



Получено: 3.11.2022 г. | Принято: 7.11.2022 г. | DOI: <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2022.15.7-8.418.425>

Научная статья

ИЗМЕРЕНИЕ СТРУКТУРЫ И ТЕПЛОФИЗИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ОБРАЗЦОВ С ПОМОЩЬЮ СОВМЕЩЕННОЙ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ И НАНОКАЛОРИМЕТРИИ

И.В.Яминский^{1, 2}, д.ф.-м.н., профессор МГУ имени М.В. Ломоносова, физический и химический факультеты, генеральный директор Центра перспективных технологий, ORCID: 0000-0001-8731-3947 / yaminsky@nanoscopy.ru

Д.А.Иванов^{1, 3, 4}, к.ф.-м.н., зав. лабораторией, ORCID: 0000-0002-5905-2652

А.И.Ахметова^{1, 2}, инженер НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ, ведущий специалист Центра перспективных технологий, ORCID: 0000-0002-5115-8030

Н.Е.Максимова¹, студент, ORCID: 0000-0001-7385-6799

А.П.Мельников¹, к.ф.-м.н., науч. сотр., ORCID: 0000-0003-2277-9644

А.Ф.Ахлямова^{1, 3}, мл. науч. сотр., ORCID: 0000-0003-0177-7818

Аннотация. Исследования зависимости характеристик объектов от температуры является актуальным и важным направлением в биомедицине и материаловедении. Известно, что температура может вызывать изменения молекулярной структуры биомакромолекул (нуклеиновых кислот, белков, липидов) и, в том числе, влиять на их функциональность. Реакция белков на изменение температурных условий может быть самой различной. Например, некоторые белки обладают высокой термостабильностью, в то время как другие могут разворачиваться или даже денатурировать при умеренной температуре. С помощью зондовой микроскопии изменения объектов исследования можно визуализировать, а также регистрировать зависимость таких параметров, как жесткость, упругость, сопротивляемость внешнему воздействию от температуры.

Ключевые слова: биомедицина, зондовая микроскопия, атомно-силовая микроскопия, ФемтоСкан, нанокалориметрия

Для цитирования: И.В. Яминский, Д.А. Иванов, А.И. Ахметова, Н.Е. Максимова, А.П. Мельников, А.Ф. Ахлямова. Измерение структуры и теплофизических характеристик образцов с помощью совмещенной атомно-силовой микроскопии и нанокалориметрии. НАНОИНДУСТРИЯ. 2022. Т. 15, № 7–8. С. 418–425. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2022.15.7-8.418.425>

Received: 3.11.2022 | Accepted: 7.11.2022 | DOI: <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2022.15.7-8.418.425>

Original paper

MEASUREMENT OF THE STRUCTURE AND THERMOPHYSICAL CHARACTERISTICS OF THE SAMPLES BY COMBINED ATOMIC FORCE MICROSCOPY AND NANOCALORIMETRY

¹ МГУ имени М.В.Ломоносова, физический и химический факультеты, Москва, Россия / Lomonosov Moscow State University, Physical and Chemical departments, Moscow, Russia

² ООО НПП "Центр перспективных технологий", Москва, Россия / Advanced Technologies Center, Moscow, Russia

³ Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии РАН, Черноголовка, Россия / Federal Research Center of Problems of Chemical Physics and Medicinal Chemistry RAS, Chernogolovka, Russia

⁴ Institute de Sciences des Matériaux de Mulhouse-IS2M, CNRS UMR 7361, F-68057 Mulhouse, France



I.V.Yaminsky^{1, 2}, Doct. of Sci. (Physics and Mathematics), Prof. of Lomonosov Moscow State University, Physical and Chemical departments, Director of Advanced Technologies Center, ORCID: 0000-0001-8731-3947 / yaminsky@nanoscopy.ru

D.A.Ivanov^{1, 3, 4}, Cand. of Sci. (Physics and Mathematics), Head of Laboratory, ORCID: 0000-0002-5905-2652

A.I.Akhmetova^{1, 2}, Engineer of A.N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Leading Specialist of Advanced Technologies Center, ORCID: 0000-0002-5115-8030

