

Regression Modeling and Experimental Analysis of Critical Time in the First Phase of Three-Dimensional Manipulation Using a Design-of-Experiments-Based Simulation Approach

Moein Taheri¹, Ehsan Mansouri^{2*}, Fereshte Ghane¹, Zahra Sadat Eghdami¹

1- Department of Manufacturing Engineering, Faculty of Engineering, Arak University, Arak, Iran

2- Department of Industrial Engineering, Faculty of Engineering, Arak University, Arak, Iran

ABSTRACT

Atomic Force Microscopy (AFM) is one of the principal tools in nanotechnology, with extensive applications in biological, medical, and materials engineering fields. Using AFM enables precise investigation of mechanical properties of biological structures. In this study, the manipulation process of biological nanoparticles during the initial motion phase was investigated through a combination of numerical analysis and experimental testing using an (AFM). The main objective was to examine the effect of cantilever and tip geometric parameters on the critical time of the first phase and to develop an accurate predictive model. The geometric parameters including height, thickness, length, and width along with the particle radius were considered as influencing factors. A regression model was derived based on the effect of these parameters on critical time. Statistical analysis of the proposed model demonstrated a high level of accuracy and reliability, with a coefficient of determination (R^2) of 95.10%, showing full agreement with the experimental results. Furthermore, contour plots were employed to model system behavior under combined variable variations. The results revealed that increasing tip height and particle radius leads to a longer critical time. Additionally, the variation diagram of the manipulation force indicated that the total force applied to the particle increases continuously up to approximately 60 milliseconds before reaching a steady state. This point corresponds to critical force threshold, confirming validity of the proposed regression model.

KEYWORDS

Critical time modeling, multivariate regression model, three-dimensional manipulation, experimental design, Atomic Force Microscope

* Corresponding Author: Email: e-mansouri@araku.ac.ir

1. Introduction

By the expanding applications of nano- and micro-technologies in fields such as bioengineering, micro robotics, nanofabrication, and laboratory diagnostics, the need for precise control of objects at extremely small scales is increasing day by day. Since the atomic force microscope (AFM) introduction by Binnig et al.[1], it has become an essential tool for studying mechanical interactions, surface adhesion, and nanoparticle transport in various scientific and engineering fields. Understanding and predicting the critical time in the initial phase of manipulation requires an accurate knowledge of the interactions among multiple parameters, including the geometric characteristics of the cantilever, physical properties of the particle, surface conditions of the substrate, and the tip-particle contact properties. Given the complexity of these interactions, traditional experimental methods for independently analyzing each parameter face significant limitations. In this study, aiming to accurately determine the critical time at the onset of three-dimensional particle manipulation, an analytical framework based on experimental design has been developed. Key influential parameters, including the thickness and dimensions of the AFM cantilever, particle radius, substrate height, and contact characteristics, have been incorporated into the simulation model. The results of this research can be widely applied in optimizing the manipulation path and force, as well as in enhancing the precision of controlled systems at the nanoscale.

2. Methods and materials

2.1. Nano manipulation

In this study, nanoparticle manipulation experiments were conducted using an ICON model Atomic Force Microscope operating in contact mode, which allows simultaneous imaging and force application at the nanometer scale. The cantilever used in the experiments had a rectangular geometry with a pyramidal tip. Its geometric dimensions were 250 μm in length, 50 μm in width, and 2 μm in thickness. The pyramidal tip had a height of 40 μm and a tip radius of 50 nm. The effective spring constant of the cantilever was measured in the range of 0.04–0.07 N/m. The corresponding microscopic image of the AFM setup is presented in Figure 1(b). All experiments were conducted under controlled environmental conditions of temperature and humidity to minimize mechanical and thermal noise. The experimental procedure consisted of several stages: preparation and culturing of the cells, fixation of the cells on the substrate, localization of the target cells

using AFM imaging, and execution of the manipulation process. During manipulation, the force–displacement data were recorded in real time and subsequently analyzed numerically. The overall process followed a stepwise procedure: cell preparation and fixation, imaging and localization, manipulation execution, and finally, data extraction and analysis. The manipulation process generally occurs in two main phases. The first phase involves the initial contact and the onset of particle motion. This phase is particularly critical since accurate adjustment of the applied force and timing determines the success or failure of the manipulation. Two key parameters govern this stage: the critical force and the critical time. Accurate determination of the critical time requires a deep understanding of the factors influencing the interaction between the AFM tip and the nanoparticle, including the mechanical properties of the cantilever, the surface characteristics of the substrate, the geometric features of the particle, and the contact conditions. The overall structure of the experimental procedure is illustrated in Figure 1.

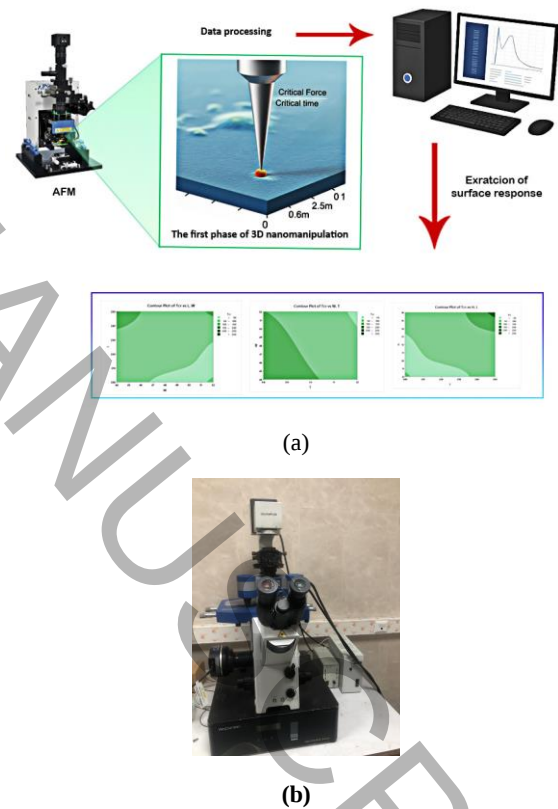


Figure 1. Schematic representation of the nanoparticle manipulation process and the Atomic Force Microscope (AFM).

2.2. Design of experiments

In this section, to evaluate the influence of geometric parameters on the temporal response of the system

under applied force, a series of AFM-based manipulation experiments were conducted. In total, 27 experiments were carried out using all possible combinations of these parameters. For each experiment, the critical manipulation time in the first phase (T) was recorded in milliseconds as the output variable. Using the collected data, a multiple regression model was extracted. The regression model included five independent variables: particle radius (R_p), tip height (H), cantilever length (L), cantilever width (W), and cantilever thickness (T).

The resulting regression equation was obtained as follows:

$$T_{cr} = 51.2 + 0.2178R_p + 7.194H + 1.111L - 4.0903W - 170.6T \quad (1)$$

The regression analysis indicated that the proposed model achieved a high coefficient of determination (95.10%), demonstrating that all input variables had statistically significant effects on the response variable (T).

Table 1. Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
12.6475	95.10%	93.93%	90.63%

3. Results and Discussion

This section presents an analysis of contour plots illustrating the influence of geometrical parameters such as tip height (H), tip length (L), particle radius (R_p), tip width (W), and thickness (T) on the critical manipulation time (T_{cr}) has shown on figure 2. The results indicate that higher values of H and R_p lead to increased T_{cr} , likely due to a larger effective contact area and stronger interaction forces.

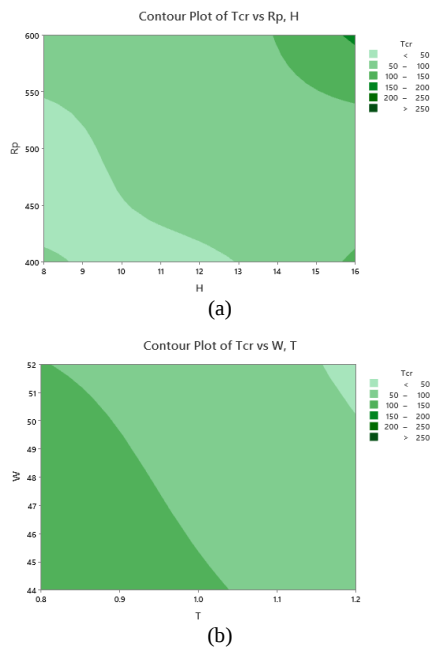


Figure 2. Diagram of the influence of parameters on critical time.

4. Conclusions

Atomic Force Microscopy (AFM) is recognized as main This technique enables researchers to examine the physical and mechanical behavior of nanoparticles, cells, and biological structures at the molecular level. Thanks to its ability to precisely apply and measure force, AFM has become an effective tool for determining parameters such as stiffness, surface adhesion, and elastic deformation. Among these applications, identifying and modeling the critical time required to initiate manipulation plays a crucial role in better understanding surface interactions and optimizing the design of nanoscale instruments.

In this study, a design of experiments (DOE) approach was employed to investigate the critical time required for three-dimensional nanoparticle manipulation and to identify the key parameters affecting it. The main objective was to develop a regression model for predicting the critical time in the X and Y directions and to perform a sensitivity analysis with respect to five key geometric parameters: particle radius (R_p), cantilever thickness (T), cantilever length (L), cantilever width (W), and tip height (H). To this end, a total of 27 systematically designed experiments were conducted. The statistical analyses revealed the following key observations: Geometrical parameters such as particle radius (R_p) and tip height (H) had the greatest influence on increasing the critical time. This increase is likely due to the enhanced mechanical contact between the AFM tip and the nanoparticle.

The tip thickness (T) showed an inverse effect: a decrease in thickness led to an increase in critical time, possibly due to higher flexibility and more effective contact.

Interaction effects among variables were clearly observed in contour plots. For instance, in the plot of critical time versus H and R_p , regions with the highest critical time corresponded to higher values of both parameters. The agreement of this behavior with contour data and the regression model demonstrates that the experimental design approach for predicting the critical time is reliable.

For future research, it is recommended that environmental factors including temperature, humidity, and substrate type be incorporated into the model to enhance its predictive accuracy under real operational conditions.

References

- [1] G. Binnig, C.F. Quate, C. Gerber, Atomic force microscope, Physical review letters, 56(9) (1986) 930.

مدل سازی رگرسیونی و تحلیل تجربی زمان بحرانی در فاز اول منیپولیشن سه بعدی با

رویکرد شبیه سازی مبتنی بر طراحی آزمایش ها

معین طاهری^۱، احسان منصوری^{۲*}، فرشته قانع^۱، زهرا سادات اقدامی^۱

۱- گروه مهندسی ساخت و تولید، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه اراک، اراک، ایران

۲- گروه مهندسی صنایع، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه اراک، اراک، ایران

* e-mansouri@araku.ac.ir

چکیده

میکروسکوپ نیروی اتمی به عنوان یکی از ابزارهای اصلی در نانوفناوری، کاربردهای گسترده ای در زمینه های زیستی، پزشکی و مهندسی مواد یافته است. این پژوهش، فرایند منیپولیشن نانوذرات زیستی در فاز آغازین حرکت با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی به صورت ترکیبی از تحلیل عددی و آزمایش تجربی بررسی شده است. هدف اصلی، مطالعه ای تأثیر پارامترهای هندسی تیرک و سوزن بر زمان بحرانی فاز اول و توسعه ای مدلی دقیق برای پیش بینی آن است. در این پژوهش مدل رگرسیونی مبتنی بر اثرگذاری پارامترها بر زمان بحرانی استخراج شده است. نتایج تحلیل آماری مدل پیشنهادی نشان داده است که مدل با ضریب تعیین ۹۵,۱۰٪ از دقت و اعتبار بالایی برخوردار است و با نتایج تجربی مطابقت کامل دارد. همچنین، با نمودارهای کانتور، رفتار سیستم در برابر تغییرات ترکیبی متغیرها مدل سازی شد. نتایج نشان داده است که افزایش ارتفاع سوزن و شعاع ذره باعث افزایش زمان بحرانی می شود. همچنین، نمودار تغییرات نیروی منیپولیشن نشان می دهد که نیروی کل وارد بر ذره تا زمان حدود ۶۰ میلی ثانیه به صورت پیوسته افزایش یافته و سپس به حالت پایدار می رسد. این نقطه از نظر زمانی با آستانه نیروی بحرانی تطابق داشته و صحت مدل رگرسیونی را تأیید می کند.

