

Elektronová mikroskopie – [EM]

(Jitka Kopecká, Petra Šalamúnová)

1. Úvod

Elektronová mikroskopie je užitečný nástroj k pozorování a pochopení nano a mikrosvěta. Nachází své uplatnění jak v teoretickém výzkumu, tak i v průmyslu (výroba polovodičových součástek, solárních panelů, těžba nerostných surovin atd.). Pomocí elektronové mikroskopie lze zobrazit a analyzovat povrch i vnitřní strukturu, zkoumat krystalografii i chemické složení vzorku. Se snižujícími se náklady na pořízení elektronových mikroskopů a jednodušším ovládáním se zvyšuje dostupnost těchto zařízení i v oblastech, kde to dříve nebylo možné.

2. Teorie

Elektronový mikroskop je přístroj, který umožňuje pozorovat zkoumané objekty o velikosti až jednotek nm. V porovnání s optickým (nebo též světelným) mikroskopem, ve kterém se využívá proud fotonů procházející skrz soustavu čoček, zde jsou využity elektrony procházející elektromagnetickými čočkami, což jsou cívky vytvářející vhodně tvarované magnetické pole. Použití elektronů místo fotonů vede ke zvýšení rozlišovací schopnosti mikroskopu, její hodnotu lze vypočítat ze vztahu:

$$\text{rozlišovací schopnost} = \frac{0,61 \lambda}{n \sin \alpha} \quad (1)$$

kde λ je vlnová délka záření, n je index lomu, α je polovina otvorného úhlu kužele paprsků, které mohou vstoupit do objektivu. Součin ve jmenovateli se souhrnně nazývá numerická apertura (jeho hodnota je přibližně 1). Takto vypočítaná hodnota rozlišovací schopnosti mikroskopu je pouze teoretická, v praxi dosahuje z konstrukčních důvodů nižších hodnot. Z uvedeného vztahu vyplývá, že elektronové mikroskopy využívající elektrony dosahují výrazně vyšší rozlišovací schopnosti v porovnání s optickými mikroskopy využívající fotony.

Rozlišovací schopnost elektronového mikroskopu lze ovlivnit tzv. urychlovacím napětím U , což je napětí mezi katodou (jakožto zdroj elektronů) a anodou. Urychlovací napětí dodá elektronu s nábojem e ($1,602 \cdot 10^{-19}$ C) a hmotností m ($9,109 \cdot 10^{-31}$ kg) kinetickou energii E_k , jenž je úměrná druhé mocnině rychlosti v elektronu:

$$E_k = eU = \frac{1}{2}mv^2 \quad (2)$$

Navíc elektron lze považovat nejen za hmotnou částici, ale z pohledu korpuskulárně vlnového dualismu i za rovinnou monochromatickou vlnu o vlnové délce λ :

$$\lambda = \frac{h}{p} = \frac{h}{mv} \quad (3)$$

kde h je Planckova konstanta ($6,626 \cdot 10^{-34}$ Js) a p je hybnost elektronu.

Dosazení rovnice (3) do rovnice (2) získáme vztah mezi urychlovacím napětím a vlnovou délkou elektronu:

$$eU = \frac{h^2}{2m\lambda^2}$$

Dosazením konstant a následnou úpravou lze snadno vypočítat vlnovou délku (v nanometrech) elektronu při známém urychlovacím napětí:

$$\lambda = \frac{1,226}{U^{1/2}} \quad (5)$$

Elektronový mikroskop použitý v této laboratorní úloze umožňuje urychlovat elektrony v rozsahu 5 až 30 kV, odpovídající vlnové délky elektronů jsou uvedeny v tabulce 1.

