poisson统计方法都能用于准确地推算单键力,而“力量子”方法只在低噪音情况下才能给出较好的结果。值得特别指出的是,有三种情况利用Poisson统计方法不能得到准确的单键力,其中最重要的一点涉及到成键的几率。如果要得到准确的结果,这一几率值必须足够低(理想值为 $< 5\%$ )。另外,他们利用这一模型,对推算单键力的JKR理论方法也进行了检验。Poisson统计方法和JKR理论方法并不一定产生相同的结果,但在计算单键力方面可互为补充。如果二者结合使用则能给出更为准确的结果,包括单键力值和成键几率。

表 1 各种 SAM 修饰的针尖和基底间的单键力 (pN)

针尖~基底的 SAM 组成	测 量 介 质			
	H <sub>2</sub> O	CH <sub>3</sub> OH	1-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> OH	DMSO
-Si(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> OH~-Si(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> OH	119±16		302±40	202±8
-Si(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> SH~-Si(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> SH	60±5		118±11	84±11
-OH(Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> )~-OH(SiO <sub>2</sub> )	236±20			
-O(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> CH <sub>2</sub> Br~ -O(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> CH <sub>2</sub> Br	31±5	75±11	101±3	
-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>17</sub> CH <sub>2</sub> 3~ -(OCH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>17</sub> CH <sub>3</sub>	658±68		281±35	
-O(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> CH <sub>2</sub> Br~-OH(SiO <sub>2</sub> )	152±21			

Poisson 统计方法不仅可以用于测量含各种末端官能团的有机单分子膜间的单键力,还可用于测量生物分子间的单键力。生物分子间的高特异性相互作用,诸如抗原-抗体、配体-受体和 DNA-DNA 等的相互作用,在许多生物功能的分子识别过程中扮演着重要角色。例如,基因表达、酶的催化和有机体的自我保护等都依赖于这种相互作用。涉及这种相互作用的力可以用 micropipet suction、光学镊子和表面力仪来测量,更可以用 AFM 的力曲线并结合 Poisson 统计方法来测量和推求。Beebe 研究小组的 Lo 等人<sup>[15]</sup>首次用 Poisson 统计方法研究了生物素 (biotin) 和抗生物素蛋白 (avidin)、抗生蛋白链菌素 (streptavidin) 间的单分子相互作用力,其值分别为 173±19pN 和 326±33pN。这些结果与其它先前方法得到的结果进行了比较。更为重要的是,他们由此还得出一个相当诱人的结论,即:只要满足低成键几率这一条件,许多生物分子间的相互作用(单键力)都可以利用 Poisson 统计方法推求得到。

基于 Poisson 统计方法,我们在水溶剂中研究了用末端为-NH<sub>2</sub>的有机硅烷 APTES 自组装单分子膜修饰的针尖和基底间的相互作用,并推求出了-NH<sub>2</sub>~-NH<sub>2</sub>间的单键力<sup>[21]</sup>。这一结果和 Vegte 等人<sup>[19]</sup>、Thomas 等人<sup>[20]</sup>的结果进行了对比,他们分别在乙醇和真空条件下测量得到了-NH<sub>2</sub>~-NH<sub>2</sub>间的单键力。

#### 4 结束语

本文简要介绍了利用原子力显微镜 (AFM) 探测自组装单分子膜中化学基团间单键力的方法和原理,并对已有工作进行了回顾。单键力的探测

过程涉及 AFM 针尖的化学修饰和 Poisson 统计方法的利用。我们相信,原子力显微镜 (AFM) 不仅可以用于各种材料的形貌测量,而且还可以在纳米尺度上测量和推算化学基团间的单键力。原子力显微镜的发展必将进一步促进和提高人们对微观世界的认识。