N.E.Maksimova¹, Student, ORCID: 0000-0001-7385-6799

A.P.Melnikov¹, Cand. of Sci. (Physics and Mathematics), Researcher, ORCID: 0000-0003-2277-9644

A.F.Akhkiamova^{1, 3}, Junior Researcher, ORCID: 0000-0003-0177-7818

Abstract. Studies of the dependence of object characteristics on temperature are the relevant and important area in biomedicine and materials science. It is known that temperature can cause changes in the molecular structure of biomacromolecules (nucleic acids, proteins, lipids), including their functionality. The response of proteins on temperature conditions changes can be very different. For example, some proteins are highly thermostable while others can unfold or even denature at moderate temperatures. Using probe microscopy, the changes in research objects can be visualised and the dependence of parameters such as stiffness, elasticity and resistance to external influences on temperature can be recorded.

Keywords: biomedicine, probe microscopy, atomic force microscopy, FemtoScan, nano calorimetry

For citation: I.V. Yaminsky, D.A. Ivanov, A.I. Akhmetova, N.E. Maksimova, A.P. Melnikov, A.F. Akhkiamova. Measurement of the structure and thermophysical characteristics of the samples by combined atomic force microscopy and nanocalorimetry. НАНОИНДУСТРИЯ. 2022. Т. 15, № 7–8. РР. 418–425. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2022.15.7-8.418.425>

ВВЕДЕНИЕ

Сканирующая зондовая микроскопия находит самые широкие применения в медицинской диагностике, вирусологии, микробиологии, биофизике, материаловедении и во многих других производственных, технологических и исследовательских приложениях.

Недавние наблюдения с помощью атомно-силового микроскопа показали, что вирус SARS-CoV-2 можно инактивировать нагреванием, при этом время воздействия для полной инактивации зависит от достигнутой температуры (например, более 45 мин при 329 К или менее 5 мин при 373 К) [1]. В работе [2] использовали атомно-силовую микроскопию (ACM) для изучения структурной стабильности отдельных вирусоподобных частиц SARS-CoV-2 при различных температурах. Было показано, что даже умеренное повышение температуры приводит к резкому нарушению структурной стабильности вируса, особенно при воздействии тепла в сухом состоянии.

В работе [3] исследовали олигомерные пленки холестерического циклосилоксана, на поверхности которых с помощью ACM наблюдали фокальные конические домены с двойной спиралью. *In situ* исследование зависимости топографии пленок от температуры показало, что формированием рельефа поверхности можно эффективно управлять, варьируя режимы термической обработки. Было показано, что

INTRODUCTION

Scanning probe microscopy has a wide range of applications in medical diagnostics, virology, microbiology, biophysics, materials science and many other industrial, technological and research applications.

Recent atomic force microscope observations have shown that SARS-CoV-2 virus can be inactivated by heating, with exposure time for complete inactivation depending on the temperature reached (e.g. more than 45 minutes at 329 K or less than 5 minutes at 373 K) [1]. Atomic force microscopy (AFM) was used in [2] to study structural stability of individual SARS-CoV-2 virus-like particles at different temperatures. It was shown that even a moderate increase in temperature leads to a drastic disturbance of structural stability of the virus, especially when exposed to heat in dry state.

In [3] oligomeric cholesteric cyclosiloxane films were studied, and the focal conical double-helix domains on the surface were observed using AFM. An *in situ* study of the temperature dependence of the film topography showed that the surface topography formation could be effectively controlled by varying the heat treatment regimes. It was shown that the resulting structures could be frozen by cooling films below their glass transition temperature.

The probe microscopy laboratory of the Physical department at Lomonosov Moscow State University uses the most technologically advanced equipment of the Research and Production Enterprise "Advanced Technologies Center" to



Рис.1. "ФемтоСкан Крио" регистрирует силы с помощью кварцевого камертона, поэтому в системе отсутствует лазерный луч и источники тепловых помех

Fig.1. FemtoScan Cryo records forces using a quartz tuning fork, so there is no laser beam or thermal interference sources in the system

полученные структуры можно замораживать, охлаждая пленки ниже температуры стеклования.

