

Metodologie přípravy vzorků pro transmisní elektronovou mikroskopii

Kateřina Hrubá

Bakalářská práce
2015



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství polymerů

akademický rok: 2013/2014

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Kateřina Hrubá**
Osobní číslo: **T11195**
Studijní program: **B2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Chemie a technologie materiálů**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Metodologie přípravy vzorků pro transmisní elektronovou mikroskopii**

Zásady pro vypracování:

Vypracujte literární rešerši na zadané téma. V úvodní části zmiňte historii mikroskopie. Práci pak zaměřte na popis stavby a funkce transmisního elektronového mikroskopu. V práci uveďte průřez různými technikami přípravy vzorků pro transmisní elektronovou mikroskopii.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: *tiskněná/elektronická*

Seznam odborné literatury:

1. Michler, G.H. *Electron Microscopy of Polymers*. Berlin: Springer 2008 ISBN 978-3-540-36350-7
2. Williams, D.B. and Carter, C.B. *Transmission Electron Microscopy: A Textbook for Materials Science*. New York: Springer 2009 ISBN 978-0-387-76500-6
3. Ayache, J.; Beaunier, L.; Boumendil, J.; Ehret, G.; Laub, D. *Sample Preparation Handbook for Transmission Electron Microscopy*. New York: Springer 2010 ISBN 978-1-4419-5974-4

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Martina Polášková, Ph.D.
Ústav inženýrství polymerů

Datum zadání bakalářské práce:

10. ledna 2014

Termín odevzdání bakalářské práce:

28. května 2014

Ve Zlíně dne 7. února 2014


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




Ing. Lubomír Beníček, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: *HRUBÁ Katarína*

Obor: *CHTM*

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně *3. 5. 2016*

Katarína Hrubá

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací

(1) Vysoká škola nevydělěčně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledek obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlédnutí veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, apoxy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3.

(3) Do práva autorského také nezahrnuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, vždy-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě díla vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školské dílo).

⁶⁶ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo.

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpověď-li autor takového díla udělá svolení bez vádného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ústámovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užit či poskytnout jinému licencí, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z vřádku jim dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licenční podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložil, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihledne k výši vřádku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zabývá problematikou přípravy vzorků pro transmisní elektronovou mikroskopii. Na úvod je zmíněna historie mikroskopie od prvních sestavených mikroskopů až po současnost. Dále je práce zaměřena na popis stavby a funkce elektronových mikroskopů. Jelikož kvalitu obrazu ovlivňuje nejen typ použitého mikroskopu, ale především vlastní příprava vzorku, je zbývající část věnována různým technikám přípravy vzorků s ohledem na vlastnosti materiálů, ze kterých mají být vzorky vyrobeny a danou zobrazovací techniku.

Klíčová slova: transmisní elektronový mikroskop, repliky, ultramikrotom, ultratenké řezy, stínování

ABSTRACT

Bachelor thesis deals with the issues associated with sample preparation for transmission electron microscopy. At the beginning of this work the history of microscopy from the first assembled microscopes up to the present is being described. Subsequent part is focused on the description of structure and function of electron microscopes. Since the quality of image is influenced not only by the type of microscope used, but primarily by the sample preparation itself, the remaining part is dedicated to the various techniques of sample preparation with regards to material properties and concrete visualization technique used.

Keywords: transmission electron microscopy, replicas, ultramicrotome, ultrathin cut, shading

Na tomto místě děkuji svým dětem a všem známým, za jejich podporu a pomoc během celého studia, i při psaní této práce.

Dále patří mé poděkování Ing. Martině Poláškové, Ph.D. za její odborné vedení, cenné rady a připomínky, kterými přispěla k realizaci mé bakalářské práce.

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci zpracovala samostatně a všechny zdroje, z nichž jsem v průběhu psaní čerpala, jsou uvedeny v seznamu literatury. Zároveň prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	10
1 MIKROSKOPIE	11
1.1 HISTORIE ELEKTRONOVÉ MIKROSKOPIE	12
1.1.1 Historie elektronové mikroskopie v Č(SS)R.....	13
1.2 ELEKTRONOVÉ MIKROSKOPY	14
1.2.1 Transmisní elektronový mikroskop.....	15
1.2.2 Rastrovací transmisní elektronový mikroskop.....	16
1.2.3 Rastrovací elektronový mikroskop	18
2 ZÁKLADNÍ FYZIKÁLNÍ PRINCIPY ELEKTRONOVÉ MIKROSKOPIE	21
2.1 ELEKTRONOVÉ ZÁŘENÍ.....	21
2.2 INTERAKCE ELEKTRONŮ S LÁTKOU	21
2.3 ROZLIŠOVACÍ SCHOPNOST MIKROSKOPU	22
3 POPIS JEDNOTLIVÝCH ČÁSTÍ TEM	24
3.1 TUBUS	24
3.1.1 Vakuový systém	24
3.1.2 Zdroj elektronů – elektronové dělo – osvětlovací soustava	25
3.1.3 Pohyb elektronů v magnetickém poli.....	28
3.1.4 Elektromagnetická čočka	29
3.1.5 Zobrazovací soustava	33
3.1.6 Pozorování a záznam obrazu vytvořeného elektronovým mikroskopem	35
3.2 ZÁKLADNÍ PRACOVNÍ REŽIMY TRANSMISNÍHO ELEKTRONOVÉHO MIKROSKOPU	35
3.2.1 Vznik kontrastu	35
3.2.2 TEM jako difraktograf	37
3.2.3 Elektronová holografie.....	38
3.3 ATOMÁRNÍ ROZLIŠENÍ	38
3.4 ELEKTRONOVÁ TOMOGRAFIE	39
4 PŘÍPRAVA ZKUŠEBNÍCH VZORKŮ	40
4.1 PŘÍPRAVNÉ PRÁCE	40
4.2 ŘEZÁNÍ PLÁTKŮ	41
4.2.1 Kotoučová pila	41
4.2.2 Drátová pila	42
4.2.3 Chemická drátová pila, elektrolytická drátová pila.....	43
4.2.4 Elektrojiskrová řezačka	44
4.3 ZTENČOVÁNÍ PLÁTKŮ.....	44
4.3.1 Mechanické broušení na metalografických papírech	44
4.3.2 Elektrojiskrové leštění.....	45
4.3.3 Elektrolytické ztenčování.....	46
4.4 ODBĚR TERČÍKŮ	46
4.4.1 Vystřihování razníkem	46
4.4.2 Odvrtávání dutým vrtákem	47
4.4.3 Vyjiskřování trubičkou.....	47

4.4.4	Ultrazvukové vyřezávání	48
4.4.5	Chemické rozpouštění, elektrolytické rozpouštění	48
4.5	PŘÍPRAVA PŘÍČNÝCH ŘEZŮ	49
4.6	PŘÍPRAVA TENKÝCH FÓLIÍ V BLÍZKOSTI POVRCHU VZORKU.....	50
4.7	FINÁLNÍ ZTENČOVÁNÍ NA TLOUŠŤKU TRANSPARENTNÍ PRO ELEKTRONY	51
4.7.1	Elektrolytické leštění.....	51
4.7.2	Chemické leštění dvěma tryskami	52
4.7.3	Iontové bombardování	53
4.8	MECHANICKÉ LEŠTĚNÍ VZORKU DO KLÍNKU	54
4.9	ŠTÍPÁNÍ	55
4.10	DRCENÍ	56
4.11	ULTRAMIKROTOMIE - ULTRATENKÉ ŘEZY	57
4.12	METODY OTISKŮ (REPLIKY)	59
4.12.1	Přímé plastové a uhlíkové repliky.....	59
4.12.2	Nepřímé dvoustupňové repliky	60
4.12.3	Extrakční repliky	61
4.13	STÍNOVÁNÍ REPLIK	62
	ZÁVĚR	63
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	65
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	68
	SEZNAM OBRÁZKŮ	69
	SEZNAM TABULEK.....	72

ÚVOD

Transmisní elektronová mikroskopie je jednou z nepostradatelných a velmi důležitých experimentálních technik. Je neodmyslitelným pomocníkem prakticky všech vědních, diagnostických a technologických oborů snažících se odhalovat detailní strukturu téměř jakékoliv hmoty. Slouží pro potřeby chemických mikroanalýz a analýz fází v materiálových, i v biologických laboratořích, neobešla by se bez ní medicína, cytologie, virologie, jaderné inženýrství, elektronický průmysl, kriminologie, metrologie a nemohla by bez ní vzniknout ani nanotechnologie. Její význam podtrhuje skutečnost, že za objev elektronového mikroskopu byla v roce 1986 Ernestu Ruskovi udělena Nobelova cena za fyziku.

Transmisní elektronový mikroskop má možnost zobrazit mikrostrukturu uvnitř materiálu řádově od několika mikronů až po atomové rozlišení, pomocí elektronové difrakce určit symetrii krystalové mřížky. Je-li vybaven příslušnými spektrometry rentgenového záření, lze provést lokální analýzu chemického složení.

Hlavním cílem transmisní elektronové mikroskopie tedy je získat reprodukovatelným způsobem přesnou informaci o zkoumaném vzorku. Proto je nutné při jeho přípravě maximálně potlačit vznik jakýchkoliv artefaktů v jeho objemu. Je kladen důraz především na čistotu povrchu, rovinnost a prozařitelnost. Protože vzorky musí být dostatečně malé (3 mm v průměru) a velmi tenké (tloušťka nepřesahuje 0,1 až 0,2 mikrometru), vyžaduje jejich příprava značnou zručnost, velkou trpělivost a pečlivost.

Různými technikami připravené vzorky nám potom poskytují informace buď o vnitřní struktuře (tenké fólie) nebo o povrchovém reliéfu (repliky povrchů) vzorku. Jen dobře připravený vzorek je však zárukou toho, že nám o sobě poskytne odpovídající, požadované a kvalitní informace.

1 MIKROSKOPIE

Mikroskopii dělíme na mikroskopii světelnou (optickou), jejíž historie sahá do 17. století a na mikroskopii elektronovou.

Transmisní elektronová mikroskopie (TEM) byla vynalezena Ernestem Ruskou a Maxem Knollem v letech 1931 až 1934 v Berlíně. [1] V roce 1932 Knoll a Ruska zveřejnili své první výsledky s magnetickými čočkami. Obrázky z elektronového mikroskopu (Obr. 1) byly poprvé demonstrovány v roce 1931 a v roce 1935 byly k dispozici takové, které spolehlivě předčily optický mikroskop. [2, 3]



Obr. 1. Ruskův elektronový mikroskop z roku 1933 [4]

Elektronová mikroskopie převzala svoji působnost tam, kde končí rozlišovací schopnost světelného mikroskopu. [1]

Zobrazovací metody světelného mikroskopu jsou limitovány dosažitelnou rozlišitelnou vzdáleností, která je dána použitelnou vlnovou délkou viditelného světla. Elektronová mikroskopie odstranila problém omezené hloubky ostrosti, která u světelného mikroskopu závisí

na vlnové délce světla a číselné apertury objektivů. Dokázala splnit požadavky rozlišovací schopnosti na úrovni rozměrů krystalických mřížek kovů, keramiky, tedy na rozměrové úrovni nanometrů. [5] Skleněné čočky byly v elektronovém mikroskopu nahrazeny čočkami magnetickými, vzorkem místo světla prochází proud elektronů emitovaný ve vakuu. [1]

1.1 Historie elektronové mikroskopie

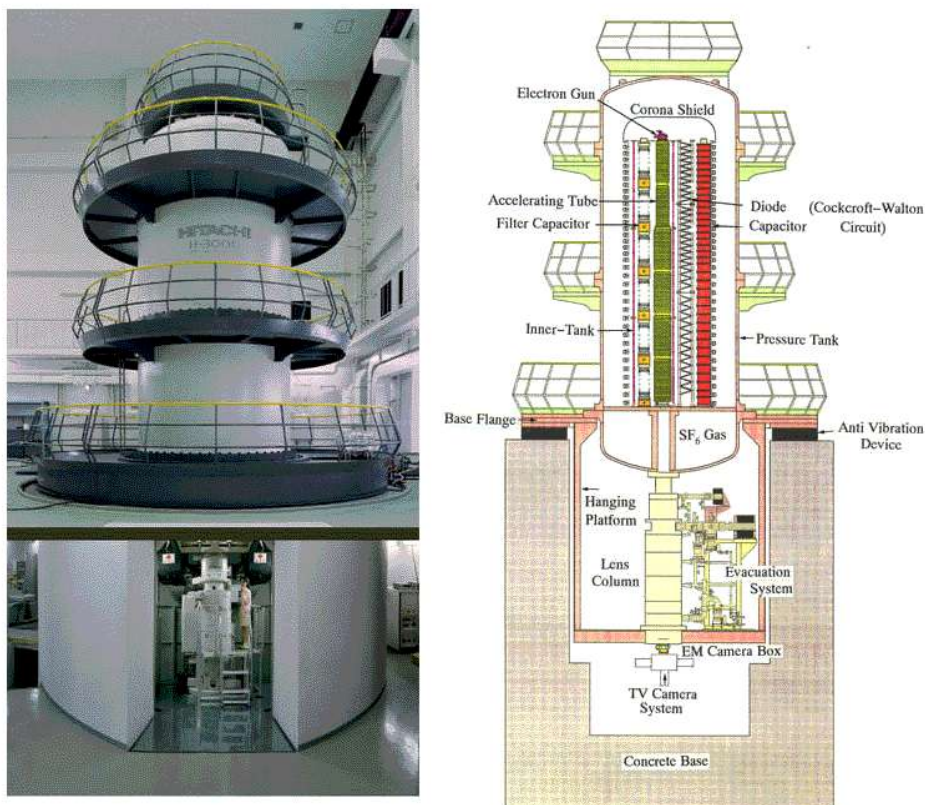
V roce 1936 byla zahájena výroba prvních komerčních přístrojů. Původní Ruskův elektronový mikroskop měl tři magnetické čočky, zvětšení 12 000 krát a jeho rozlišovací schopnost při urychlovacím napětí 75 kV byla 50 nm. [1]

V dalších třech letech pokračoval rozvoj TEM i v jiných zemích, než je Německo. V roce 1938 zkonstruoval Ardenne skenovací transmisní elektronový mikroskop (STEM). První průkopnické období, které položilo základy pro elektronovou mikroskopii, skončilo se začátkem druhé světové války. [2]

Další vývoj umožnil postupné zvyšování rozlišovací schopnosti mikroskopu a to především zlepšováním kvality magnetických čoček. [1] Současně byla výrazně zlepšena příprava vzorků, které mají být zkoumány. [2] Původně byl transmisní elektronový mikroskop konstruován pro výzkum virů. V biologii a lékařství se používá dodnes. V oblasti materiálového výzkumu byly elektronové mikroskopy poprvé aplikovány pro studium uhlíkových replik (otisků) lomových ploch. Významným krokem pro studium mikrostruktury kovů byla práce Heidenreicha, který v roce 1949 poprvé ztenčil kovovou fólii na tloušťku ~ 200 nm, jež byla prosvětlitelná pro elektrony. [6]

Třetí období, které zahrnuje období od padesátých let až do současnosti, přineslo další rozvoj především zlepšováním stability zdrojů vysokého napětí, elektrických obvodů a všech operačních systémů TEM a to zejména díky technologickému pokroku v oblasti elektroniky. [1, 2] Zavedení prvních objektivů s využitím supravodivosti (Laberrigue a Levinson v roce 1964), kondenzátoru objektivu (Riecke a Ruska v roce 1966), a vysoce kvalitního víceúčelového objektivu (Mat a kol. v roce 1980) vedlo v sedmdesátých letech k vývoji vysocerozlišitelných TEM (HRTEM) s napětím 100 kV. Nástroje umožňující rozlišení menší než 0,2 nm se staly dostupné pro střední napětí 300 až 400 kV. Na druhou stranu se však zvýšil i zájem o TEM, které pracují s vysokourychlovacím napětím 1,2 MV (HVTEM). V roce 1960

Dupouy zveřejnil první snímky HRTEM. [2] Vývoj a technologický pokrok dokumentuje 3 MV TEM, který se stal nejvýkonnějším nástrojem pro pohled do mikrosvěta. Tyto mikroskopy byly postaveny dva, jeden v Japonsku (Obr. 2) a jeden v USA, a na konci osmdesátých let minulého století díky jim lidé poprvé spatřili atom. [7]



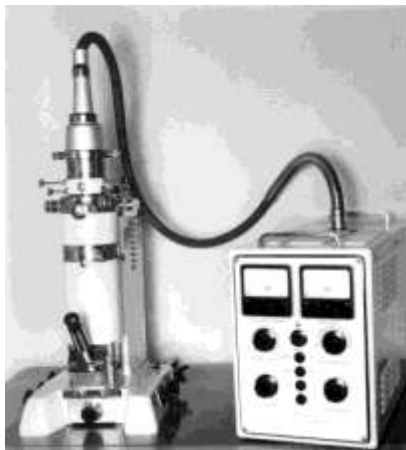
Obr. 2. 3MV TEM postavený v Osace v Japonsku [7]

1.1.1 Historie elektronové mikroskopie v Č(SS)R

Zanedlouho po Německu, kde byl první elektronový mikroskop sestaven v třicátých letech minulého století, se do vlastního vývoje elektronových mikroskopů zapojilo i Československo. V roce 1949 byl Armingem Delongem a dalšími studenty brněnské techniky postaven první československý elektronový mikroskop. [8]

V šedesátých letech vznikla v Ústavu přístrojové techniky v Brně velmi silná skupina vedená V. Drahošem a A. Delongem, která se zabývala konstrukcí elektronových mikroskopů.

