TRANSMISNÍ ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE

Klára Šafářová

Centrum pro výzkum nanomateriálů, UP Olomouc

4.12.2009 Workshop: Mikroskopické techniky SEM a TEM

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

EVROPSKÁ UNIE

Obsah

konstrukce transmisního elektronového mikroskopu (TEM)

princip činnosti TEM

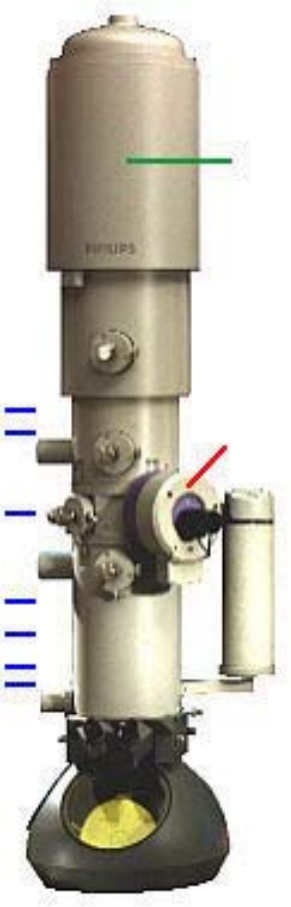
režimy měření u TEM

možné výstupy z TEM

příprava vzorků pro TEM

srovnání TEM a SEM

Konstrukce transmisního elektronového mikroskopu



zdroj elektronů (elektronové dělo)

preparátová komora

systém elektromagnetických čoček

luminiscenční stínítko

Zdroje elektronů

Termoemisní zdroj (wolframové vlákno, krystal LaB6)

na základě průchodu elektrického proudu dojde k zahřátí vlákna a úniku elektronů

Autoemisní zdroj (FEG)

elektrony emituje studené wolframové vlákno vyleptané do hrotu

Termoemisní zdroje

Wolframové vlákno

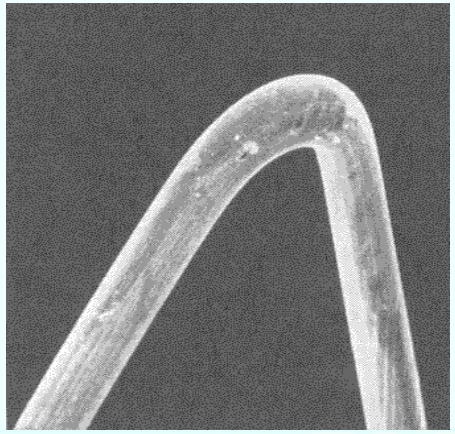
-nejčastěji užívaný zdroj

-nízká výstupní energie, vysoký bod tání

-nízká hodnota vakua pro provoz

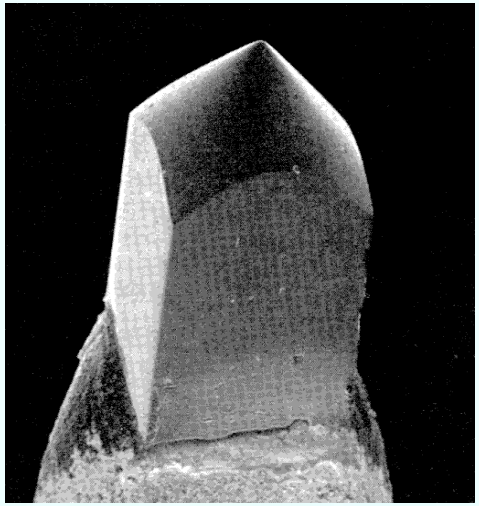
-žhavené na 2800C

-životnost přibližně měsíc



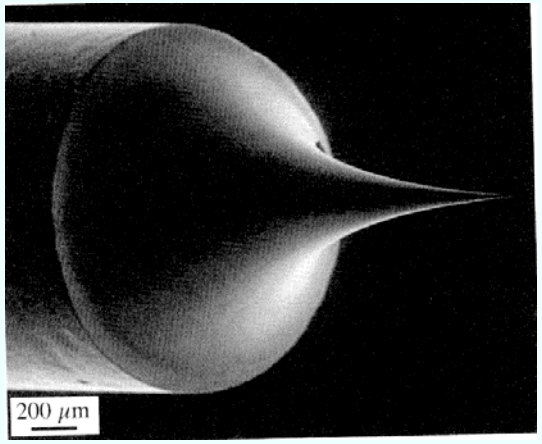
Krystal LaB6

- emituje 10x více elektronů než W zahřátý na stejnou teplotu
- žhavené na 2100C
- životnost přibližně rok



Autoemisní zdroj

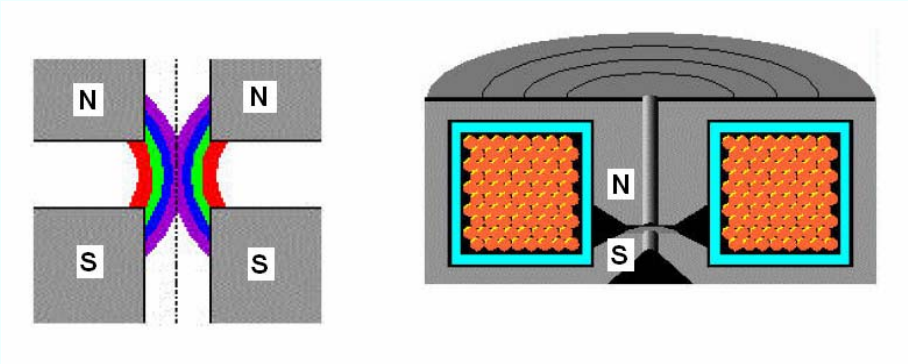
- lze docílit až tisícinásobné elektronové hustoty
- elektrony jsou „vysávány“ z velmi tenkého hrotu silným elektrickým polem
- životnost neomezená
- nevýhoda: vyžaduje vysokou hodnotu vakua (10-6-10-8Pa)

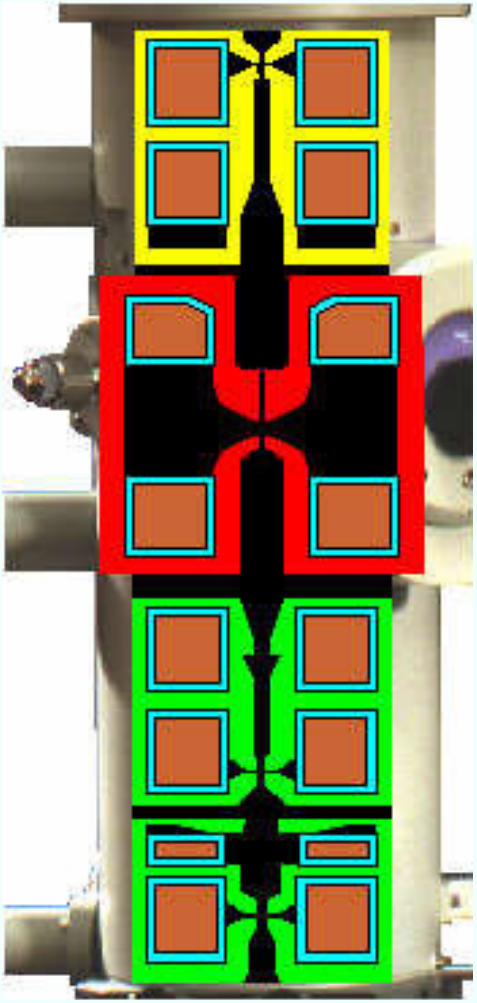


Elektromagnetické čočky

= prstence z velmi čistého železa, zasazené v cívkách

- slouží pouze jako spojky
- lehce fokusovatelné
- pracují ve vakuu
- zvětšení lze měnit změnou proudu procházejícího cívkami
- optické vady: sférická, chromatická, astigmatismus





<u>kondenzor</u> – promítá křižiště na preparát a zajišťuje jeho homogenní a intenzivní ozáření

<u>objektiv</u> – nejvýkonnější čočka mikroskopu

- největší zvětšení (50x-100x)

