



Національний технічний
університет України
«Київський
Політехнічний
Інститут»



Методи та засоби мікроскопії



Авторський колектив:

В. С. Антонюк, Г. С. Тимчик, Ю. Ю. Бондаренко,
П. В. Петльований, С. О. Білокінь, М. О. Бондаренко

Рецензенти:

С. О. Воронов, д-р техн. наук, проф.,
Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут»

А. Г. Місюра, д-р біол. наук, проф.,
Інститут прикладних проблем фізики і біофізики
Національної академії наук України

Ю. Д. Філатов, д-р техн. наук, проф.,
лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки
Інститут надтвердих матеріалів ім. В. М. Бакуля
Національної академії наук України

М54 Методи та засоби мікроскопії: моногр. / В. С. Антонюк,
Г. С. Тимчик, Ю. Ю. Бондаренко та ін. – К.: НТУУ «КПІ», 2013. –
336 с. – Бібліогр. : с. 310–317. – 300 прим.
ISBN 978-966-622-554-5

Систематизовано матеріали щодо методів і засобів мікроскопії: розглянуто історію їх розвитку; подано методологію та технічні засоби мікроскопії – від оптичної до найбільш сучасної – зондової; наведено принципи роботи різних типів мікроскопів, а також їх основні технічні характеристики та розрахунки основних параметрів відповідних методів мікроскопії. Викладено основні відомості про засоби інструментальної мікроскопії та розглянуто перспективи розвитку методів і засобів мікроскопії.

Для студентів, магістрів та аспірантів вищих технічних навчальних закладів України, що спеціалізуються за напрямом підготовки «Приладобудування», також може бути корисною викладачам вищих навчальних закладів, науковим співробітникам та фахівцям у сфері оптичного приладобудування та мікроскопічного дослідження матеріалів.

УДК 681.723+621.385.833
ББК 22.338

ISBN 978-966-622-554-5

© В. С. Антонюк, Г. С. Тимчик,
Ю. Ю. Бондаренко, П. В. Петльований,
С. О. Білокінь, М. О. Бондаренко, 2013
© НТУУ «КПІ» (ПБФ), 2013

Наукове видання

Антонюк Віктор Степанович
Тимчик Григорій Семенович
Бондаренко Юлія Юріївна
Петльований Петро Вікторович
Білокінь Світлана Олександрівна
Бондаренко Максим Олексійович

Методи та засоби мікроскопії

Монографія

*В авторській редакції
Надруковано з оригінал-макета замовника*

Темплан 2013 р., поз. 3-1-003

Підп. до друку 16.01.2013. Формат 60×84¹/₁₆. Папір офс. Гарнітура Times.
Спосіб друку – ризографія. Ум. друк. арк. 19,53. Обл.-вид. арк. 32,48. Зам. № 13-5.
Наклад 300 пр.

НТУУ «КПІ» ВПІ ВПК «Політехніка»
Свідоцтво ДК № 1665 від 28.01.2004 р.
03056, Київ, вул. Політехнічна, 14, корп. 15
тел. (044) 406-81-78

З М І С Т

Вступ	7
Розділ 1 ІСТОРІЯ РОЗВИТКУ МЕТОДІВ ТА ЗАСОБІВ МІКРОСКОПІЇ	11
1.1 Оптична мікроскопія та профілометрія	14
1.2 Електронна мікроскопія	26
1.3 Зондова мікроскопія	34
1.4 Роль мікроскопії в науці та техніці	38
Розділ 2 МЕТОДОЛОГІЯ ТА ТЕХНІЧНІ ЗАСОБИ ОПТИЧНОЇ МІКРОСКОПІЇ	44
2.1 Загальна будова оптичних мікроскопів	44
2.2 Принципові схеми оптичних мікроскопів	55
2.2.1 Біологічні мікроскопи, що працюють на просвітлення	55
2.2.1.1 Інтерференційна мікроскопія	59
2.2.1.2 Інвертовані мікроскопи	76
2.2.2 Мікроскопи, що працюють на віддзеркалення	77
2.2.2.1 Темнопольна оптична мікроскопія	79
2.2.2.2 Стереомікроскопія	82
2.2.2.3 Люмінесцентна мікроскопія	83
2.2.2.4 Металографічні мікроскопи	86
2.2.2.4.1 Принцип дії та будова металографічних мікроскопів	86
2.2.2.4.2 Основні типи та конструктивні особливості металографічних мікроскопів	90
2.2.2.4.3 Методи металографічних досліджень металевих матеріалів	93