Výroby mikroskopů se ujal národní podnik Tesla Brno. Vznikla tak úspěšná řada elektronových mikroskopů Tesla BS. [7] Model stolního elektronového mikroskopu Tesla BS 242 (Obr. 3) byl oceněn zlatou medailí na světové výstavě EXPO 1958 v Bruselu. [9]



*Obr. 3. Elektronový mikroskop
Tesla BS 242 (1954) [10]*

V současné době se po privatizaci Tesly v Brně vyrábí mikroskopy pro americkou firmu FEI a ve firmách DeLong Instruments a TESCAN [9]. Česká republika tak drží krok s největšími světovými firmami JOEL, LEO, Hitachi [11] a Zeiss. [7]

1.2 Elektronové mikroskopy

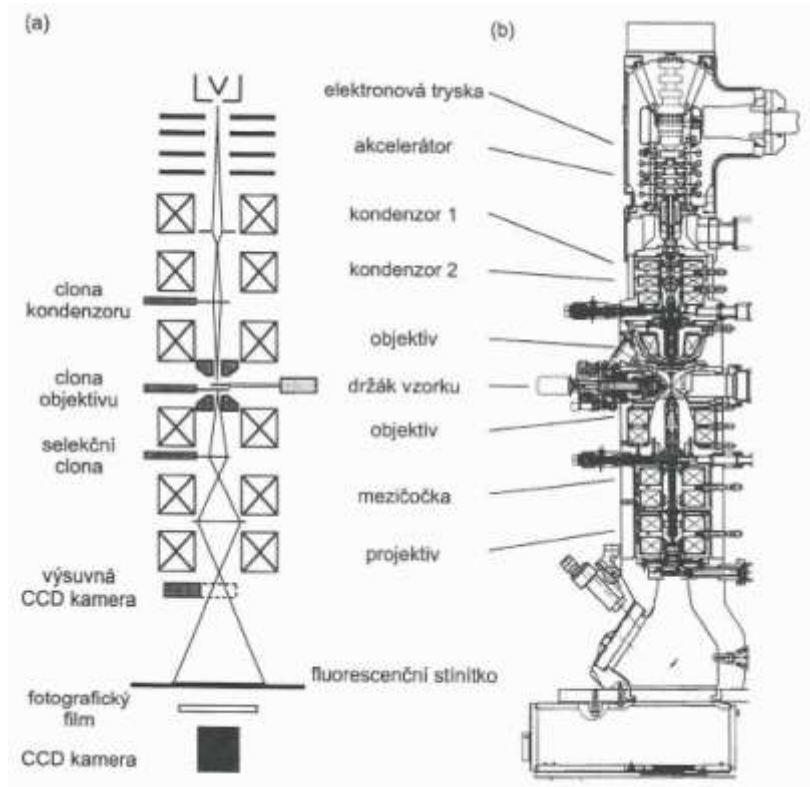
Elektronové mikroskopy dělíme na:

- TEM transmisní (prozařovací) elektronový mikroskop (transmission electron microscope) [5] - nepohyblivý svazek elektronů, detekce pomocí elektronů prošlých (TE) skrz vzorkem na fluorescenčním stínítku nebo detektorem [12],
- STEM rastrovací (řádkovací, skenovací) transmisní elektronový mikroskop (scanning transmission electron microscope) [5] – pohyblivý elektronový paprsek přejíždějící přes vzorek v řádcích a prozařující jej [13],

- SEM rastrovací (řádkovací, skenovací) elektronový mikroskop (scanning electron microscope, REM - z německého Rasterelektronenmikroskopie) [5, 6] - pohyblivý svazek, zobrazení povrchu vzorku pomocí odražených sekundárních elektronů (SE) [12] a/nebo zpětně odražených elektronů (BE) [14],
- SPM mikroskopie skenující (rastrující) sondou (scanning probe microscopy) - soubor metod určených ke zjišťování struktury povrchu s rozlišením na úrovni velikosti atomu [12]

1.2.1 Transmisní elektronový mikroskop

TEM jsou v podstatě variantou světelných mikroskopů, avšak pracují s průhledným vzorkem a jsou zkonstruovány tak (Obr. 4), aby dosahovaly vysoké rozlišovací schopnosti použitím záření o výrazně kratších vlnových délkách. [5, 15]



Obr. 4. Transmisní elektronový mikroskop – a) Schéma tubusu, b) Odpovídající řez přístrojem Joel [1]

V materiálovém výzkumu běžně pracuje konvenční TEM s urychlovacím napětím 100 až 400 kV. [1] Některé mikroskopy jsou konstruované pro vyšší hodnoty urychlovacího napětí a patří do oboru metodik vysokorozlišitelné elektronové mikroskopie. [5] V USA a v Japonsku existuje několik mikroskopů pracujících s urychlovacím napětím 1 až 2 MV. Nedávno byly vyvinuty korektory sférických vad magnetických čoček a v té souvislosti roste zájem i o urychlovací napětí menší než 100 kV. Výhodou je, že při nižší energii dopadajících elektronů dochází k menšímu radiačnímu poškození citlivějších vzorků. [1] V základní skříni mikroskopu, která dosahuje výšky pracovního stolu, je vakuový systém a řídicí elektronika. Odděleně je umístěna napájecí skříň a vysokonapěťový tank. V tubusu elektronového mikroskopu (Obr. 4) je elektronová tryska, akcelerátor, dvě až tři magnetické čočky, které tvoří kondenzor, objektiv, jedna nebo dvě mezičočky, několik projekčních čoček (projektivů) a také komora, která umožňuje pozorování a registraci obrazu nebo difrakčních obrazců. [1]

K vyčerpání vzduchu z vnitřních prostor mikroskopu slouží výkonný vakuový systém, který zabezpečí střední volnou dráhu elektronu alespoň v délce 3 m. [7] Vakuum dosahuje uvnitř tubusu hodnot 10^{-3} až 10^{-8} Pa. [5] V oblasti elektronové trysky a vzorku je potřeba vyšší a čistší vakuum. Vzorek se vkládá mezi pólové nástavce objektivu, doprostřed tubusu. [1]

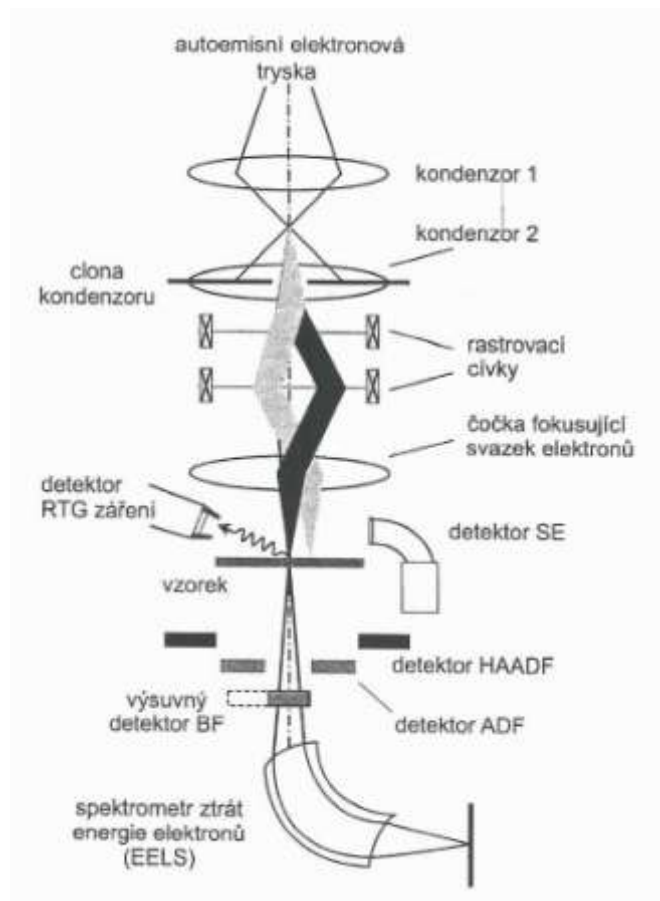
1.2.2 Rastrovací transmisní elektronový mikroskop

STEM má elektrony fokusovány do tenkého svazku (sondy), jehož průměr může dosáhnout až zlomku nanometru. Tento svazek se pohybuje po zkoumaném vzorku v řádcích v pravoúhlém rastru (mřížce) tak jako v televizním systému.

Mikroskop (Obr. 5) se skládá většinou pouze z části tubusu před vzorkem (elektronová tryska, kondenzor, objektiv), za vzorkem jsou pouze detektory elektronů.

Obraz je na pozorovacím monitoru vytvářen bod po bodu, ve fázi s pohybem elektronového svazku po vzorku. Registruje se buď intenzita signálu primárního svazku elektronů na detektoru světelného pole (BF – bright field detector), elektronů difraktovaných na prstencovém detektoru tmavého pole (ADF - annular dark field detector), nebo elektronů rozptýlených pod velkými úhly (HAADF - high-angle annular dark field detector). Je možné registrovat

i jiné signály jako jsou sekundární elektrony (SE – secondary electrons), RTG fotony nebo fotony viditelného světla (katodoluminiscenci).



Obr. 5. Schéma rastrovacího transmisního elektronového mikroskopu [1]

Zpracování signálu a digitální zobrazení je této metodě vlastní. Zvětšení je dáno poměrem mezi velikostí obrazu na monitoru a velikostí oblasti na vzorku rastrované svazkem elektronů. Rozlišovací schopnost závisí na průměru fokusovaného elektronového svazku. S pomocí mikroskopů, které jsou vybaveny autoemisní elektronovou tryskou (FEG – field emission gun), je možné dosáhnout průměru sondy kolem 0,2 nm, což umožňuje vizualizaci atomových sloupců vzorku.

STEM bývají obvykle vybavené i spektrometry RTG záření a ztrát energie elektronů. Paralelně se zobrazením vzorku je možné provádět chemickou analýzu pomocí charakteristického RTG záření (EDS - energy dispersive X-ray spectroscopy) nebo detektoru ztrát energie

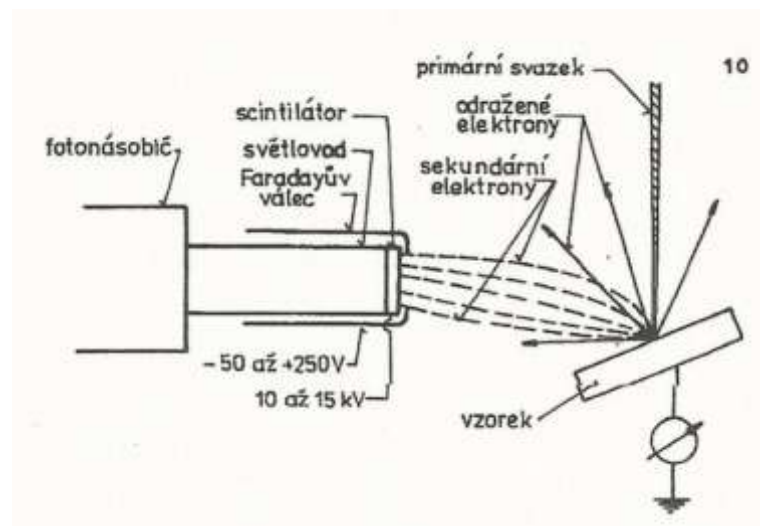
elektronů (EELS - electron energy loss spectroscopy) a získat tak lokální informace o chemickém složení i elektronové struktuře vzorku. [1]

Výhodou STEM je, že pomocí fotonásobiče lze zesílit i malé množství elektronů procházejících preparátem, takže je možné prozářit i relativně silnější vzorky než u TEM. [13]

Moderní TEM bývají často vybaveny modulem pro skenování a také příslušnými detektory elektronů (SE, BF, HAADF, ADF), takže umožňují využít i některé techniky běžné pro STEM. [1]

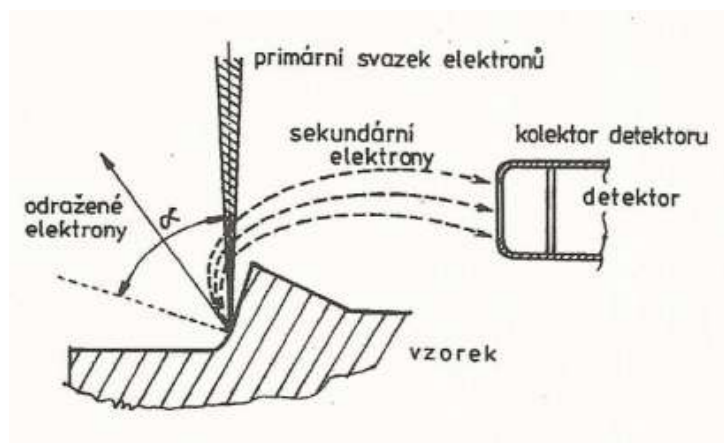
1.2.3 Rastrovací elektronový mikroskop

SEM se používá přibližně od roku 1965 jako doplněk světelné mikroskopie. Používá se pro masivní neprozařitelné vzorky. Její výhodou je dosažení vynikající rozlišovací schopnosti, velkého zvětšení a velké hloubky ostrosti. [5] Vzorky mohou být relativně velké, až několik cm. [13] Pokud jsou elektricky vodivé, není nutné je zvláštními technikami preparovat. Nevodivé vzorky je třeba zvodivět a to napařením kovu nebo uhlíku. [5] Vodivá vrstva umožňuje na preparátu největší zisk vyzářených SE. [13]



Obr. 6. Schéma detekce SE [5]

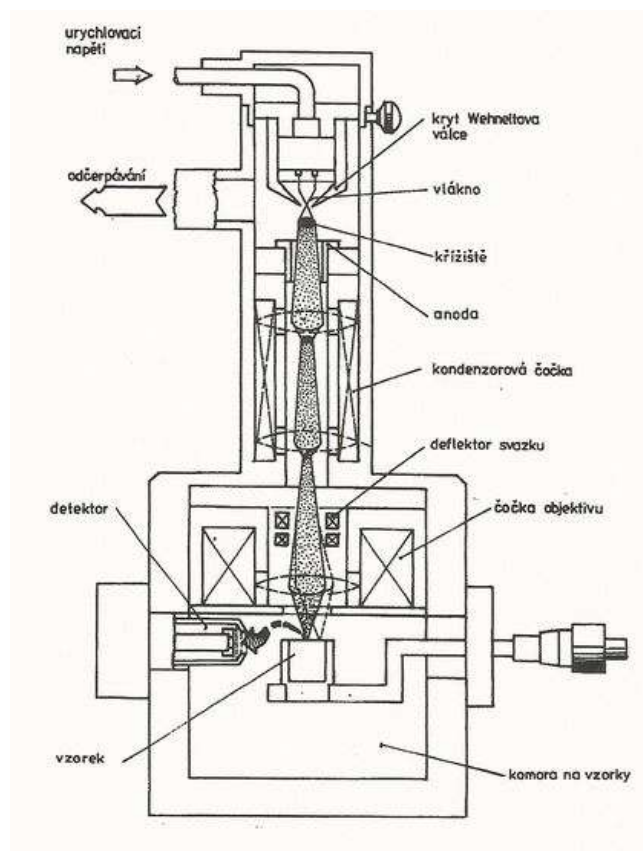
Kondenzovaný úzký svazek elektronů je ostře fokusovaný na povrch vzorku. Vychylovací cívky umožňují, aby přejížděl - „řádkoval“ a bod po bodu získal a registroval informace z povrchu vzorku. [5] Interakcí dopadajících elektronů se vzorkem vznikají různě detekovatelné složky. Podle charakteru povrchu v různých místech vzorku se mění úroveň signálu v detektoru. Tyto signály umožní sestavit výsledný obraz. [16]



Obr. 7. Schéma dráh BE a SE [5]

Zobrazení povrchu vzorku získáme pomocí detektoru SE (Obr. 6) a/nebo zpětně odražených elektronů (BE - backscattered electrons) (Obr. 7). Pomocí SE se získá topografický kontrast a pomocí BE se rozliší oblasti s různým prvkovým složením. [17] K získání kvalitativní i kvantitativní chemické analýzy pomocí charakteristického RTG záření se používají detektory EDS – disperzní spektrometr energií (energy dispersive spectroscopy) / WDS – vlnově disperzní spektrometr (wavelength dispersive spectroscopy). Pro krystalografickou analýzu vzorku se využívá difrakce zpětně odražených elektronů EBSE (electron backscatter diffraction). Metodou lze přesně zjistit orientaci krystalové mřížky ve vzorku. [13, 14, 18]

SEM se skládá z tubusu, vakuového systému, elektrického zdroje, mechanické soustavy sloužící k posunu vzorku a goniometrického stolku, dále ze zdroje vysoce stabilizovaného proudu a zobrazovací části s ovládacími prvky (Obr. 8). [5]



Obr. 8. Řez rastrovacím elektronovým mikroskopem JSM-25 S [5]