کلمات کلیدی

مدل سازی زمان بحرانی، مدل رگرسیون، منیپولیشن سه بعدی، طراحی آزمایش، میکروسکوپ نیروی اتمی

با گسترش کاربردهای فناوری‌های نانو و میکرو در حوزه‌هایی چون زیست مهندسی، میکروباتیک، نانو ساخت و تشخیص‌های آزمایشگاهی، نیاز به کنترل دقیق اجسام در مقیاس‌های بسیار کوچک روبه‌روز بیشتر می‌شود. میکروسکوپ نیروی اتمی^۱ یکی از ابزارهای کلیدی و پرکاربرد در نانوفناوری است که امکان تصویربرداری و دستکاری اجسام در مقیاس نانو را با دقت زیر نانومتر فراهم می‌کند. از زمان معرفی این میکروسکوپ توسط بینینگ و همکاران [۱]، میکروسکوپ نیروی اتمی به ابزاری اساسی برای مطالعهٔ برهم‌کنش‌های مکانیکی، چسبندگی سطحی و جابه‌جایی نانوذرات در زمینه‌های مختلف علمی و مهندسی تبدیل شده است. در این میان، منیپولیشن سه‌بعدی ذرات میکرو و نانو با استفاده از ابزارهایی نظیر میکروسکوپ نیروی اتمی به‌عنوان یک روش مؤثر و غیرتهاجمی شناخته شده است. درک و پیش‌بینی زمان بحرانی در فاز اول منیپولیشن نیازمند شناخت دقیق برهم‌کنش میان پارامترهای متعددی از جمله ویژگی‌های هندسی تیرک، خواص فیزیکی ذره، شرایط سطحی زیرلایه و مشخصات تماس نوک-ذره است. باتوجه‌به پیچیدگی این برهم‌کنش‌ها، روش‌های تجربی سنتی برای تحلیل مستقل هر پارامتر با محدودیت‌هایی مواجه هستند. باتوجه‌به مطالعات صورت‌گرفته، میکروسکوپ نیروی اتمی در دهه گذشته به‌طور فزاینده‌ای در زیست‌شناسی سلولی مورد استفاده قرار گرفته است. این امر موجب شده تا به‌کارگیری این میکروسکوپ باعث پیشرفت قابل‌توجهی در درک مکانیک سلولی تا تشخیص و درمان بیماری‌ها شود [۲].

از نخستین کاربردهای میکروسکوپ نیروی اتمی در نمونه‌های زیستی تاکنون، دامنهٔ کاربردهای آن به‌طور چشمگیری گسترش یافته است. یکی از مهم‌ترین کاربردهای آن، شناسایی ویژگی‌های بیوفیزیکی مرتبط با پیشرفت سرطان و جستجوی علائم بیماری است. همچنین می‌تواند تغییرات سلولی ناشی از بیماری‌هایی چون سرطان را توصیف کنند. در مطالعات مروری اخیر، تأکید ویژه‌ای بر مقایسه ویژگی‌های استخراج‌شده از سلول‌های مرجع و سرطانی با استفاده از تمامی قابلیت‌ها، در مقیاس تک‌مولکولی و تک‌سلولی شده است. باوجود شواهد قوی از کاربرد این میکروسکوپ در شناسایی سلول‌های آسیب‌دیده، چالش‌های عملی برای بهره‌گیری روتین از آن در پایش و تشخیص سرطان همچنان پابرجاست [۳].

علی‌رغم مزایای بسیار، میکروسکوپ نیروی اتمی با محدودیت‌هایی نظیر سرعت اسکن پایین، اعوجاج ناشی از مواد پیزوالکتریک، و ناتوانی در اندازه‌گیری سطوح با شیب تند یا آویزان روبه‌رو است. در ادامه مطالعات، با بهره‌گیری از داده‌های تجربی و توانایی اندازه‌گیری نیروی میکروسکوپ نیروی اتمی، یک مدل شبکه عصبی مصنوعی^۲ برای شبیه‌سازی نیروی بین پروب و سطح ارائه شده است. باتوجه‌به نتایج این تحقیق، بهترین عملکرد مربوط به شبکه پیش‌خور با الگوریتم پس انتشار خطا و توابع انتقال بوده است. به‌علاوه، این مدل قابلیت بالایی در مدل‌سازی رفتار پروب در حالت غیرتماسی داشته است [۴].

به‌کارگیری میکروسکوپ نیروی اتمی اعمال نیروهای در مقیاس نانو نیوتن از طریق نوک تیرک، امکان بررسی نقاط شکست، رفتار تخریبی و عملکرد سطح در شرایط نامطلوب را میسر می‌سازد. بررسی آلیاژ تیتانیوم گرید ۵^۳ پس از ایجاد نانو ساختار از طریق اچ هیدروترمال^۴ و اعمال نیروهای بالا توسط میکروسکوپ نیروی اتمی، منجر به مشاهده آسیب‌های غیرقابل‌بازگشت سطحی شده است. بااین‌حال، سطح خشن و ناهمگن همچنان می‌تواند برای کاربرد به‌عنوان سطح کاشت آنتی‌باکتریال مناسب باشد [۵].

از زمان معرفی میکروسکوپ نیروی اتمی در سال ۱۹۸۶، این فناوری امکان تحلیل و شناسایی سطح با دقتی بی‌نظیر را در محیط‌های گوناگون فراهم کرده است. بااین‌حال، محدودیت‌هایی نظیر سرعت پایین تصویربرداری و بازده کم نمونه‌برداری، استفاده از آن را برای بررسی نمونه‌های بزرگ یا در حال تغییر، مانند خوردگی، دشوار کرده است. همین چالش‌ها باعث توسعه میکروسکوپ‌های نیروی اتمی با سرعت بالا شده‌اند. باتوجه‌به مطالعات در طی سال‌های ۲۰۱۱ تا ۲۰۱۶، پیشرفت‌های فنی در این حوزه به سطحی رسیده‌اند که تصویربرداری با سرعت مگاپیکسل بر ثانیه و در مقیاس میلی‌مترمربع به‌صورت وسیع امکان‌پذیر شده است [۶].

¹ Atomic Force Microscope (AFM)

² Artificial Neural Networks

³ Grade 5 Titanium alloy

⁴ Hydrothermally

در مطالعه‌ای دیگر مروری به بررسی جامع نقش میکروسکوپ نیروی اتمی در عملکرد به‌عنوان حسگر و محرک مکانیکی در مطالعات زیستی از مقیاس مولکولی تا بافتی پرداخته شده است [۷].

در ادامه بهبود تصویربرداری میکروسکوپ نیروی اتمی در تحقیقی با افزودن سخت‌افزار و نرم‌افزارهای پیشرفته به‌گونه‌ای ارتقا یافت که امکان تصویربرداری با دمدولاسیون فرکانسی، طیف‌سنجی دوبعدی نیرو، و اندازه‌گیری‌های زمان‌دار را تحت شرایط محیطی فراهم می‌سازد. این ارتقا می‌تواند موجب افزایش دقت، پایداری و قابلیت‌های اندازه‌گیری دستگاه باشد [۸].

تائوپاتی‌ها گروهی از بیماری‌های تحلیل‌برنده عصبی هستند که با تجمع غیرطبیعی پروتئین تائو فسفریله در نورون‌ها شناخته می‌شوند و منجر به زوال عملکرد سلولی و سمیت پیش‌رونده می‌گردند. مطالعه‌ای به‌مرور بر نقش میکروسکوپ نیروی اتمی در مطالعه آسیب‌های سلولی مرتبط با تائوپاتی‌ها، به‌ویژه در مراحل ابتدایی بیماری، تأکید دارد و آن را ابزاری مؤثر برای درک مکانیسم‌های بیماری‌زای این اختلالات معرفی می‌کند [۹].

در مطالعه‌ای دیگر، با بهره‌گیری از میکروسکوپ نیروی اتمی و فرایند نانومنیپولیشن، ویژگی مکانیکی سلول سرطانی MCF-7 به‌ویژه مدول یانگ مورد بررسی قرار گرفت. به‌منظور تحلیل دقیق، پس از انجام آزمایش‌های تجربی، نیرو و زمان بحرانی با استفاده از مدل‌های تماسی مختلف شامل هرتز^۱، پی تی^۲ و سی‌اس^۳ شبیه‌سازی و محاسبه شده است. نتایج نشان داده است که مدل سی‌اس بیشترین تطابق را با داده‌های تجربی دارد و مدول یانگ سلول در حدود ۸۰۰ پاسکال برآورد شد. این تحلیل می‌تواند در شناخت بهتر رفتار مکانیکی سلول‌های سرطانی و توسعه روش‌های نوین تشخیص و درمان مؤثر باشد [۱۰].

بافت سرطانی روده بزرگ^۴ در مطالعه‌ای مورد بررسی قرار گرفته است. تمرکز اصلی بر اندازه‌گیری نیرو و زمان بحرانی در حین منیپولیشن به‌منظور کاهش آسیب به بافت است. آزمایش‌ها به‌صورت تجربی با میکروسکوپ نیروی اتمی انجام شده و سه مدل اصطکاکی لاگره^۵، کولمب^۶ و اچ کا^۷ برای شبیه‌سازی استفاده شده‌اند. نتایج نشان دادند که مدل کولمب بیشترین، و مدل لاگره کمترین نیرو و زمان بحرانی را در منیپولیشن سه‌بعدی ثبت کرده‌اند. این تفاوت به تفاوت در فرضیات سطح تماس ظاهری و واقعی در مدل‌ها بازمی‌گردد [۱۱].

در دیگر پژوهش، روشی ترکیبی از میکروسکوپ نیروی اتمی و میکرومنیپولیشن با میکروپیت^۸ ارائه می‌دهد که امکان جابه‌جایی سه‌بعدی و اندازه‌گیری دقیق خواص مکانیکی سلول‌های زنده را فراهم می‌سازد. با تثبیت سلول‌ها روی زیرلایه‌های میکروپیلار، ویژگی‌هایی مانند مدول یانگ و ویسکوزیته اندازه‌گیری شد. نتایج نشان‌دهنده کارایی بالای این روش در تحلیل مکانیکی سلول‌های منفرد و کاربرد آن در مطالعات مکانوبیولوژی است [۱۲].

در مطالعه‌ای مروری، پیشرفت‌های فناوری میکروسکوپ نیروی اتمی بررسی شده که آن را به ابزاری توانمند برای مطالعه مستقیم و شناسایی شیمیایی سیستم‌های زیستی در مقیاس نانو تبدیل کرده‌اند. با عملکردی‌سازی نوک میکروسکوپ نیروی اتمی می‌توان آزمایشگاه‌های شیمیایی نانومقیاس ایجاد کرد و ویژگی‌های ساختاری و برهم‌کنش‌های زیستی را با دقت بالا بررسی نمود. همچنین، این روش امکان استخراج اطلاعات سینتیکی و ترمودینامیکی از پیوندهای زیستی را فراهم می‌کند [۱۳].