<u>projektiv</u> – „promítá“ obraz na stínítko

Pozorování a záznam obrazu

- obraz pozorován na fluorescenčním stínítku

- **fotografický záznam**

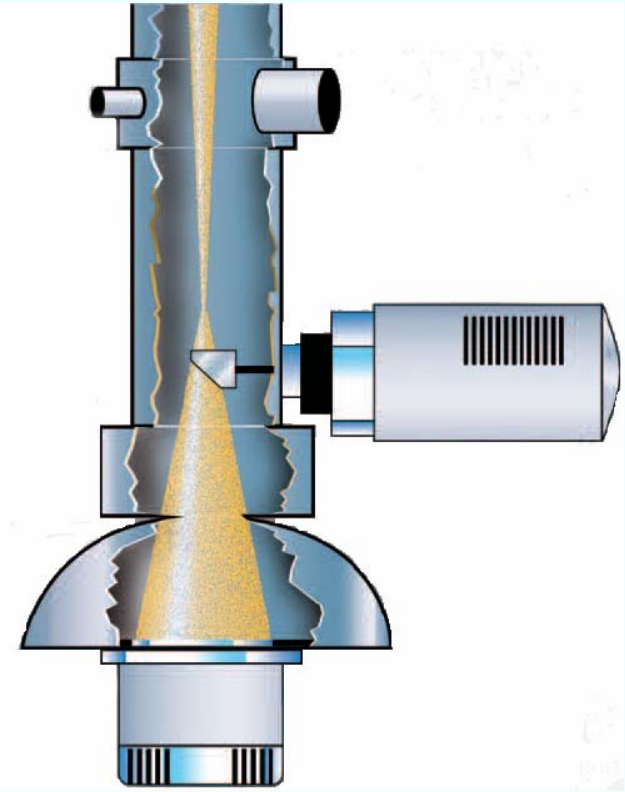
- **CCD kamera**

  Morada – vysokorozlišovací CCD kamera

  - **11 MPx**
  - **expoziční čas: 1ms-60s**
  - **10 snímků za sekundu**

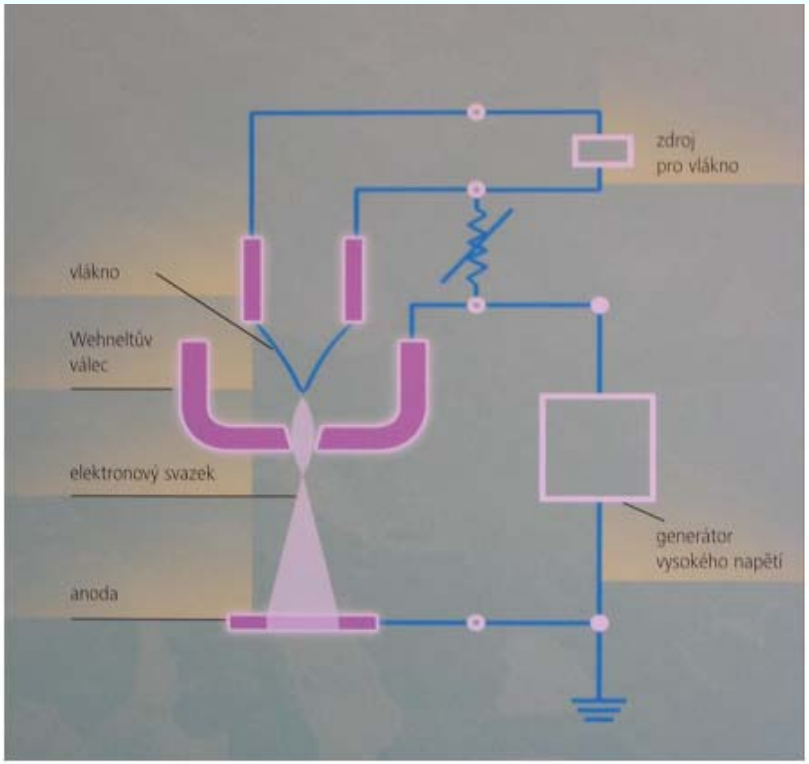
  KeenView – v ose elektronového svazku

  - **rozlišení: 1280x1024**
  - **expoziční čas: 100μs-160s**



Princip činnosti TEM

Elektronové dělo



vlákno → Wehneltův válec –stlačuje všechny elektrony do tzv. křížiště (před anodou) → anoda →magnetické pole kondenzorových čoček

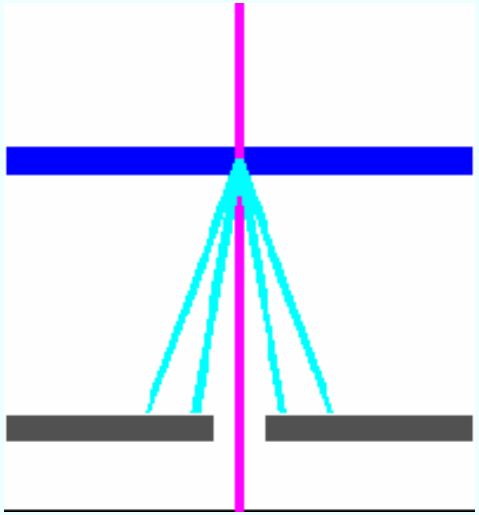
Režimy měření

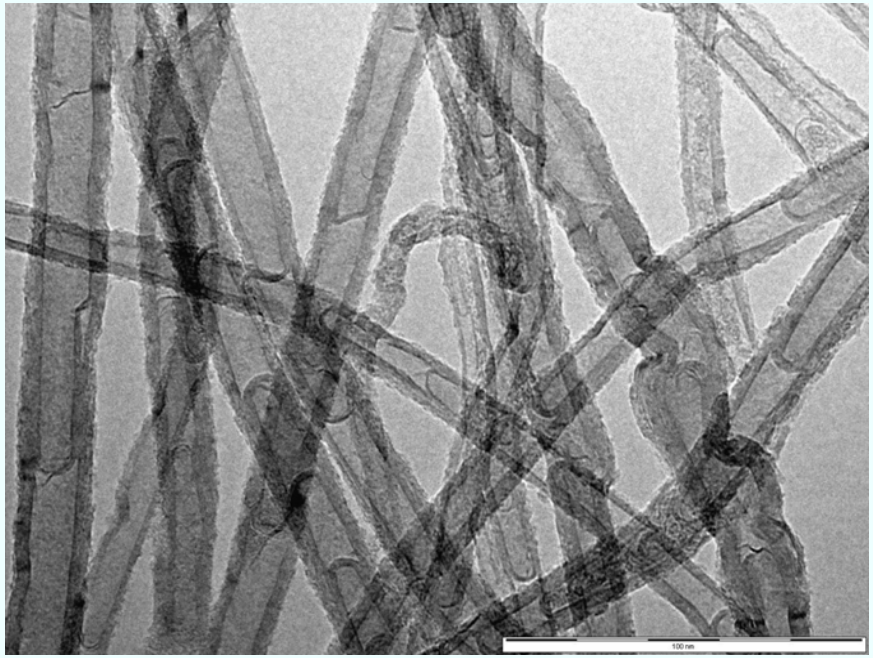
- světlé pole
  (standardní režim zobrazení)

- temné pole

Metoda světlého pole

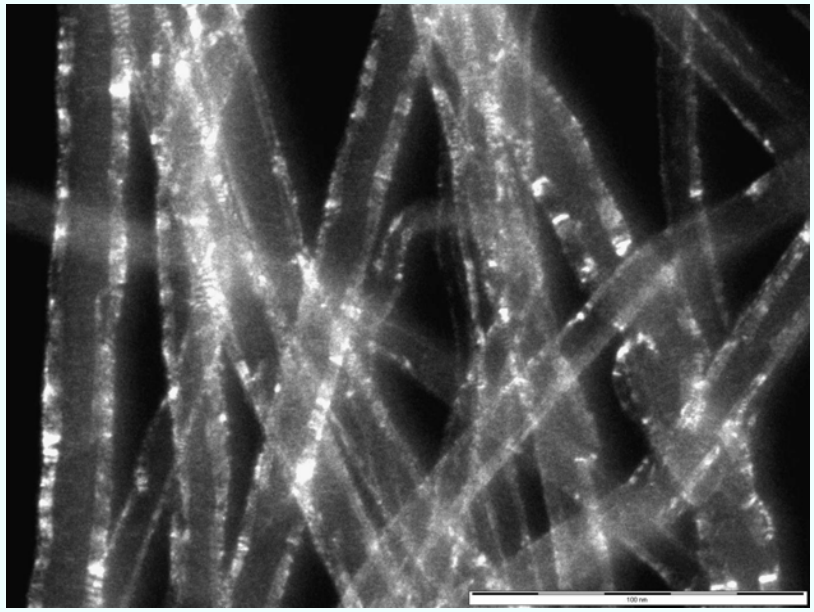
- obraz tvoří paprsky přímo procházející preparátem
- ostatní paprsky jsou odcloněny aperturní clonou