2 ZÁKLADNÍ FYZIKÁLNÍ PRINCIPY ELEKTRONOVÉ MIKROSKOPIE

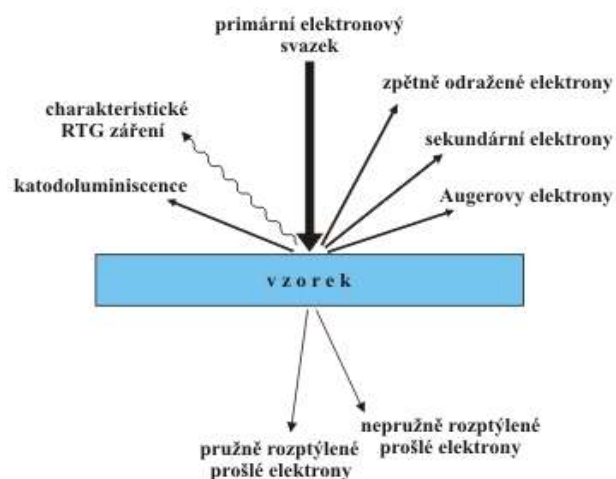
2.1 Elektronové záření

Elektronové záření řadíme do skupiny korpuskulárního záření. Pro šíření elektronových paprsků zde platí zákony obdobné zákonům geometrické optiky. Při průchodu elektrostatickým nebo magnetickým polem mění paprsky svůj směr a rychlost. [5]

2.2 Interakce elektronů s látkou

U transmisního i skenovacího mikroskopu je pro tvorbu obrazu zásadní interakce urychlených elektronů s preparátem. [11]

Při dopadu elektronů na vzorek dochází k vzájemné interakci a vzniká množství různých signálů, které nesou informace o pozorovaném vzorku (Obr. 9). [19]



Obr. 9. Signály vznikající při pozorování vzorků v TEM a SEM, používané pro tvorbu obrazu a mikroanalýzu prvků [19]

U TEM elektrony tenkým vzorkem procházejí a u SEM na něj dopadají. V atomech preparátu dochází v obou případech k pružnému a nepružnému rozptylu elektronů. [11]

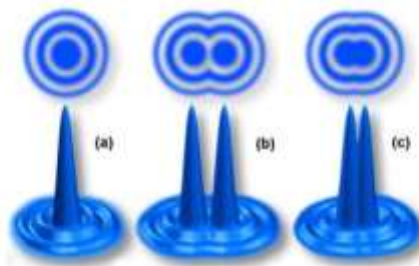
Při pružném rozptylu elektrony téměř neztrácejí svoji energii. Z důvodu difrakce na krystalografických rovinách mění pouze směr svého pohybu (platí zde Braggův zákon). Takto rozptýlené elektrony opouští vzorek s malými energetickými ztrátami, tato část energetického spektra je označována jako zpětně rozptýlené elektrony (odražené elektrony). [5] Část elektronů, které jsou rozptýleny pod dostatečným úhlem, je zachycena clonou objektivu a tím jsou vyřazeny z tvorby obrazu na stínítku transmisního elektronového mikroskopu. V důsledku toho se mění intenzita svazku elektronů a vzniká kontrast obrazu. Na tvorbě obrazu se ještě podílí fázový kontrast, tvořící různé odstíny šedi. Fázový rozdíl je způsoben rozdílnými drahami elektronů, odchýlených pod různými úhly. [11]

Při nepružném rozptylu předávají primární elektrony svoji energii volným elektronům (plazmová excitace) a elektronům vázaným v obalech atomů ozařované látky (obalová excitace). [5] Srážkami se snižuje jejich energie a změna vlnové délky má vliv na zhoršení chromatické aberace. Tento nepříznivý vliv roste s tloušťkou preparátu a také s klesajícím urychlovacím napětím.

Při srážkách urychlených elektronů s elektrony v orbitalech atomů dochází k excitaci atomů, následné emisi rentgenového záření a k vzniku dalších signálů použitelných pro tvorbu obrazu, které jsou charakteristické pro skenovací elektronové mikroskopy [11]

2.3 Rozlišovací schopnost mikroskopu

Kvalita obrazu je obvykle hodnocena rozlišovací schopností, kterou definujeme jako nejmenší vzdálenost mezi dvěma body nebo dvěma čarami (Obr. 10), které ještě můžeme rozlišit jako dva různé obrazce. Rozlišovací schopnost obrazu nemusí být identická s rozlišovací schopností mikroskopu. [20]



Obr. 10. Airyho disky a podmínka rozlišení dvou bodů v obraze [11]

Světelná mikroskopie nedosahuje lepší hodnoty rozlišení než je polovina vlnové délky použitého světla z důvodu jeho difrakce na kruhových otvorech (apertuře objektivu). [11]

Rozlišovací schopnost d elektronového mikroskopu je dána Reyleighovým výrazem (1), který je odvozen z maximálního úhlu rozptylu elektronů α , které mohou procházet objektivovou čočkou. [20]

$$d = \frac{0,61\lambda}{\alpha} \quad (1)$$

kde α je efektivní apertura objektivové čočky

λ je vlnová délka použitého světla

Rozlišení je teoreticky o 5 řádů lepší než u optického mikroskopu. V důsledku vad je ve skutečnosti lepší jen o 2 až 3 řády. Toto rozlišení však stačí na zobrazení jednotlivých atomů, běžné laboratorní elektronové mikroskopy mají v současné době rozlišovací schopnost v řádech desetin nm.

Při použití vyšších urychlovacích napětí lze dosáhnout i kratší vlnové délky a tím i menší hodnoty rozlišovací meze. [11]

3 POPIS JEDNOTLIVÝCH ČÁSTÍ TEM

3.1 Tubus

Hlavní zobrazovací částí elektronového mikroskopu je tubus, ve kterém je zdroj elektronů (tzv. elektronová tryska), kondenzorový systém, komora preparátu, zobrazovací systém a fotografický systém. Proti vnějším vibracím je tubus zavěšený na pružinách nebo jinak odtlumený. [20]

3.1.1 Vakuový systém

Vnitřní prostor mikroskopu, kde se pohybují elektrony, musí být vakuovaný, jinak by v okolí elektronové trysky hrozilo nebezpečí ionizace vzduchu a následného elektrického výboje mezi katodou a anodou trysky. Vzduch by mohl způsobit kontaminaci tubusu a pozorovaného vzorku. Vyčerpáním tubusu se zabrání náhodným srážkám urychlených primárních elektronů s molekulami vzduchu. Zabrání se tak ztrátě energie a změně směru elektronů. Vakuový systém se obvykle skládá ze dvou výkonných rotačních vývěv a jedné až dvou trojstupňových vývěv, pomocí nichž se získá vakuum (minimálně $10^{-3} - 10^{-7}$ Pa). Nejvyšších stupňů vakua je dosahováno pomocí iontových vývěv. I přes vysoký stupeň vakua dochází ke kontaminaci vnitřku tubusu zbytky vodních par a molekulami uhlovodíků, které ovlivňují kvalitu obrazu. Z tohoto důvodu se používá speciální antikontaminační komůrka, která se chladí kapalným dusíkem z Dewarovy nádoby, která je umístěna vně tubusu. [11] Moderní mikroskopy mají vakuový systém řízený mikroprocesorem, který automaticky reguluje činnost a zapojení jednotlivých prvků podle funkční potřeby činnosti mikroskopu. Jsou-li rozvodné ventily ovládány pneumaticky, je součástí vakuového systému i kompresor a zásobník stlačeného vzduchu. [20]

3.1.2 Zdroj elektronů – elektronové dělo – osvětlovací soustava

Každý elektron je v atomu vázán určitou vstupní energií E_v . Pro uvolnění elektronu z vazby mu musíme dodat energii, která je vyšší než E_v . V elektronovém mikroskopu se tak děje pomocí sekundární emise, termoemise nebo autoemise.

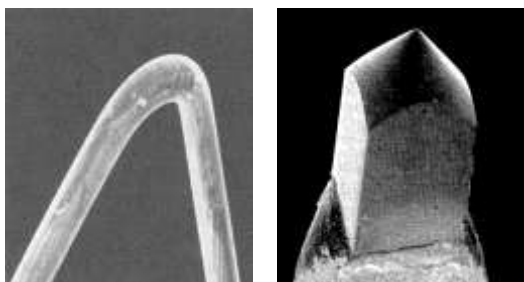
U studené emise se studené kovové vlákno (katoda) bombarduje urychlenými ionty, které nárazem uvolňují elektrony z povrchu. Tohoto způsobu bylo využíváno u prvních typů TEM.

U termoemise se zahřívá katoda, čímž se zvyšuje její vnitřní energie. Při překročení mezní teploty dochází k uvolňování elektronů z jejího povrchu. Tento postup se používá nejčastěji.

Při autoemisi se proti studenému kovovému vláknu, které je odleptané do tvaru hrotu, umístí elektroda s vysokým kladným napětím. Vlivem napětí vzniká v okolí hrotu silné elektrické pole, které vytrhává velké množství elektronů z povrchu hrotu. U tohoto způsobu získávání elektronů je potřeba velmi vysoké vakuum ($10^{-6} - 10^{-7}$ Pa).

Zdroj elektronů v elektronovém mikroskopu nazýváme elektronové dělo nebo elektronová tryska. Emisi elektronů můžeme zvýšit vytvarováním katody do tvaru písmene V. [11] Katody (Obr. 11), jako zdroj elektronů jsou vyrobeny z wolframového vlákna nebo z LaB_6 . [20] Wolframová katoda je vyrobena z drátku o průměru $\sim 0,1$ mm a je přímo žhavená na teplotu 2800 K. [6]

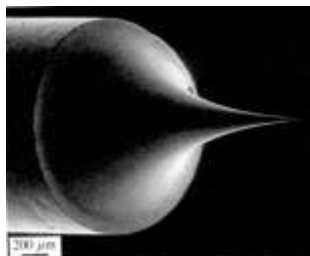
a



Obr. 11. Wolframová (vlevo) a LaB_6 (vpravo) katoda [7]

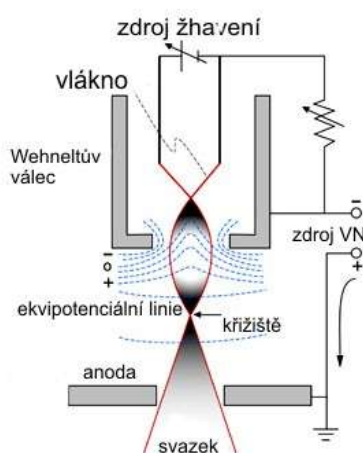
Wolframové vlákno má životnost cca 40 hodin. Katoda z LaB_6 vydrží při běžném provozu elektronového mikroskopu asi 1 rok a má 10x větší emisi elektronů. Potřebuje však vyšší

hodnotu vakua (minimálně 10^{-4} Pa). U nejvýkonnějších elektronových mikroskopů je zdrojem elektronů autoemisní katoda (Obr. 12), která vydrží i několik let.



Obr. 12. Autoemisní katoda [21]

Elektronové dělo (Obr. 13) je ve všech případech tvořeno katodou obklopenou Wehneltovým válcem, který má proti špičce vlákna katody otvor. [11]



Obr. 13. Schematický náčrt elektronového děla [11]

Za válcem je anoda s otvorem uprostřed. Válec vytváří v okolí vlákna katody elektrické pole, v němž se svazek elektronů emitovaný z katody zužuje tak, že před otvorem v anodě vytváří křížiště. [11] V místě křížiště má primární svazek nejmenší průměr, řádově v desítkách μm . [6] Toto nejužší místo svazku lze považovat za bodový zdroj urychlených elektronů.

Dráha, rychlost a šířka svazku elektronu je poté ještě dále upravena systémem clonek a čoček. Ty tvoří spolu s elektronovou tryskou ozařovací soustavu elektronového mikroskopu.

Mezi katodou a anodou je vložen potenciální spád (vysoké napětí U), který uděluje elektronům požadovanou kinetickou energii $E_k = 1/2m_e v^2$. Potom platí (2)

$$E_k = eU = 1/2m_e v^2 \quad (2)$$

kde e je náboj elektronu
 v je rychlost elektronu
 m_e je hmotnost elektronu

Po dosažení rychlosti v z de Broglieova vztahu pro vlnovou délku elektronového záření $\lambda = h/m_e v$ dostaneme (3)

$$eU = \frac{1}{2} m_e \left(\frac{h}{m_e \lambda} \right)^2 = \frac{h^2}{2m_e \lambda^2} \quad (3)$$

a z toho (4)

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2m_e U}} \quad (4)$$

Po dosažení konstantní veličiny m_e , e a h , dostaneme pro vlnovou délku elektronového záření vztah (5), jenž charakterizuje závislost mezi vlnovou délkou a urychlovacím napětím, volitelným na přístroji [5]

$$\lambda = \frac{1,226}{\sqrt{U}} [nm] \quad (5)$$

Tab. 1. Vlnové délky λ a rychlosti v v poměru k rychlosti světla v/c elektronů pro různá urychlovací napětí [5]

U [kV]	λ [nm]	v/c	U [kV]	λ [nm]	v/c
10	0,012 20	0,195 0	300	0,001 97	0,776 5
20	0,008 59	0,271 9	400	0,001 64	0,827 9
30	0,006 98	0,328 4	500	0,001 42	0,862 9
40	0,006 02	0,374 1	600	0,001 26	0,887 9
50	0,005 36	0,412 7	700	0,001 03	0,906 6
60	0,004 87	0,446 2	800	0,001 94	0,920 9
70	0,004 48	0,475 9	900	0,000 94	0,932 1
80	0,004 18	0,502 4	1000	0,000 87	0,941 1
90	0,003 92	0,526 4	2000	0,000 50	0,979 1
100	0,003 70	0,548 2	4000	0,000 28	0,993 6
200	0,002 51	0,695 3			

Z tabulky (Tab. 1) je patrné, že vlnová délka elektronových paprsků s energií odpovídající urychlovacím napětím v oblasti 40 – 100 kV je o pět řádů menší než vlnová délka viditelného světla. [5]

3.1.3 Pohyb elektronů v magnetickém poli

Na náboj e , jež se pohybuje v magnetickém poli o indukci B , působí síla F . Velikost síly a směr lze určit ze vztahu (6)

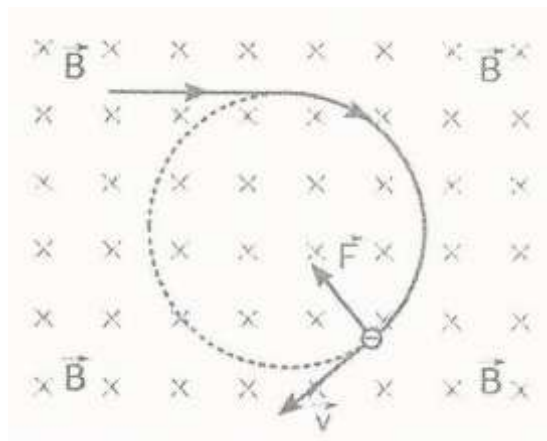
$$\vec{F} = e(\vec{v} \times \vec{B}) \quad (6)$$

kde \vec{v} rychlost elektronu

Vlétne-li elektron do homogenního magnetického pole ve směru kolmém k vektoru magnetické indukce, potom magnetická síla působí na elektron, zakřivuje jeho trajektorii a ten se začne pohybovat po kružnici. Poloměr zakřivení kruhové trajektorie pohybu elektronu můžeme vyjádřit z rovnosti odstředivé a magnetické síly. Vlétne-li elektron do magnetického pole pod určitým úhlem, rozloží se vektor jeho rychlosti na složku tečnou a normálovou. Výslednou trajektorií (Obr. 14) je šroubovice, která má v průmětu tvar kružnice o poloměru (7) [11]

$$r = \frac{m_e v}{Be} \quad (7)$$

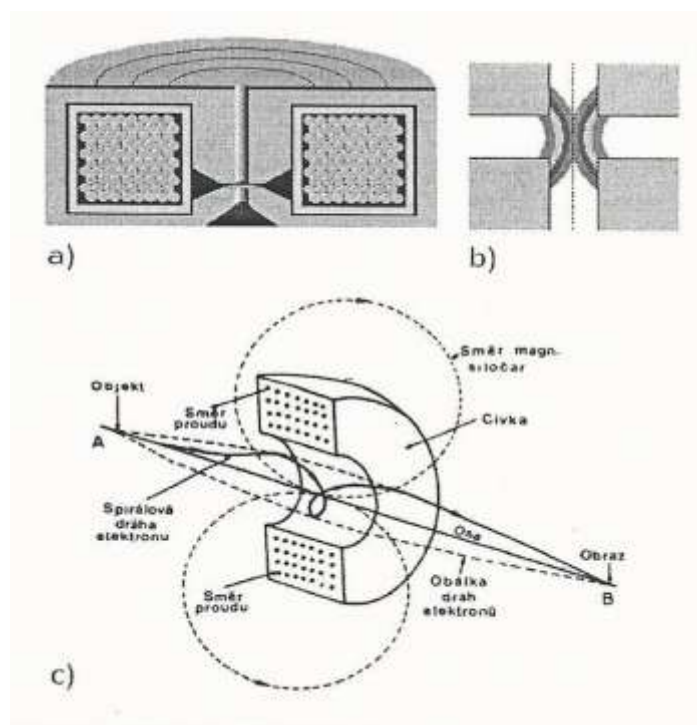
kde m_e hmotnost elektronu



Obr. 14. Trajektorie elektronu v příčném homogenním magnetickém poli [11]