В лаборатории зондовой микроскопии физического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова используется наиболее технологически совершенное оборудование Научно-производственного предприятия "Центр перспективных технологий" для проведения температурных экспериментов с помощью зондовой микроскопии: атомно-силовой микроскоп "ФемтоСкан" позволяет осуществлять сканирование в более чем 100 различных режимах. За счет компактности и простоты управления прибор используется не только в передовых научных проектах, но и в центре молодежного инновационного творчества "Нанотехнологии" для образовательных и исследовательских целей.

С помощью "ФемтоСкан Крио" можно изменять температуру внутри рабочей камеры в диапазоне 4,2–300 К. Точность поддержания температуры – 0,05 К (рис.1).

Быстро действующая зондовая микроскопия реализована на базе "ФемтоСкан X" [4]. Совмещенный с оптической микроскопией "ФемтоСкан Xi" позволяет проводить измерения в режимах атомно-силовой и сканирующей капиллярной микроскопии [5] (рис.2).

Наблюдение объектов с помощью микроскопов серии "ФемтоСкан" при температурах в диапазоне от комнатной до 100 °C реализуется с помощью



Рис.2. Сверху – "ФемтоСкан X", высокоскоростной сканирующий зондовый микроскоп для биологии и медицины. Снизу – "ФемтоСкан Xi" на базе инвертированного оптического микроскопа

Fig.2. Upper image: FemtoScan X, a high-speed scanning probe microscope for biology and medicine. Lower image: FemtoScan Xi based on an inverted optical microscope

conduct temperature experiments using probe microscopy: the FemtoScan atomic force microscope allows scanning in more than 100 different modes. Due to its compact size and ease of operation, this device is used not only in cutting-edge scientific projects, but also at the Youth Innovation Creativity Centre "Nanotechnology" for educational and research purposes.

When using FemtoScan Cryo, it is possible to change temperature inside the working chamber can be varied between 4.2–300 K. The accuracy of temperature maintenance is 0.05 K (Fig.1).



компактного нагревательного столика. Следует отметить, что в сканирующую зондовую микроскопию успешно интегрируют многие другие физико-химические методы. Например, на базе сканирующего зондового микроскопа реализован режим атомных весов для определения массы микро- и наночастиц.

Программное обеспечение "ФемтоСкан Онлайн" используется не только для управления всеми режимами микроскопии, но и для многофункциональной обработки экспериментальных данных. "ФемтоСкан Онлайн" позволяет легко интегрировать в микроскоп новые режимы измерений.

ПРИБОРЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящей работе представлено описание совмещенного режима атомно-силовой микроскопии и нанокалориметрии или сверхбыстрой чип-калориметрии.

Нанокалориметрия – это сверхбыстрая калориметрия на чипе на основе нитрида кремния. Методика основана на использовании тонкой нитрид-кремниевой свободной мембранны, изменение температуры реализуется путем пропускания электрического тока через резистивные нагревательные элементы. Серия последовательно соединенных термопар, размещенных по периметру активной области нанокалориметрического сенсора, позволяет измерять температуру в процессе эксперимента, даже в условиях использования высоких скоростей нагрева и охлаждения в диапазоне от 100 до 1000 000 К/с [6–10]. Это позволяет успешно применять их для исследования микроскопических объемов образцов массой от нескольких сотен пикограммов до нескольких сотен нанограммов.

В данной работе представлен совмещенный АСМ на базе микроскопа "ФемтоСкан" с нанокалориметром (рис.3), созданным на базе лаборатории инженерного материаловедения факультета фундаментальной физико-химической инженерии МГУ им. М.В. Ломоносова, который позволяет проводить характеристизацию образцов с массой порядка нанограмма.

Главным преимуществом прибора по сравнению с дифференциальной сканирующей калориметрией является возможность проведения экспериментов в режиме DC (в экспериментах с постоянными скоростями нагрева и охлаждения) с высокими скоростями нагрева (до 10^5 К/с). Основные характеристики прибора представлены в табл.1. Благодаря данным особенностям прибора становится возможным количественный термический анализ образцов тонких пленок, полимерных волокон и порошковых материалов.