Tab. 1: Příklady vlnových délek elektronů při konkrétním urychlovacím napětí

Urychlovací napětí (kV)	Vlnová délka (nm)
5	0,0173
10	0,0123
15	0,0100
20	0,0087
25	0,0078
30	0,0071

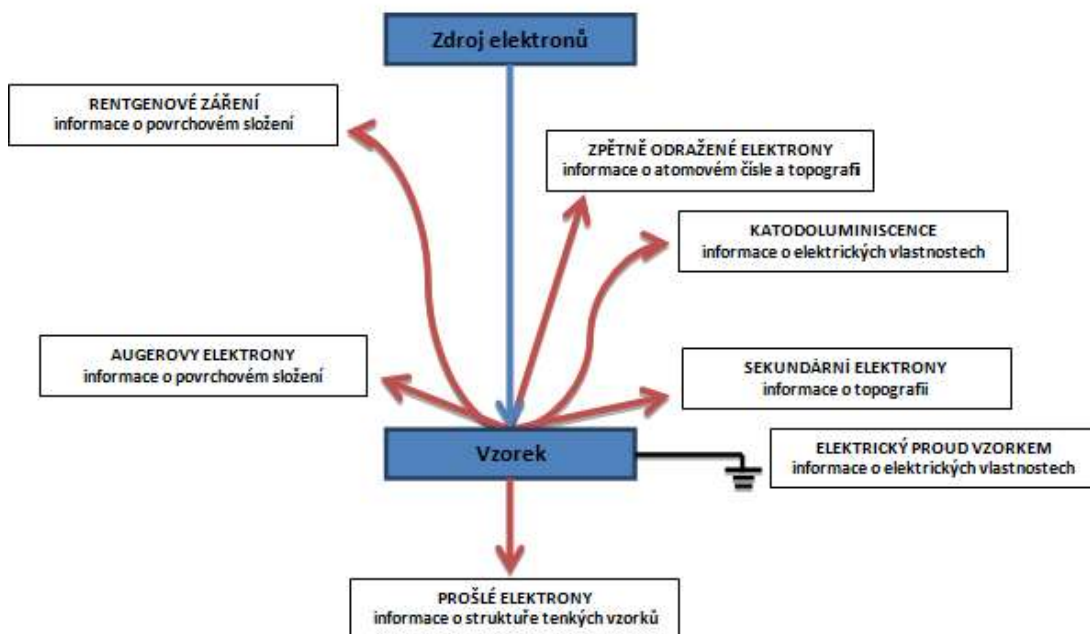
Zdrojem elektronů v elektronové mikroskopii je elektronová tryska, popř. elektronové dělo. Účinnost emise elektronů emitovaných z katody lze zvýšit vhodným tvarováním katody (např. do tvaru písmene V). Elektronové trysky lze rozdělit dle způsobů dodávání energie emitovaným elektronům na:

- termoemisní – zde dochází k zahřívání katody, což vede k nárůstu její vnitřní energie. Překročením tzv. mezní teploty dochází k emisi elektronů z povrchu zahřáté katody. Materiály používané pro tuto katodu: wolframové vlákno (životnost přibližně 40 hodin), krystal hexaboridu lanthanu (životnost přibližně 250 hodin).
- autoemisní – katoda ve tvaru hrotu, naproti studenému hrotu je umístěna elektroda s vysokým kladným napětím. V okolí hrotové katody vzniká silné elektrické pole, které je schopné vytrhávat elektrony z povrchu hrotu. Autoemisní katoda vyžaduje vysoké vakuum. Materiál používaný pro tuto katodu: monokrystal wolframu (životnost neomezená).

Z uvedeného textu vyplývá, že elektronové mikroskopy vyžadují pro svoji práci vakuum.

2.1. Interakce elektronů a vzorku

Při interakci záření s látkou dochází k rozptylu. V případě elektronové mikroskopie, při interakci primárních elektronů (vylétajících z elektronové trysky) se vzorkem dochází k pružným a nepružným rozptylům. Výsledkem je široké spektrum signálu, ze kterého lze získat řadu informací o povaze vzorku. Interakci elektronů a vzorku názorně popisuje obrázek 1.