3.1.4 Elektromagnetická čočka

Elektromagnetická čočka (Obr. 15) má podobnou funkci jako skleněná čočka v případě světla. Nejjednodušší je podobná solenoidu, což je cívka s velkým počtem závitů. Průměr závitů je mnohem menší než délka cívky. Uvnitř vzniká téměř homogenní magnetické pole. Aberace je jedna z příčin, proč není zcela homogenní. [11]



Obr. 15. a) Schéma elektromagnetické čočky, b) Magnetického pole čočky s vyznačením chromatické aberace, c) Trajektorie elektronů uvnitř čočky [11]

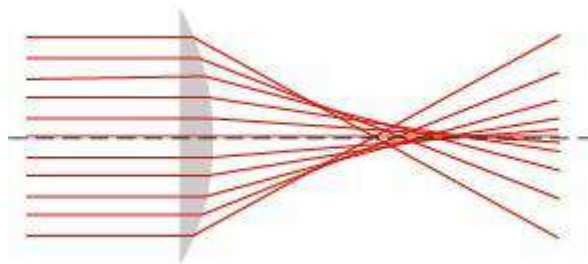
Trajektorie elektronu, jenž vletne do magnetického pole čočky, vytvoří tvar prostorové spirály. Trajektorie všech elektronů procházejících stejným bodem na ose čočky, jsou magnetickým polem čočky ovlivněny tak, že za čočkou se opět protínají ve stejném bodě na ose čočky. Čím větší je proud, který prochází čočkou, tím větší je magnetická indukce pole v dutině čočky a tím kratší je ohnisková vzdálenost čočky. Pro ohniskovou vzdálenost platí vztah (8) [11]

$$\frac{1}{f} = \frac{e}{8m_e U} \int_{z_1}^{z_2} B_{z_0}^2 dz \quad (8)$$

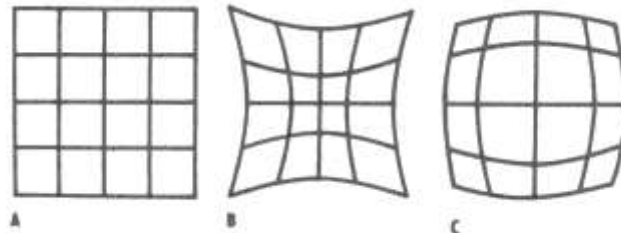
kde B_{z_0} je magnetická indukce v místě z na ose čočky

Elektromagnetické čočky vykazují stejné vady jako čočky skleněné. [7] Obraz vytvořený čočkou je těmito vadami negativně ovlivněn. Především dochází k ovlivnění jeho kontrastu, rozlišovací meze a hloubky ostrosti. [11]

Sférická vada (Obr. 16) - je neschopnost čočky zaostřovat všechny elektronové paprsky, které vycházejí z bodového zdroje opět do jednoho bodu. Elektronové paprsky, které procházejí dále od osy čočky, jsou zaostřovány do bodu, který leží blíže k čočce, než elektrony, které procházejí čočkou v těsné blízkosti optické osy. Dochází k tomu, že zvětšení obrazu je v krajích jiné než ve středu (Obr. 17). Sféricou vadu čočky lze omezit použitím clony, která odstraní okrajové paprsky. [7]

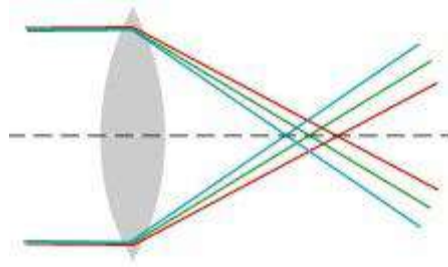


Obr. 16. Sférická (kulová) vada [18]



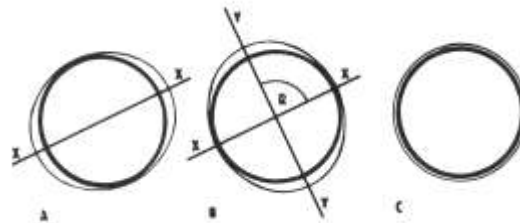
Obr. 17. Deformace obrazu sféricou vadou –
 a) Nezkreslený obraz, b) Poduškovité zkreslení,
 c) Soudkovité zkreslení [7]

Chromatická vada (Obr. 18) - vzniká v elektronovém mikroskopu v důsledku rozdílných energií elektronů ve svazku. V magnetickém poli cívek dochází k vychylování pomalejších elektronů s větší vlnovou délkou, které potom osu cívky protínají v jiném bodě, než elektrony s vyšší rychlostí. Tuto vadu lze eliminovat stabilizací urychlovacího napětí mikroskopu. Elektronový svazek se tak stane monochromatictější a koherentnější. Protože se rychlost elektronů mění průchodem přes preparát, [11] nelze tuto vadu zcela odstranit. Výrazněji se projevuje v případě silnějších řezů. [7]

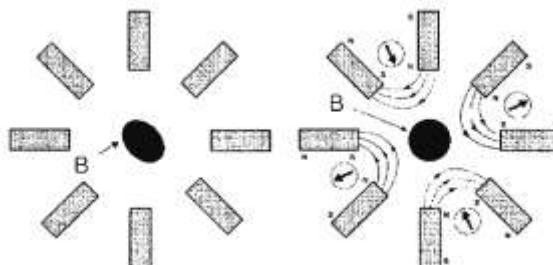


Obr. 18. Chromatická (barevná) vada [18]

Osový astigmatismus (Obr. 19) - je způsobený nesymetrií elektronového svazku a tedy i magnetického pole, které ho deformuje. Elektronové svazky pak mají různé ohnisko. Astigmatismus lze korigovat přidavným magnetickým polem stigmátoru (Obr. 20) při každém zaostřování obrazu a to zejména při větších zvětšeních. Je nutné udržovat čistotu uvnitř tubusu, protože případné nečistoty a nehomogenity mohou být zdrojem astigmatismu. [11]



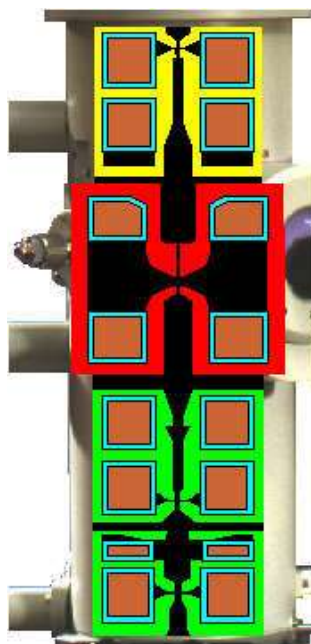
Obr. 19. Astigmatismus čočky – a) Protážení obrazu do jednoho směru pod fokusem, b) Do kolmého směru nad fokusem, c) Po korekci stigmátorem [7]



Obr. 20. Kompenzace astigmatismu pomocí stigmátoru [22]

3.1.5 Zobrazovací soustava

Podobně jako stavba mikroskopu, má i zobrazení předmětu pomocí TEM jistou analogii s optickým mikroskopem. Základními prvky zobrazovací soustavy jsou kondenzor, objektiv a projektiv (Obr. 21). Kondenzor je obvykle dvoustupňový. Fokusuje elektronové paprsky na preparát, promítá křížiče elektronové trysky na preparát a zajišťuje jeho homogenní a intenzivní ozáření. Úhlová apertura, při níž se v rovině preparátu zobrazuje křížiče, se mění v závislosti na zaostření, největší je v ohnisku kondenzoru. V první čočce je vestavná clona s velkým průměrem, v druhé je výměnná clona s otvorem 100-500 μm . Kondenzor s elektronovou tryskou tvoří ozařovací část TEM.



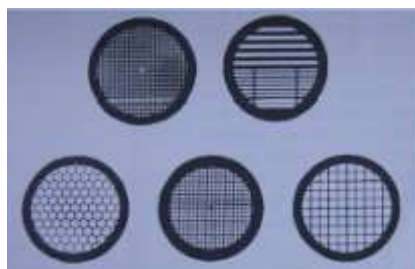
*Obr. 21. Tubus TEM
s kondenzorem, objektivem a projektivem [11]*

Do zobrazovací části TEM patří prostor preparátu s držákem vzorku, objektiv, projektiv, luminiscenční stínítko a pro záznam obrazu může být umístěna CCD kamera. [11] Objektiv je tvořen nejvýkonnější elektromagnetickou čočkou a je označován za srdce celého elektronoptického systému mikroskopu. Dosahuje největšího zvětšení a má nejkratší ohniskovou

vzdálenost. [23] Projektiv je tvořen až čtyřmi elektromagnetickými čočkami, promítá obraz na stínítko. Součástí zobrazovací soustavy je i systém clonek, které omezují průměr zobrazujícího svazku elektronů. Objektiv vytváří základní obraz zobrazovaného předmětu, který je umístěn v jeho těsné blízkosti. Pro dosažení požadované magnetické indukce, má cívka objektivu velký počet závitů, jimiž protéká poměrně značný proud.

Obraz, který je vytvořen objektivem, je dále zobrazen čočkami. Čočky tvoří projektiv. Proud, který prochází čočkami projektivu lze regulovat, čímž se mění výsledné zvětšení mikroskopu, maximálně se užívá 10^6 . [11]

Zkoumané vzorky (preparáty) se umísťují pinzetou s vybroušenými hroty na síťky různých typů, které slouží jako nosná podpěra (Obr. 22). [24] Síťky se vzorky se vkládají do držáku (Obr. 23). [11]



Obr. 22. Různé typy sítěk [24]



Obr. 23. Držák sítěk vzorků v TEM [11]

Držák je umístěn na goniometrickém stolku, vzorkem je tak možno velmi jemně posouvat ve všech směrech a taktěž i naklánět. [7].

3.1.6 Pozorování a záznam obrazu vytvořeného elektronovým mikroskopem

Svazek urychlených elektronů nelze přímo vidět okem. Informace o obrazu, vytvořené elektronovým mikroskopem, je nutno převést do viditelné podoby. K pozorování obrazu se používá stínítko, které bývá umístěno na dně tubusu TEM. Stínítko je pokryté luminoforem (nejčastěji ZnS), což je látka, která je schopna v závislosti na energii a množství dopadajících elektronů, emitovat světlo různé intenzity o přibližně stejné vlnové délce (pro ZnS okolo 550 nm). Na stínítku vzniká obraz z odstínů zelené barvy, pozorovatelný okem. Rozlišení stínítka je dáno velikostí zrn ZnS, pohybuje se okolo 50 nm. Mikroskopy bývají vybaveny i malým stínítkem, kde je možné detail obrazu zvětšit pomocí binokulárního mikroskopu. [11] Záznam obrazu pozorovaného mikroskopem je zaznamenáván na film nebo snímán pomocí speciálních CCD kamer v digitální podobě. Kamery jsou využívány především při pozorování velmi citlivých preparátů. [7]

3.2 Základní pracovní režimy transmisního elektronového mikroskopu

3.2.1 Vznik kontrastu

Kontrast je definován jako rozdíl intenzit záření prošlého vzorkem ve dvou zvolených sousedních místech. Snížení intenzity záření při průchodu stěnou o tloušťce x popisuje zeslabovací zákon (9)

$$I = I_0 e^{-\mu x} \quad (9)$$

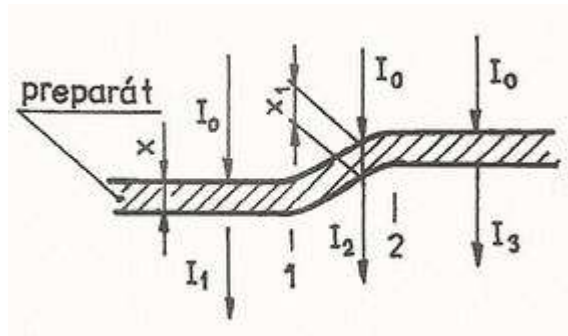
kde I_0 je intenzita záření dopadající na vzorek

I je intenzita záření prošlá vzorkem

μ je zeslabovací součinitel, který zahrnuje efekt absorpce a rozptylu

V případě, že je preparát amorfni a homogenni, uplatňuje se pouze absorpce. Zeslabovací součinitel je v celém rozsahu vzorku konstantní, zeslabení je podmíněno pouze proměnnou

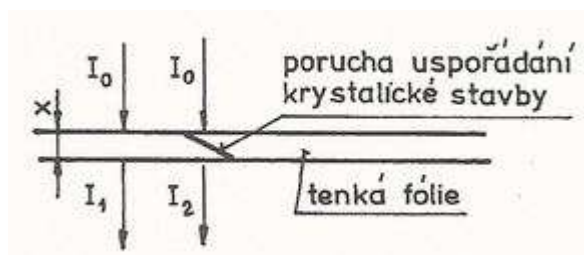
tloušťkou stěny x (Obr. 24), kde $x_1 > x$ a tedy $I_2 < I_1$. Toto je typické pro tvorbu kontrastu u zobrazení replik. [5]



Obr. 24. Schéma absorpčního kontrastu na preparátu proměnné tloušťky [5]

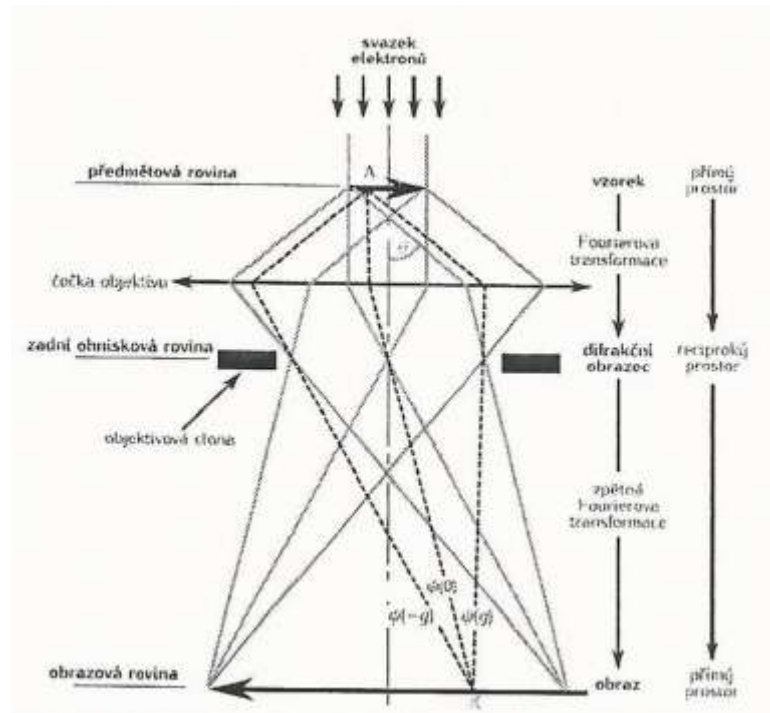
V případě změny struktury nebo změny složení stěny vzorku (např. uložení cizí částice ve stěně), dojde k lokální změně hodnoty μ a v důsledku jiného mechanismu absorpce je pak hodnota intenzity I_3 výrazně odlišná od intenzity I_1 a I_2 .

U krystalických látek je možné vyrobit tenký preparát s tloušťkou stěny, která je prozařitelná pro elektrony. Na těchto preparátech (tenkých fóliích) vznikají efekty interakce záření s krystalickou mřížkou vedoucí k místnímu snížení intenzity. Liší-li se systematické uspořádání krystalografických rovin v jistém místě mřížky (např. existence poruchy krystalové mřížky), dojde k přidavnému rozptylu záření a změně intenzity na hodnotu I_2 (Obr. 25) oproti místu bez poruchy, kde je intenzita prošlého záření I_1 . Bude-li $I_2 < I_1$, projeví se toto místo po zvětšení zobrazovací soustavou jako tmavší. [5]



Obr. 25. Změna intenzity svazku urychlených elektronů při průchodu tenkou fólií [5]

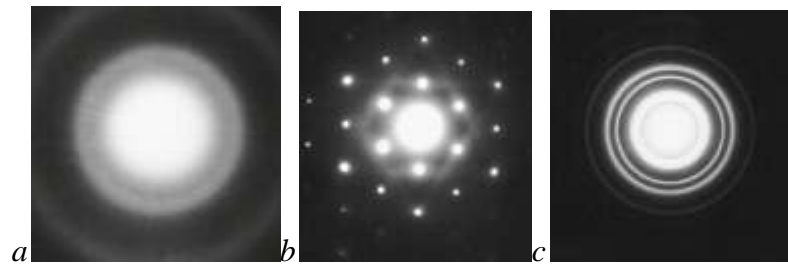
K zobrazení pomocí difrakčního kontrastu se používá malá objektivová clona (Obr. 26). Ta vymezuje pouze jeden svazek elektronů – prošlý či difraktovaný, k získání známých obrazů ve světlém, respektive tmavém poli.



Obr. 26 Princip zobrazení předmětu objektivem TEM [11]

3.2.2 TEM jako difraktograf

Je-li zkoumaný materiál krystalický, dochází k difrakci elektronů na vhodně orientovaných krystalických rovinách. Dopadají-li elektronové paprsky na vzorek rovnoběžně se zónami krystalových rovin, svazky elektronů difraktovaných na různých systémech krystalografických rovin jsou objektivovou čočkou fokusovány do bodů v obrazové ohniskové rovině. Zde se vytváří Fraunhoferův difrakční obraz, který reprezentuje Fourierovu transformaci vlny vystupující ze vzorku (Obr. 27).