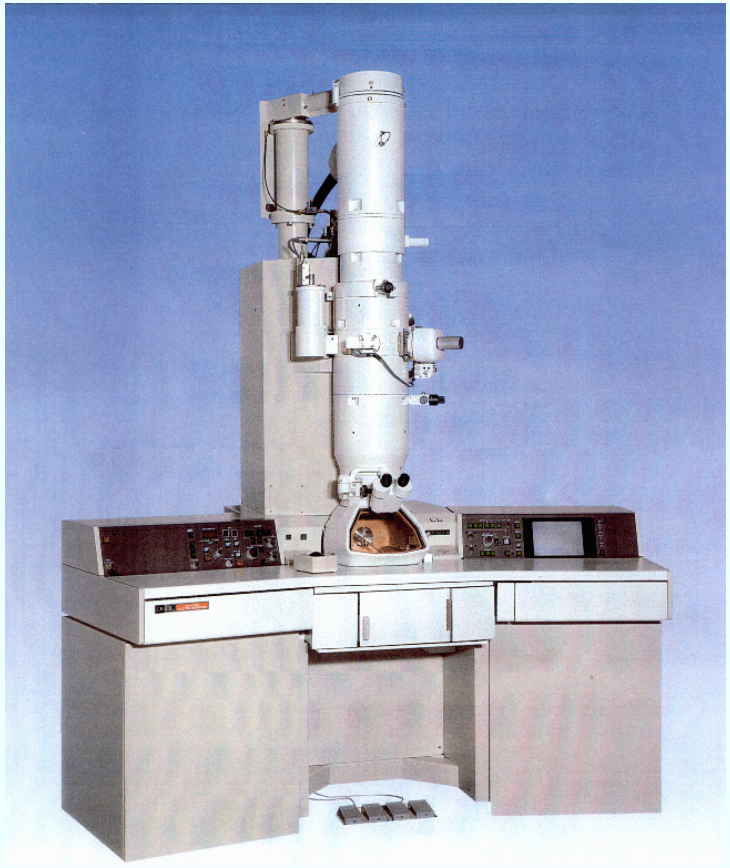


Metoda temného pole

- aperturní clona vysunuta tak, aby propustila pouze paprsky procházející difrakčními maximy



TEM JEOL 2010 typ HC



urychlovací napětí: 80kV-200kV

zvětšení: 1000x – 800 000x

rozlišení: 0,19nm

CCD kamery: Morada, KeenView

Příprava vzorků pro TEM

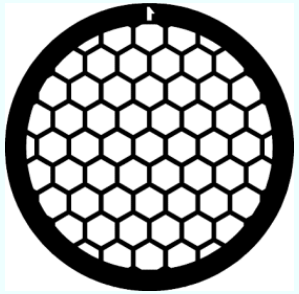
Volba podložní síťky a fólie

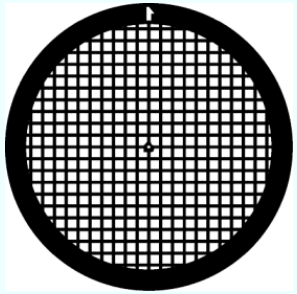
-síťky měděné, hliníkové, křemíkové

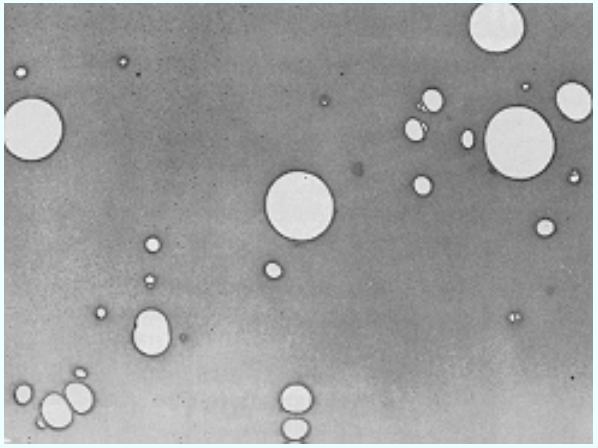
-fólie - <u>formvarová</u> (0,3% roztok formvaru a chloroformu)

- pro nižší urychlovací napětí

- <u>uhlíková</u>







Příprava vzorků pro TEM

Práškové materiály

dispergace ve vhodném roztoku → nakápnutí na síťku → vysušení

Biologické preparáty (tenké řezy)

fixace → odvodnění → kontrastování → zalití do bločku → krájení ultratenkých řezů

Fixace

- stabilizace vzorku
- zachování buněčné struktury a zabránění degradačním procesům

Kvalita fixace závisí na:

- výběr fixačního činidla
- velikost vzorku
- způsob fixace
- koncentrace a rychlost penetrace fixačního činidla
- teplota a pH fixačního činidla
- délka fixace

Metody: - chemické (reakce chemických činidel se složkami biol.obj.)
- fyzikální

Fixace

Fixační činidla

- aldehydy → glutaraldehyd - nižší penetrační rychlost
  → formaldehyd

- oxidační činidla → oxid osmičelý
  → manganistan draselný

- po fixaci je preparát promyt a tím zbaven zbytků fixačního činidla

Dehydratace

- vzorek je postupně dáván do roztoků s rostoucím podílem dehydratačního činidla, kterým se postupně nahradí všechny voda v systému

dehydratační činidla: aceton - menší scvrkávání vzorku než ethanol
ethanol – nejběžnější

řada roztoků: 30, 50, 70, 80, 90, 95, 100% koncentrace – v nich vzorek

5-10min

artefakty dehydratace: - objemové změny až 40%
- vznik řady precipitátů

Zalévání do bločků

- dá vzorku vlastnosti, aby šel krájet na ultratenké řezy (do 100nm)
- pomocí pryskyřic

<u>Požadavky na pryskyřice:</u>

- mechanická pevnost v tenké vrstvě
- stabilita ve vakuu a při ozáření elektrony
- vzniklé bločky – přiměřená tvrdost pro krájení

Zalévání do bločků

Zalévací média (výběr podle typu preparátu)

- epoxidové pryskyřice – nejčastěji užívané
  - vícesložkové
  - tvrdost bločků- množství tvrdidla ve směsi
- akrylátové pryskyřice
- polyesterové pryskyřice
- nejčastější – zalévání do kapslí

Příprava ultratenkých řezů

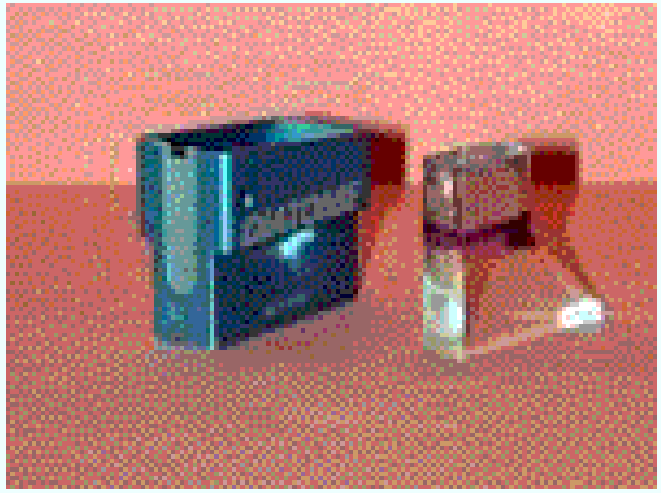
- ideální tloušťka řezu: 60-70nm
- tenčí řez → lepší rozlišení → horší kontrast

<u>Pro řezání je důležité</u>: - kvalitní bloček
- kvalitní nůž
- ultramikrotom

před řezáním – úprava bločku – seřezání do ideálního tvaru

často – polotenké řezy (0,5-2μm)- z nich ultratenké

Příprava ultratenkých řezů



Nože pro řezání

- skleněné – levné
  - 30 ultratenkých řezů

- diamantové
  - drahé
  - kvalitnější řezy
  - tolik řezů, kolik potřebujeme

Ultratenké řezy

Ultramikrotom

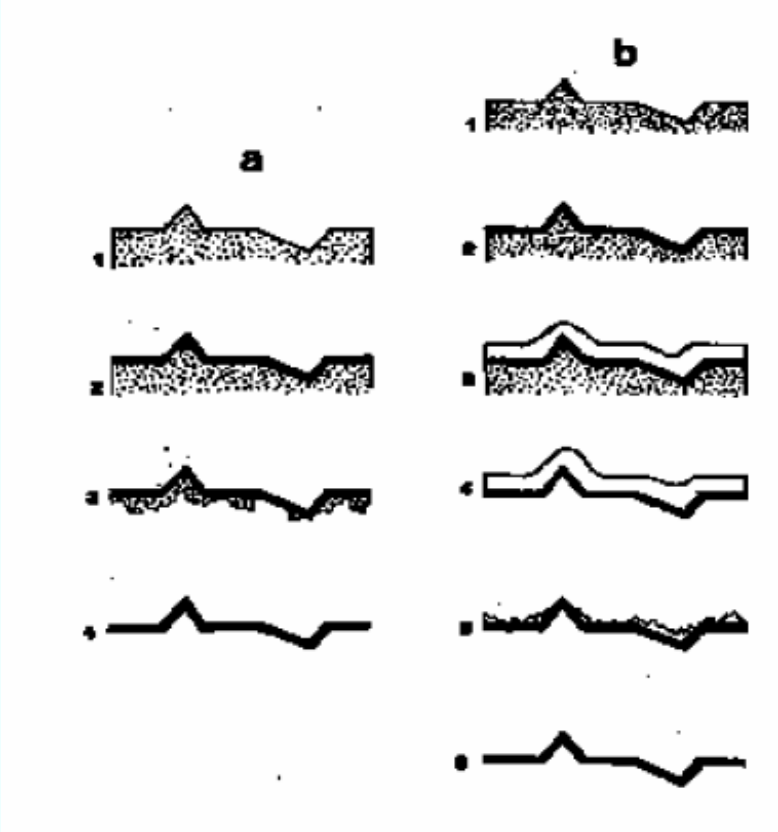
Kontrastování

Kontrast lze zvýšit: - zmenšit objektivovou clonu
- snížit urychlovací napětí
- zvýšit tloušťku řezu (má i negativa)