معرفی پیشرفت‌های اخیر در روش‌های عملکردی میکروسکوپ نیروی اتمی و کاربرد آن‌ها در بررسی مواد دوبعدی، به‌ویژه خواص فیزیکی سطحی آن‌ها روی زیرلایه‌ها در پژوهشی مروری پرداخته شده است [۱۴].

توانمندی‌های میکروسکوپ نیروی اتمی در بررسی برهم‌کنش‌های بین دی‌ان‌ای^۹ و سطح طلا موضوع مورد بررسی محققان بوده است. توانایی کنترل دقیق نیروی اعمالی توسط میکروسکوپ نیروی اتمی، آن را به ابزاری مؤثر در نانو لیتوگرافی^۱ و ایجاد تغییرات

¹ Hertz

² PT

³ Cos

⁴ Colon cancer tissue

⁵ LuGre

⁶ Columb

⁷ HK

⁸ Micropipette

⁹ DNA

موضعی در نمونه تبدیل کرده است. این روش امکان تحلیل پاسخ مکانیکی لایه‌های دی ان ای نسبت به عوامل محیطی مانند پتانسیل الکتریکی یا قدرت یونی محلول را فراهم می‌سازد [۱۵].

روش‌های مبتنی بر میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) به عنوان ابزارهای پیشرفته برای تصویربرداری و تحلیل خواص مکانیکی، شیمیایی و زیستی زیرسطوح در پژوهشی مطالعه و معرفی شده‌اند. ترکیب تصویرسازی و طیف‌سنجی با میکروسکوپ نیروی اتمی امکان بررسی و دستکاری سبب‌های ساختارهای زیستی با دقت مولکولی را فراهم می‌کند. این تکنیک‌ها درک دقیق‌تری از زیرسطوح ارائه داده و افق‌های جدیدی در طراحی و تحلیل آن‌ها می‌گشایند [۱۶].

کاربرد میکروسکوپ نیروی اتمی در بررسی ساختار و عملکرد ویروس‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که میان ویژگی‌های مکانیکی و میزان عفونت‌زایی ویروس‌ها ارتباط مستقیمی وجود دارد؛ موضوعی که نه تنها به درک بهتر ویروس‌ها کمک می‌کند، بلکه در بهینه‌سازی ذرات شبه‌ویروسی برای کاربردهای نانومدیسین و نانوفناوری نیز مؤثر است [۱۷].

مطالعه‌ای دیگر به نقش مهم انتقال نیروی مکانیکی در عملکرد طبیعی سلول‌ها می‌پردازد و تأکید می‌کند که درک فرایند انتقال مکانیکی مستلزم شناخت دقیق از مکانیک سلول است. میکروسکوپ نیروی اتمی به دلیل توانایی بالا در بررسی خواص مکانیکی سلول‌ها، به ابزاری کلیدی در این زمینه تبدیل شده است. نتایج مطالعات نشان می‌دهد که رفتار مکانیکی سلول‌ها پیچیده بوده و به بزرگی و زمان اعمال نیرو بستگی دارد. همچنین، در این مقاله مدل‌های ساده و پیچیده مورد استفاده در تحلیل پاسخ‌های مکانیکی سلول‌ها معرفی شده‌اند، اما هنوز مدل جامع و یکپارچه‌ای برای توصیف کامل مکانیک سلول ارائه نشده است [۱۸].

در مطالعه‌ای دیگر، تصویربرداری سطحی با وضوح اتمی واقعی با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی رسانا^۲ در شرایط محیطی و با سرعت اسکن بالا گزارش شده است. این روش امکان مشاهده نقشه‌هایی با وضوح اتمی، شامل نقص‌هایی مانند جای خالی‌های اتمی منفرد، بر روی سطوح مختلف مواد را فراهم می‌کند. این نتایج نشان می‌دهند که میکروسکوپ نیروی اتمی رسانا ابزاری توانمند برای بررسی ساختار و ویژگی‌های الکترونیکی سطح مواد در شرایط واقعی محیطی است [۱۹].

باتوجه به مرور پژوهش‌های پیشین، بیشتر مطالعات موجود بر تحلیل نیرو و مدل‌های تماس در فرایند منیپولیشن متمرکز بوده‌اند و بررسی زمان بحرانی در فاز آغازین منیپولیشن سبب‌های به صورت جامع انجام نشده است. در حالی که تحلیل دقیق زمان بحرانی در فاز آغازین منیپولیشن سبب‌های و بررسی هم‌زمان اثرات پارامترهای هندسی تیرک و ذره کمتر مورد توجه قرار گرفته است. این خلأ پژوهشی سبب شده است که پیش‌بینی پایداری تماس و آغاز حرکت ذره در شرایط واقعی همچنان با عدم قطعیت همراه باشد. در این پژوهش، رویکردی مبتنی بر طراحی آزمایش‌ها^۳ به منظور مدل‌سازی و تحلیل زمان بحرانی ارائه شده است. در چارچوب این روش، تأثیر پارامترهای هندسی نظیر شعاع ذره، ارتفاع سوزن، طول، عرض و ضخامت تیرک بر زمان بحرانی به صورت هم‌زمان ارزیابی شده است. افزون بر این، مدل رگرسیونی چندمتغیره‌ای توسعه یافته که قادر به پیش‌بینی دقیق زمان بحرانی در شرایط مختلف هندسی است. نتایج حاصل از این پژوهش می‌تواند در بهینه‌سازی مسیر و نیروی منیپولیشن و همچنین در افزایش دقت عملکرد سیستم‌های کنترل‌شده در مقیاس نانو کاربرد گسترده‌ای داشته باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- منیپولیشن

فرایند جابه‌جایی و کنترل ذرات در ابعاد میکرو و نانو، تحت عنوان «منیپولیشن» شناخته می‌شود. این فرایند به‌ویژه در علوم نانو، زیست‌مهندسی، و میکروباتیک اهمیت فراوانی یافته است و به کمک ابزارهای پیشرفته‌ای همچون میکروسکوپ نیروی اتمی انجام می‌پذیرد. میکروسکوپ نیروی اتمی یکی از ابزارهای کلیدی و شناخته‌شده در مطالعه و شناسایی نانوذرات است که امکان تصویربرداری، اندازه‌گیری و اعمال نیرو در مقیاس نانو را فراهم می‌کند. در جریان منیپولیشن، تیرک میکروسکوپ نیروی اتمی با اعمال نیرویی

¹ Nanolithography

² Conductive atomic force microscopy (C-AFM)

³ Design of Experiments (DOE)

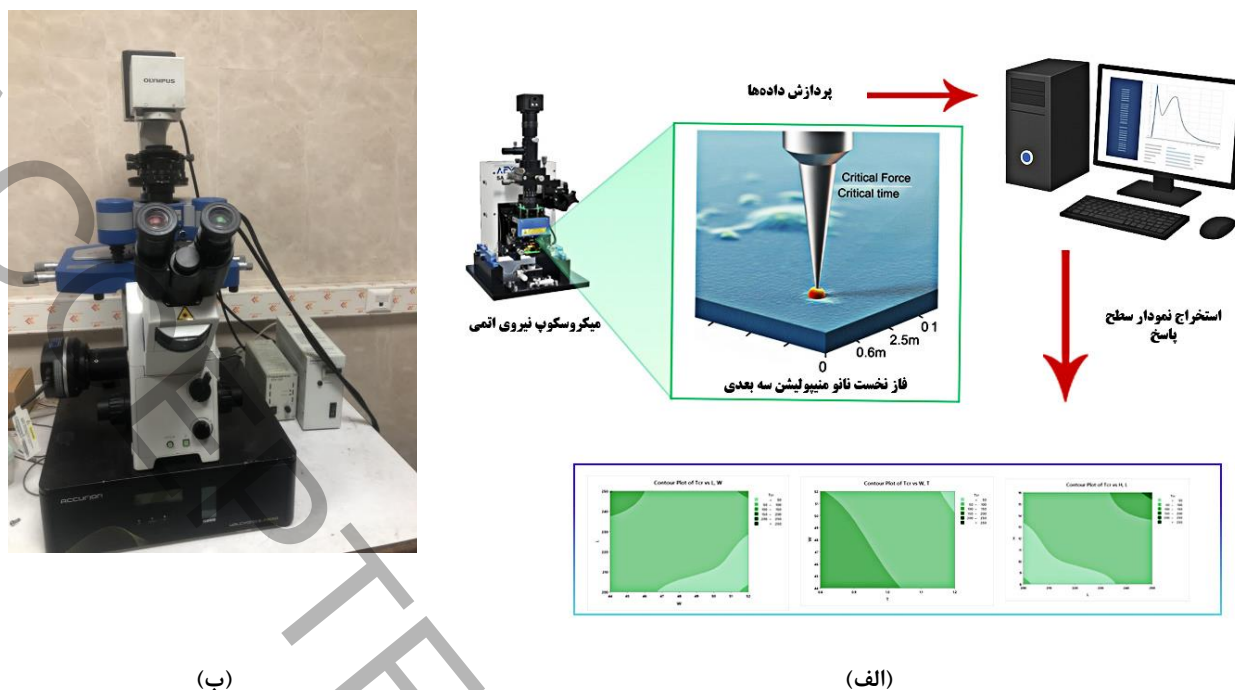
مشخص بر نانوذره، آن را به حرکت درمی‌آورد. زمانی که نیروی اعمال شده از سوی تیرک بر نیروی اصطکاک میان ذره و زیرلایه غلبه کند، حرکت ذره آغاز می‌شود و این حرکت تا رسیدن به موقعیت هدف ادامه می‌یابد.

در این پژوهش، برای انجام آزمایش‌های منیپولیشن، از میکروسکوپ نیروی اتمی مدل ICON استفاده شد. دستگاه مورد استفاده از نوع تماسی^۱ بوده و امکان تصویربرداری هم‌زمان با اعمال نیرو در مقیاس نانومتر را فراهم می‌کند. تیرک مورد استفاده با شکل هندسی مستطیلی و نوک هرمی شکل است. ابعاد هندسی تیرک شامل طول ۲۵۰ میکرومتر، عرض ۵۰ میکرومتر و ضخامت ۲ میکرومتر می‌باشد. نوک هرمی دارای ارتفاع ۴۰ میکرومتر و شعاع نوک ۵۰ نانومتر بوده و ضریب نیروی مؤثر تیرک در محدوده ۰/۰۴ تا ۰/۰۷ نیوتن بر متر اندازه‌گیری گردیده است. تصویر میکروسکوپ در شکل ۱-ب نمایش داده شده است. آزمایش‌ها در شرایط محیطی کنترل شده از نظر دما و رطوبت انجام شد تا نویزهای مکانیکی و حرارتی بر نتایج تأثیر نگذارند. مراحل انجام آزمایش‌ها شامل آماده‌سازی سلول‌ها، کشت و تثبیت آن‌ها بر روی بستر پایه، شناسایی محل سلول‌ها با تصویربرداری میکروسکوپ نیروی اتمی، و سپس اجرای فرایند منیپولیشن بود. در ادامه، داده‌های نیرو-جابجایی به صورت بلادرنگ ثبت و برای تحلیل عددی مورد استفاده قرار گرفتند. فرایند انجام آزمایش به صورت مرحله به مرحله است. ابتدا سلول‌ها آماده‌سازی و بر روی بستر تثبیت شده است، سپس مراحل تصویربرداری، شناسایی محل، اجرای منیپولیشن و در نهایت استخراج و تحلیل داده‌ها انجام گرفته است.

فرایند منیپولیشن معمولاً در دو فاز اصلی انجام می‌شود. فاز اول، مرحله تماس اولیه و شروع حرکت ذره است؛ این مرحله از اهمیت بالایی برخوردار است، چرا که تنظیم دقیق نیرو و زمان در این مرحله، تعیین‌کننده موفقیت یا شکست منیپولیشن خواهد بود. در این فاز، دو پارامتر «نیروی بحرانی» و «زمان بحرانی» نقش حیاتی دارند. نیروی بحرانی حداقل نیروی لازم برای غلبه بر اصطکاک و آغاز حرکت است، در حالی که زمان بحرانی به بازه زمانی اطلاق می‌شود که در آن ذره باید حرکت کند تا از پایداری اولیه خارج شود و به درستی جهت‌گیری کند.