Obr. 27. Difrakce - a) Amorfního uhlíku, b) Monokrystalu hliníku, c) Polykrystalu zlata [21]

Pomocí objektivové clony získáme žádaný typ kontrastu. Difrakční obraz pozorujeme po zaostření mezičochy na obrazovou rovinu objektivu. V tomto režimu vidíme difrakční obrazec i na stínítku mikroskopu a můžeme ho registrovat na film nebo snímat digitální kamerou. Kamera bývá zpravidla umístěna pod stínítkem. [11]

3.2.3 Elektronová holografie

Elektronová holografie se používá zejména při studiu krystalů v atomovém rozlišení, ale také např. při studiu magnetických polí s rozlišením několika nanometrů.

Vychází z principu vlnové optiky. Obraz registrovaný ve filmové desce nebo na čipu kamery je dán intenzitou dopadající vlny. Nejrozšířenější je použití referenční vlny. Interpretace elektronového hologramu spočívá v jeho počítačovém zpracování. Je umožněna korekce vady přenosu kontrastu mikroskopem a získat tak obraz nedeformované elektronové vlny na výstupu za vzorku. [11]

3.3 Atomární rozlišení

Jednou z metod dosažení atomárního rozlišení je metoda Z-kontrastu. Výhodou této metody je, že poskytuje přímo interpretované obrazy mikrostruktury. Mikroskopy musí být vybaveny autoemisní katodou, řádkováním elektronového svazku a prstencovým detektorem elektronů difraktovaných pod velkými úhly. [11]

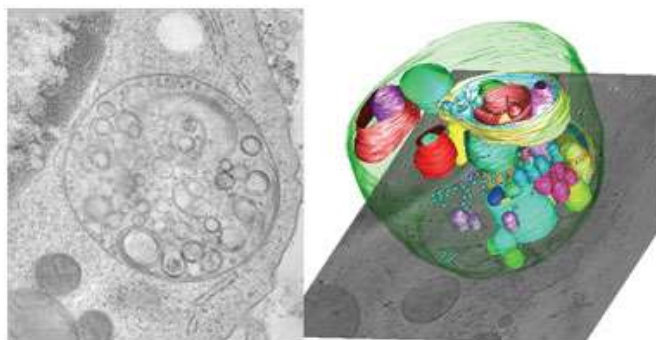
3.4 Elektronová tomografie

Elektronová mikroskopická tomografie umožňuje prostorové zobrazení útvarů v buňkách s velmi vysokým rozlišením. Často jsou používány rychle zmrazené, chemicky nefixované biologické materiály, které jsou ve stavu velmi blízkému stavu za živa. Princip je podobný počítačové tomografii, která se používá ve zdravotnictví.

Elektrony zde prozařují objekty tlustší než v běžné TEM pod různými úhly. Počítač vytváří z tomografických řezů trojrozměrné modely objektů (Obr. 28).

Kryoelektronová a elektronová tomografie obecně spočívá v záznamu dvourozměrných projekcí trojrozměrného objektu pod různými úhly, při jeho náklonu.

Elektronmikroskopická tomografie tak poskytuje neocenitelné informace o uspořádání ultrastruktury ve tkáních, buňkách a makromolekulách. V případě kryoaplikací se těžší z prostorového obrazu chemickou fixací neovlivněných struktur sledovaného objektu, který je nutno rychle zamrazit. Nejčastěji se metoda kryoelektronové tomografie používá pro prostorové zobrazení bakterií, virů a pozice jader buněk. [11]



Obr. 28. Klasický obraz TEM vlevo a tomografická rekonstrukce vpravo[11]

4 PŘÍPRAVA ZKUŠEBNÍCH VZORKŮ

Ve 30. letech minulého století byly v prvních sestrojených TEM zkoumány převážně biologické preparáty (krevní buňky, bakterie, vlákna bavlny, křídla hmyzu, ...) a otisky reliéfu povrchu materiálu (repliky). Problémy, které byly spojeny s přípravou dostatečně tenkých vzorků, jenž by umožňovaly elektronomikroskopické studium vnitřní struktury krystalických materiálů, posunuly využití této metody téměř o 20 let.

Vzorky pro TEM musí mít tloušťku okolo 200 nm a pro techniky atomového rozlišení jen 5 až 40 nm. Proto jejich příprava vyžaduje velkou zručnost a trpělivost. První tenkou kovovou fólii připravil Heidenreich v roce 1949. [1]

Metoda TEM využívá dvou způsobů vzniku kontrastu, čemuž odpovídá příprava vzorku tenké fólie nebo repliky (otisky). U vzorku připraveného jako tenká fólie se využívá změny absorpčního kontrastu i změny kontrastu rozdílného rozptylu na anomáliích krystalické mřížky. U vzorku připravené repliky se využívá změn absorpčního kontrastu. [5]

4.1 Přípravné práce

Standardně mají vzorky pro TEM tvar terčíku, jejichž průměr je 3 mm, některé vzorky jen 2,3 mm, záleží na typu mikroskopu a analýze, která je prováděna. Tloušťky vzorků nepřekračují 0,1 až 0,2 μm . [1, 5, 25]

Malé částice se nanáší na měděné, hliníkové nebo křemíkové sítky, které jsou pokryty tenkou uhlíkovou nebo plastovou (formvarovou) fólií o tloušťce kolem 20 nm. [11, 26] Vzorky z masivních materiálů je nutné nejprve nařezat na plátky a potom ztenčit. Při řezání a broušení se musí dbát na to, aby nedošlo k nežádoucím změnám mikrostruktury vzorku (artefaktům). [1, 25]

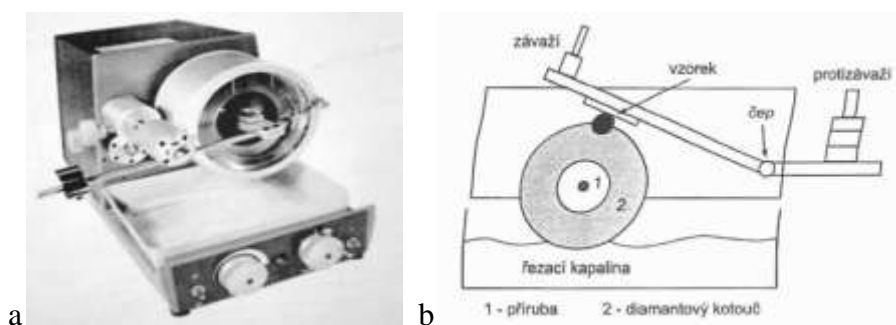
4.2 Řezání plátků

Tloušťku plátků lze u všech způsobů řezání většinou nastavit pomocí mikrometrického šroubu nebo vzorek upnout speciálním svěráčkem s goniometrickou hlavou, která umožňuje řezání pod určitým úhlem. [1]

4.2.1 Kotoučová pila

Nejčastěji se k řezání plátků používá pomaloběžná (Obr. 29) nebo rychloběžná kotoučová pila. Při oddělování materiálu je vzorek chlazen emulzí. Existuje několik možných způsobů oddělování vzorku.

Při řezání pomaloběžnou pilou s 1 až 300 otáčkami za minutu se vzorek upevněný do držáku pokládá na kovový kotouč, který má tloušťku 0,15 až 0,4 mm s diamantovým abrazivem na obvodu. Posun vzorku do řezu je způsoben gravitací a přítlak vzorku se reguluje závažím a protizávažím. Při řezání velmi tenkých plátků (0,15 mm) se přítlak nepoužívá. Větší mechanické napětí na čele řezu by způsobilo ohnutí plátku i u velmi pevných materiálů (ocel). Řezání s přítlakem je rychlejší, je však potřeba zvětšit tloušťku plátku alespoň na 0,3 mm, aby nedošlo v důsledku plastické deformace ke vzniku artefaktů. Velmi malé vzorky (<8 mm) lze řezat tenčí pilou, což způsobuje menší prořez vzorku a řezání je rychlejší. Pílový kotouč je při řezání fixován dvěma přírubami. [1, 25]

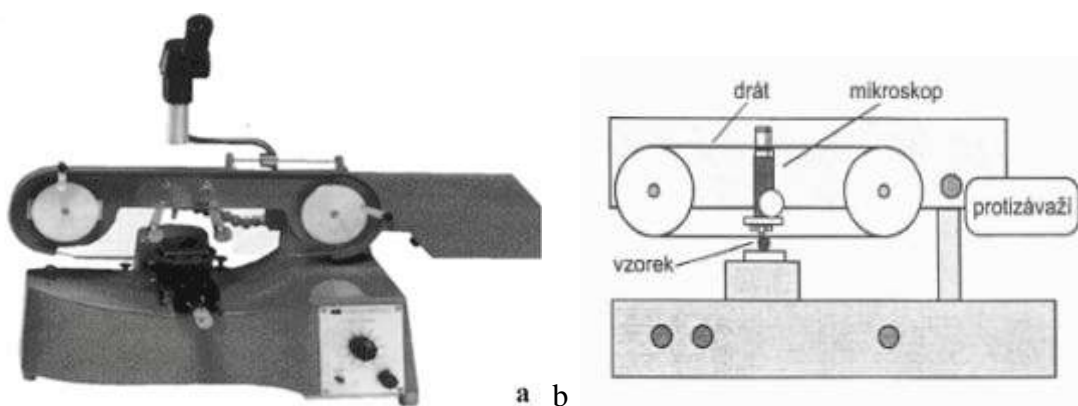


Obr. 29. a) Pomaloběžná diamantová pila [25], b) Schéma [1]

Rychloběžná pila se otáčí rychlostí až 3 500 otáček za minutu. Kotouče jsou zpravidla vyráběny z kovových materiálů (nikl, bronz) nebo z plastů (bakelit). Kovový kotouč má tloušťku od 0,2 mm do 2 mm a průměr mezi 50 až 300 mm. Plastový kotouč má tloušťku mezi 0,3 až 1,6 mm a průměr mezi 100 až 230 mm. U kovového kotouče se používá diamantové abrazivum, u plastového kotouče je abrazivem SiC, Al₂O₃ (korund) nebo nitrid bóru. Při řezání rychloběžnou pilou se pohybuje buď kotouč či vzorek. Výhodné je řídit rychlost posunu do řezu elektromotorem. Je možné minimalizovat mechanické napětí na čele řezu. [1, 25]

4.2.2 Drátová pila

Drátová pila umožňuje velmi přesné a šetrné řezání těch nejkřehčích materiálů. Řezání je ještě šetrnější než při použití rychloběžné kotoučové pily s řízenou rychlostí posunu do řezu. [1] Provádí se na horizontální (Obr. 30) nebo vertikální pile (Obr. 31). [25]



Obr. 30. a) Horizontální drátová pila [25], b) Schéma [1]

Vzorek je při řezání přilepen na jednoduchém přípravku (hranolek, váleček) nebo je upnutý v pevném držáku. Velmi jemný drát (100 až 30 μm) je vyroben z bronzu nebo z korozi-vzdorné oceli, pohybuje se regulovatelnou rychlostí 0 až 4 m/s a na svém povrchu unáší jemné abrazivum (diamantová pasta, korundová emulze). [1]



Obr. 31. Vertikální drátová pila [25]

Při tomto způsobu řezání nedochází ke zvyšování teploty, strukturálním změnám vzorku a jeho deformacím. Řez je rovný a hladký. Průběh řezu může být kontrolován stereoskopickým mikroskopem, který je umístěn před vzorkem. [25]

4.2.3 Chemická drátová pila, elektrolytická drátová pila

Chemická drátová pila pracuje na podobném principu jako pila drátová abrazivní. [1]

Tento typ pily se používá výhradně k řezání kovových materiálů bez mechanického zatížení vzorku. Své uplatnění nachází v průmyslové výrobě, v laboratořích jen zřídka. [25]

Drát unáší na vzorek silnou kyselinu a odnáší produkty dané chemické reakce. Posun vzorku do řezu je řízen motorem, při odříznutí plátky vzorku nedochází k žádnému kontaktu drátu se vzorkem.

I elektrolytická drátová pila pracuje na podobném principu. Kolem drátu, který je katodou, tryská elektrolyt. K obrábění vzorku dochází nastavením vhodných podmínek leštění. Tímto způsobem je možné řezat přímo plátky o tloušťce 100 μm . Šířka řezu je 0,5 mm. [1]

4.2.4 Elektrojiskrová řezačka

Elektricky vodivý vzorek je upevněn v kovovém svěráku, který je umístěn v lázni s kapalným dielektrikem (olej, petrolej). Řezacím nástrojem je měděný drát nebo plech. Nástroj a obráběný vzorek jsou připojeny ke generátoru stejnosměrných napěťových impulzů (80 až 300 V, 0,2 až 500 kHz). Přiblížením nástroje ke vzorku dochází mezi elektricky vodivými materiály k jiskrovým výbojům. Ty způsobí lokální roztavení materiálu a vznik malých prohlubní (kráterů). Řezné stopy se průběžně proplachují proudem dielektrika, aby nedocházelo k tvorbě vodíkových můstků, které by zabraňovaly vzniku dalších výbojů. Velikost kráterů závisí na úrovni napětí a vybíjecího proudu. Při malém napětí jsou krátery malé a tepelné poškození dosahuje do hloubky $\sim 0,1$ mm. Výhodou této metody je rychlé dělení delších vzorků. [1]

4.3 Ztenčování plátek

Odříznuté plátky je potřeba ztenčit z obou stran. Je nutné dosáhnout vhodné tloušťky pro odběr terčíků (0,10 až 0,15 mm). Vzorky lze ztenčovat brusným papírem nebo elektrojiskrovým obráběním či elektrolytickým leštěním. [1]

4.3.1 Mechanické broušení na metalografických papírech

Vzorek se před broušením přilepí velmi tenkou vrstvičkou lepidla nebo syntetického vosku tavitelného při nízké teplotě na přípravek umístěný uvnitř prstence ze silnostěnné trubky. Trubka stabilizuje rovinu broušení. Broušení je nutné provést z obou stran vzorku, aby nedošlo ke vzniku mechanického napětí, jež by způsobilo prohnutí vzorku a tím vznik nežádoucích artefaktů. Úbytek vzorku při broušení kontrolujeme mikrometrem. U měkkých materiálů může dojít k plastické deformaci a tím k poškození vzorku až do tloušťky dosahující trojnásobku průměru zrn použitého abraziva. Z tohoto důvodu je nutné provádět broušení (Obr. 32) na metalografických papírech číslo 1000 a jemnějších. [1, 25]



Obr. 32. Metalografická bruska [25]

V tabulce (Tab. 2) jsou uvedena čísla metalografických brusných papírů a odpovídající střední velikosti zrn abraziva. [1]

Tab. 2. Čísla brusných papírů N a střední velikost zrn abraziva D [1]

N	180	240	320	400	600	800	1000	1200	2400	4000
D [μm]	76	60	46	35	26	22	18	15	10	5

4.3.2 Elektrojiskrové leštění

Elektrojiskrové leštění (ztenčování) se používá pro vzorky, u kterých by při mechanickém broušení mohlo dojít k deformaci a tím k nežádoucímu vzniku artefaktů. Plátek uříznutého vzorku se přilepí lepidlem (kanagom), které je smícháno s bronzovým práškem pro získání elektricky vodivého spoje. Ztenčování vzorku se provádí v lázni dielektrika rotujícím kotoučem s drážkami, který působí jako elektrojiskrová fréza. Na vzorku vznikají prohlubně po elektrických výbojích. Pro dosažení optimálně hladkého a lesklého povrchu je třeba, aby byla dodaná energie impulzů co nejmenší. [1]

4.3.3 Elektrolytické ztenčování

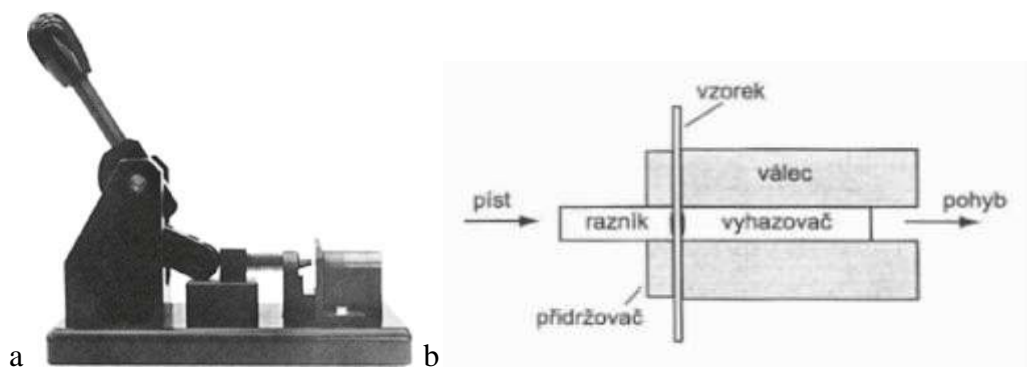
Tento způsob se používá pro vzorky citlivé na mechanické poškození. Vzorek je ztenčován ve volné lázni elektrolytu, kde je upevněn ve speciální pinzetě s platinovými hroty. Několik centimetrů od vzorku se do lázně vloží katoda z prohnutého korozivzdorného plechu. Ztenčování vzorku je možné sledovat binokulární lupou. Podobně lze použít aparaturu pro elektrolytické leštění dvěma tryskami, kdy se vzorek vkládá do speciálního držáku o průměru 10 mm. Je nutné hlídat dobu leštění, aby nedošlo k nežádoucí perforaci vzorku. [1]