2.3	Основні технічні характеристики та розрахунки параметрів оптичних мікроскопів	98
2.4	Приклади застосування методів оптичної мікроскопії	102
2.4.1	Порядок проведення досліджень методом оптичної мікроскопії на просвітлення	108
2.4.2	Особливості проведення досліджень з використанням методу поляризаційно-інтерференційної мікроскопії	111
2.4.3	Дослідження мікроструктури матеріалів методом металографічного аналізу	115
Розділ 3	МЕТОДОЛОГІЯ ТА ТЕХНІЧНІ ЗАСОБИ ЕЛЕКТРОННОЇ МІКРОСКОПІЇ	118
3.1	Принципи роботи та області застосування електронних мікроскопів	118
3.2	Принципові схеми електронних мікроскопів	126
3.2.1	Растрові електронні мікроскопи	126
3.2.2	Електронні мікроскопи, що працюють на просвітлення	139
3.2.3	Інші типи електронних мікроскопів	153
3.3	Технічні характеристики та розрахунки основних параметрів електронних мікроскопів	158
3.4	Комп'ютерний аналіз зображень електронної мікроскопії	160
3.5	Методики електронної мікроскопії	162
3.5.1	Методика растрової електронної мікроскопії для дослідження структури поверхні композиційних матеріалів	166
3.5.2	Методика визначення кристалографічних параметрів структури композиційних матеріалів за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії	175

Розділ 4	МЕТОДОЛОГІЯ РЕНТГЕНІВСЬКОЇ МІКРОСКОПІЇ	190
4.1	Поняття рентгенівського мікроскопу та його види	190
4.2	Характеристичні рентгенівські спектри мікроскопів	193
4.3	Особливості мікроскопічних досліджень з використанням методик рентгенівської мікроскопії	200
4.3.1	Кількісний аналіз з використанням кристал-дифракційних спектрометрів	200
4.3.2	Мікрорентгеноспектральний аналіз якісного і напівкількісного складу порошків легких та важких металів	213
4.3.3	Рентгеноспектральний аналіз легких елементів	215
4.3.4	Особливі випадки кількісного аналізу в роботі рентгенівських мікроскопів	223
Розділ 5	МЕТОДОЛОГІЯ ТА ТЕХНІЧНІ ЗАСОБИ ЗОНДОВОЇ МІКРОСКОПІЇ	230
5.1	Принципи роботи та схематичні рішення зондових мікроскопів	230
5.1.1	Скануюча тунельна мікроскопія	235
5.1.2	Атомно-силова мікроскопія	246
5.1.3	Ближньопольна оптична мікроскопія	252
5.1.4	Магніто-силова мікроскопія	260
5.1.5	Електросилова мікроскопія	270
5.2	Технічні характеристики, їх розрахунки та основні фізичні ефекти в наноконтактах зонду з поверхнею	273
5.3	Особливості мікроскопічних досліджень з використанням методик зондової мікроскопії	284

5.3.1 Особливості вивчення мікрогеометрії поверхонь конструкційних матеріалів методом атомно-силової мікроскопії	284
5.3.2 Дослідження параметрів біологічних об'єктів методом атомно-силової мікроскопії	291
5.3.3 Дослідження феромагнітних властивостей напівпровідникових шарів методом магніто-силової мікроскопії	296
5.4 Сучасне програмне забезпечення та формати збереження даних обробки результатів зондової мікроскопії	302
ЗАКЛЮЧЕННЯ	307
Список літературних джерел	310
Додатки	318
ДОДАТОК А. Основні події у розвитку методів та засобів мікроскопії	319
ДОДАТОК Б. Основні признаки останнього покоління мікроскопів	322
ДОДАТОК В. Відомості про фірми-виробники оптичних мікроскопів.....	324