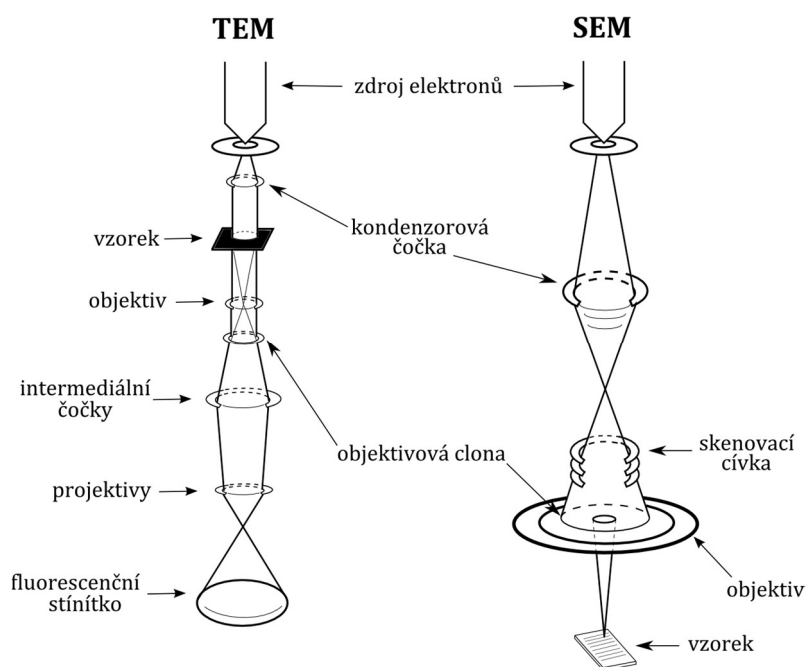
Obr. 1: Signál generovaný interakcí primárních elektronů se vzorkem

2.2. Typy elektronových mikroskopů

- **skenovací elektronový mikroskop (SEM, někdy též řádkovací elektronový mikroskop)** – působením urychleného primárního elektronového svazku na vzorek (ve směru řádek po řádku) dochází k ovlivnění tvaru oblasti pod povrchem vzorku. Zde se začnou náhodně pohybovat primární elektrony (pružný a nepružný rozptyl). Na základě svého chaotického pohybu generují signály, jejichž matematickou úpravou lze získat informace o povrchu vzorku. Zkoumaný vzorek je deponován na substrát, je-li vzorek elektricky nevodivý, je nutné jej pokovit.
- **transmisní elektronový mikroskop (TEM)** – je založen na detekci elektronů prošlých skrz zkoumaný vzorek o tloušťce přibližně 200 nm. Z tohoto důvodu je nutné vyšší urychlovací napětí. Zkoumaný vzorek je deponován na kovovou mřížku potaženou uhlíkovou blankou.

Schematické znázornění skenovacího a transmisního elektronového mikroskopu je zobrazeno na obrázku 2.

SEM a TEM jsou základní elektronové mikroskopy. Jejich kombinací lze získat další typy mikroskopů, např. skenovací transmisní elektronový mikroskop či SEM s detektorem prošlých elektronů.



Obr. 2: Schéma transmisního a skenovacího elektronového mikroskopu

3. Cíl práce

1. Nasímání vnější morfologie vzorků připravených asistentem, změření velikosti částic. Použití programu ImageJ.
2. Sada analyzovaných vzorků zahrnuje různé typy materiálů s různými velikostmi analyzovaných objektů (organické a anorganické nanočástice a mikročástice, biologické vzorky, krystalické vzorky apod.). Pro každý vzorek bude otestované specifické nastavení mikroskopu s ohledem na odolnost vzorku vůči dopadajícímu svazku elektronů a zároveň s ohledem na dostatečné zaostření a zvětšení v případě velmi malých částic.

4. Popis zařízení

Laboratorní úloha bude prováděna na skenovacím transmisním elektronovém mikroskopu (STEM) Vega 3SBU od brněnské firmy Tescan. Schémata uvedená na obrázku 2 tedy přesně neodpovídá školnímu elektronovému mikroskopu.

V elektronovém mikroskopu Vega 3SBU je zdrojem elektronů termoemisní katoda z wolframu. Hodnotu urychlovacího napětí lze plynule nastavovat od 5 do 30 kV, čímž lze jednoduše regulovat vlnovou délku a energii emitovaných elektronů. Elektronový mikroskop je vybaven detektorem sekundárních elektronů (SE), zpětně odražených elektronů (BSE) a prošlých elektronů (TE).