4.4 Odběr terčků

Odběr terčků se provádí vystříhováním speciálním razníkem, odvrtáním diamantovým vrtákem, ultrazvukovým obráběním, vyjiskřením měděnou trubičkou, elektrolyticky nebo chemicky. V případě možnosti výroby válečku o průměru 3 mm získáme terčiky nařezáním, soustružením nebo elektrojiskrovým obráběním z připraveného vzorku. [1]

4.4.1 Vystříhování razníkem

Je to nejjednodušší a nejrychlejší metoda získání terčků. Používá se pro měkké a plastické materiály. Při vystříhování nesmí dojít k plastické deformaci a vzniku artefaktů ve struktuře materiálu. Proto je plátek vzorku při vystříhování pevně uchycen přidržovačem. Čelní plocha razníku (Obr. 33) je prohloubena, aby se zaručilo, že terčík nepříjde do kontaktu s razníkem a tím jeho střední část nemůže být deformována. [1, 25]



Obr. 33. a) Razník na vystřihování terčičku [25], b) Schéma uspořádání [1]

4.4.2 Odvrtávání dutým vrtákem

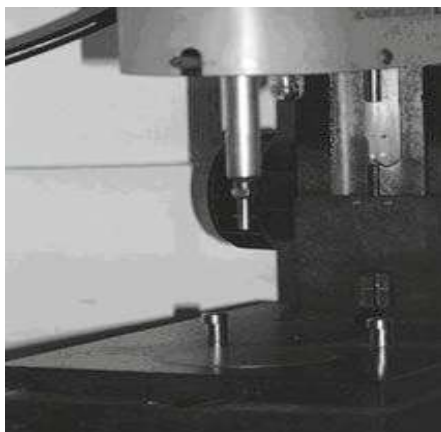
Odvrtávání dutým vrtákem je jedním z nejšetnějších způsobů získání terčičků. Jako nástroj se používá proříznutá mosazná trubička s jemnou emulzí abraziva (směs korundu, glycerinu a vody). Plátek vzorku se přilepí na podložní sklíčko a před odvrtáním se na něj nanese kapka emulze. Používá se pro odvrtávání terčičků z tvrdších materiálů. Doba odvrtávání terčičku se pohybuje okolo 15-20 minut. U měkkých materiálů se častěji používá dutý diamantový vrták, při odvrtávání nedochází k jeho obrousování. Terčičky z tvrdých materiálů se po odvrtání odloupnou z podložního sklíčka samy, měkké terčičky je nutné odlepit acetonem v ultrazvukové leštičce. [1]

4.4.3 Vyjiskřování trubičkou

Terčičky se vyjiskřují z plátků trubičkou s vnitřním průměrem 3 mm. Vodivý kontakt se zajišťuje přilepením plátku vzorku na kovový hranolek lepidlem, které se smíchá s bronzovým práškem. Plátek i hranolek je nutné odmastit acetonem, aby byl vytvořen kvalitní spoj, jinak může dojít ke zdvižení terčičku a jeho znehodnocení výboji z vnitřního povrchu trubičky. [1]

4.4.4 Ultrazvukové vyřezávání

Vyřezávání terčíku ultrazvukem (Obr. 34) se hodí pro relativně křehké a drolivé materiály (polovodiče, minerály, keramika).



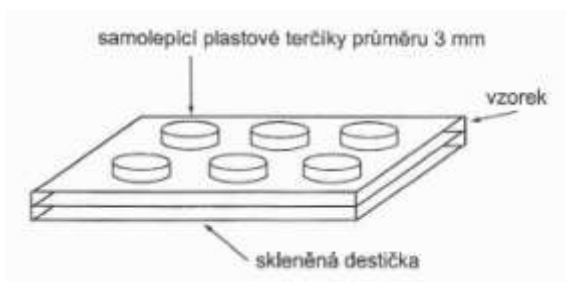
Obr. 34. Ultrazvuková vyřezávačka pro vyřezávání terčků [25]

Princip metody spočívá v mechanickém spojení ultrazvukového generátoru a dutého řezacího nástroje. Řezný nástroj kmitající s frekvencí ~ 25 kHz uvede do pohybu jemnozrnnou abrazivní emulzi (nitrid bóru), která byla nanesena na vzorek. Ten je k řezacímu nástroji přitlačen pružinou. Je možné řezat vrstevnaté či vícesložkové materiály i masivní vzorky, jejichž tloušťka může být od $40 \mu\text{m}$ do 5 mm . Řezat je možné trubičky s průměrem 2,3 nebo 3 mm nebo obdélníky o rozměrech 1 až 10 mm. Záleží na tom, jaký řezací nástroj použijeme. Destičky obdélníkového tvaru slouží k přípravě příčných řezů. Tento způsob vyřezávání není vhodný pro příliš měkké či příliš křehké materiály. [1, 25]

4.4.5 Chemické rozpouštění, elektrolytické rozpouštění

Chemickým odleptáním lze připravit terčíky (Obr. 35) z materiálů, které lze chemicky leptat (kovy, polovodiče, minerály). Plátek vzorku o tloušťce $0,1 \text{ mm}$ se přilepí na podložní sklíčko a potom na vzorek přilepíme plastové terčíky o průměru 3 mm . Takto připravené sklíčko

ponoříme do leptadla, leptání sledujeme binokulární lupou nebo stereomikroskopem. Nechráněný povrch vzorku se rozpustí a pod plastovými terčičky zbudou vzorky, které se odlepi. Výhodou je, že se najednou připraví větší množství vzorků.

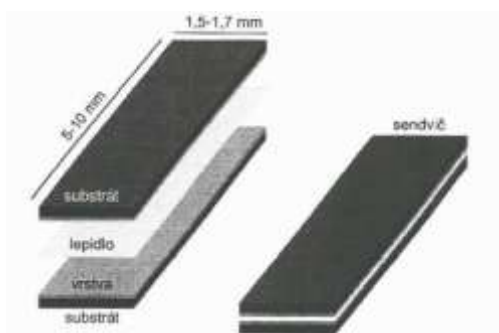


Obr. 35. Chemické odleptávání terčičků [1]

Elektrolytické leštění se používá namísto chemického odleptávání tam, kde je možné materiál anodicky rozpouštět (kovy, polovodiče). Postup je podobný, jen se vzorek nelepi na sklíčko, ale upne se do pinzety s platinovými hroty. Plastové terčičky se potom nalepi z obou stran a poté se ponoří mezi dvě katody do elektrolytu. [1, 25]

4.5 Příprava příčných řezů

Příčné řezy (Obr. 36) se připravují z vrstevnatých materiálů.

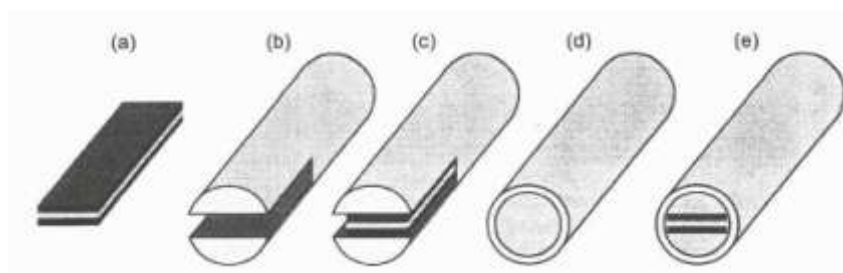


Obr. 36. Schéma přípravy příčného řezu z vícevrstvého materiálu [1]

U vzorků je možné studovat rozhraní vrstev, měřit tloušťku vrstev a zjišťovat chemické složení.

Příčné řezy lze připravit několika variantami, výběr závisí na vlastnostech studovaného materiálu. Lepí se vždy alespoň dvě destičky vzorku k sobě, aby nedocházelo k poškození povrchových vrstev.

K lepení se používá polymerní pryskyřice. Podle typu polymerní pryskyřice použijeme k polymeraci ultrafialovou lampu nebo topnou ploténku, kterou zahřejeme na 100 °C. Pro vzorky, které by nesnesly zvýšenou teplotu, používáme pryskyřici polymerující při teplotě okolí. Vzniklý sendvič příčného řezu (Obr. 37) se po zmenšení většinou zalévá do kovové trubičky o průměru 3 mm. Ta zabrání rozlomení při finálním ztenčování vzorku.



Obr. 37. a) Jeden ze způsobů lepení sendviče do trubičky – sendvič, b) Proříznutý kovový váleček, c) Váleček s vlepěným sendvičem, d) Trubička 3 mm průměru, e) Finální preparát vhodný k řezání terčíků [1]

Terčíky příčných řezů se řezou diamantovou pilou, následně ztenčují, důlkují a slešťují bombardováním širokým svazkem iontů. [1, 25]

4.6 Příprava tenkých fólií v blízkosti povrchu vzorku

Příčný řez je nutné připravit i v případě, kdy chceme pozorovat mikrostrukturu v těsné blízkosti povrchu vzorku.

Jestliže máme rovný povrch, připravíme sendvič klasicky slepením dvou vzorků k sobě. Dále postupujeme výše popsányými metodami.

U členitých povrchů (např. lomová plocha kovového materiálu) je nutné nanést elektrolytickou ochrannou vrstvu niklu o tloušťce 1,5 mm. Takto připravený vzorek již můžeme nařezat na plátky, ztenčovat, důlkovat a odebrané terčíky slešťovat bombardováním. [1]

4.7 Finální ztenčování na tloušťku transparentní pro elektrony

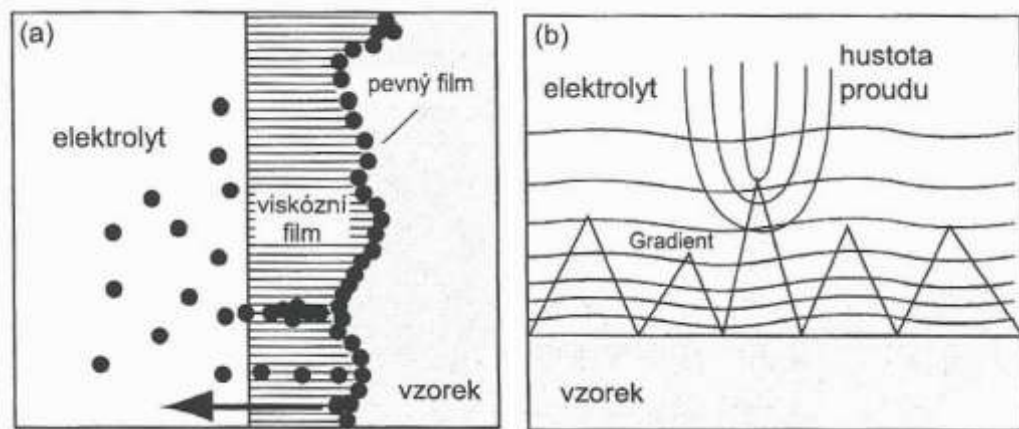
Kromě elektrolytického leštění a iontového bombardování lze dostatečně tenký vzorek, který bude prosvětlitelný pro elektrony, získat i mechanickým leštěním do klínku pomocí tripodu či T-toolu, nebo řezáním na ultramikrotomu. [1]

4.7.1 Elektrolytické leštění

Existuje několik metod elektrolytického leštění, nejvíce používaná je metoda leštění dvěma tryskami. Za několik minut se touto metodou připraví vzorek tenké fólie s jedním nebo více otvory v blízkosti středu terčíku. Okraj terčíku má tloušťku 0,1 až 0,2 mm a využívá se k fixaci v držáku mikroskopu. Proleštěný vzorek je v blízkosti otvorů prosvětlitelný pro elektrony. Metoda leštění dvěma tryskami dává za optimálních podmínek reprodukovatelné výsledky.

Principem elektrolytického leštění (Obr. 38) je oxidačně redukční reakce na povrchu vzorku v řízeném elektrickém potenciálu. Vzorek, který je ponořen do elektrolytu, je zapojen jako anoda. Procházející proud mezi vzorkem a katodami vytváří na povrchu vybroušeného vzorku viskózní film korozních odpadů. Film má velmi nízkou elektrickou vodivost. Tloušťka filmu se v různých místech liší, nejsilnější je v prohlubních vzorku a nejslabší nad jeho výstupky. Tam je největší proudová hustota a proto se výstupky na vzorku postupně uhlazují.

Elektrolytické leštění je ovlivněno použitým elektrolytem, jeho teplotou, proudovými podmínkami, vzdáleností elektrod, plochou vzorku a rychlostí proudění elektrolytu.

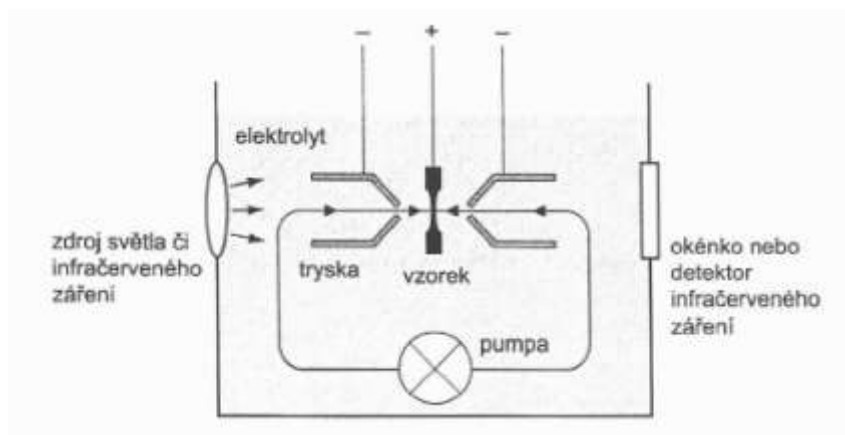


Obr. 38. a), b) Princip elektrolytického leštění [1]

Při elektrolytickém leštění dvěma tryskami je vzorek fixován v držáku a na obou jeho stranách jsou umístěny trysky. Ty současně slouží jako elektrody. Vzorek je ztenčován z obou stran. Při vzniku otvoru je ručně nebo automaticky leštění ukončeno. Opláchnutý a vysušený vzorek je vhodný na pozorování mikroskopem. [1]

4.7.2 Chemické leštění dvěma tryskami

K chemickému leštění dvěma tryskami (Obr.39) lze použít stejný přístroj jako pro elektrolytické leštění, jen se nepřipojují elektrody ke zdroji napětí. Využívá se k leštění vodivých i nevodivých materiálů (kovy, polovodiče, minerály, keramika), je potřeba, aby materiály byly masivní a jednofázové. Vícefázové by se daly leštit jen za podmínek stejných rozpouštěcích rychlostí jednotlivých fází. Chemické rozpouštění vzorku je podporováno prouděním roztoku z trysek. [1]

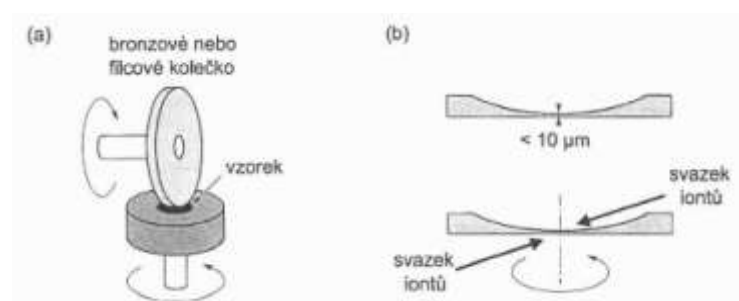


Obr. 39. Princip elektrolytického leštění dvěma tryskami [1]

4.7.3 Iontové bombardování

Iontové bombardování (Obr. 40) lze použít pro všechny typy materiálů (kovy, kompozity, keramické materiály, ...). Vzorek je ztenčován bombardováním ionty urychlenými napětím 1,5 až 5 kV, které v místě dopadu odtrhávají atomy nebo molekuly vzorku. K bombardování se nejčastěji používá inertní plyn argon. Rychlost ztenčování vzorku závisí na krystalové struktuře, relativní atomové hmotnosti vzorku, na energii iontů a úhlu jejich dopadu.