- nejčastěji používaná kontrastovací činidla:
- octan uranylu a citrát olova

Repliky

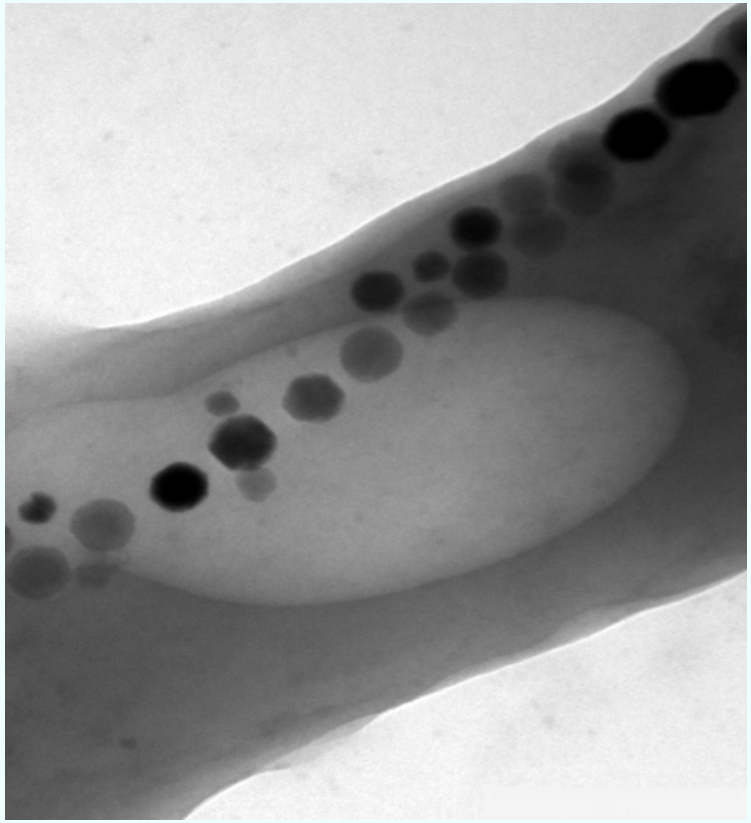
- vzácně využívané

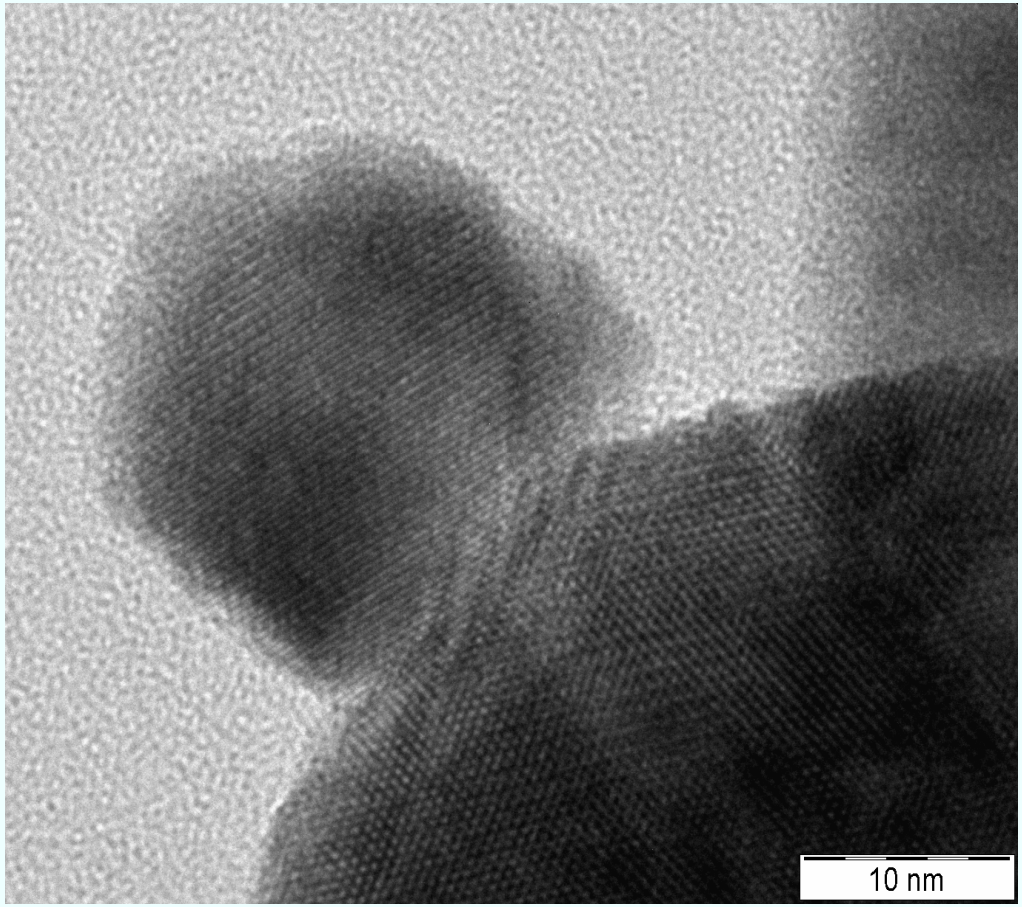


Možné výstupy z TEM

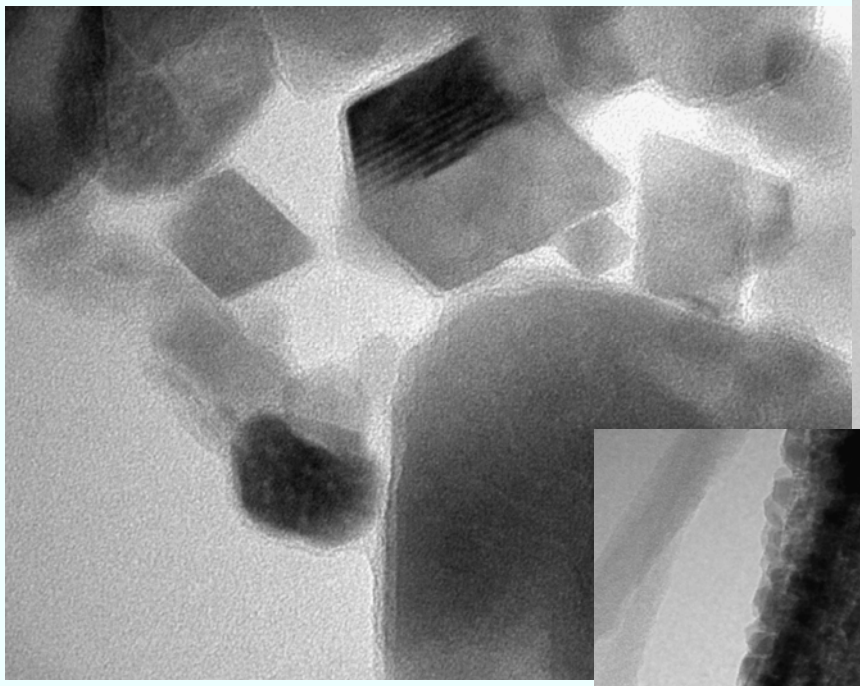
- rozměry
- Morfologie
- určení krystalového (amorfního) charakteru
- určení fázového složení
- identifikace obalení částic