تعیین دقیق زمان بحرانی به درک صحیح از عوامل مؤثر در برهم‌کنش میان نوک میکروسکوپ و نانوذره نیاز دارد، از جمله ویژگی‌های مکانیکی تیرک، خواص سطحی زیرلایه، مشخصات هندسی ذره و شرایط تماس. در صورت عدم کنترل صحیح این پارامترها، ممکن است حرکت ذره دچار اختلال شده یا اصلاً آغاز نشود. از این رو، تحلیل و مدل‌سازی زمان بحرانی در فاز اول منیپولیشن از اهمیت بسزایی برخوردار است و می‌تواند نقش مؤثری در بهینه‌سازی فرایندهای نانومقیاس و افزایش دقت سیستم‌های میکرومکانیکی ایفا کند. در این پژوهش، تمرکز اصلی بر شناسایی و تحلیل متغیرهای مؤثر بر زمان بحرانی در فاز نخست منیپولیشن سه‌بعدی نانوذرات بوده و ساختار کلی فرایند انجام شده در شکل ۱-نمایش داده شده است.

^۱ Contact Mode



شکل ۱: شماتیک کلی فرایند منیپولیشن و میکروسکوپ نیروی اتمی

Fig 1. Schematic representation of the nanoparticle manipulation process and the Atomic Force Microscope (AFM)

۲-۲- طراحی آزمایش

در این پژوهش، از روش طراحی آزمایش‌ها برای بررسی سیستماتیک اثر پارامترهای هندسی مختلف بر زمان بحرانی منیپولیشن استفاده شده است. این روش امکان تحلیل هم‌زمان اثر چندین متغیر و برهم‌کنش آن‌ها را با تعداد محدودی آزمایش یا شبیه‌سازی فراهم می‌کند [۲۰]. استفاده از رویکردهای مبتنی بر طراحی آزمایش‌ها همراه با شبیه‌سازی عددی، می‌تواند چارچوبی کارآمد برای استخراج داده‌های دقیق با حداقل آزمایش‌های لازم فراهم آورد. روش طراحی آزمایش‌ها، به‌ویژه طرح فاکتوریل کامل، امکان بررسی هم‌زمان اثرات اصلی و اثرات متقابل بین چندین عامل ورودی را فراهم می‌سازد. این روش در کنار شبیه‌سازی‌های مبتنی بر مدل‌سازی فیزیکی، قابلیت استخراج کمی و سیستماتیک پارامترهای بحرانی مانند زمان تماس بهینه را در اختیار پژوهشگر قرار می‌دهد. در این قسمت، به‌منظور بررسی اثر پارامترهای هندسی بر پاسخ زمانی سیستم در برابر اعمال نیرو، آزمایش‌هایی با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی بر روی ذرات کروی با شعاع‌های مختلف (۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰ نانومتر) انجام شد. در هر آزمایش، سوزن میکروسکوپ با ارتفاع‌های ۸، ۱۲ و ۱۶ میکرومتر و طول‌های مختلف (۲۰۰، ۲۲۵ و ۲۵۰ نانومتر) در تماس با تیرک‌هایی با عرض‌ها و ضخامت‌های گوناگون (۴۴، ۴۸، ۵۲ نانومتر و ۰.۸ تا ۱.۲ میکرومتر) قرار گرفت. در مجموع، ۲۷ آزمایش با ترکیب‌های مختلف از این پارامترها اجرا گردید.

جدول ۱: طراحی آزمایش پارامترهای مؤثر بر زمان بحرانی

Table 1. Design of Experiments for Parameters Influencing the Critical Time

شماره آزمایش	شعاع ذره	ارتفاع سوزن	طول تیرک	عرض تیرک	ضخامت تیرک	T-ms
۱	۴۰۰	۸	۲۰۰	۵۲	۰/۸	۳۹
۲	۶۰۰	۸	۲۰۰	۴۴	۰/۸	۱۱۱

۱۱۱	۰/۸	۴۴	۲۰۰	۱۶	۴۰۰	۳
۱۰۸	۰/۸	۵۲	۲۰۰	۱۶	۶۰۰	۴
۱۱۱	۰/۸	۴۴	۲۵۰	۸	۴۰۰	۵
۱۲۶	۰/۸	۵۲	۲۵۰	۸	۶۰۰	۶
۱۳۵	۰/۸	۵۲	۲۵۰	۱۶	۴۰۰	۷
۲۵۴	۰/۸	۴۴	۲۵۰	۱۶	۶۰۰	۸
۱۳۵	۰/۸	۴۸	۲۲۵	۱۲	۵۰۰	۹
۳۹	۱/۰	۴۴	۲۰۰	۸	۴۰۰	۱۰
۴۲	۱/۰	۵۲	۲۰۰	۸	۶۰۰	۱۱
۳۹	۱/۰	۵۲	۲۰۰	۱۶	۴۰۰	۱۲
۱۳۲	۱/۰	۴۴	۲۰۰	۱۶	۶۰۰	۱۳
۴۵	۱/۰	۵۲	۲۵۰	۸	۴۰۰	۱۴
۱۰۵	۱/۰	۴۴	۲۵۰	۸	۶۰۰	۱۵
۱۵۳	۱/۰	۴۴	۲۵۰	۱۶	۴۰۰	۱۶
۱۵۶	۱/۰	۵۲	۲۵۰	۱۶	۶۰۰	۱۷
۸۷	۱/۰	۴۸	۲۲۵	۱۲	۵۰۰	۱۸
۴۲	۱/۲	۴۸	۲۲۵	۱۲	۴۰۰	۱۹
۷۲	۱/۲	۴۸	۲۲۵	۱۲	۶۰۰	۲۰
۳۳	۱/۲	۴۸	۲۲۵	۸	۵۰۰	۲۱
۷۲	۱/۲	۴۴	۲۲۵	۱۲	۵۰۰	۲۲
۵۷	۱/۲	۴۸	۲۲۵	۱۲	۵۰۰	۲۳
۴۵	۱/۲	۵۲	۲۲۵	۱۲	۵۰۰	۲۴
۳۹	۱/۲	۴۸	۲۰۰	۱۲	۵۰۰	۲۵
۸۱	۱/۲	۴۸	۲۲۵	۱۶	۵۰۰	۲۶
۷۵	۱/۲	۴۸	۲۵۰	۱۲	۵۰۰	۲۷

برای هر آزمایش، زمان بحرانی منیپولیشن در فاز اول (T) به میلی ثانیه به عنوان متغیر خروجی ثبت گردید. با استفاده از داده‌های به دست آمده مدل رگرسیون چندمتغیره استخراج شد. مدل رگرسیون شامل پنج متغیر مستقل شامل شعاع ذره (Rp)، ارتفاع سوزن (H)، طول تیرک (L)، عرض تیرک (W) و ضخامت تیرک (T) بود. نتایج تحلیل رگرسیون نشان داد که مدل پیشنهادی دارای ضریب تعیین بالا ($R^2 = 95.10\%$) بوده و تمام متغیرهای ورودی اثر معناداری بر متغیر پاسخ (T) دارند. معادله رگرسیونی به صورت زیر به دست آمد:

$$Tcr = 5/12 + 0/2178Rp + 7/194H + 1/111L - 4/903W - 170/6T \quad (1)$$

مدل رگرسیونی استخراج شده علاوه بر ارائه رابطه‌ی آماری بین پارامترهای هندسی و زمان بحرانی، بیانگر درک فیزیکی از نحوه‌ی اثرگذاری هر پارامتر بر پویایی فرایند منیپولیشن است. بر اساس ضرایب به دست آمده، افزایش ارتفاع سوزن و شعاع ذره باعث افزایش زمان بحرانی می‌شود که می‌تواند ناشی از افزایش سطح تماس و مقاومت مکانیکی در برابر آغاز حرکت باشد. در مقابل، افزایش ضخامت تیرک به دلیل افزایش سختی و کاهش انعطاف پذیری آن، موجب کاهش زمان بحرانی می‌گردد. بنابراین مدل رگرسیونی نه تنها امکان پیش بینی کمی زمان بحرانی را فراهم می‌سازد، بلکه به عنوان ابزار تحلیلی برای تبیین رفتار دینامیکی سیستم در لحظه‌ی آغاز حرکت ذره عمل می‌کند.

به منظور ارزیابی دقت مدل رگرسیونی چندمتغیره، نتایج پیش‌بینی‌شده برای زمان بحرانی برای چند حالت نمونه مقایسه شد. جدول ۲ تا ۴ مقادیر تجربی، مقادیر پیش‌بینی‌شده و خطای نسبی را نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که مدل پیشنهادی توانسته است روند تغییرات زمان بحرانی را با دقت بالا بازتولید کند.

بر اساس نتایج جدول ضرایب ۲، تمام متغیرها دارای سطح معنی‌داری آماری ($P\text{-value} > 0/001$) هستند، که بیانگر تأثیر مستقیم آن‌ها بر پاسخ مدل است. مقدار $T\text{-value}$ بالا برای پارامترهای ارتفاع سوزن (۹/۶۵) و ضخامت تیرک (۱۱/۴۴) نشان می‌دهد که این دو عامل بیشترین تأثیر را در تعیین زمان بحرانی دارند. ضرایب مثبت شعاع ذره، ارتفاع سوزن و طول تیرک به معنای افزایش زمان بحرانی با افزایش مقادیر این پارامترهاست، در حالی که ضرایب منفی ضخامت و عرض تیرک اثر معکوس دارند و موجب کاهش زمان بحرانی می‌شوند. از دیدگاه فیزیکی، افزایش ارتفاع سوزن و شعاع ذره موجب افزایش چسبندگی و در نتیجه تأخیر در آغاز حرکت ذره می‌شود، در حالی که افزایش ضخامت تیرک باعث افزایش سختی خمشی و کاهش تأخیر زمانی می‌گردد. مقادیر ۱/۰۰ برای تمامی متغیرها نیز نشان می‌دهد که مدل از پایداری آماری بالایی برخوردار است.

جدول ۲: ضرایب و اثر گذاری پارامترها

Table 2. Coefficients and Parameter Effects

ترم‌ها	ضرایب	خطای معیار	مقدار T	مقدار P	ضریب تورم واریانس
ثابت‌ها	۵۱/۲	۵۰/۳	۱/۰۲	۰/۰۳۲	
شعاع ذره	۰/۲۱۷۸	۰/۰۲۹۸	۷/۳۱	۰/۰۰۰	۱/۰۰
ارتفاع سوزن	۷/۱۹۴	۰/۷۴۵	۹/۶۵	۰/۰۰۰	۱/۰۰
طول تیرک	۱/۱۱۱	۰/۱۱۹	۹/۳۲	۰/۰۰۰	۱/۰۰
عرض تیرک	-۴/۹۰۳	۰/۷۴۵	-۶/۵۸	۰/۰۰۰	۱/۰۰
ضخامت تیرک	-۱۷۰/۶	۱۴/۹	-۱۱/۴۴	۰/۰۰۰	۱/۰۰

در جدول ۳ خلاصه مدل، شاخص‌های آماری مربوط به دقت برازش مدل ارائه شده است. مقدار ضریب تعیین نشان می‌دهد که مدل قادر است بیش از ۹۵ درصد از تغییرات زمان بحرانی را بر اساس متغیرهای ورودی توضیح دهد. همچنین، ضریب تعیین تعدیل‌شده ۹۳/۹۳٪، بیانگر پایداری مدل در برابر افزایش متغیرهاست و ۹۰/۶۳٪ نیز توانایی پیش‌بینی مدل برای داده‌های جدید را تأیید می‌کند. مقدار انحراف استاندارد باقیمانده‌ها نسبت به مقیاس داده‌ها کم بوده و نشان‌دهنده انطباق مناسب مدل با داده‌های تجربی است.