ВСТУП

Впродовж тривалого часу люди жили в оточенні мікроскопічних організмів, використовували продукти їх життєдіяльності (наприклад, при випічці хліба з кислого тіста, приготуванні вина чи оцту), страждали, коли ці мікроскопічні організми були причинами хвороб або псували запаси їжі, але не підозрювали про їх присутність. Не підозрювали тому, що не бачили, а не бачили тому, що діапазон розмірів цих мікроорганізмів набагато нижче тієї межі видимості, на яку здатне людське око. Відомо, що людина з нормальним зором на оптимальній відстані (25-30 см) може розрізнити у вигляді точки предмет розміром 0,07-0,08 мм. Менші об'єкти людина помітити не може. Це визначається особливостями будови її органів зору.

Коли на порозі XVII сторіччя був створений перший мікроскоп, навряд чи хто-небудь (навіть, його винахідник) міг уявити майбутні успіхи і численні сфери застосування мікроскопії. Озираючись назад, ми переконуємося, що цей винахід знаменував собою щось більше, ніж створення нового пристрою: вперше людина отримала можливість побачити раніше невидиме.

Приблизно в той же час, коли почалося дослідження космосу за допомогою телескопів, були зроблені перші спроби розкрити, за допомогою лінз таємниці мікросвіту. Так, при археологічних розкопках в Стародавньому Вавілоні знаходили двоопуклі лінзи – найпростіші оптичні прилади. Лінзи були виготовлені з відшліфованого гірського кришталю. Можна вважати, що з їх винаходом людина зробила перший крок на шляху в мікросвіт. Винахід мікроскопа і телескопа був революційним не лише в способах вивчення природи, але й в самому методі дослідження.

Дійсно, натурфілософи давнини спостерігали природу, дізнаючись про неї тільки те, що бачило око, відчувала шкіра, чуло вухо. Можна лише дивуватися, як багато істинних знань про навколишній світ отримали вони, користуючись лише "неозброєними" органами чуття та не займаючись спеціальними експериментами, як це роблять зараз. Разом з тим поряд з

точними фактами та геніальними припущеннями, як багато помилкових "спостережень", тверджень та висновків залишили нам вчені давнини та середніх століть!

Лише значно пізніше був знайдений метод вивчення природи, що полягає в постановці свідомо спланованих експериментів, метою яких є перевірка припущень і чітко сформульованих гіпотез.

Особливості цього методу дослідження Френсіс Бекон – один з його творців – висловив так: "Ставити експеримент – це чинити допит природі". Найперші кроки експериментального методу за сучасними уявленнями були скромні, і в більшості випадків експериментатори того часу обходилися без жодних пристроїв, що "підсилюють" органи чуття. Винахід мікроскопа і телескопа – став колосальним розширенням можливостей спостереження і експерименту.

Вже перші спостереження, проведені за допомогою найпростішої та недосконалої за сучасними уявленнями техніки, відкрили "цілий світ в краплині води". Виявилось, що знайомі предмети виглядають зовсім інакше, якщо їх розглядати в мікроскоп: гладкі на погляд і дотик поверхні виявляються насправді шорсткими, в "чистій" воді рухаються міріади найдрібніших організмів. Так само перші астрономічні спостереження за допомогою телескопів дали можливість людині по-новому побачити звичний світ планет і зірок: наприклад, поверхня Місяця, оспіваного поетами всіх поколінь, виявилася гористою і поцяткованою численними кратерами, а у Венери була виявлена зміна фаз, як і у Місяця.