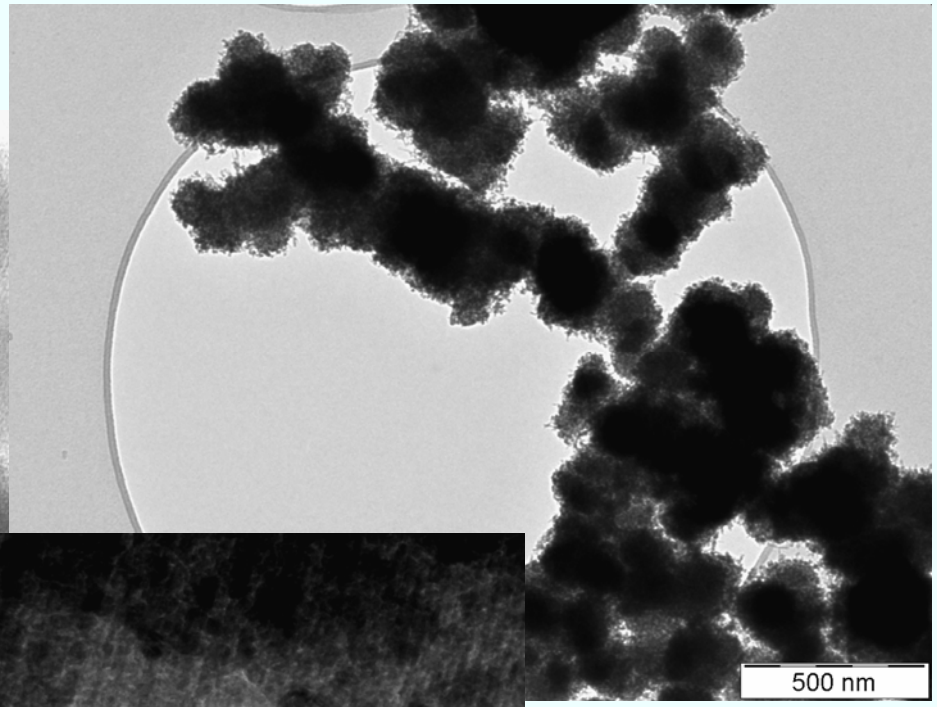
Rozměry

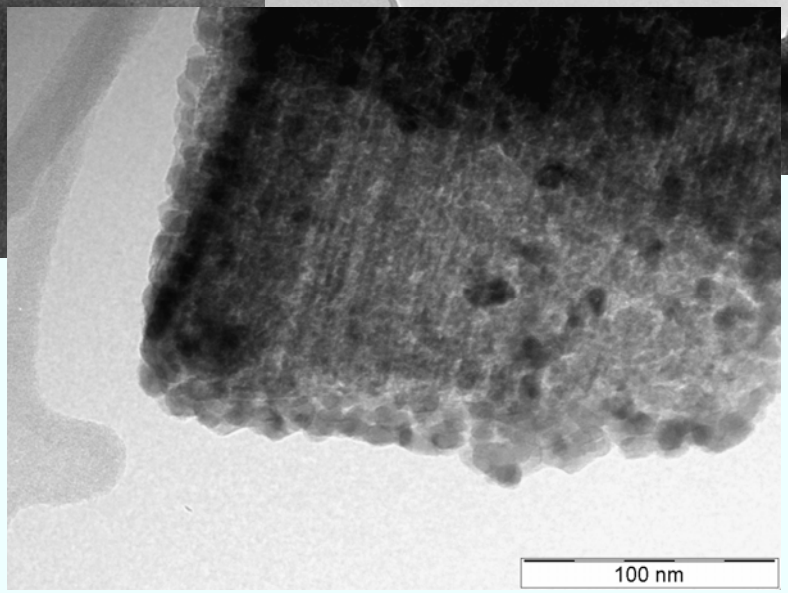




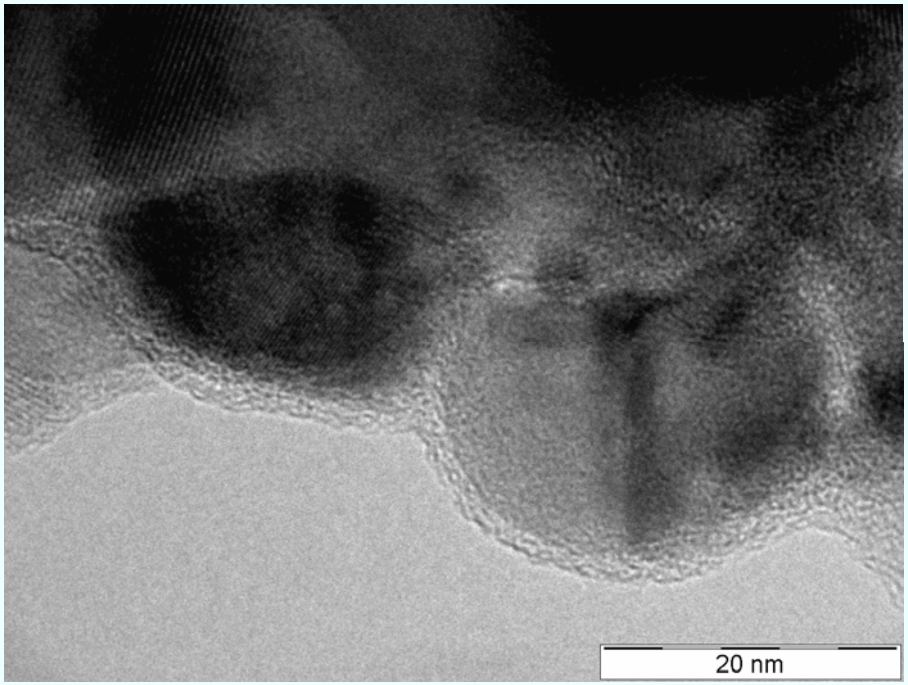
Morfologie

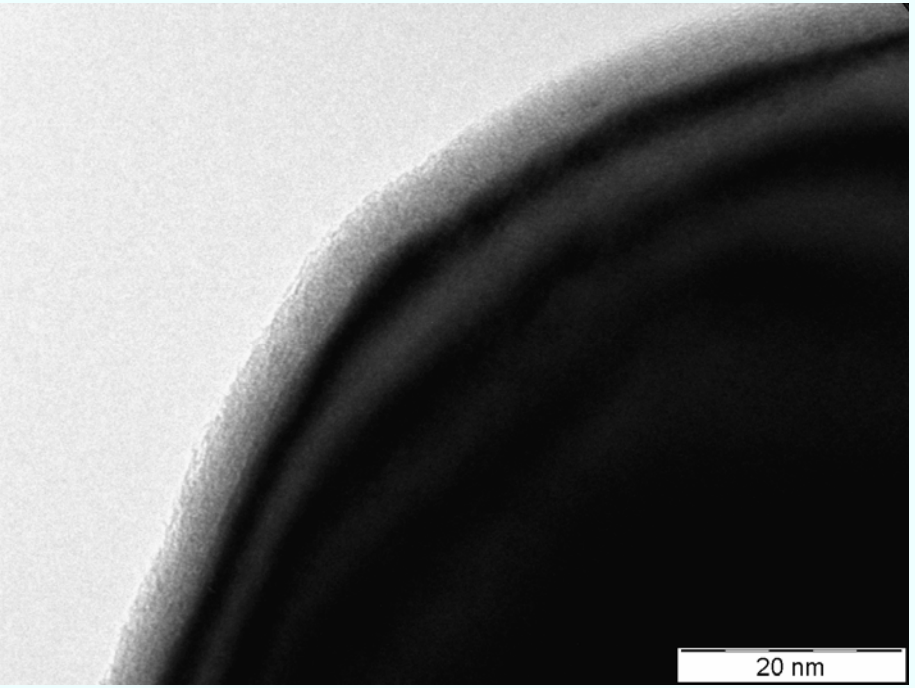






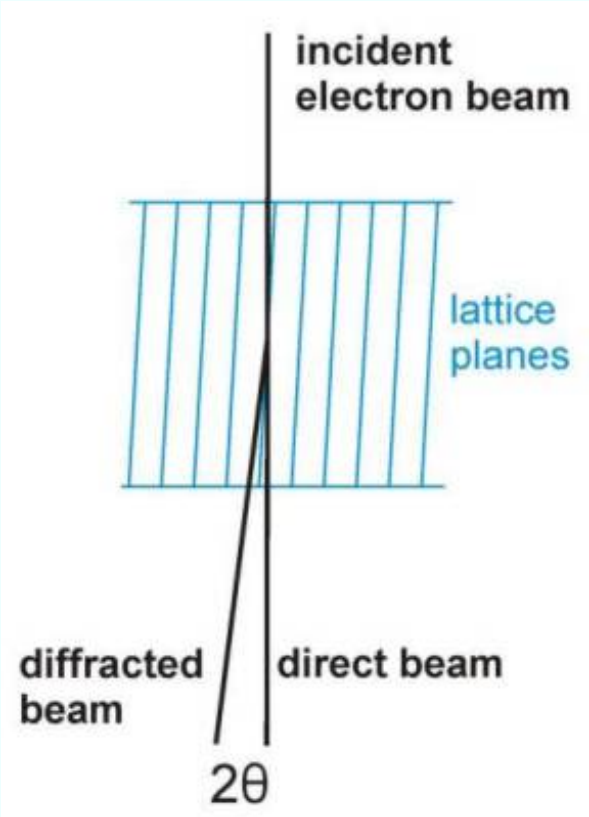
Obalení částic(slupky)