#### 参考文献

- [1] G. Binnig, C. F. Quate, C. Gerber, Phys. Rev. Lett., 56 (1986), 930.
- [2] H. Yoshizawa, Y. -L. Chen, J. Israelachvili, J. Phys. Chem., 97 (1993), 4128.
- [3] H. Yoshizawa, P. Mcguiggan, J. Israelachvili, Science, 259 (1993), 1305.
- [4] R. C. Thomas, P. Tangyonyong, J. E. Houston, T. A. Michalske, R. M. Crook, J. Phys. Chem, 98 (1994), 4493.
- [5] S. C. Kuo, M. P. Sheetz, Science, 260 (1993), 232.
- [6] K. Svoboda, C. F. Schmidt, B. J. Schnapp, S. M. Block Nature, 365 (1993), 721.
- [7] T. Perkins, D. E. Smith, S. Chu, Science, 264 (1994), 819.
- [8] E. Evans, D. Berk, A. Leung, Biophys. J., 59 (1991), 838.
- [9] C. D. Frisbie, L. F. Rozsnyai, A. Noy, M. S. Wrighton, C. M. Lieber, Science, 265 (1994), 2071.
- [10] A. Noy, C. D. Frisbie, L. F. Rozsnyai, M. S. Wrighton, C. M. Lieber, J. Am. Chem. Soc., 117 (1995), 7943.
- [11] J. H. Hoh, J. P. Cleveland, C. B. Prater, J. -P. Revel, P. K. Hansman, J. Am. Chem. Soc., 114 (1992), 4917.
- [12] K. L. Johnson, K. Kendall, A. D. Roberts, Proc.

- R. Soc. London. A., 324 (1971), 301.
- [13] J. M. Williams, T. Han, T. P. Beebe, Jr., *Langmuir*, 12 (1996), 1291.
- [14] T. Han, J. M. Williams, T. P. Beebe, Jr., *Anal. Chim. Acta*, 307 (1995), 365.
- [15] Y. -S. Lo, N. D. Huefuer, W. S. Chan, F. Stevens, T. P. Beebe, Jr., *Langmuir*, 15 (1999), 1373.
- [16] F. Stevens, Y. -S. Lo, J. M. Harris, T. P. Beebe, Jr., *Langmuir*, 15 (1999), 207.
- [17] L. A. Wenzler, G. L. Moyes, G. N. Raiker, R. L. Hansen, J. M. Harris, T. P. Beebe, Jr., *Anal. Chem.*, 67 (1997), 2855.
- [18] L. A. Wenzler, G. L. Moyes, G. N. Raiker, R. L. Hansen, J. M. Harris, T. P. Beebe, Jr., *Langmuir*, 13 (1997), 3761.
- [19] E. W. van der Vegte, G. Hadjiioannou, *Langmuir*, 13 (1997) 4357.
- [20] R. C. Thomas, J. E. Houston, R. M. Crooks, T. Kim, T. A. Michalske, *J. Am. Chem. Soc.*, 117 (1995), 3830.
- [21] Z. Q. Wei, C. Wang, C. F. Zhu, C. Q. Zhou, B. Xu, *Surface Science*, in press.

## Investigations of Single-Bond Forces between Chemical Groups with Atomic Force Microscope

**Abstract** Atomic force microscope (AFM) can be used for not only topographical measurements but also force measurements between molecules or chemical groups at nanometer scale. This paper introduced an interesting method to derive single-bond force between chemical groups from AFM force measurements. The previous works related to this method were also described. We outlined the derivation process which involved the chemical modification of AFM tips with self-assembled monolayer and the use of Poisson statistics.

**Key words** Atomic Force Microscope ( $\gamma$ ) Adhesion Force Single-Bond Force Self-Assembled Monolayer (SAM) Poisson Statistics

## 国际会议信息

2000年9月3~9日

葡萄牙, 里斯本 (Lisbon)

Euroanalysis XI: 11届欧洲分析化学会议 (11th European Conference on Analytical Chemistry)

联系人: Dr. Cristina Oliverira

Departamento de Quimica e Bioquimica  
(化学和生物化学系)

Faculdade de Ciencias (理学院)

Universidade de Lisboa (里斯本大学)

Edificio C1-5° Piso, P-1700 Lisboa

Portugal (葡萄牙)

电话: (+351-1) 390-6138

传真: (+351-1) 390-9352

E-mail: euroanalysisxi@fc.ul.pt

Web-site: <http://clixir.cc.fc.ul.pt/euroanaly->

sisxi

2000年9月18~21日

德国, 久黎希 (Juelich)

第5届质谱技术痕量元素分析研讨会 (5th Symposium of Mass Spectrometric Techniques of Trace Element Analysis)

联系人: J. Sabine Becker

Central Department for Analytical  
Chemistry

Research Centre Juelich

D-52425 Juelich, Germany (德国)

电话: (+49-24) 61612698

传真: (+49-24) 61612560

E-mail: s.becker@fz-juelich.de

(雨段收集提供)