Elektrony z elektronové trysky vstupují do tubusu vybaveného elektromagnetickými čočkami. Soustava centrovacích cívek vycentruje elektronový proud do středu tubusu, pomocí clon jsou ořezány jeho okrajové oblasti a silné magnetické clony kondenzorů jej dále

zúží. Výsledný paprsek je rozmítán pomocí rastrovacích cívek, které jsou buzeny řízeným zdrojem proudu pilového charakteru. Poslední magnetickou čočkou zařazenou v tubusu je objektiv, který formuje výsledný elektronový paprsek a určuje tzv. pracovní vzdálenost. Ideální hodnota pracovní vzdálenosti pro detekci sekundárních a prošlých elektronů je 6 mm (hodnota pro tento konkrétní mikroskop).



Obr. 3: Skenovací transmisní elektronový mikroskop Vega 3SBU od firmy Tescan

Vakuová komora je vybavena manipulačním stolem, na nějž lze upevnit až čtyři substráty se vzorky. Manipulační stůl je automaticky ovládán v osách x, y a manuálně v ose z. Manuálně lze stůl také naklápět. Polohu stolku snímá CCD kamera s infračerveným přísvitem.

Vakuová komora vytváří soustava externí olejové rotační vývěvy a turbomolekulární vývěvy. Měření elektronového mikroskopu může být prováděno ve vysokém (přibližně 10^{-3} Pa) i nízkém vakuu (přibližně 10^2 Pa).

5. Postup práce

5.1. Přípravné práce pro skenovací elektronovou mikroskopii

- Zapněte elektronový mikroskop pomocí velkého tlačítka umístěného z přední strany stolu, na němž je umístěn elektronový mikroskop. Spusťte program Vega, jehož zástupný symbol je umístěn na ploše, a přihlaste se do něj. Asistent otevře tlakovou láhev s dusíkem a nastaví požadovaný tlak.
- Okno programu si připravte dle předlohy zobrazené na obrázku 4. Význam jednotlivých oken je uveden za obrázkem.
- Na místě zadaném asistentem si vytvořte složku, do které budete ukládat své soubory.

- **Se vzorkem manipulujte pouze v laboratorních rukavicích!** Na substrát si připevněte vzorek, který vám poskytnul asistent. Zapusťte vakuovou komoru dusíkem pomocí tlačítka VENT (Vacuum; bod 3). Na stoleček upevněte substráty se vzorkem částic a vzorek nanostrukturovaného vodivého polymeru. **Při zasouvání vzorků do komory kontrolujte pozici stolku pomocí kamery!** Vyvakujte komoru pomocí tlačítka PUMP (Vacuum; bod 3).

5.2. Vlastní měření

- Zkontrolujte si nastavený detektor pro snímání sekundárních elektronů (Channel A – SE; bod 5). Nastavte si hodnotu urychlovacího napětí na 15 kV (Electron Beam; bod 4) a zapněte elektronový svazek (HV).
- Umístěte vybraný vzorek pod svazek elektronů pomocí Nano stage Control (bod 1).
- Pracovní vzdálenost (WD; bod 7) nastavte na 6 mm a pomocí šroubu na komoře posunujte stoleček v ose z, dokud nezískáte ostrý obraz. **Pozorujte polohu stolku na kameře!**
- Nastavte si zvětšení (Magnification; bod 7) na hodnotu 500 a pokuste se doostřit obraz pomocí šroubu ovládající polohu stolečku.
- Nyní budete zpracovávat obraz vašeho vzorku softwarově. Klikněte do okna SEM Scanning Windows pravým tlačítkem myši a vyberte nabídku Auto signal (což je automatická úprava jasu a kontrastu). Dále použijte funkce z Info Panel (bod 6) nebo panelu pro nastavení základních parametrů (bod 9): zvětšení (Magnification), pracovní vzdálenost (WD), stigmátor (Stigmator; oprava asymetrie projevující se deformací kulovitých částí), intenzita elektronového svazku (Beam Intensity). Jste-li se svým obrazem spokojeni, nastavte rychlost skenování (Speed) na vyšší hodnotu a sejměte obraz pomocí poslední ikony v panelu pro nastavení základních parametrů (bod 9).
- Vytvořte sadu obrázků vzorků o definovaném zvětšení.
- Obdobně pracujte i se vzorkem nanostrukturovaného vodivého polymeru.
- Po ukončení měření vypněte elektronový svazek (HV; bod 6).
- Pomocí funkce měření (na liště Tools → Measurement) změřte základní rozměry nasnímaných struktur. Naměřené hodnoty si vyexportujte do vhodného formátu.
- Po ukončení práce týkající se snímání vnější struktury zavzdušněte vakuovou komoru dusíkem (VENT; bod 3). Pomocí šroubu sjeďte stolečkem dolů a otevřete komoru. **Pozorujte polohu stolku na kameře!**