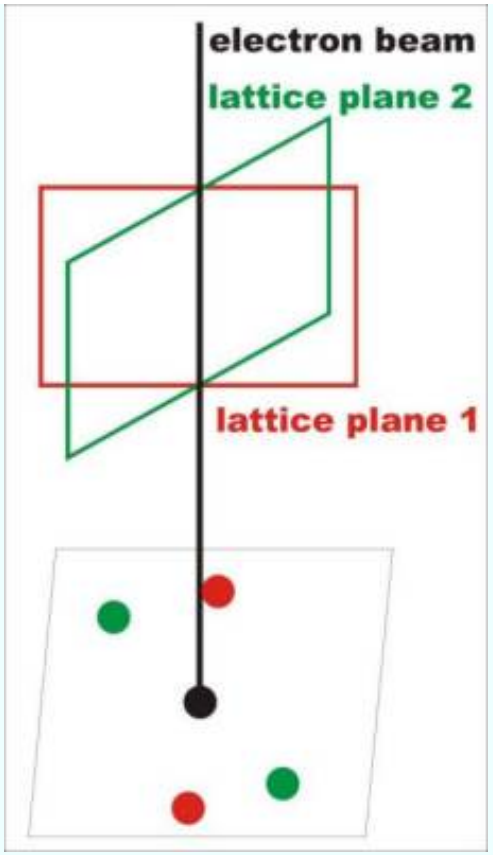




Určení fázového složení

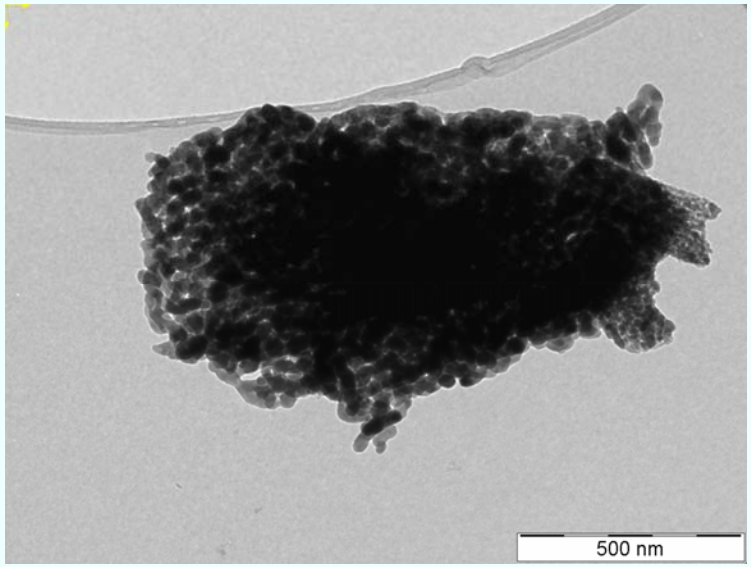
Selected area electron diffraction

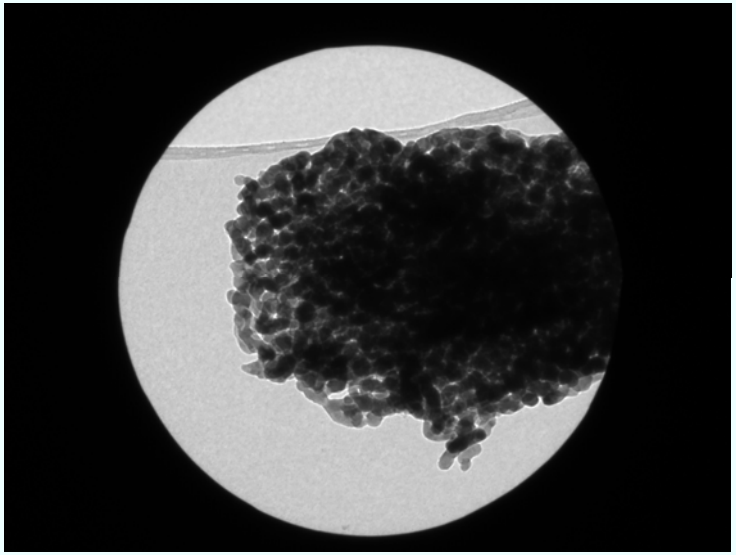


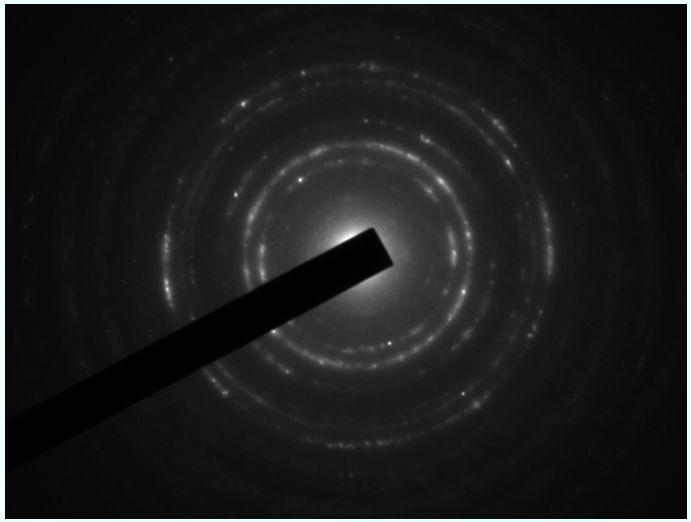


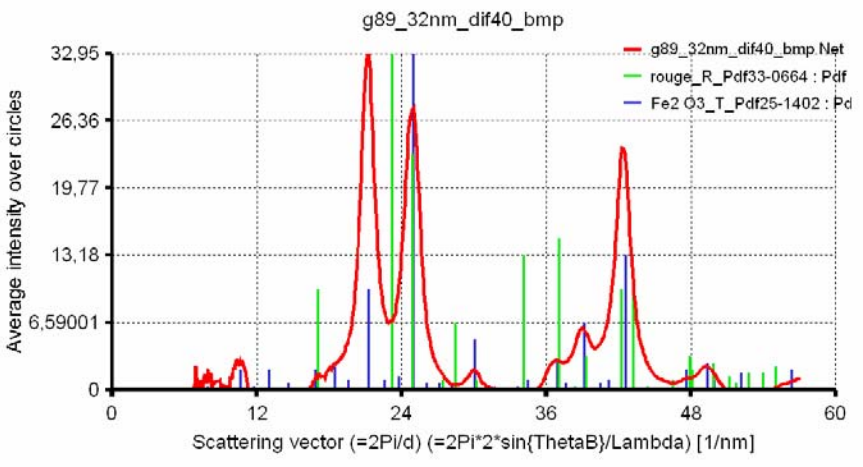
Braggův zákon $n\lambda = 2d\sin\Theta$

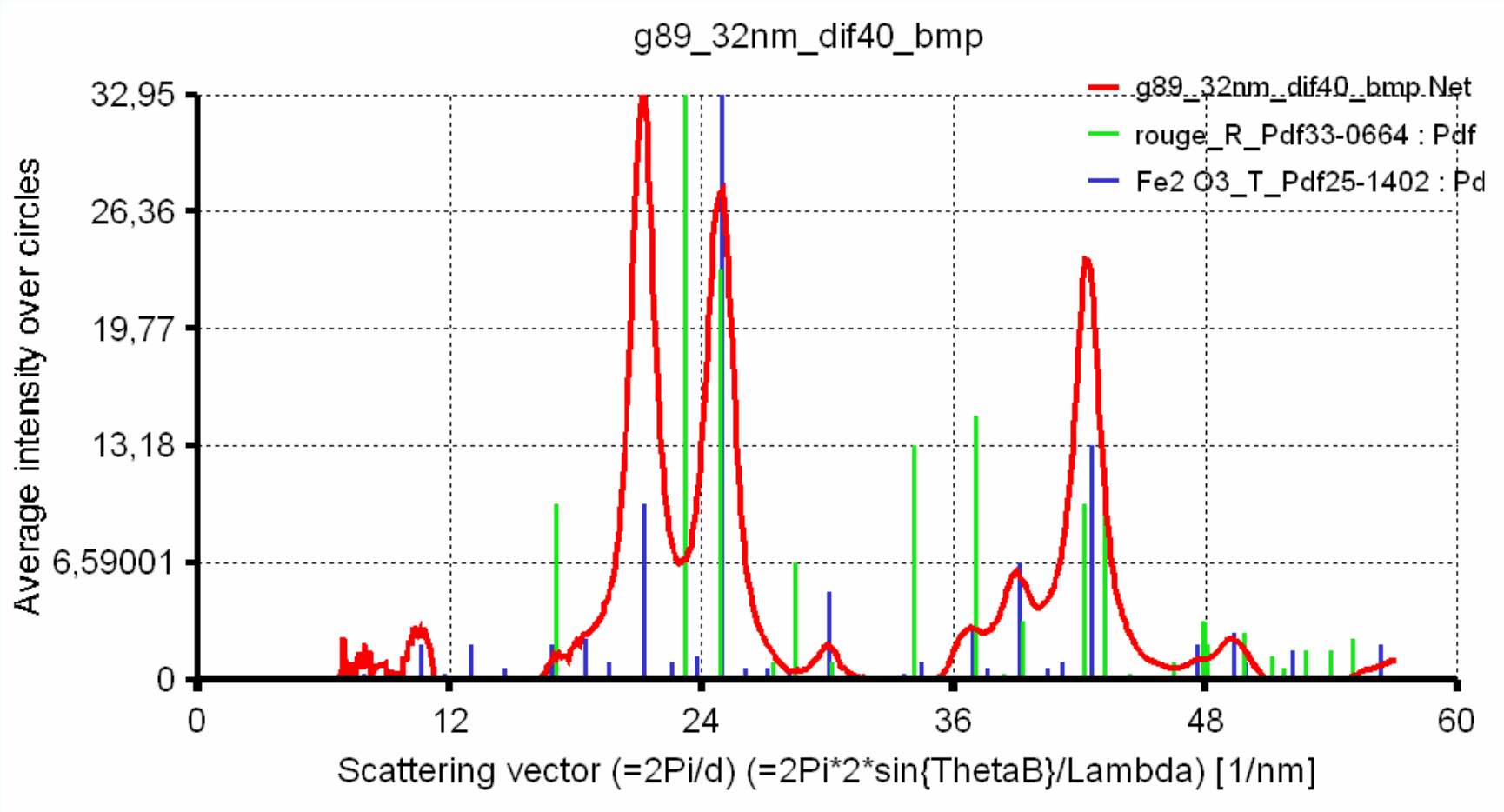
λED cca 1pm; λXRD cca 100pm; ED 0-2º; XRD 0-180º