В режиме быстрого нагрева могут быть получены экспериментальные нанокалориметрические



Рис.3. Сверху – СЗМ "ФемтоСкан", снизу – контрольный блок и держатель с сенсором прибора "Нанокалориметр"
Fig.3. FemtoScan SPM – upper image, control unit and NanoCalorimeter sensor holder – lower image

High-speed probe microscopy is based on FemtoScan X [4]. Combined with optical microscopy, FemtoScan Xi allows measurements in both atomic force and scanning capillary microscopy modes [5] (Fig.2).

Observation of objects with the FemtoScan series microscopes at temperatures ranging from room temperature to 100 °C is accomplished with a compact heating table. It should be noted that many other physico-chemical methods are successfully integrated into the scanning probe microscopy. For example, the scanning probe microscope has implemented an atomic scale mode to determine mass of micro- and nanoparticles.

FemtoScan Online software is used not only to control all microscopy modes but also for multifunctional processing of experimental data. FemtoScan Online makes it easy to integrate new measurement modes into a microscope.

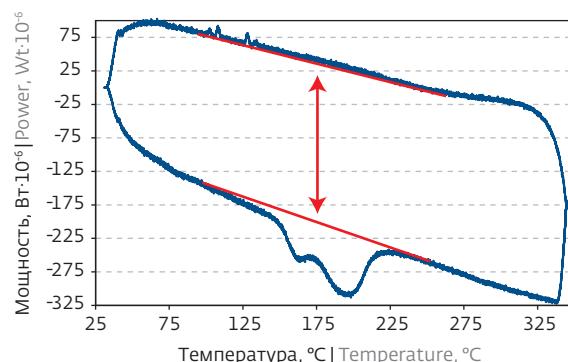


Рис.4. Нанокалориметрическая кривая, полученная в ходе нагрева и охлаждения образца поли(триимидилен терефталата) со скоростью 1000 °C/с с целью расчета массы исследуемого образца

Fig.4. Nanocalorimetric curve obtained during heating and cooling of a poly(trimethylene terephthalate) sample at 1000 °C/s in order to calculate the test sample mass

профили нагрева и последующего охлаждения для оценки массы исследованного образца. На рис.4 представлена нанокалориметрическая кривая, полученная в ходе нагрева и охлаждения образца поли(триимидилен терефталата) со скоростью 1000 К/с с целью расчета массы исследуемого образца. Разница между базовыми линиями нагрева и охлаждения соответствует:

$$\Delta P = 2C_p\beta,$$

где ΔP – мощность; C_p – теплоемкость образца; β – скорость нагрева/охлаждения.

Таким образом, из установленного значения теплоемкости образца можно вычислить массу образца, используя табличные значения удельной теплоемкости материала.

На рис.5 показаны нанокалориметрические кривые для частицы индия при разных скоростях нагрева в диапазоне от 250 до 7000 К/с. Начало пика плавления каждой кривой позволяет установить временную константу отклика нанокалориметрического сенсора и в дальнейшем нормировать полученные экспериментальные данные с учетом вычисленного для каждой скорости нагрева характерного температурного сдвига.

Для проведения исследований на "Нанокалориметре" используются коммерческие MEMS-сенсоры серии XEN-39392, изготовленные компанией XENSOR Integration (Нидерланды) (рис.6).