جدول ۳: قابلیت اطمینان مدل

Table 3. Model Reliability Assessment

ضریب تعیین پیش‌بینی	ضریب تعیین تعدیل شده	ضریب تعیین	انحراف معیار
٪ ۹۰/۶۳	٪ ۹۳/۹۳	٪ ۹۵/۱۰	۱۲/۶۴۷۵

جدول تحلیل واریانس ۴، میزان مشارکت هر متغیر مستقل در تغییرات پاسخ را از دیدگاه آماری بررسی می‌کند. مقادیر بسیار کوچک $p < 0/001$ برای تمامی پارامترها نشان می‌دهد که هر یک از این عوامل بر رفتار پاسخ تأثیر معنادار دارند. مقدار ($F\text{-Value} = ۸۱/۵۲$) برای مدل کلی نیز گویای آن است که مدل از نظر آماری معنی‌دار بوده و احتمال تصادفی بودن رابطه بین متغیرها ناچیز است.

در بین متغیرها، پارامتر ضخامت تیرک (T) با بالاترین مقدار ($F = 130/94$) بیشترین سهم را در تغییر زمان بحرانی دارد. این موضوع با تحلیل فیزیکی فرایند منیپولیشن نیز سازگار است، زیرا افزایش ضخامت تیرک باعث افزایش سختی و در نتیجه کاهش تأخیر در آغاز حرکت ذره می‌شود.

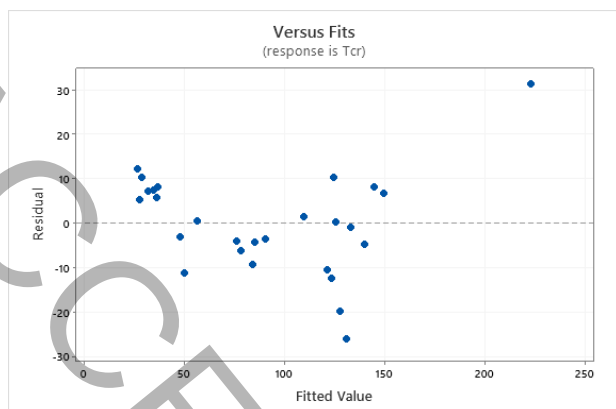
جدول ۴: تحلیل واریانس

Table 4: Analysis of Variance (ANOVA)

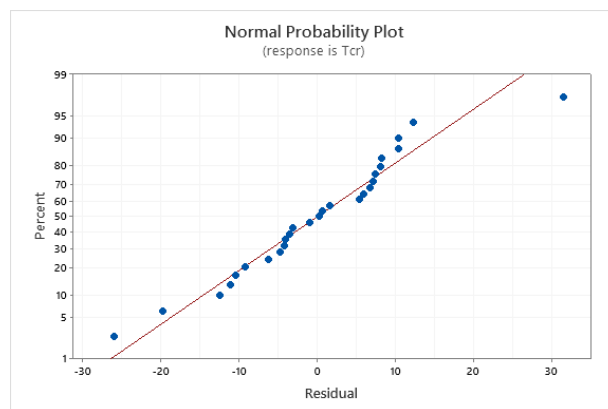
منابع	درجه آزادی	جمع مجزورات	میانگین مربعات	مقدار F	مقدار P
رگرسیون	۵	۶۵۲۰۰	۱۳۰۳۹/۹	۸۱/۵۲	۰/۰۰۰
شعاع ذره	۱	۸۵۳۷	۸۵۳۶/۹	۵۳/۳۷	۰/۰۰۰
ارتفاع سوزن	۱	۱۴۹۰۷	۱۴۹۰۶/۹	۹۳/۱۹	۰/۰۰۰
طول تیرک	۱	۱۳۸۸۹	۱۳۸۸۸/۹	۸۶/۸۳	۰/۰۰۰
عرض تیرک	۱	۶۹۲۳	۶۹۲۲/۷	۴۳/۲۸	۰/۰۰۰
ضخامت تیرک	۱	۲۰۹۴۴	۲۰۹۴۴/۲	۱۳۰/۹۴	۰/۰۰۰
خطا	۲۱	۳۳۵۹	۱۶۰/۰		
کل	۲۶	۶۸۵۵۹			

در ادامه با استفاده از آنالیز واریانس مدل رگرسیونی را مورد ارزیابی قرار داده و نتایج آن در شکل ۲ قابل مشاهده است. نمودار ۲-الف به منظور بررسی نرمال بودن باقی‌مانده‌ها رسم شده است. توزیع نقاط در امتداد خط قطری نشان می‌دهد که باقی‌مانده‌ها تقریباً از توزیع نرمال پیروی می‌کنند. تنها چند نقطه در نواحی ابتدایی و انتهایی اندکی از خط فاصله گرفته‌اند که بیانگر وجود مقدارهای پرت محدود است، ولی این انحراف‌ها به قدری نیست که اعتبار مدل را زیر سؤال ببرد. در نمودار ۲-ب، باقی‌مانده‌ها نسبت به مقادیر پیش‌بینی‌شده‌ی متغیر پاسخ یعنی زمان بحرانی رسم شده‌اند. پراکندگی تصادفی و بدون الگوی مشخص نقاط در اطراف محور افقی، نشان‌دهنده‌ی آن است که مدل از فرض همگنی واریانس تبعیت می‌کند. تنها نقطه‌ی دورافتاده در ناحیه با مقدار برازش‌شده‌ی بالا (مربوط به مشاهده‌ی شماره ۸) حاکی از وجود یک داده‌ی پرت است.

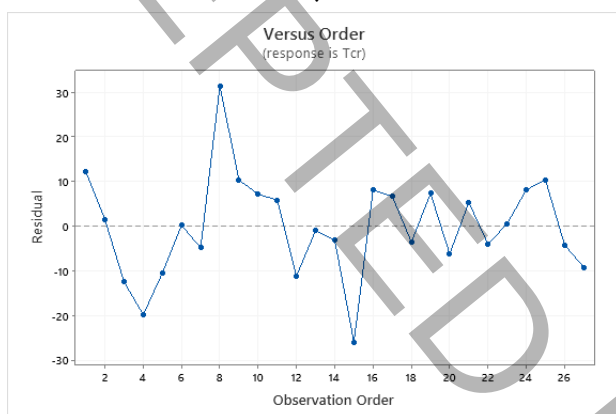
هیستوگرام باقی‌مانده‌ها توزیع فراوانی خطاهای مدل را نمودار ۲-ج نمایش می‌دهد. با اینکه باقی‌مانده‌های منفی بیشتر از مثبت‌اند، تمرکز مقادیر در بازه‌ی مرکزی (بین ۱۰- تا ۲۰+) بیانگر توزیع نسبتاً متقارن است. این یافته از نرمال بودن نسبی باقی‌مانده‌ها حمایت می‌کند. نمودار ۲-د به بررسی استقلال باقی‌مانده‌ها در طول زمان یا ترتیب آزمایش‌ها می‌پردازد. پراکندگی یکنواخت و بدون روند مشخص در این نمودار حاکی از عدم وجود خودهمبستگی بین باقی‌مانده‌هاست. نوسانات مشاهده‌شده تصادفی به نظر می‌رسند و حاکی از این‌اند که ترتیب اجرای آزمایش‌ها تأثیر سیستماتیک بر خطای مدل نداشته است.



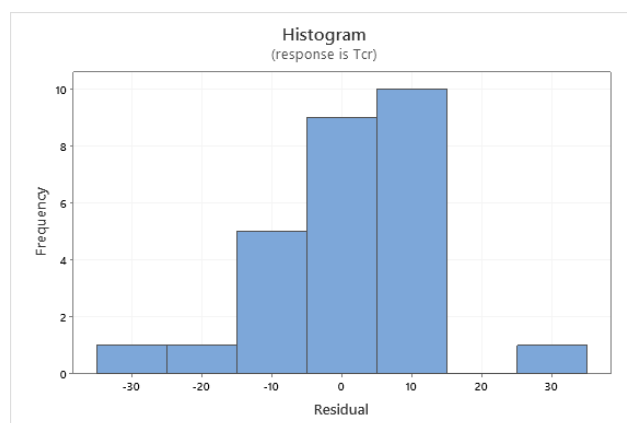
(ب)



(الف)



(د)



(ج)

شکل ۲: نمودارهای آنالیز پراکندگی باقیمانده‌ها

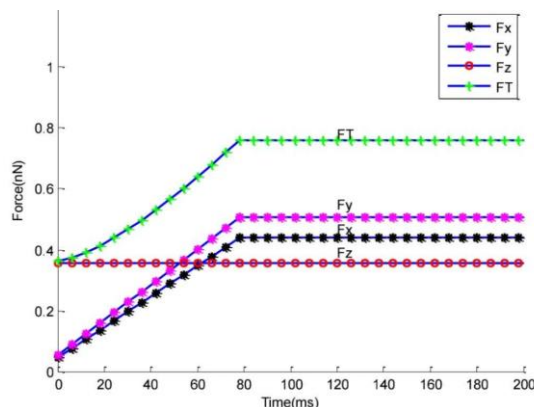
Fig 2. Residuals Scatter Analysis Plots

۳- نتایج و بحث

در این بخش ابتدا به تغییرات نیرو در محدوده زمانی مشخص پرداخته سپس میزان اثرگذاری پارامترها بر نیروی بحرانی تشریح خواهد گردید.

در نمودار ارائه شده در شکل ۳، تغییرات نیروهای مؤثر در راستاهای سه‌گانه x ، y و z (به ترتیب F_x ، F_y و F_z) و نیروی کل (FT) را در بازه زمانی ۰ تا ۲۰۰ میلی‌ثانیه نشان می‌دهد. باتوجه به آنچه در نمودار مشاهده می‌شود، در مراحل اولیه (تا حدود ۶۰ میلی‌ثانیه)، افزایش پیوسته در مؤلفه‌های F_x و F_y مشاهده می‌شود که بیانگر اعمال تدریجی نیروی جانبی توسط سوزن است. این روند افزایشی در تطابق کامل با نتایج مدل‌های رگرسیونی بوده و با نواحی رنگی با شیب افزایشی در نمودارهای کانتور در شکل ۴ نیز همخوانی دارد. در این فاز، F_z (نیروی عمودی) تقریباً ثابت باقی می‌ماند، که نشان می‌دهد حرکت در این بازه بیشتر در صفحه افقی رخ می‌دهد و تماس عمودی اولیه بین سوزن و ذره تغییر محسوسی ندارد.

در حوالی زمان ۶۰ میلی‌ثانیه، هر سه مؤلفه‌ی نیروها به حالت پایدار می‌رسند و در سطح ثابتی باقی می‌مانند. این نقطه نشان‌دهنده‌ی آستانه‌ی آغاز حرکت ذره است که پیش‌تر نیز از طریق طراحی آزمایش‌ها و معادلات رگرسیونی پیش‌بینی شده بود. مقدار نیروی کل نیز پس از یک روند افزایشی، در همین نقطه به مقدار حداکثری حدود ۰/۸ نانونیوتن می‌رسد و سپس به حالت اشباع درمی‌آید.