500 nm

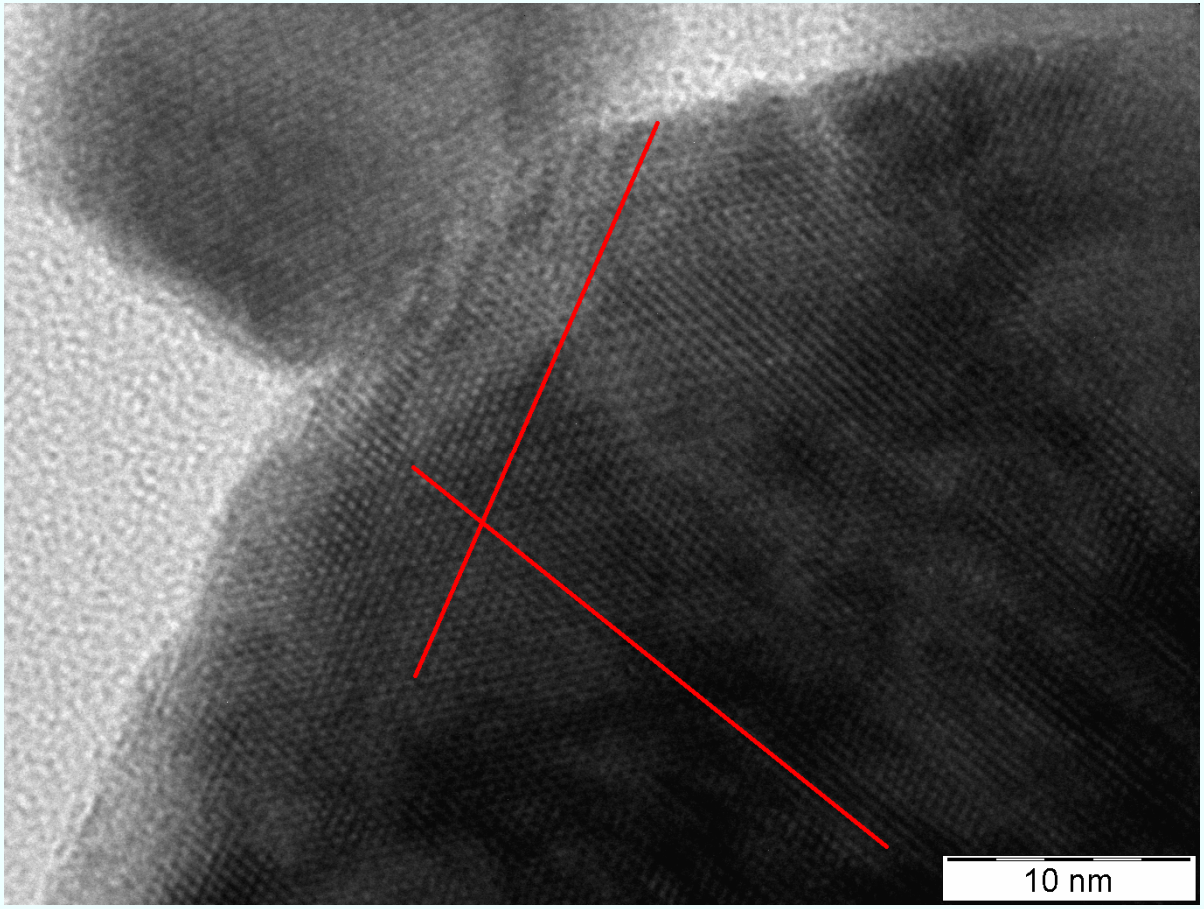




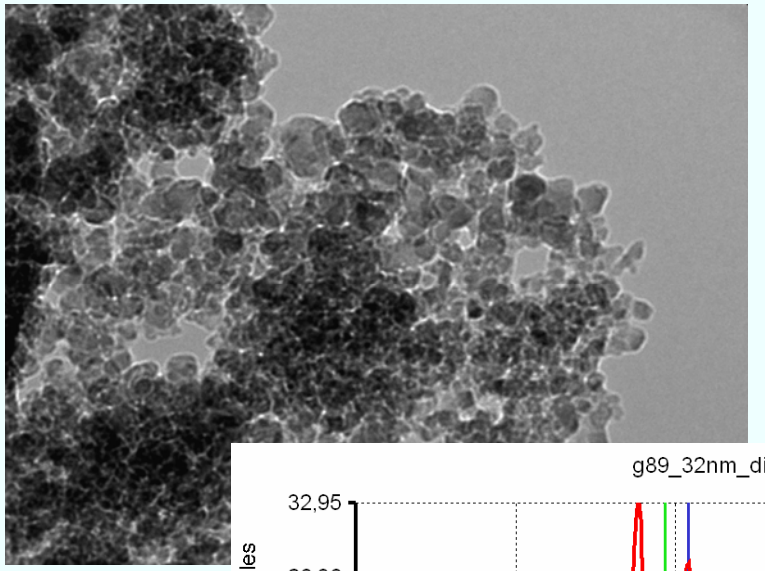

g89_32nm_dif40_bmp
g89_32nm_dif40_bmp.Net
rouge_R_Pdf33-0664 : Pdf
Fe2 O3_T_Pdf25-1402 : Pd
Average intensity over circles
32,95
26,36
19,77
13,18
6,59001
0
0
12
24
36
48
60
Scattering vector (=2Pi/d) (=2Pi*2*sin{ThetaB}/Lambda) [1/nm]

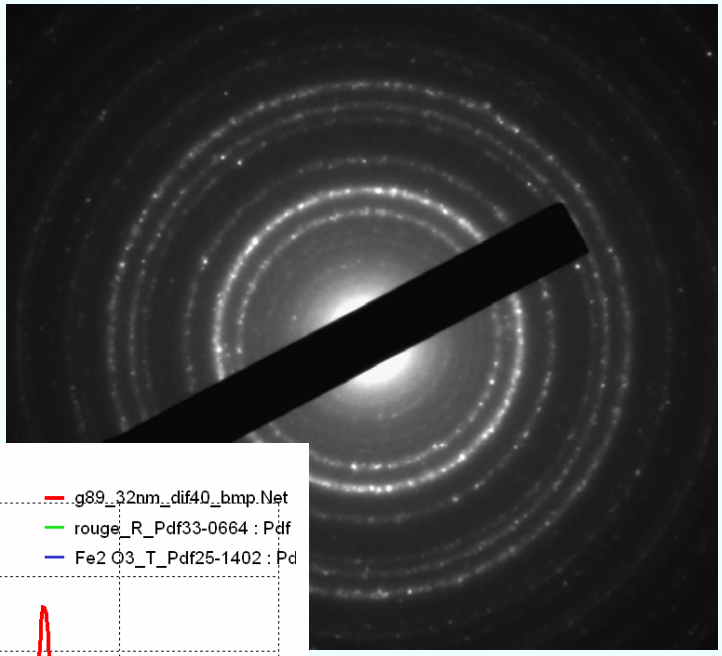

g89_32nm_dif40_bmp
g89_32nm_dif40_bmp.Net
rouge_R_Pdf33-0664 : Pdf
Fe2 O3_T_Pdf25-1402 : Pd
Average intensity over circles
32,95
26,36
19,77
13,18
6,59001
0
0
12
24
36
48
60
Scattering vector (=2Pi/d) (=2Pi*2*sin{ThetaB}/Lambda) [1/nm]