Таблица 1. Характеристики прибора "Нанокалориметр"
Table 1. Specifications of Nanocalorimeter

Диапазон температур образца в режиме медленных нагревов Sample temperature range in slow heating mode	173–573 К (от –100 до +300 °C) (from –100 to +300 °C)
Диапазон температур образца в режиме быстрых (за несколько мс) нагревов Sample temperature range in fast (a few ms) heating mode	173–723 К (от –100* до +450 °C) (from –100* to +450 °C) * с использованием криоячейки using criocell only
Погрешность измерения температуры образца Sample temperature error	±1,0 K
Разрешение по температуре образца Sample temperature resolution	±0,001 K
Максимальная скорость нагрева образца Maximum heating rate of the sample	До 10 ⁶ К/с* Up to 10 ⁶ K/s* * зависит от типа сенсора depending on sensor type
Два режима измерений Two measurement modes	<ul style="list-style-type: none"> Режим АС (модуляция температуры относительно заданного уровня или модуляция температуры с синхронным детектированием на удвоенной частоте) AC mode (temperature modulation relative to setpoint or temperature modulation with synchronous detection at double frequency); режим DC (импульсный режим) DC mode (pulse mode)
Частотный диапазон модуляции температуры Temperature modulation frequency range	От 1,0 Гц до 40 кГц From 1.0 Hz to 40 kHz
Точность измерения фазового сдвига температурного отклика образца Accuracy of phase shift measuring of the sample temperature response	±0,05°
Максимальная частота выборки (разрешение по времени) Maximum sampling rate (time resolution)	200 кГц kHz (5 мкс μs)



На мемbrane находятся также электроды, которые играют роль нагревательных элементов и термопар.

Возможность варьирования конструктивных особенностей сенсоров, например размера активной зоны или скоростей нагрева, открывает широкий спектр возможностей для исследования различных материалов. При этом открываются новые перспективы в исследовании полимерных систем и особенностей их кристаллизации, изучении особенностей поведения металлов в аморфных состояниях, полупроводниковых систем, в изучении процессов деградации и старения лекарственных препаратов и высокоэнергетических материалов. Кроме того, благодаря относительной прозрачности мембраны из нитрида кремния как для видимого, так и для рентгеновского диапазона становится возможным совмещение данного прибора с другими экспериментальными методами.

Стоит отметить, что из-за низкой теплопроводности мембраны из нитрида кремния во время процессов нагрева вокруг активной зоны нанокалориметрического сенсора образуется сфера нагретого воздуха, которая и является основным проводником тепла от нагревательных элементов к образцу. Небольшой размер данной сферы служит значительным преимуществом при совмещении "Нанокалориметра" с другими методами физико-химического анализа [11–18]. Благодаря данным конструктивным особенностям прибора появляется возможность совмещения его с АСМ без использования дорогостоящих температурных столиков и специальных температурных АСМ-головок, а также дает возможность проведения высокотемпературных *in situ* экспериментов.

ВЫВОДЫ

Совместное применение методов атомно-силовой микроскопии с другими физико-химическими методами не только существенно расширяет информативность микроскопии, но и самих физико-химических методов. Визуальное наблюдение процессов в трехмерном виде, измерение локальных механических свойств объектов, запись детального видеоряда изображений с высоким пространственным и времененным разрешением существенно упрощают рациональную интерпретацию экспериментальных данных при реализации экспериментальных исследований.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 19-29-12049/21) и РНФ (№ 22-73-00081).

ИНФОРМАЦИЯ О РЕЦЕНЗИРОВАНИИ

Редакция благодарит анонимного рецензента (рецензентов) за их вклад в рецензирование этой работы,