شکل ۳: نمودار نیروی منیپولیشن در راستاهای مختلف

Fig 3. Manipulation Force Profiles in Different Directions

در ادامه این بخش، به اثرات متقابل پارامترهای مختلف هندسی بر زمان بحرانی منیپولیشن سه بعدی ذرات، با استفاده از نمودارهای سه بعدی پرداخته شده است. در این راستا، در هر نمودار تاثیر متقابل و همزمان دو پارامتر بر زمان بحرانی منیپولیشن مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج آنالیز اثرگذاری پارامترها در شکل ۴ نمایش داده شده است.

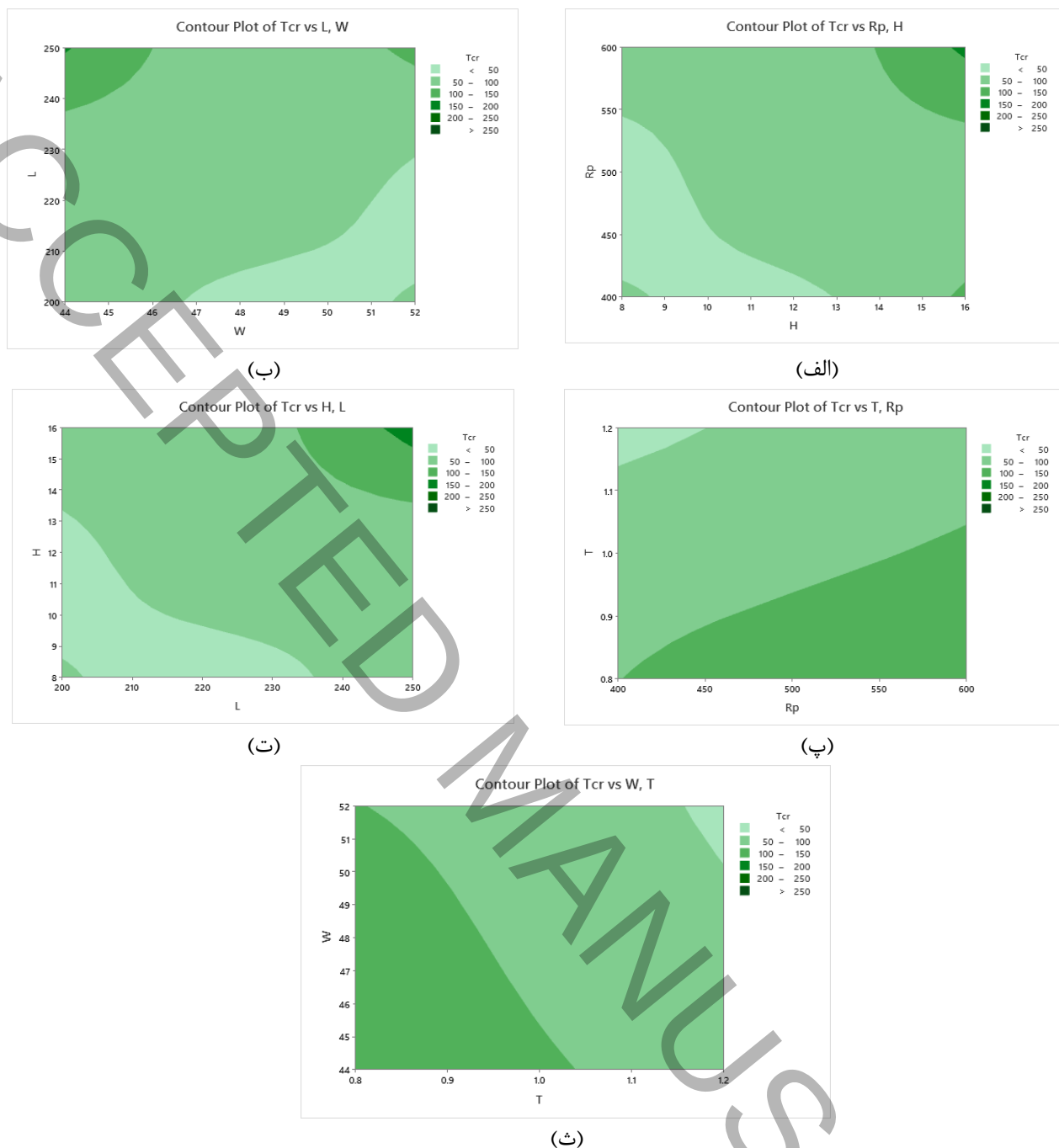
در نمودار ۳-الف، محور افقی نشان دهنده ارتفاع سوزن (H) و محور عمودی نمایانگر شعاع ذره (R_p) است. نواحی مختلف بر اساس رنگ بندی، سطوح مختلف پاسخ زمان بحرانی را نمایش می دهند.

تحلیل نمودار بیان می کند که در مقادیر بالاتر هر دو متغیر یعنی افزایش ارتفاع سوزن و شعاع ذره موجب افزایش مقاومت تماس یا زمان پاسخ می شود. این نتیجه می تواند ناشی از افزایش سطح تماس مؤثر و در نتیجه افزایش نیروهای درگیر در فرایند تماس باشد.

طول تیرک (L) و عرض آن (W) به عنوان متغیرهای ورودی در نمودار ۳-ب نظر گرفته شده اند. رنگ بندی نقشه کانتور نشان می دهد که با کاهش عرض تیرک (W)، مقدار زمان بحرانی به طور مشخص افزایش می یابد. اگرچه افزایش طول تیرک نیز موجب افزایش زمان بحرانی می شود، اما اثر عرض بیشتر و واضح تر است. با توجه به نمودار ۳-پ، تغییرات ضخامت تیرک (T) در کنار شعاع ذره (R_p) چگونه بر مقدار زمان بحرانی تأثیر می گذارد. به وضوح مشاهده می شود که افزایش ضخامت تیرک موجب کاهش زمان بحرانی می شود. این پدیده می تواند به کاهش انعطاف پذیری مکانیکی تیرک ضخیم تر نسبت داده شود که در نتیجه آن پاسخ سیستم کندتر می شود. در حالی که افزایش R_p اثر افزایشی جزئی دارد، تغییرات ضخامت نقش تعیین کننده تری ایفا می کند.

نمودار ۳-ت، اثر ترکیبی ارتفاع سوزن (H) و طول تیرک (L) را بررسی می کند. افزایش هر دو متغیر منجر به افزایش زمان بحرانی شده است. به طور خاص، در نواحی با مقادیر بالاتر H و L ، سطوح زمان بحرانی نیز در بیشترین مقدار قرار دارند. این اثر ممکن است به دلیل افزایش فاصله اثرگذاری تماس یا افزایش حجم مؤثر سازه تفسیر شود که واکنش سیستم را افزایش می دهد.

در نمودار ۳-ث، اثر عرض (W) و ضخامت (T) تیرک بر مقدار زمان بحرانی مورد بررسی قرار گرفته است. در نواحی که ضخامت کاهش یافته و عرض افزایش یافته است، مقدار زمان بحرانی در بیشترین حد خود قرار دارد. در مقابل، افزایش ضخامت منجر به کاهش زمان بحرانی شده است.



شکل ۴: نمودار اثرگذاری پارامترها بر زمان بحرانی منیپولیشن

Fig 4. Diagram of the influence of parameters on critical time

بررسی روند تغییرات ارائه شده در شکل های ۳ و ۴ نشان می دهد که افزایش ارتفاع سوزن و شعاع ذره منجر به افزایش زمان بحرانی می شود. از دیدگاه فیزیکی، این رفتار را می توان به افزایش سطح تماس مؤثر میان نوک و ذره نسبت داد که باعث توزیع گسترده تر نیرو و در نتیجه افزایش مقاومت اصطکاکی در برابر شروع حرکت می گردد. این افزایش مقاومت، زمان لازم برای غلبه بر نیروی چسبندگی و دستیابی به پایداری دینامیکی را طولانی تر می کند. در مقابل، افزایش ضخامت تیرک موجب کاهش زمان بحرانی می شود. این پدیده ناشی از افزایش سختی خمشی تیرک است که سبب می شود انرژی الاستیک ذخیره شده در آن سریع تر به ذره منتقل شود و ذره زودتر

از حالت سکون خارج گردد. همچنین تغییرات عرض تیرک نشان داد که تیرک‌های باریک‌تر تمایل به نوسانات موضعی و افزایش زمان پاسخ دارند، در حالی که تیرک‌های عریض‌تر رفتار پایدارتر و سریع‌تری از خود نشان می‌دهند.

از سوی دیگر، تحلیل نیروهای سه‌محوره (F_x , F_y , F_z) نشان داد که در بازه‌ی زمانی اولیه، مؤلفه‌های افقی نیرو (F_x) و (F_y) افزایش پیوسته‌ای دارند که بیانگر تجمع تدریجی نیروی جانبی در تماس نوک‌ذره است؛ در حالی که نیروی عمودی (F_z) تقریباً ثابت باقی می‌ماند و نشان می‌دهد که حرکت عمدتاً در صفحه افقی رخ می‌دهد. پس از گذشت حدود ۶۰ میلی‌ثانیه، نیروی کل به مقدار پایدار می‌رسد که همان آستانه‌ی آغاز حرکت ذره است. این رفتار با مکانیزم تماسی جی کی آر سازگاری دارد و صحت مدل پیشنهادی را از دیدگاه فیزیکی تأیید می‌کند. در مجموع، این تحلیل‌ها نشان می‌دهد که تغییرات مشاهده‌شده در زمان بحرانی، نتیجه‌ی برهم‌کنش میان ویژگی‌های مکانیکی تیرک و چسبندگی سطحی ذره است و مدل پیشنهادی قادر است این رفتار را به‌صورت کمی بازنمایی کند.

۳-۱- مقایسه نتایج طراحی آزمایش

به‌منظور ارزیابی دقت مدل رگرسیونی توسعه‌یافته، داده‌های پیش‌بینی‌شده با نتایج تجربی حاصل از آزمایش‌های میکروسکوپ نیروی اتمی مقایسه شدند. جدول ۵ مقادیر عددی نتایج اصلی، خروجی مدل رگرسیونی، میزان اختلاف و درصد اختلاف بین دو مجموعه داده را نشان می‌دهد. بررسی مقادیر جدول بیانگر آن است که اختلاف نسبی بین نتایج تجربی و پیش‌بینی مدل در اکثر آزمایش‌ها کمتر از ۱۰ درصد بوده و این موضوع نشان‌دهنده‌ی انطباق قابل‌قبول بین مدل ریاضی و رفتار واقعی سیستم است. کمترین میزان اختلاف مربوط به آزمایش شماره ۶ و بیشترین اختلاف در آزمایش‌های شماره ۸ و ۱۵ مشاهده شد که می‌تواند ناشی از ناهمگنی سطح، تغییرات موضعی در نیروی تماس و یا خطای ابزار در اندازه‌گیری نیرو باشد.