Metoda není pro vzorek příliš šetrná, mohou vznikat nežádoucí artefakty. Protože je iontové bombardování velmi pomalé, ztenčíme terčík nejprve mechanicky na tloušťku 70 až 100 μm a potom mechanicky vyleštíme střed terčíku tzv. důlkovačem (Obr. 41). [1, 25]



Obr. 40. Ztenčování fólií a) Mechanickým leštěním důlku ve středu svislým kolečkem s diamantovou pastou, b) Iontovým bombardováním [1]

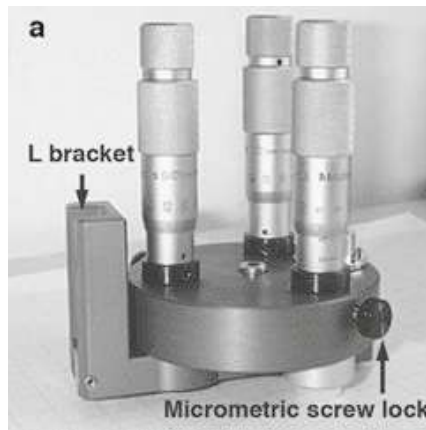
Po dosažení tloušťky 5 až 10 μm je již vzorek vhodný pro vlastní iontové bombardování. Při práci kontrolujeme tloušťku vzorku digitálním mikrometrem, aby nedošlo k jeho znehodnocení perforací. [1]



Obr. 41. Důlkovač [25]

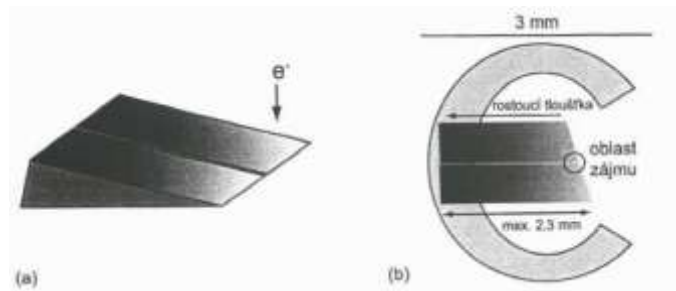
4.8 Mechanické leštění vzorku do klínku

Mechanické leštění do klínku se používá k přípravě tenkých vzorků nebo fólií z vrstevnatých materiálů (polovodičové vrstvy, plazmové nástřiky) a i z vysoce nehomogenních materiálů. Lze leštit podélné i příčné řezy. Vlákňité nebo práškové vzorky se smíchají s epoxidovou pryskyřicí, potom se zalepí mezi dvě křemíkové destičky. Výhodou této techniky přípravy vzorků je velká přesnost ztenčení požadovaného místa, které chceme pozorovat a schopnost přípravy velké transparentní plochy pro elektroniku. Pro techniku leštění vzorku do klínku se používají speciální přípravky Tripod Polisher (Obr. 42) a T-tool. [1, 25]



Obr. 42. Tripod Polisher [25]

Přípravky lze ztenčit vzorek až na transparentní tloušťku potřebnou pro elektrony. Obrušování a leštění probíhá postupně na jedné a následně na druhé straně vzorku, čímž vznikne tvar klínku. Obrušování vzorku se provádí na metalografických brusných papírech a leštění na plastových kotoučích (lapovacích blánách) diamantovým brusivem. Ve většině případů není potřeba použít k doleštění iontové bombardování, při kterém hrozí vznik nežádoucích artefaktů. Vzniklý vzorek klínku je nalepen na terčík o průměru 3 mm (Obr. 43). [1, 25]



Obr. 43. a) Schéma klínku připraveného mechanickým leštěním, b) Jeho nalepení na 3 mm terčík [1]

4.9 Štípání

Technikou štípání lze získat tenkou fólii velmi rychle. Vrstevnatý materiál připravíme štípáním monokrystalu na příčném řezu. Lomem podél různých krystalových rovin materiálu

vznikne vzorek s perfektní hranou o velikosti $0,6 \text{ mm}^2$. Vzorek je v celé tloušťce prosvětelný pro elektrony. Vzorek odštípnutého krystalu, který je fixován na speciálním terčíku s patkou (Obr. 44), je nachystán na pozorování mikroskopem. [1, 25]



Obr. 44. Schéma fixace odštípnutého krystalu na speciálním terčíku [1]

4.10 Drcení

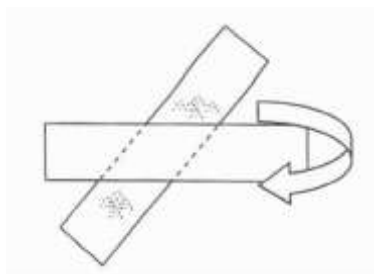
Drcení provádíme za sucha v achátové misce (Obr. 45). Tímto způsobem připravíme jemný prášek z křehkých materiálů (minerály, keramika) třením mezi paličkou a dnem achátové misky. [1]



Obr. 45. Achátové třecí misky [25]

Doba drcení závisí na tvrdosti materiálu, zpravidla do několika minut. V ultrazvukové pračce vytvoříme z připraveného prášku a rozpouštědla vhodnou suspenzi. Ta se následně nanáší

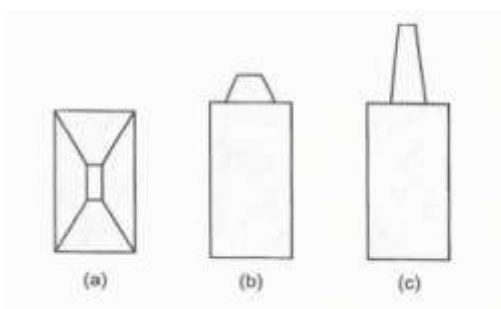
mikropipetou na síťku s uhlíkovou blankou. Krystaly prášku reprezentují původní materiál v mikroskopickém měřítku, najdeme zde různé krystalografické orientace. Velmi malé množství vzorku rozdrtíme mezi dvěma podložními sklíčky (Obr. 46) a nanese se za sucha na síťku. [1, 25]



Obr. 46. Drcení vzorku mezi dvěma podložními sklíčky [1]

4.11 Ultramikrotomie - ultratenké řezy

Touto technikou se získávají z dostatečně tvrdých, ale i plastických materiálů ultratenké řezy o tloušťce 30 až 90 nm. Řez je prováděn skleněným nebo diamantovým nožem na speciálním přístroji (ultramikrotomu).



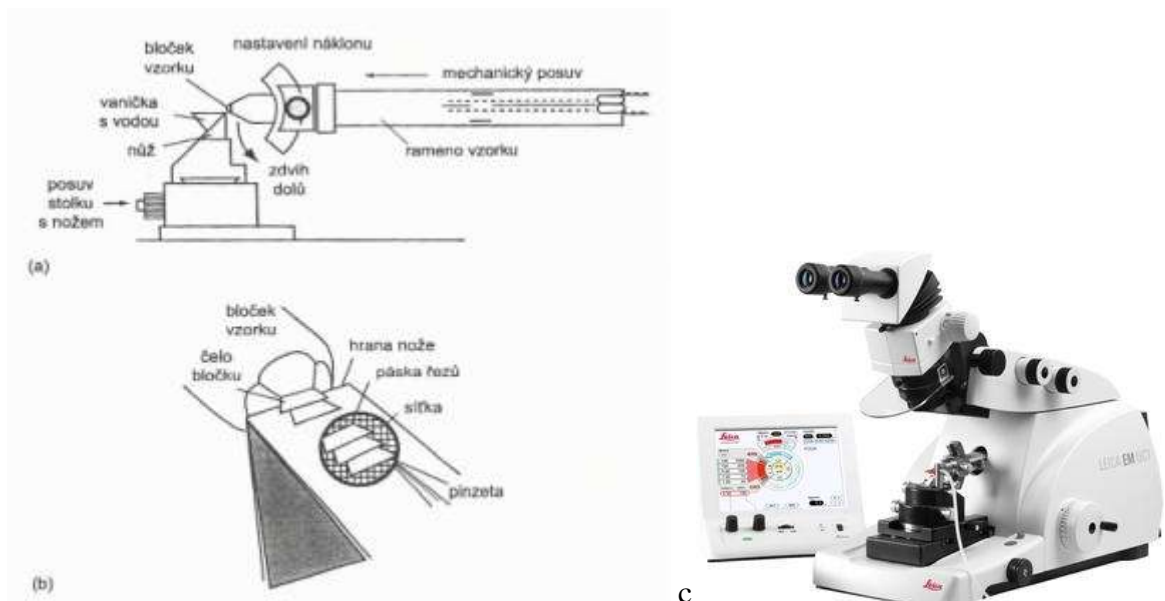
Obr. 47. a) Pyramida bločku dobře připravená - pohled shora, b) pohled z boku, c) nesprávně připravená [1]

Řezy se nejlépe realizují ze středně tvrdých homogenních materiálů, u heterogenních materiálů je potřeba kompaktnost a přibližně stejná tvrdost jednotlivých složek. Práškové nebo velmi malé materiály se zalévají do malých forem polymerní pryskyřice a porézní materiály

se pryskyřicí impregnují. Po vytvrzení se bločky pryskyřice zmenšují ořezáním do tvaru komolé pyramidy (Obr. 47).

Potom následuje řezání v ultramikrotomu (Obr. 48). Nejčastěji je prováděno při pokojové teplotě, vhodné je použít oscilující nůž (skleněný, diamantový) vibrující s ultrazvukovou frekvencí. Pro materiály, které jsou při pokojové teplotě příliš měkké, použijeme metodu kryo-ultramikrotomie, kdy je ultramikrotom rozšířen o kryokomoru s tekutým dusíkem. Materiál je ochlazován a řezán při teplotách 0 °C až -120 °C.

Metoda ultramikrotomie nachází uplatnění zejména při přípravě vzorků z biologických materiálů, v materiálovém výzkumu při přípravě vzorků z polymerů či prášků, méně u vzorků kovů, kde je z připraveného vzorku možné určit pouze lokální chemické složení.



Obr. 48. a) Schéma ultramikrotomu, b) Detail řezání – páska se nabírá na sítku [1],

c) Ultramikrotom Leica UC7 [27]

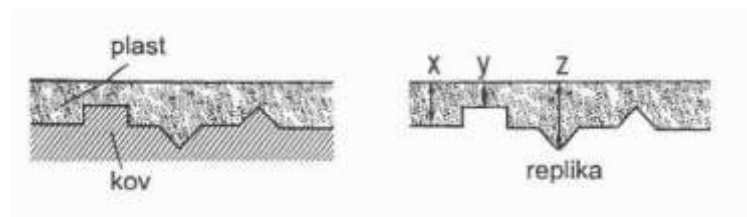
Výhodou této metody je získání vzorku o stejné tloušťce v celé jeho ploše. Nevýhodou je vysoká pořizovací cena přístroje, dlouhá zaškolovací doba pro obsluhující personál, možnost vzniku velkého množství aktefaktů. [1, 7, 25]

4.12 Metody otisků (repliky)

Otisk představuje kopii reliéfu povrchu zkoumaného vzorku. Vzorek se vyleští a následně leptá metalografickými leptadly pro zdůraznění reliéfu struktury. Repliky se nejčastěji zhotovují z plastů nebo amorfního uhlíku. Výhodou těchto materiálů je nízká atomová hmotnost, odolnost vůči dopadajícímu svazku elektronů a dostatečná pevnost. [1] Repliky se připravují jako snímatelné vrstvy z povrchu naleptaného vzorku, které nesou všechny detaily povrchového reliéfu. Podle způsobu přípravy se dělí na jednostupňové (přímé), dvoustupňové (nepřímé) a jednostupňové extrakční. [5]

4.12.1 Přímé plastové a uhlíkové repliky

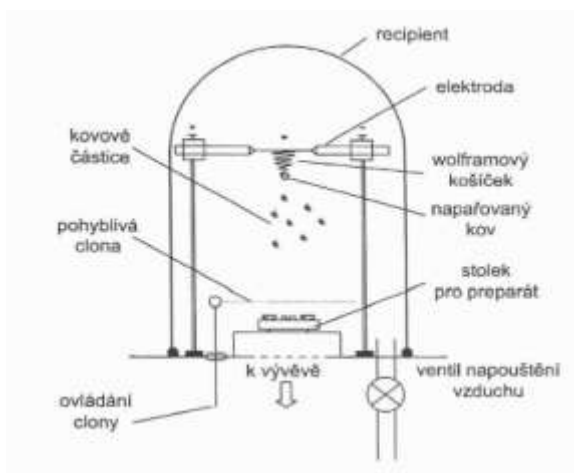
Přímou plastovou repliku (Obr. 49) připravíme nanesením tenké vrstvy rozpuštěného plastu na povrch vzorku nebo přitlačení změkčené plastové fólie na vzorek. Plastová fólie musí být z jedné strany změkčena rozpouštědlem. Po ztuhnutí se blanka opatrně strhne a v otisku zůstane zachována topografie povrchu.



Obr. 49. Přímá plastová replika [1]

Při pozorování vzorku vzniká kontrast vlivem různého stupně rozptylu elektronů procházejících částmi otisků, které mají různou tloušťku. Tam, kde je povrch vzorku vyvýšen, má replika menší tloušťku. Obraz je v těchto místech jasnější než v místech, kde byly na vzorku prohlubně. Repliku lze na vzorku připravovat opakovaně, neboť při přípravě nedochází k žádnému poškození. Plastové repliky nejsou příliš stabilní vůči ozařování svazkem elektronů a je omezena jejich rozlišovací schopnost z důvodu relativně velké tloušťky.

Přímou uhlíkovou repliku připravíme napařením čistého uhlíku, které se provádí ve vakuu (Obr. 50). Získá se velmi tenká replika s větší rozlišovací schopností než u repliky plastové. Uhlíková replika nemá vlastní strukturu, je amorfní, má všude stejnou tloušťku a pro získání kontrastu se stínuje. Ze vzorku se nedá sejmout mechanicky, odleptává se chemicky nebo elektrolyticky. Povrch původního vzorku se odleptáváním poruší, nelze použít opakovaně. [1, 25]

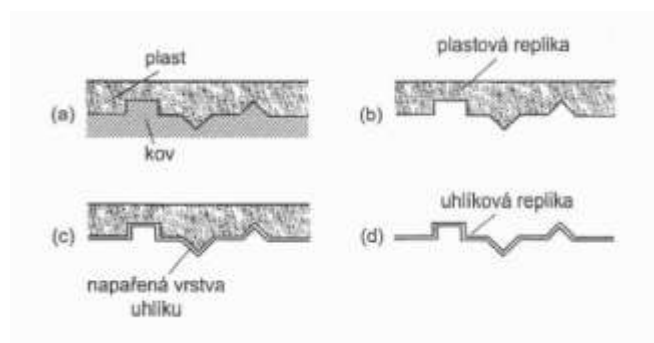


Obr. 50. Schéma napařovací aparatury [1]

4.12.2 Nepřímé dvoustupňové repliky

Při použití metody nepřímé dvoustupňové repliky (Obr. 51) odpadají všechny nevýhody přímých replik, což je nestabilita plastových replik a porušení povrchu vzorku při chemickém či elektrolytickém odleptávání uhlíkové repliky.

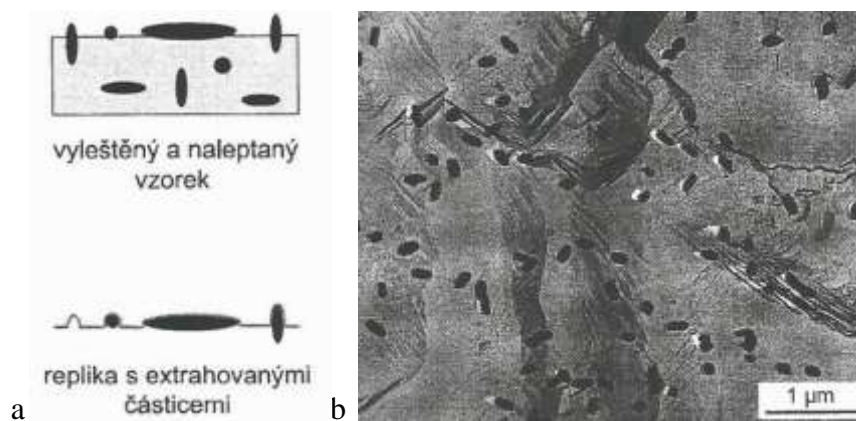
Tuto repliku získáme tak, že nejprve sejmeme negativní plastový otisk, ten napaříme tenkou vrstvou uhlíkového filmu, a po rozpuštění plastu získáme pozitivní uhlíkovou repliku, kterou připravíme stínováním k pozorování v mikroskopu. [1]



Obr. 51. Příprava nepřímé repliky [1]

4.12.3 Extrakční repliky

Použitím extrakční repliky (Obr. 52) získáme obraz povrchového reliéfu struktury a současně je umožněno ve vzorku vyextrahovat jemné částice karbidů, vměstků či intermetalických částí. V naleptaném vzorku a v replice jsou tyto částice přítomny ve stejném množství. Dobrý kontrast umožňuje provedení chemického složení a krystalografickou fázovou analýzu.