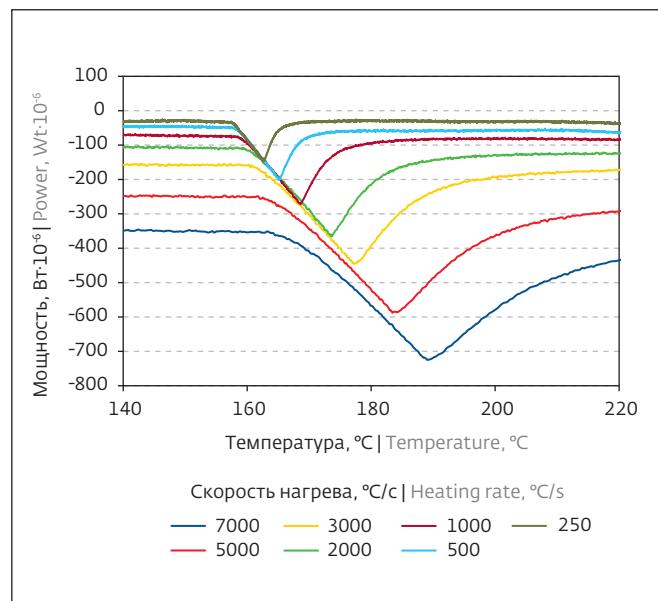


Рис.5. Нанокалориметрические кривые, полученные в ходе нагрева микрочастицы калибра (индия) со скоростями от 250 до 7000 К/с с целью расчета временной константы нанокалориметрического сенсора и температурного сдвига при использовании различных скоростей нагрева

Fig.5. Nanocalorimetric curves obtained by heating calibrant microparticles (indium) at rates between 250 and 7000 K/s in order to calculate the nanocalorimetric sensor time constant and temperature shift using different heating speeds

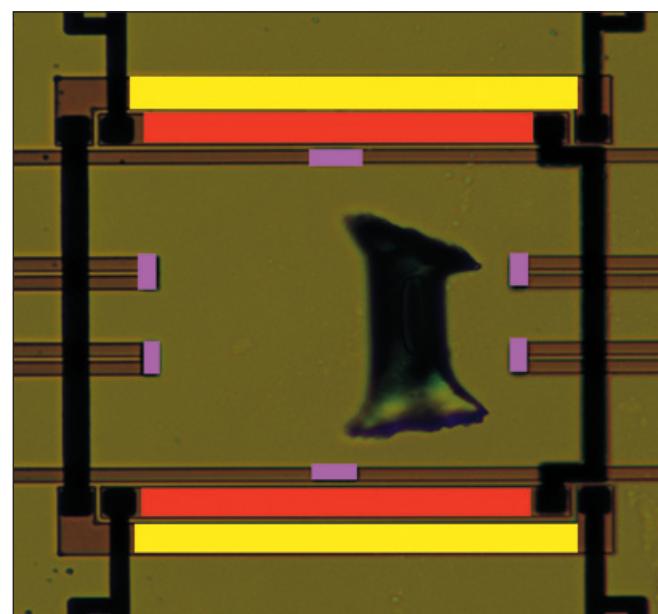


Рис.6. Фотография активной зоны нанокалориметрического сенсора, нагреватели обозначены желтым и красным цветами, а термопары – фиолетовым цветом

Fig.6. Image of nanocalorimetric sensor active core, the heaters are marked in yellow and red, and thermocouples are marked in purple

а также за размещение статей на сайте журнала и передачу их в электронном виде в НЭБ eLIBRARY.RU.

Декларация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Martí D., Torras J., Bertran O. et al. Temperature effect on the SARS-CoV-2: A molecular dynamics study of the spike homotrimeric glycoprotein. Computational and Structural Biotechnology Journal, 19 (2021) PP. 1848–1862. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.03.037>
2. Sharma A., Preece B., Swann H., Fan X., McKenney R.J., Ori-McKenney K.M., Saffarian S., Vereshchin M.D. Structural stability of SARS-CoV-2 virus like particles degrades with temperature, Biochem. Biophys. Res. Commun. 534 (2021). PP. 343–346, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.11.080>
3. Sinitsyna O.V., Bobrovsky A.Y., Meshkov G.B., Yaminsky I.V., Shibaev V.P. Surface relief changes in cholesteric cyclosiloxane oligomer films at different temperatures. Journal of Physical Chemistry B 119, 39 (2015), PP. 12708–12713. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jpcb.5b06643>
4. Филонов А., Савинов С., Синицына О., Мешков Г., Яминский И. ФемтоСкан Х – новый сканирующий зондовый микроскоп. НАНОИНДУСТРИЯ, 2012 (3). С. 48–49.
5. Akhmetova A.I., Gukasov V.M., Rybakov Y.L., Yaminsky I.V. High-speed scanning probe microscopy in biomedicine. Bio-Medical Engineering. 2021 54(6): PP. 434–437. <http://dx.doi.org/10.1007/s10527-021-10056-4>
6. Merzlyakov M. Method of rapid (100 000 K s⁻¹) controlled cooling and heating of thin samples, Thermochim Acta, 442, 2006. PP. 52–60.
7. Lopeandía A.F., Rodríguez-Viejo J. Size-dependent melting and supercooling of Ge nanoparticles embedded in a SiO₂ thin film, Thermochim Acta, 2007. 461, pp. 82–87.
8. Minakov A.A., van Herwaarden A.W., Wien W., Wurm A., Schick C. Advanced nonadiabatic ultrafast nanocalorimetry and superheating phenomenon in linear polymers, Thermochim Acta, 2007. 461, pp. 96–106.
9. Ahrenberg M., Shoifet E., Whitaker K.R., Huth H., Ediger M.D., Schick C. Differential alternating current chip calorimeter for in situ investigation of vapor-deposited thin films, Rev Sci Instrum, 2012. 83:033902.
10. Minakov A.A., Schick C. Ultrafast thermal processing and nanocalorimetry at heating and cool-