Найпростіший спосіб збільшити зображення невеликого предмету – це спостерігати його за допомогою лупи. Лупою називають збирну лінзу з малою фокусною відстанню (як правило, не більше 10 см), вставлену в рукоятку.

Творець телескопа Галілей в 1610 році виявив, що в сильно розсуненому стані його зорова труба дозволяє сильно збільшити дрібні предмети. Його можна вважати винахідником мікроскопа, що складається зі збірної та розсіюючої лінз.

Більш досконалим інструментом для спостереження мікроскопічних предметів є простий мікроскоп. Коли з'явилися ці прилади невідомо. На самому початку XVII століття декілька таких мікроскопів виготовив майстер з окулярів Захара Янсен з Міддельбурга.

У творі А.Кірхера, що вийшов в 1646 році, міститься опис простого мікроскопа, названого ним "блошиним склом". Він складався з лупи, вправленої в мідну основу, на якій закріплювали предметний столик, що служив для розташування даного об'єкту; внизу знаходилося плоске або увігнуте дзеркало, що відбивало сонячні промені на предмет і таким чином освітлювало його знизу. Лупу пересували за допомогою гвинта до предметного столика, поки зображення не ставало виразним і ясним.

Перші видатні відкриття були зроблені якраз за допомогою простого мікроскопа. В середині XVII століття блискучих успіхів зазнав голландський природодослідник Антоні Ван Левенгук. Протягом багатьох років Левенгук удосконалювався у виготовленні крихтих (іноді менше 1 мм в діаметрі) двоопуклих лінз, які він виготовляв з маленької скляної кульки шляхом розплавлення в полум'ї скляної палички. Потім ця скляна кулька піддавалася шліфовці на примітивному шліфувальному верстаті. Впродовж свого життя Левенгук виготовив не менше 400 подібних мікроскопів. Один з них, що зберігається в університетському музеї в Утрехте, дає більш ніж 300-кратне збільшення, що для XVII століття було величезним успіхом.

На початку XVII століття з'явилися складні мікроскопи, складені з двох лінз. Винахідник такого складного мікроскопа точно не відомий, але багато фактів говорять про те, що ним був голландець Корнелій Дребель, що жив в Лондоні і знаходився на службі в англійського короля Іакова I. У складному мікроскопі були два скла: одне – об'єктив – з боку предмета, інше – окуляр – з боку ока спостерігача. У перших мікроскопах в якості об'єктиву використовували двоопукле скло, що давало дійсне збільшене, але обернене зображення. Це зображення і розглядалося за допомогою окуляра, який грав, таким чином, роль лупи. Тільки ця лупа служила для збільшення не самого

предмету, а його зображення. У 1663 році мікроскоп Дребеля був вдосконалений англійським фізиком Робертом Гуком, який додав до нього третю лінзу, що отримала назву колектору. Цей тип мікроскопа став вельми популярним, і більшість мікроскопів кінця XVII століття – першої половини VIII століття будувалися за його схемою.

Проте, не зважаючи на велику популярність цього мікроскопа, вже починаючи з XIX століття активно розпочався розвиток існуючих, а також поява нових методів мікроскопії, а формування і удосконалення цих методів не припинилося й досі.

Таким чином, дана монографія, яка присвячена питанням існуючих на сьогодні методів та засобів мікроскопії, є актуальною і в першу чергу адресується студентам, магістрам та аспірантам вищих технічних закладів освіти України, що спеціалізуються за напрямком «Приладобудування», а також може бути корисною викладачам вищих навчальних закладів, науковим співробітникам та фахівцям, що спеціалізуються в областях оптичного приладобудування та мікроскопічного дослідження матеріалів.

В першій частині монографії (розділ 1) розглянута історія розвитку методів та засобів мікроскопії, визначена роль мікроскопії в науці та техніці, а також основні галузі застосування різних типів мікроскопів.

В другій частині монографії (розділи 2-5) наводяться принципи роботи та принципові схеми основних типів мікроскопів: оптичних, електронних, рентгенівських та зондових.