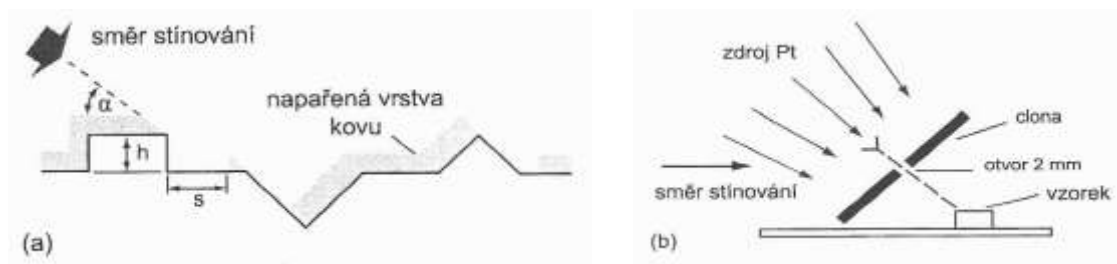
Obr. 52. a) Princip extrakční repliky, b) Snímek extrakční repliky s částicemi karbidů [1]

Postupuje se od mechanického k elektrolytickému leštění tak, aby byly obnaženy částice precipitátů. V napařovačce se na takto připravený povrch vzorku nanese tenká vrstva uhlíku. Vzniklý film se nařeže na malé čtverečky skalpelem nebo žiletkou a vzorek se ponoří do elektrolytu. Rozpuštěním matrice se nařezané čtverečky repliky uvolní do roztoku. Po

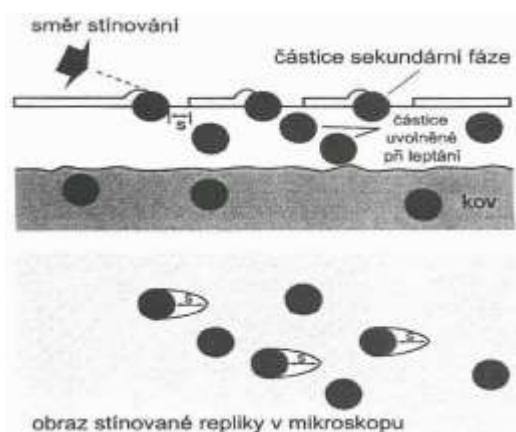
opláchnutí se zachytí na měděnou síťku o průměru 3 mm a vysuší. Pro zjištění obsahu uhlíku je nutné napařit vrstvu SiO_2 . U těchto replik není nutné stínování, vyextrahované částice vytváří dostatečný kontrast. [1, 25]

4.13 Stínování replik

Stínování replik (Obr. 53) se provádí napařováním těžkých kovů (Pt, Pd, Au), čímž se zvýší kontrast obrazu u plastových i uhlíkových replik. Vrstva kovu se napařuje ve vakuu. Stínování lze využít i ke stanovení výšky reliéfu a k určení velikosti částic. Stínováním lze odlišit vyextrahované částice od uvolněných částic při odleptávání (Obr. 54). Replikou vyextrahované částice z povrchu mají stín, částice uvolněné při odleptávání stín nemají. [1]



Obr. 53. a) Stínování replik - princip, b) Realizace použitím clony při napařování [1]



Obr. 54. Odlišení replikou extrahovatelných částic od ostatních, uvolněných při leptání [1]

ZÁVĚR

Metoda transmisní elektronové mikroskopie umožňuje studium vnitřní struktury v nejrůznějších odvětvích materiálového výzkumu. Každé odvětví pak používá k přípravě vzorků (kovy, plasty, keramika, biologické preparáty, ...) nejvhodnější, specifické metody, které se liší právě s ohledem na typy a vlastnosti zkoumaných materiálů a zvolenou zobrazovací techniku.

Pro získání obrazu s velkou rozlišovací schopností je třeba, aby vzorkem prošlo co nejvíce urychlených elektronů a absorpce elektronů vzorkem byla co nejmenší. Připravený vzorek musí být proto velmi tenký s tloušťkou v rozmezí 0,1 až 0,2 mikrometrů. Příprava takto tenkých vzorků, metodami uvedenými v této práci, vyžaduje velkou šikovnost, pečlivost a trpělivost personálu, jinak dochází ke vzniku nežádoucích artefaktů.

Příprava vzorků je v bakalářské práci rozčleněna na přípravu tenkých fólií a na přípravu replik, podle dvou základních způsobů vzniku kontrastu.

Tenké fólie lze získat řezáním plátků, které se podle citlivosti vzorků následně ztenčují. Z fólií se připravují terčíky o průměru 3 mm, které se ztenčují na finální tloušťku prosvětli-
telnou pro elektrony pomocí speciálních technik leštění nebo iontovým bombardováním.

Tenkou fólii z vrstevnatých materiálů lze připravit i štípáním. Z křehkých materiálů získáváme vzorky drcením na jemný prášek, který se nanáší na síťku zasucha nebo ve formě suspenze.

Velmi kvalitní vzorky lze připravit pomocí ultramikrotomu za použití speciálních skleněných nebo diamantových nožů. Tato metoda se využívá zejména při přípravě zkušebních vzorků z plastů a pro přípravu biologických preparátů. Řezání se provádí při pokojové teplotě nebo při nízkých teplotách 0 až – 120 °C metodou kryo-ultramikrotomie.

Nejjednodušší způsob získání replik je nanesení tenké vrstvy plastu nebo napaření velmi čistého uhlíku na povrch vzorku a následné sejmutí této vrstvy (přímá replika), kterou je možné pro lepší kontrast stínovat.

Nepřímou dvoustupňovou repliku získáme sejmutím plastového negativního otisku, který se napaří vrstvičkou uhlíkového filmu a následným rozpuštěním plastu. I zde se před pozorováním v mikroskopu stínuje.

Dále můžeme připravit extrakční repliky, které umožňují získat obraz povrchu vzorku a vyextrahovat ze vzorku jemné částice. Tyto částice mají velmi dobrý kontrast, umožňují provést analýzu chemického složení. Způsob spočívá ve vyleštění a odhalení částic a následném napaření vrstvičky uhlíku. Matrice se následně rozpustí a získáme repliku i s extrahovanými částicemi z povrchu vzorku.

Výzkum transmisní elektronové mikroskopie nekončí. Za zmínku stojí vývoj unikátní techniky mikroskopie pomalými elektrony, které nesou po průchodu hmotou nesrovnatelně citlivější informaci o složení a struktuře materiálu a jsou velmi šetrné ke zkoumaným zkušebním vzorkům.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1]...KARLÍK, M. *Úvod do transmisní elektronové mikroskopie*. Praha: Česká technika – nakladatelství ČVUT, 2010. ISBN 978-80-01-04729-3.
- [2]...MICHLER, G.H. *Electron Microscopy of Polymers*. Berlin: Springer, 2008. ISBN 978-3-540-36350-7.
- [3]...HRDÝ, R. *Elektronová mikroskopie (SEM, TEM, příprava vzorků, EDX, WDX)* [online]. © 2011 [cit. 2015-05-05].
- [4] KOLÁŘOVÁ, L. *Úvod do nanovědy a nanotechnologií*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2014. ISBN 978-80-244-4179-5.
- [5] PTÁČEK, L. a kolektiv. *Nauka o materiálu I*. Brno: Akademické nakladatelství CERM, s.r.o., 2001. ISBN 80-7204-193-2.
- [6] KARLÍK, M. *Transmisní elektronová mikroskopie: pohled do nitra materiálů*. Katedra materiálů FJFI ČVUT 2005. ISBN 978-0-306-47292-3.
- [7] NEBESÁŘOVÁ, J. *Elektronová mikroskopie pro biology* [online]. ©2001 [cit. 2015-05-05]. Dostupné z: <http://www.paru.cas.cz/lem/book/Podkap/4.1.html>
- [8] ÚPT AVČR. Brno je městem elektronové mikroskopie: *Brněnský Metropolitan*. 2014, č. 11, s. 18.
- [9] BLUMA, A. Svět z Brna pod drobnohledem: *Hospodářské noviny* [online]. 2008, ročník 22 [cit. 2015-05-05]. ISSN 1213-7693.
Dostupné z: <http://tech.ihned.cz/c1-23124880-svet-z-brna-pod-drobnohledem>
- [10] Stolní elektronový mikroskop. *ÚPT AV ČR* [online]. © 2015 [cit. 2015-05-05].
Dostupné z: https://www.isibrno.cz/index.php?lang=_cz&co=/ustav/history.php&nalogovan=&id_druh_menu=3&Nerolovat=1&v=1
- [11] KUBÍNEK, R., K. ŠAFÁŘOVÁ a M. VŮJTEK. *Elektronová mikroskopie*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2011. ISBN 978-80-244-2739-3.
- [12] Elektronový mikroskop. *Wikipedie* [online]. © 2015 [cit. 2015-05-05].
Dostupné z: http://cs.wikipedia.org/wiki/Elektronov%C3%BD_mikroskop

- [13] *Fyzikální podstata elektronové mikroskopie* [online]. [cit. 2015-05-05].
Dostupné z: <http://web.natur.cuni.cz/parasitology/parpages/mikroskopickatechnika/elektronova.htm>
- [14] REIMER, L. *Scanning Electron Microscopy. Physics of Image Formation and Microanalysis*. New York: Springer, 1998. ISBN: 978-3-540-38967-5.
- [15] Transmisní elektronový mikroskop. *Wikipedie* [online]. © 2015 [cit. 2015-05-05].
Dostupné z: <http://archiv.otevrena-veda.cz/users/Image/default/C1Kurzy/Chemie/32lednický.pdf>
- [16] Rastrovací elektronový mikroskop. *Wikipedie* [online]. © 2015 [cit. 2015-05-05].
Dostupné z:
http://cs.wikipedia.org/wiki/Rastrovac%C3%AD_elektronov%C3%BD_mikroskop
- [17] *TEM, HRTEM, SEM, EDX*. Parazitologický ústav [online]. © 2010-2015
[cit. 2015-05-05]. Dostupné z: <http://www.paru.cas.cz/cs/>
- [18] ECKERTO VÁ, L. a L. FRANK. *Metody analýzy povrchů. Elektronová mikroskopie a difrakce*. Praha: Academia, 1996. ISBN: 80-200-0329-0
- [19] JÄGER, A. a V. GÄRTNEROVÁ. *Elektronovým mikroskopem do nitra materiálů aneb jak vypadá jejich struktura*. In: Fyzikální ústav AV ČR, v. v. i., Praha [online]. © 2008-2014 [cit. 2015-05-05].
Dostupné z: <http://www.fzu.cz/popularizace/elektronovym-mikroskopem-do-nitra-materialu-aneb-jak-vypada-jejich-struktura>
- [20] HRIVŇÁK, I. *Elektrónová mikroskopia ocelí*. Bratislava: Veda, vydavateľstvo Slovenskej akadémie vied, 1986.
- [21] WILLIAMS, D.B. a C.B. CARTER. *Transmission Elektron Mikroskopy: A Textbook for Materials Science*. New York: Springer, 2009. ISBN 978-0-387-76500-6
- [22] Stigmator. *Strut patent* [online]. © 2015 [cit. 2015-05-05].
Dostupné z: <http://www.strutpatent.com/patent/08071955/magnetic-deflector-for-an-electron-column>
- [23] *Transmisní elektronová mikroskopie* [online]. [cit. 2015-05-05].
Dostupné z: <http://atmilab.upol.cz/texty.html>
- [24] BARTL, P. at al. *Metody elektronové mikroskopie*. Praha: Nakladatelství Československé akademie věd, 1964

[25] AYACHE, J. at al. *Sample Preparation Handbook for Transmission Elektron Mikroskopy*. New York: Springer, 2010. ISBN 978-1-4419-5974-4.

[26] ŠAFÁŘOVÁ, K. *Transmisní elektronová mikroskopie*. [online]. © 2009 [cit. 2015-05-05].

Dostupné z: <http://fyzika.upol.cz/cs/system/files/download/vujtek/granty/elmikro.pdf>

[27] Ultramikrotom. *LabSoft* [online]. © 2013 [cit. 2015-05-05].

Dostupné z: <http://labsoft.pl/produkt/ultramikrotom-em-uc7/>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ADF	Detektor tmavého pole
BE	Zpětně odražené elektrony
BF	Detektor světelného pole
CCD	Čip, který je moderním detektorem obrazu v digitálních fotoaparátech a kamerách (Charge-coupled device)
EBSE	Difrakce zpětně odražených elektronů
EDS	Disperzní spektrometr energií
EDS	Charakteristické rentgenové záření
EELS	Spektrometr ztrát energie elektronů
FEG	Autoemisní elektronová tryska
HAADF	Detektor elektronů rozptýlených pod velkými úhly
HRTEM	Vysocerozlišitelné transmisní elektronové mikroskopy
HVTEM	Vysokourychlovací transmisní elektronové mikroskopy
REM	Rastrovací elektronový mikroskop
RTG	Rentgenové záření
SE	Odražené sekundární elektrony
SEM	Rastrovací (řádkovací, skenovací) elektronový mikroskop
SPM	Mikroskopie skenující (rastrující) sondou
STEM	Skenovací transmisní elektronový mikroskop
TE	Prošlé elektrony
TEM	Transmisní elektronová mikroskopie
WDS	Vlnově disperzní spektrometr

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Ruskův elektronový mikroskop z roku 1933 [4].....	11
Obr. 2. 3MV TEM postavený v Osace v Japonsku [7].....	13
Obr. 3. Elektronový mikroskop Tesla BS 242 (1954) [10].....	14
Obr. 4. Transmisní elektronový mikroskop – a) Schéma tubusu, b) Odpovídající řez přístrojem Joel [1].....	15
Obr. 5. Schéma rastrovacího transmisního elektronového mikroskopu [1].....	17
Obr. 6. Schéma detekce SE [5].....	18
Obr. 7. Schéma drah BE a SE [5].....	19
Obr. 8. Řez rastrovacím elektronovým mikroskopem JSM-25 S [5].....	20
Obr. 9. Signály vznikající při pozorování vzorků v TEM a SEM, používané pro tvorbu obrazu a mikroanalýzu prvků [19].....	21
Obr. 10. Airyho disky a podmínka rozlišení dvou bodů v obraze [11].....	23
Obr. 11. Wolframová (vlevo) a LaB ₆ (vpravo) katoda [7].....	25
Obr. 12. Autoemisní katoda [21].....	26
Obr. 13. Schematický náčrt elektronového děla [11].....	26
Obr. 14. Trajektorie elektronu v příčném homogenním magnetickém poli [11].....	29
Obr. 15. a) Schéma elektromagnetické čočky, b) Magnetického pole čočky s vy- značením chromatické aberace, c) Trajektorie elektronů uvnitř čočky [11].....	30
Obr. 16. Sférická (kulová) vada [18].....	31
Obr. 17. Deformace obrazu sférickou vadou – a) Nezkreslený obraz, b) Poduš- kovité zkreslení, c) Soudkovité zkreslení [7].....	31
Obr. 18. Chromatická (barevná) vada [18].....	32
Obr. 19. Astigmatismus čočky – a) Protážení obrazu objektu do jednoho směru pod fokusem, b) Do kolmého směru nad fokusem, c) Po korekci stigmató- rem se objekt rozostřuje rovnoměrně [7].....	32

Obr. 20. Kompenzace astigmatismu pomocí stigmátoru [22].....	32
Obr. 21. Tubus TEM s kondenzorem, objektivem a projekтивem [11].....	33
Obr. 22. Různé typy sítěk [24].....	34
Obr. 23. Držák sítěk vzorků v TEM [11].....	34
Obr. 24. Schéma absorpčního kontrastu na preparátu proměnné tloušťky [5].....	36
Obr. 25. Změna intenzity svazku urychlených elektronů při průchodu tenkou fólií [5].....	36
Obr. 26. Princip zobrazení předmětu objektivem TEM [11].....	37
Obr. 27. Difrakce – a) Amorfního uhlíku, b) Monokrystalu hliníku, c) Polykrystalu zlata [21].....	38
Obr. 28. Klasický obraz TEM vlevo a tomografická rekonstrukce vpravo[11].....	39
Obr. 29. a) Pomalooběžná diamantová pila [25], b) Schéma [1].....	41
Obr. 30. a) Horizontální drátová pila [25], b) Schéma [1].....	42
Obr. 31. Vertikální drátová pila [25].....	43
Obr. 32. Metalografická bruska [25].....	45
Obr. 33. a) Rzník na vystřihování terčíku [25], b) Schéma uspořádání [1].....	47
Obr. 34. Ultrazvuková vyřezávačka pro vyřezávání terčíků [25].....	48
Obr. 35. Chemické odleptávání terčíků [1].....	49
Obr. 36. Schéma přípravy příčného řezu z vícevrstvého materiálu [1].....	49
Obr. 37. a) Jeden ze způsobů lepení sendviče do trubičky - sendvič, b) Proříznutý kovový váleček, c) Váleček s vlepeným sendvičem, d) Trubička 3 mm průměru, e) Finální preparát vhodný k řezání terčíků [1].....	50
Obr. 38. a), b) Princip elektrolytického leštění vysoké hustoty proudu v jejich okolí [1].....	52
Obr. 39. Princip elektrolytického leštění dvěma tryskami [1].....	53
Obr. 40. Ztenčování fólií a) Mechanickým leštěním důlku ve středu svislým kolečkem s diamantovou pastou, b) Iontovým bombardováním [1].....	53

Obr. 41. Důlkovač [25].....	54
Obr. 42. Tripod Polisher [25].....	55
Obr. 43. a) Schéma klínku připraveného mechanickým leštěním, b) Jeho nalepení na 3 mm terčík [1].....	55
Obr. 44. Schéma fixace odštípnutého krystalu na speciálním terčíku [1].....	56
Obr. 45. Achátové třecí misky [25].....	56
Obr. 46. Drcení vzorku mezi dvěma podložními sklíčky [1].....	57
Obr. 47. a) Pyramida bločku dobře připravená - pohled shora, b) Pohled z boku, c) Nesprávně připravená [1].....	57
Obr. 48. a) Schéma ultramikrotomu, b) Detail řezání – páska se nabírá na síťku [1], c) Ultramikrotom Leica UC7 [27].....	58
Obr. 49. Přímá plastová replika [1].....	59
Obr. 50. Schéma napařovací aparatury [1].....	60
Obr. 51. Příprava nepřímé repliky [1].....	61
Obr. 52. a) Princip extrakční repliky, b) Snímek extrakční repliky s částicemi karbidů [1].....	61
Obr. 53. a) Stínování replik - princip, b) Realizace použitím clony při napařování [1].....	62
Obr. 54. Odlišení replikou extrahovatelných částic od ostatních, uvolněných při leptání [1].....	62

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Vlnové délky λ a rychlosti v poměru k rychlosti světla v/c elektronů pro různá urychlovací napětí [5].....	28
Tab. 2. Čísla brusných papírů N a střední velikost zrn abraziva D [4].....	45