5.3. Závěrem:

- Před otevřením vakuové komory nastavte stoleček do nejnižší polohy.
- Po odebrání vzorků z vakuové komory zašroubujte zpět všechny šroubky upevňující vzorky na stolečku.
- Nezapomeňte si uložit své snímky na flash disk.

6. Zpracování výsledků

Vypracovaný protokol se bude skládat ze dvou částí:

1. Pozorování vzorku od asistenta pomocí SEM, rozměry částic a jejich vyhodnocení.
2. Sada vybraných analyzovaných vzorků – vyhodnocení vnější morfologie a rozměrů částic. Použití programu ImageJ. Popis a zdůvodnění zvolené nastavení mikroskopu s ohledem na materiál a velikost pozorovaného vzorku.



Obrázek 4 Ovládací okno mikroskopu Vega 3SBU

1. *Nano Stage Control* – ovládání stolku ve vakuové komoře (na liště SEM → *Nano Stage Control*)
2. *Chamber View* – pohled do vakuové komory snímáný CCD kamerou (na liště Tools → *Chamber View*)
3. *Vacuum* – slouží k vyvakuování komory (*PUMP*) či zapuštění inertním plynem (*VENT*)
4. *Electron Beam* – slouží k zapnutí a nastavení elektronového svazku
5. *SEM Detectors & Mixer* – nastavení jednoho či dvou detektorů detekující zpětné elektrony (*SE*), zpětně odražené elektrony (*BSE*), prošlé elektrony ve světlém (*TE Bright*) či tmavém poli (*TE Dark*)
6. *Info Panel* – poskytuje informace o procesu snímání (zvětšení – *Magnification*, rychlost snímání obrazu – *Speed*, pracovní vzdálenost – *WD*, intenzita elektronového svazku – *Beam Intensity* atd.)
7. *Pad* – poskytuje podrobné informace o vybraném parametru snímání
8. *SEM Scanning Windows* – okno zobrazující snímáný vzorek
9. Panel pro nastavení základních parametrů snímání

7. Bezpečnostní pokyny

1. Se vzorkem manipulujte pouze v laboratorních rukavicích.
2. Při zasouvání vzorků do komory kontrolujte pozici stolku pomocí kamery.

8. Kontrolní otázky

1. Popište skenovací elektronový mikroskop.
2. Popište na jakém principu funguje skenovací elektronový mikroskop.
3. Na čem závisí rozlišovací schopnost elektronového mikroskopu a čím je možné ji ovlivnit?
4. Vymenujte typy mikroskopů, které znáte.
5. Popište princip transmisního elektronového mikroskopu.
6. Co je to elektrónová tryska (elektronové dělo)? Jaké znáte elektronové trysky?
Na jakých principech fungují?
7. Proč je nutné dosáhnout vakuu v komoře SEM?
8. Proč je nutné nevodivé vzorky před skenováním pokovovat?
9. Které signály můžeme měřit při interakci elektronů se vzorkem?
10. K čemu u elektronového mikroskopu slouží soustava elektromagnetických cívek?