جدول ۵: جدول مقایسه نتایج اصلی و معادله رگرسیون

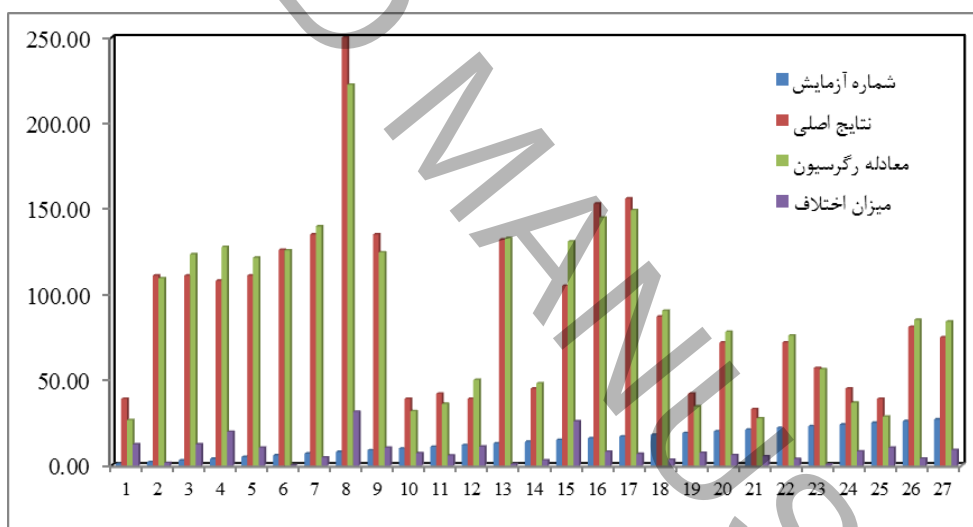
Table 5. Comparison of Experimental Results and Regression Model Equation

شماره آزمایش	نتایج اصلی	معادله رگرسیون	میزان اختلاف	درصد اختلاف
۱	۳۹/۰۰	۲۶/۶۴	۱۲/۳۶	۳۱/۷۰
۲	۱۱۱/۰۰	۱۰۹/۴۲	۱/۵۸	۱/۴۲
۳	۱۱۱/۰۰	۱۲۳/۴۱	۱۲/۴۱	۱۱/۱۸
۴	۱۰۸/۰۰	۱۲۷/۷۵	۱۹/۷۵	۱۸/۲۹
۵	۱۱۱/۰۰	۱۲۱/۴۱	۱۰/۴۱	۹/۳۸
۶	۱۲۶/۰۰	۱۲۵/۷۵	۰/۲۵	۰/۲۰
۷	۱۳۵/۰۰	۱۳۹/۷۴	۴/۷۴	۳/۵۱
۸	۲۵۴/۰۰	۲۲۲/۵۲	۳۱/۴۸	۱۲/۳۹
۹	۱۳۵/۰۰	۱۲۴/۵۸	۱۰/۴۲	۷/۷۲
۱۰	۳۹/۰۰	۳۱/۷۴	۷/۲۶	۱۸/۶۲
۱۱	۴۲/۰۰	۳۶/۰۸	۵/۹۲	۱۴/۱۰
۱۲	۳۹/۰۰	۵۰/۰۷	۱۱/۰۷	۲۸/۳۸
۱۳	۱۳۲/۰۰	۱۳۲/۸۵	۰/۸۵	۰/۶۵
۱۴	۴۵/۰۰	۴۸/۰۷	۳/۰۷	۶/۸۱
۱۵	۱۰۵/۰۰	۱۳۰/۸۵	۲۵/۸۵	۲۴/۶۲
۱۶	۱۵۳/۰۰	۱۴۴/۸۴	۸/۱۶	۵/۳۳
۱۷	۱۵۶/۰۰	۱۴۹/۱۸	۶/۸۲	۴/۳۷
۱۸	۸۷/۰۰	۹۰/۴۶	۳/۴۶	۳/۹۸
۱۹	۴۲/۰۰	۳۴/۵۶	۷/۴۴	۱۷/۷۲
۲۰	۷۲/۰۰	۷۸/۱۲	۶/۱۲	۸/۵۰

۱۶/۴۸	۵/۴۴	۲۷/۵۶	۳۳/۰۰	۲۱
۵/۴۹	۳/۹۵	۷۵/۹۵	۷۲/۰۰	۲۲
۱/۱۶	۰/۶۶	۵۶/۳۴	۵۷/۰۰	۲۳
۱۸/۳۸	۸/۲۷	۳۶/۷۳	۴۵/۰۰	۲۴
۲۶/۷۶	۱۰/۴۴	۲۸/۵۶	۳۹/۰۰	۲۵
۵/۰۸	۴/۱۱	۸۵/۱۲	۸۱/۰۰	۲۶
۱۲/۱۵	۹/۱۱	۸۴/۱۱	۷۵/۰۰	۲۷

نمودار شکل ۵ نیز به منظور نمایش بصری مقایسه‌ی داده‌های تجربی، مقادیر محاسبه‌شده توسط مدل رگرسیونی و درصد اختلاف آن‌ها ترسیم شده است. همان‌طور که از روند نمودار مشخص است، توزیع داده‌ها در دو حالت تجربی و تحلیلی رفتار مشابهی را نشان می‌دهد و منحنی‌ها به طور تقریبی هم‌پوشانی دارند. این هم‌گرایی بیانگر توانایی مدل در بازتولید دقیق تغییرات مشاهده‌شده در آزمایش‌ها است. نوسانات جزئی بین دو مجموعه داده عمدتاً در نقاطی مشاهده می‌شود که دامنه تغییرات پارامترهای هندسی بزرگ‌تر بوده یا شرایط مرزی آزمایش دچار نوسان شده است.

علاوه بر مقایسه‌ی ظاهری، تحلیل آماری نتایج با استفاده از آزمون واریانس^۱ انجام شد تا اعتبار مدل از نظر آماری مورد ارزیابی قرار گیرد. مقادیر حاصل از این آزمون نشان داد که تمامی ضرایب مدل از سطح معنی‌داری بالایی برخوردار بوده و مقدار ضریب تعیین ۹۵/۱۰٪ دقت بالای مدل در پیش‌بینی مقادیر زمان بحرانی را تأیید می‌کند. بر این اساس، مدل توسعه‌یافته از قابلیت اطمینان بالایی برخوردار بوده و می‌تواند برای تحلیل و پیش‌بینی رفتار دینامیکی تماس نوک-ذره در فرایندهای منیپولیشن نانومقیاس مورد استفاده قرار گیرد.



شکل ۵: نمودار بررسی صحت نتایج آماری

Fig 5. Statistical Validation Plot

۳-۲- ارزیابی اثرات پارامترهای هندسی بر زمان بحرانی منیپولیشن

به منظور بررسی میزان تأثیر پارامترهای هندسی بر رفتار دینامیکی فرایند منیپولیشن، نمودارهای پراکنش بین زمان بحرانی آغاز حرکت ذره (Tcr) و پارامترهای مؤثر شامل شعاع ذره (Rp)، ارتفاع سوزن (H)، طول تیرک (L)، عرض تیرک (W) و ضخامت تیرک (T) ترسیم شده‌اند. در هر نمودار، روند تغییرات داده‌ها با خط رگرسیونی نشان داده شده است تا رابطه‌ی میان متغیرهای مستقل و پاسخ سیستم مشخص گردد.

^۱ Analysis of Variance (ANOVA)

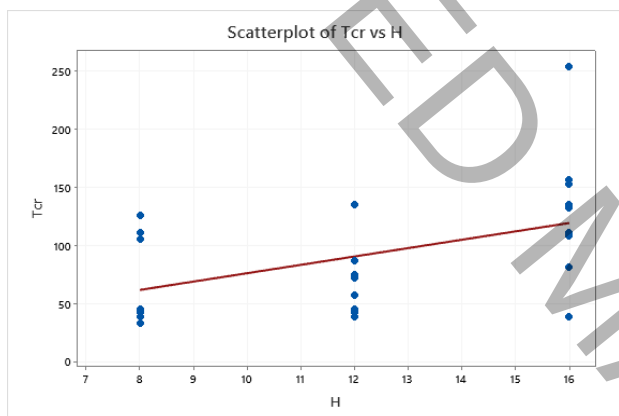
نمودار (الف) بیانگر رابطه‌ی مستقیم بین شعاع ذره (R_p) و زمان بحرانی آغاز حرکت است. با افزایش اندازه‌ی ذره، مقدار T_{cr} به‌صورت تدریجی افزایش یافته است. علت این روند را می‌توان به افزایش سطح تماس بین ذره و زیرلایه و در نتیجه افزایش نیروی چسبندگی نسبت داد که موجب تأخیر در آغاز حرکت می‌شود.

نمودار (ب) مربوط به ارتفاع سوزن (H) است که روندی صعودی را نشان می‌دهد؛ به‌طوری‌که با افزایش ارتفاع، مقدار زمان بحرانی افزایش می‌یابد. این رفتار ناشی از افزایش طول مؤثر تیرک و کاهش سفتی خمشی آن است که باعث می‌شود انتقال نیرو به ذره با تأخیر انجام گیرد و فرایند شروع حرکت کندتر شود.

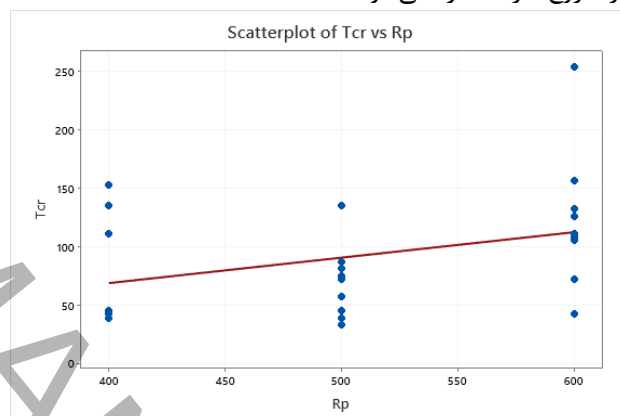
در نمودار (پ) مربوط به طول تیرک (L)، رابطه‌ای مثبت میان طول و زمان بحرانی مشاهده می‌شود. تیرک‌های بلندتر دارای انعطاف‌پذیری بیشتر بوده و در برابر تغییر شکل خمشی مقاومت کمتری دارند، در نتیجه انتقال نیرو از نوک به ذره با اتلاف انرژی بیشتری همراه است که به افزایش T_{cr} منجر می‌شود.

نمودار (ت) بیانگر رابطه‌ی معکوس میان عرض تیرک (W) و زمان بحرانی است. با افزایش عرض تیرک، سختی خمشی سیستم افزایش یافته و نیروی مؤثر برای غلبه بر چسبندگی زودتر منتقل می‌شود. بنابراین، زمان بحرانی آغاز حرکت کاهش می‌یابد.

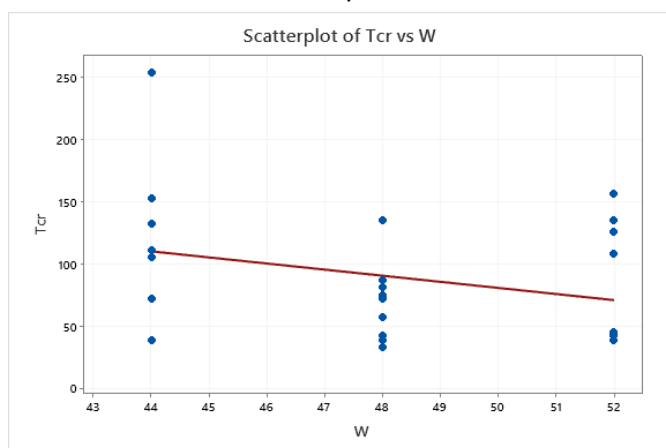
در نمودار (ث) ضخامت تیرک (T) نیز رابطه‌ای کاهش با زمان بحرانی را نشان می‌دهد. افزایش ضخامت، مقاومت خمشی تیرک را افزایش داده و در نتیجه انتقال نیرو به ذره سریع‌تر اتفاق می‌افتد. به بیان دیگر، تیرک ضخیم‌تر موجب پایداری بیشتر و کاهش تأخیر در شروع حرکت ذره می‌شود.