INSTRUMENTS AND RESEARCH METHODS

This paper presents a description of a combined mode of atomic force microscopy and nanocalorimetry or ultrafast chip calorimetry.

Nanocalorimetry is an ultra-fast calorimetry on a silicon nitride-based chip. The technique is based on a thin silicon nitride free membrane, and temperature change is achieved by passing electrical current through resistive heating elements. A number of thermocouples placed along the perimeter of the active area of the nanocalorimetric sensor allows temperature to be measured during the experiment, even when high heating and cooling rates, ranging from 100–1000 000 K/s, are used [6–10]. This allows successful application for investigations of microscopic sample volumes ranging from a few hundred picograms to several hundred nanograms.

This paper presents a combined AFM based on a FemtoScan microscope with a nanocalorimeter (Fig.3), created at the Laboratory of Engineering Materials Science, Faculty of Fundamental Physical and Chemical Engineering, Lomonosov Moscow State University, which allows describing samples with mass of the order of nanograms.

The main advantage of the device compared to differential scanning calorimetry is a possibility of conducting experiments in DC mode (in experiments with constant heating and cooling rates) with high heating rates (up to 10⁵ K/s). The main characteristics of the device are presented in Table 1. Due to these features of the instrument it is possible to perform quantitative thermal analysis of thin films samples, polymer fibres and powders.

In the fast heating mode experimental nanocalorimetric heating and subsequent cooling profiles can be obtained to estimate the investigated sample mass. Figure 4 shows a nanocalorimetric curve obtained during heating and cooling of a sample poly(trimethylene terephthalate) at a rate of 1000 K/s in order to calculate the investigated sample mass. The difference between heating and cooling baselines corresponds to:

$$\Delta P = 2C_p\beta,$$

where ΔP is the power, C_p is the heat capacity of the sample, β is the heating/cooling rate. Thus, the sample mass can be calculated from the determined value of the heat capacity of the sample using the tabulated values of the specific heat capacity of the material.

Fig.5 shows nanocalorimetric curves for indium particles at different heating rates in the range from 250 to 7000 K/s. The onset of the melting peak of each curve allows determining the response time constant of the nanocalorimetric sensor and the experimental data obtained to be further normalised with the characteristic temperature shift calculated for each heating rate.