Розділ 1 ІСТОРІЯ РОЗВИТКУ МЕТОДІВ ТА ЗАСОБІВ МІКРОСКОПІЇ

Мікроскопія (лат. *μκρος* – дрібний, маленький та *σκοπος* – бачу) – вивчення об'єктів з використанням мікроскопа. Поділяється на декілька видів: оптична мікроскопія, електронна мікроскопія, багатофотонна мікроскопія, рентгенівська мікроскопія або рентгенівська лазерна мікроскопія, зондова мікроскопія тощо, що відрізняються використанням електромагнітних променів з можливістю отримання зображень мікроелементів речовини залежно від роздільної здатності приладів (мікроскопів).

До створення рентгенівських мікроскопів працювали з оптичними приладами, що використовують промені видимого світла, оскільки людське око працює в оптичному діапазоні довжин хвиль, рис.1.1. Відповідно, оптичні мікроскопи не могли мати роздільну здатність менше напівперіоду хвилі опорного випромінювання (для видимого діапазону довжина хвиль 0,4-0,7 мкм) з можливим максимальним збільшенням до 2000 разів [1-5].

В оптичній мікроскопії на сьогодні зроблений значний прорив, в результаті якого здоланий фундаментальний критерій Релея, який полягає в тому, що мінімальний розмір помітного об'єкту дещо менше довжини хвилі використовуваного світла і принципово обмежений дифракцією випромінювання. Це була межа досягнення роздільної здатності в оптичній мікроскопії. До недавнього часу не можна було здолати бар'єр, що дозволяє розрізняти структури з відстанню між елементами до 200 нм.

Проте цікавою є остання розробка оптичної системи наноскопу з оптичною роздільною здатністю 10 нм, яка розширила діапазон оптичної мікроскопії – наноскопії до десятків нанометрів (наприклад, розмір білкових молекул, з яких складається людський організм, коливається від 3 до 10 нм) [6].



Рис.1.1 – Зовнішній вигляд бінокулярного стереомікроскопу

Людське око є природною оптичною системою, що характеризується певною роздільною здатністю, тобто найменшою відстанню між елементами об'єкту, який спостерігається (сприйнятими як точки або лінії), при якому вони ще можуть бути відрізані один від одного. Для нормального ока при видаленні від об'єкту на так звану відстань найкращого бачення ($D = 250$ мм), середньостатистична нормальна роздільна здатність складає 0,176 мм. Розміри мікроорганізмів, більшості рослинних і тваринних клітин, дрібних кристалів, деталей мікроструктури металів і сплавів значно менші за цю величину. Для спостереження і вивчення подібних об'єктів і призначені оптичні мікроскопи різних типів.

Німецькі учені Штефан Хель (англ. Stefan Hell) та Маріано Босі (англ. Mariano Bossi) з Інституту біофізичної хімії в 2006 році розробили наноскоп, що дозволяє спостерігати об'єкти розміром приблизно 15 нм [7].

Ідея електронного мікроскопа, що працює на просвіт, полягала в заміні опорного електромагнітного випромінювання на електронний промінь, рис.1.2.

У електронній мікроскопії для побудови зображення замість світлових променів використовується пучок електронів. Це дозволяє збільшити роздільну здатність електронного мікроскопа в порівнянні зі світловим в декілька тисяч разів.

Перший працездатний прототип електронного мікроскопу був побудований в 1932 році Е.Рускою та М.Кнолем; у 1986 році за цю розробку Русці, разом з іншими розробниками електронних мікроскопів, була присуджена Нобелівська премія по фізиці. Серійне виробництво електронних мікроскопів було розпочате наприкінці 30-х років.