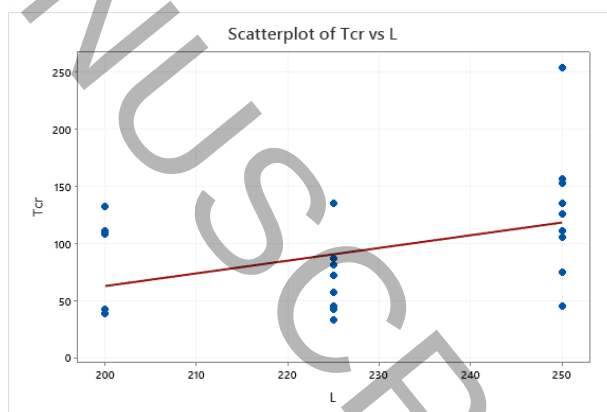
(ب)



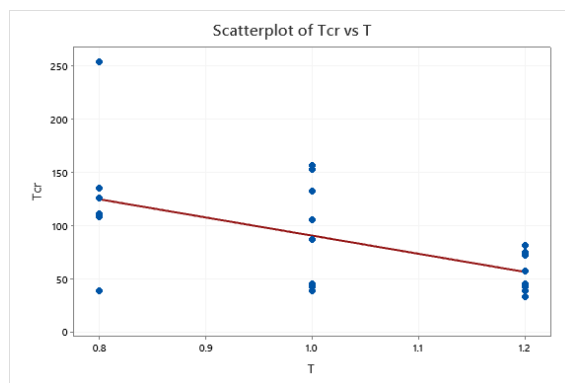
(الف)



(ت)



(پ)



(ث)

شکل ۶: نمودار پراکنش اثر پارامترهای هندسی بر زمان بحرانی

Fig 6. Scatter plot of the effect of geometric parameters on critical time

۴- نتیجه گیری

میکروسکوپ نیروی اتمی به عنوان یکی از ابزارهای کلیدی برای مطالعه مکانیکی سیستم های زیستی در فرایند منیپولیشن شناخته می شود. این روش به پژوهشگران امکان می دهد تا رفتار فیزیکی و مکانیکی نانوذرات، سلول ها و ساختارهای زیستی را در سطح مولکولی مورد بررسی قرار دهند. با بهره گیری از قابلیت اعمال و اندازه گیری دقیق نیرو، میکروسکوپ نیروی اتمی به ابزاری کارآمد در تعیین پارامترهایی نظیر سختی، چسبندگی سطحی و تغییر شکل های الاستیک تبدیل شده است. در این میان، شناسایی و مدل سازی زمان بحرانی لازم برای آغاز منیپولیشن، نقش کلیدی در درک بهتر تعاملات سطحی و بهینه سازی طراحی ابزارهای نانومقیاس ایفا می کند.

در این تحقیق، به منظور بررسی زمان بحرانی مورد نیاز برای منیپولیشن ذرات در فضای سه بعدی و شناسایی پارامترهای مؤثر بر آن، از رویکرد طراحی آزمایش ها استفاده شده است. هدف پژوهش، استخراج یک مدل رگرسیونی جهت پیش بینی زمان بحرانی در راستاهای X و Y و تحلیل حساسیت نسبت به پنج پارامتر هندسی کلیدی شامل شعاع ذره (R_p)، ضخامت تیرک (T)، طول تیرک (L)، عرض تیرک (W) و ارتفاع سوزن (H) بوده است. برای این منظور، مجموعه ای شامل ۲۷ آزمایش به صورت سیستماتیک طراحی گردید. به علاوه، داده های به دست آمده از این آزمایش ها با بهره گیری از تحلیل رگرسیون چندمتغیره و نمودارهای سه بعدی مورد ارزیابی قرار گرفت تا روابط میان پارامترها و نیروی بحرانی تبیین شود.

برازش مدل رگرسیونی با استفاده از آزمون آماری واریانس و تحلیل باقیمانده ها مورد تایید قرار گرفته است و ضریب تعیین بالا (R^2) این مدل نشان دهنده دقت مدل در پیش بینی زمان بحرانی بود. علاوه بر این، مقایسه ی نتایج مدل با داده های تجربی گزارش شده در مطالعات پیشین، همخوانی مناسبی را نشان داد که اعتبار مدل توسعه یافته را از دیدگاه فیزیکی تأیید می کند. مدل ارائه شده می تواند به عنوان ابزاری کم هزینه و دقیق برای طراحی بهینه ی ابزارهای میکروسکوپ نیروی اتمی و کنترل فرایندهای نانومنیپولیشن زیستی مورد استفاده قرار گیرد.

یافته های این پژوهش نشان داد که استفاده از روش طراحی آزمایش ها به منظور مدل سازی زمان بحرانی منیپولیشن سه بعدی نانوذرات روشی کارآمد و دقیق است. تحلیل های آماری به دست آمده بیانگر آن بودند که:

۱. پارامترهای هندسی مانند شعاع ذره (R_p) و ارتفاع سوزن (H) بیشترین تأثیر را در افزایش زمان بحرانی داشته اند. این افزایش ناشی از تقویت تماس مکانیکی بین ابزار و نانوذره است.
۲. ضخامت سوزن (T) نقشی معکوس ایفا کرده و کاهش ضخامت به افزایش زمان بحرانی انجامیده است که احتمالاً ناشی از انعطاف پذیری بالاتر و تماس مؤثرتر است.

۳. اثرات ترکیبی میان متغیرها در نمودارهای کانتور به خوبی قابل مشاهده بودند. به عنوان مثال، در نمودار زمان بحرانی در برابر ارتفاع سوزن و شعاع ذره، نواحی با بیشترین مقدار زمان بحرانی در بخش‌هایی قرار دارند که هر دو پارامتر در مقادیر بالاتر قرار دارند.

۴. رسیدن مؤلفه‌های نیروی منیپولیشن به حالت پایدار پس از ۶۰ میلی ثانیه نشان‌دهنده عبور از نیروی بحرانی و شروع حرکت ذره است. تطابق این رفتار با داده‌های کانتور و مدل رگرسیونی نشان می‌دهد که رویکرد طراحی آزمایش‌ها برای پیش‌بینی زمان بحرانی قابل اطمینان است.

از مجموع نتایج می‌توان نتیجه گرفت که مدل پیشنهادی نه تنها قابلیت پیش‌بینی مناسبی از رفتار سیستم دارد، بلکه امکان استفاده از آن در طراحی دقیق ابزارهای نانومکانیکی فراهم است. این رویکرد، مسیر جدیدی برای تحلیل و کنترل دقیق‌تر برهم‌کنش‌های مکانیکی در مقیاس نانو فراهم می‌سازد و می‌تواند در کاربردهای حیاتی نظیر منیپولیشن نانوذرات زیستی، انتقال دارو، و ساختاردهی سلول‌های منفرد مورد استفاده قرار گیرد. برای تحقیقات آینده، پیشنهاد می‌شود تأثیر متغیرهای محیطی نظیر دما، رطوبت، و نوع بستر نیز وارد مدل شود تا دقت پیش‌بینی در شرایط عملی افزایش یابد.

۵- فهرست علائم

علائم انگلیسی

F_X	نیروی اعمالی به انتهای سوزن در راستای x , kgms^{-2}
F_Y	نیروی اعمالی به انتهای سوزن در راستای y , kgms^{-2}
F_T	مجموع نیروی اعمالی به انتهای سوزن, kgms^{-2}
H	ارتفاع سوزن, m
L	طول تیرک, m
R_p	شعاع نانوذره, m
T	ضخامت تیرک, m
T_{cr}	زمان بحرانی, s
W	عرض تیرک, m

۶- مراجع

- [1] G. Binnig, C.F. Quate, C. Gerber, Atomic force microscope, Physical review letters, 56(9) (1986) 930.
- [2] D. Kirmizis, S. Logothetidis, Atomic force microscopy probing in the measurement of cell mechanics, International journal of nanomedicine, (5) (2010) 137-145.
- [3] J. Zemła, J. Danilkiewicz, B. Orzechowska, J. Pabijan, S. Seweryn, M. Lekka, Atomic force microscopy as a tool for assessing the cellular elasticity and adhesiveness to identify cancer cells and tissues, in: Seminars in cell & developmental biology, Elsevier, (2018) 115-124.
- [4] M.J. Sharifi, A.R. Khoogar, M. Tajdari, Modeling forces between the probe of atomic microscope and the scanning surface, Neural Computing and Applications, 31(10) (2019) 6419-6428.
- [5] J. Wood, R. Bright, D. Palms, D. Barker, K. Vasilev, Damage Behavior with Atomic Force Microscopy on Anti-Bacterial Nanostructure Arrays, Nanomaterials, 14(3) (2024) 253.
- [6] O.D. Payton, L. Picco, T.B. Scott, High-speed atomic force microscopy for materials science, International Materials Reviews, 61(8) (2016) 473-494.
- [7] Y. Shen, D.M. Czajkowsky, B. Li, J. Hu, Z. Shao, J. Sun, Atomic Force Microscopy: Mechanosensor and Mechanotransducer for Probing Biological System from Molecules to Tissues, Small, 21(2) (2025) 2408387.

- [8] B. Guner, S. Laflamme, O.E. Dagdeviren, Customization of an atomic force microscope for multidimensional measurements under environmental conditions, *Review of Scientific Instruments*, 94(6) (2023).
- [9] M.d.S. do Nascimento Amorim, A.I.R. Silva França, R. Santos-Oliveira, J. Rodrigues Sanches, T. Marinho Melo, B. Araújo Serra Pinto, L.R. Barbosa, L.M.R. Alencar, Atomic Force Microscopy Applied to the Study of Tauopathies, *ACS Chemical Neuroscience*, 15(4) (2024) 699-715.
- [10] M. Taheri, M. Mirzalu, Experimental Extraction of Young's Modulus of MCF-7 Breast Cancer Cell Using Spherical Contact Models, *Amirkabir Journal of Mechanical Engineering*, 53(12) (2022) 5769-5784.(In persian)
- [11] M. Taheri, Investigation of the effect of different friction models on experimental extraction of 3D nanomanipulation force and critical time of colon cancer tissue, *Amirkabir Journal of Mechanical Engineering*, 54(4) (2022) 4.(In persian)
- [12] Y. Feng, M. Li, Micropipette-assisted atomic force microscopy for single-cell 3D manipulations and nanomechanical measurements, *Nanoscale*, 15(32) (2023) 13346-13358.
- [13] D.J. Müller, A.C. Dumitru, C. Lo Giudice, H.E. Gaub, P. Hinterdorfer, G. Hummer, J.J. De Yoreo, Y.F. Dufrêne, D. Alsteens, Atomic force microscopy-based force spectroscopy and multiparametric imaging of biomolecular and cellular systems, *Chemical reviews*, 121(19) (2020) 11701-11725.
- [14] R. Xu, J. Guo, S. Mi, H. Wen, F. Pang, W. Ji, Z. Cheng, Advanced atomic force microscopies and their applications in two-dimensional materials: a review, *Materials Futures*, 1(3) (2022) 032302.
- [15] P. Canepa, S.M.C. Rotondi, O. Cavalleri, Atomic force microscopy as a nanolithography tool to investigate the DNA/gold interface, *Current Opinion in Electrochemistry*, 44 (2024) 101444.
- [16] D. Alsteens, H.E. Gaub, R. Newton, M. Pfreundschuh, C. Gerber, D.J. Müller, Atomic force microscopy-based characterization and design of biointerfaces, *Nature Reviews Materials*, 2(5) (2017) 1-16.
- [17] M. Marchetti, G. Wuite, W. Roos, Atomic force microscopy observation and characterization of single virions and virus-like particles by nano-indentation, *Current opinion in virology*, 18 (2016) 82-88.
- [18] K. Haase, A.E. Pelling, Investigating cell mechanics with atomic force microscopy, *Journal of The Royal Society Interface*, 12(104) (2015) 20140970.
- [19] S.A. Sumaiya, J. Liu, M.Z. Baykara, True atomic-resolution surface imaging and manipulation under ambient conditions via conductive atomic force microscopy, *ACS nano*, 16(12) (2022) 20086-20093.
- [20] D.C. Montgomery, Design and analysis of experiments, John wiley & sons, 2017.