- ing rates up to 1 MK/s, *Rev Sci Instrum*, 2007. 78:073902.
11. **Bersenev E.A., Maryasevskaya A.V., Komov E.V., Anokhin D.V., Ivanov D.A.** Exploring the Complexation of Counterion in Novel Family of Polyelectrolytes with Unexpected Solubility Behaviour, *Key Eng Mat*, 2020. 869, pp. 61–68. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.869.61>
 12. **Van Drongelen M., Meijer-Vissers T., Cavallo D., Portale G., Androsch R.** Microfocus wide-angle X-ray scattering of polymers crystallized in a fast scanning chip calorimeter, *Thermochim Acta*, 2013. 563, pp. 33–37. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2013.04.007>
 13. **Baeten D., Mathot V.B.F., Pijpers T.F.J., Verkinderen O., Portale G., Puyvelde P., Goderis B.** Simultaneous synchrotron WAXD and fast scanning (Chip) Calorimetry: on the Isothermal crystallization of HDPE and PA11 at high supercoolings and cooling rates up to 200 °C s⁻¹, *Macromol Rapid Commun*, 2015. 36, pp. 1184–1191. <https://doi.org/10.1002/marc.201500081>
 14. **Melnikov A.P., Rosenthal M., Ivanov D.A.** What thermal analysis can tell us about melting of semicrystalline polymers: Exploring the general validity of the technique. *ACS macro letters*, 2018. 7(12): pp. 1426–1431. <https://doi.org/10.1021/acsmacrolett.8b00754>
 15. **Melnikov A.P., Rosenthal M., Rodygin A.I., Doblas D., Anokhin D.V., Burghammer M., Ivanov D.A.** Re-exploring the double-melting behavior of semirigid-chain polymers with an in-situ combination of synchrotron nano-focus x-ray scattering and nanocalorimetry. *European Polymer Journal*, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.12.031>
 16. **Rosenthal M., Melnikov A.P., Manfred B., Ivanov D.A.** Reorganization of semicrystalline polymers on heating: Analyzing common misconceptions in the interpretation of calorimetric data. *European Polymer Journal*, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.06.036>
 17. **Rosenthal M., Doblas D., Hernandez J.J., Odarchenko Y.I., Burghammer M., Emanuela D.C., Spitzer D., Antipov A.E., Aldoshin L.S., Ivanov D.A.** High-resolution thermal imaging with a combination of nano-focus x-ray diffraction and ultra-fast chip calorimetry. *Journal of Synchrotron Radiation*, 2014. 21(1): pp. 223–228. <https://doi.org/10.1107/S1600577513024892>
 18. **Rosenthal M., Melnikov A.P., Rychkov A.A., Doblas D., Anokhin D.V., Burghammer M., Ivanov D.A.** Design of an in situ Setup Combining Nanocalorimetry and Nano- or Micro-focus X-Ray Scattering to Address Fast Structure Formation Processes. Springer International Publishing Switzerland, 2016. https://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-31329-0_9

The Nanocalorimeter uses commercial MEMS sensors of the XEN-39392 series manufactured by XENSOR Integration (Netherlands) (Fig.6). There are also electrodes on the membrane which act as heating elements and thermocouples.

The possibility of varying the design features of the sensors, such as the active zone size or heating rates, opens up a wide range of possibilities for the study of different materials. This opens new perspectives in the study of polymer systems and their crystallization features, the study of the metals behavior in amorphous states, semiconductor systems, the study of the degradation and aging of drugs and high-energy materials. In addition, the relative transparency of the silicon nitride membrane for both the visible and X-ray range makes it possible to combine this instrument with other experimental methods.

It is worth noting that due to the low thermal conductivity of the silicon nitride membrane during heating processes a sphere of heated air is formed around the active zone of the nanocalorimeter sensor, which is the main conductor of heat from the heating elements to the sample. Small size of this sphere is a significant advantage when combining the Nanocalorimeter with other methods of physical and chemical analysis [11–18].

These design features make it possible to combine the device with an AFM without the need for expensive temperature tables and special temperature AFM heads, and also make it possible to carry out high temperature experiments *in situ*.

CONCLUSIONS

Joint application of the atomic force microscopy methods with other physical and chemical methods not only greatly expands the informative power of microscopy but also the physical and chemical methods themselves. Visual observation of processes in three dimensions, measurement of the local mechanical properties of objects, recording of detailed video images with high spatial and temporal resolution significantly simplify rational interpretation of the experimental data obtained in the course of research.

ACKNOWLEDGMENTS

The study was completed with the financial support of the RFBR, project No. 19-29-12049/20 and RSF, project No. 22-73-00081.

PEER REVIEW INFO

Editorial board thanks the anonymous reviewer(s) for their contribution to the peer review of this work. It is also grateful for their consent to publish papers on the journal's website and SEL eLibrary eLIBRARY.RU.

Declaration of Competing Interest. The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.