Рис.1.2 – Зовнішній вигляд електронного мікроскопу

Відомо, що для збільшення роздільної здатності мікроскопів, що використовують електромагнітне випромінювання, потрібно зменшити довжину хвилі електромагнітного випромінювання від ультрафіолетового діапазону і до рентгенівського (довжина хвилі порівнянна з міжатомними відстанями в речовині), а основна складність полягає у фокусуванні ультрафіолетових (тим паче рентгенівських) променів. Останні взагалі не піддаються фокусуванню.

Особливість взаємодії рентгенівських променів з речовиною відрізняє рентгенівські оптичні системи від оптичних систем для світлових та електронних променів. Мале відхилення показника заломлення рентгенівських променів від одиниці (менше ніж на 10^{-4}) практично не дозволяє використати для їх фокусування лінзи або призми. Електричні та магнітні лінзи для цієї мети також непридатні, оскільки рентгенівські промені інертні до електричного та магнітного полів. Тому в рентгенівській мікроскопії для фокусування рентгенівських променів використовують явище їх повного зовнішнього віддзеркалення зігнутими дзеркальними площинами або віддзеркалення від кристалографічних зігнутих площин) [8]. На цьому принципі побудовані рентгенівські мікроскопи, що працюють на віддзеркалення.

Роздільна здатність методів рентгенівської мікроскопії практично досягає 100 нм, що в 2 рази вище, ніж у оптичних мікроскопів (200 нм). Теоретично рентгенівська мікроскопія дозволяє отримати на 2 порядки кращої роздільної здатності, ніж оптична (оскільки довжина хвилі рентгенівського випромінювання менша на 2 порядки). Проте сучасний оптичний мікроскоп — наноскоп має роздільну здатність до 3-10 нм.

Скануючий зондовий мікроскоп — мікроскоп для отримання зображення поверхні та її локальних характеристик. Процес побудови зображення оснований на скануванні поверхні зондом. У загальному випадку дозволяє отримати тривимірне зображення поверхні (топографію) з високою роздільною здатністю.

1.1 Оптична мікроскопія та профілометрія

Приблизно в той же час, коли почалося дослідження космосу за допомогою телескопів, були зроблені перші спроби розкрити за допомогою лінз таємниці мікросвіту. Так, при археологічних розкопках в Давньому Вавилоні знаходили двовипуклі лінзи – найпростіші оптичні прилади. Лінзи були виготовлені з відшліфованого гірського кришталю. Можна вважати, що з їх винаходом людина зробила перший крок на шляху в мікросвіт. Простий спосіб збільшити зображення невеликого предмета – це спостерігати його за допомогою лупи. Лупою називають збиральну лінзу з малою фокусною відстанню (як правило не більше 10 см) вставлену в руків'я.

Оптична лінза була винайдена лише наприкінці XIII - початку XIV ст. і використовувалася в як окуляри, що відразу ж отримало широке практичне застосування. Усі спроби дослідників встановити особу винахідника окулярів залишаються безрезультативними. Єдине, що можна сказати чітко – винайдені окуляри були в Італії, у Венеції або Падуї – центрах тогочасної скляної промисловості. Вони становили собою лінзи, що застосовувалися при далекозорості людини. Вигнуте скло для усунення короткозорості з'явилося лише в XVI ст. [9].

Цікаво зазначити, що ідея оптичного інструмента, що дозволив чітко бачити окремі дуже дрібні об'єкти, була висловлена ще в XIII ст. ученим і філософом Роджером Беконом, а в XV-XVI ст. вона вже неодноразово повторювалася іншими видатними вченими і мислителями: Леонардо да Вінчі (1452-1519), Ієронімом Фракасторо (1478-1553), Дігсом і багатьма іншими. У той же період із повною виразністю була висловлена думка про існування невидимих простому оку істот-збудників інфекційних хвороб (Фракасторо та інші). Ця ідея була висловлена за 125 років до робіт Левенгука, проте обґрунтовувалася вона суто теоретично і була, по своїй суті, фантастичною [10].