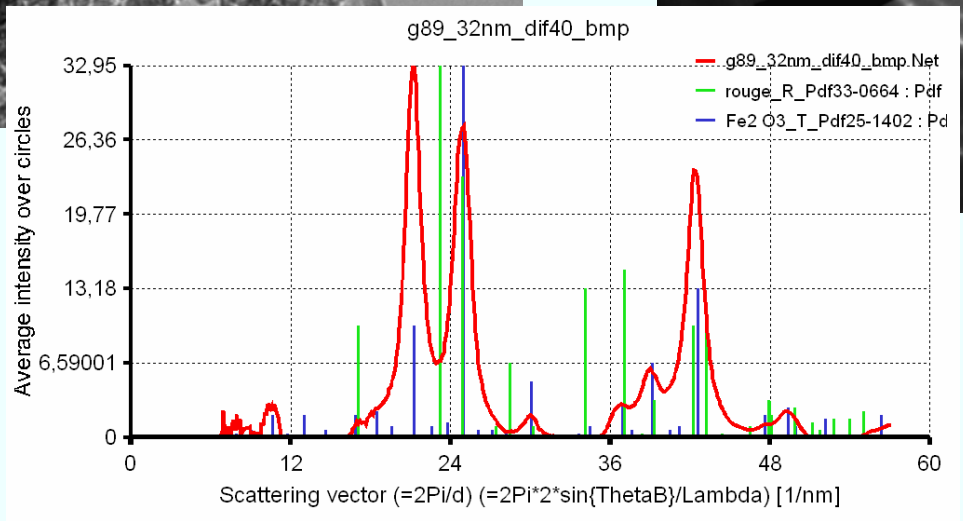
Určení vzdáleností dvou systémů atom. rovin a úhlů jimi svíraného



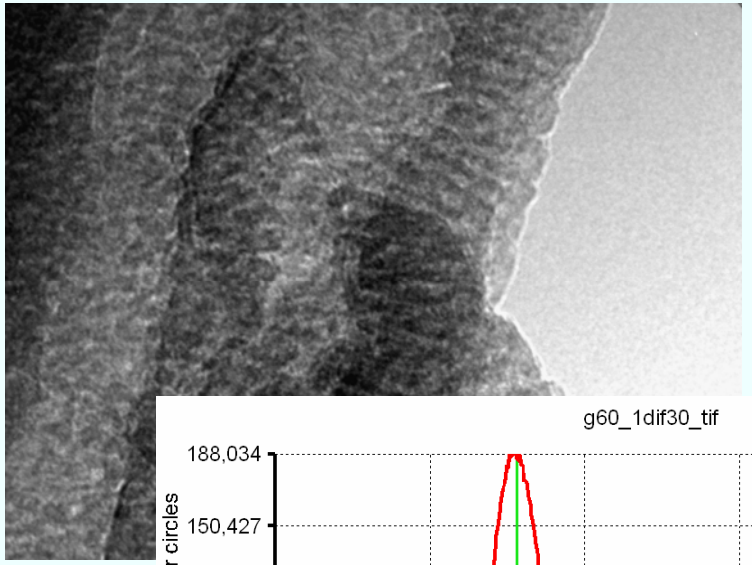
Potvrzení krystalového/amorfního charakteru

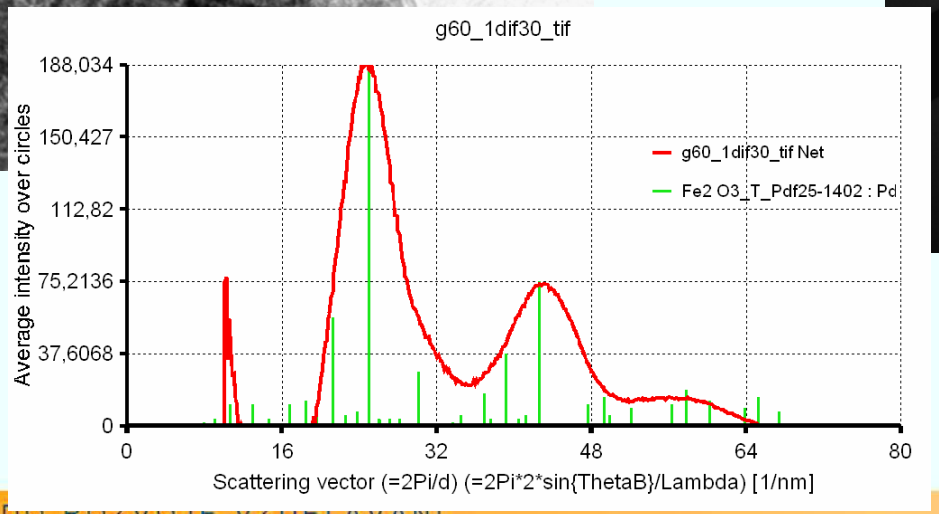


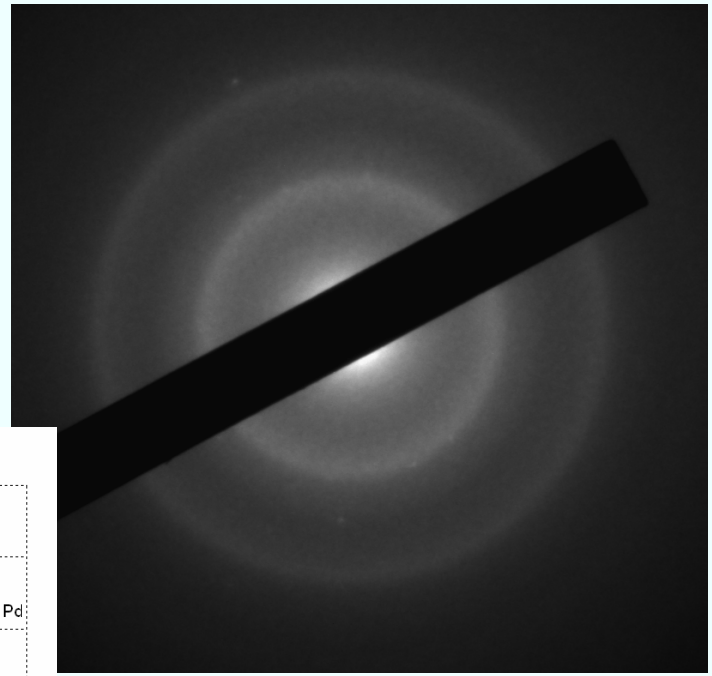




Potvrzení krystalového/amorfního charakteru

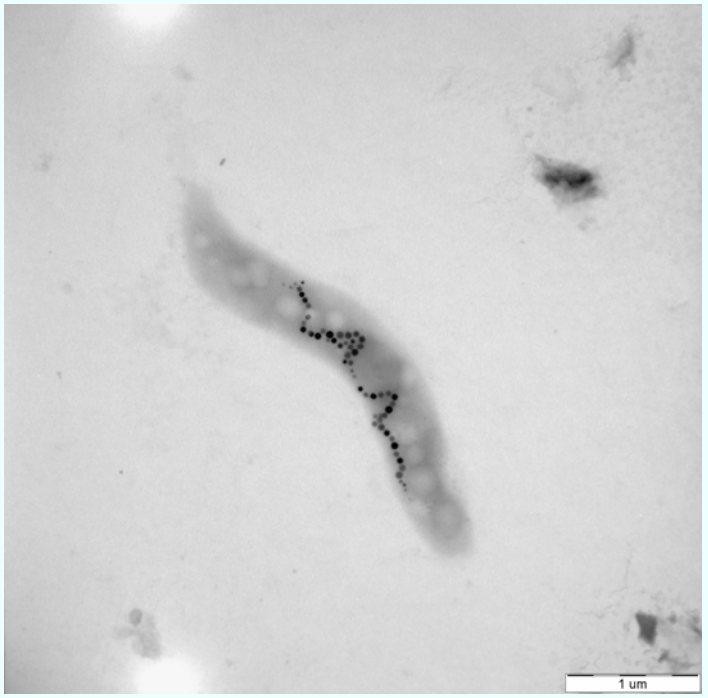






Srovnání TEM a SEM

- rozdíly v konstrukci (délka tubusu, počet elmag čoček,..)
- požadavky na rozměry vzorků
- shodné i různé výstupy



Děkuji za pozornost