Творець телескопа Галілей в 1610 році виявив, що в сильно розсуненому стані його зорова труба дозволяє сильно збільшувати дрібні предмети. Його можна вважати винахідником мікроскопа, що складається з двох лінз – лінзи, що розсіює та лінзи, що фокусує. Досконалішим інструментом для спостереження мікроскопічних предметів є простий мікроскоп.

Перший мікроскоп (він виник як видозміна зорової труби, про що є достовірні свідчення) був сконструйований у 1609-1610 рр. самим Г.Галілеєм; лінзи для нього шліфував майстер Баці, який здійснював усі задуми винахідника. Складний мікроскоп складався з об'єктиву, що давало дійсно збільшене і зворотне зображення дрібного об'єкту й окуляра [11-13].

Перший мікроскоп Галілея представляв собою довгу трубу і був дуже незручний у використанні. Для наукової роботи цим мікроскопом ніхто не скористався, він був загублений, проте здобув популярність. Незабаром у Голландії були створені аналогічні мікроскопи.

Неможливо точно визначити, хто винайшов мікроскоп. Вважається, що голландський майстер окулярів Ханс Янсен і його син Захарія Янсен винайшли перший мікроскоп в 1590, але це була заява самого Захарії Янсена в середині XVII століття. Дата, звичайно, не точна, оскільки виявилось, що Захарія народився близько 1590 р. Здатність систем з двох лінз збільшувати зображення предметів була відома майстрам, що виготовляли окуляри. Про такі властивості напівкулястих і плоско-випуклих лінз знали оптики-ремісники Нідерландів та Північної Італії в XVI ст. Є відомості, що приблизно в 1590 р. прилад типу мікроскопа був побудований Янсенем (Z. Jansen) в Нідерландах.

У творі А. Кірхера, що вийшов в 1646 році, міститься опис простого мікроскопа, названого їм "блошиним склом". Він складався з лупи, вправленої в мідну основу, на якій кріпився предметний столик, що служив для розміщення даного об'єкту; внизу знаходилося плоске або випукле дзеркало, що відбиває сонячні промені на предмет і таким чином освітлює його знизу. Лупу пересували за допомогою гвинта до предметного столика, поки зображення не ставало виразним і чітким. Перші видатні відкриття були

зроблені якраз за допомогою простого мікроскопа. В середині XVII століття блискучих успіхів досяг голландський дослідник природи Антоні Ван Левенгук. Впродовж багатьох років Левенгук виготовляв крихітні (іноді менше 1 мм в діаметрі) двовипуклі лінзи. Вони виготовлялися з маленької скляної кульки шляхом розплавлення скляної палички у полум'ї. Потім ця скляна кулька піддавалася шліфовці на примітивному шліфувальному верстаті. Упродовж свого життя Левенгук виготовив не менше 400 подібних мікроскопів. Один з них, що зберігається в університетському музеї в м.Утрехте, дає більше ніж 300-кратне збільшення, що для XVII століття було величезним успіхом.

У 1668 р. Є. Дівіні, приєднавши до окуляра польову лінзу, створив окуляр сучасного типу; у 1673 р. Гавелій застосував мікрометричний гвинт, а Гертель запропонував під столик мікроскопа помістити дзеркало. Таким чином, мікроскоп стали монтувати з тих основних деталей, які входять до складу сучасного біологічного мікроскопа.

Мікроскопісти-любители здійснили багато цікавих і важливих відкриттів. До таких має бути зарахований знаменитий Антоні Ван Левенгук – мануфактурний торговець. Спостереження Антоні Ван Левенгука були настільки систематичними й багатограними, що сьогодні мають стати науковими дослідженнями, які започаткували науку про мікроскопічні організми. Левенгук вів свої спостереження протягом 50 років і повідомляв про них Лондонське Королівське Товариство у листуванні. Згодом листи Левенгука були надруковані окремою книгою «Таємниці природи» (1696), а сам автор, ще в 1680 році був обраний членом Королівського Товариства.

Роботи Левенгука привернули серйозну увагу сучасників, оскільки вони є цінним внеском у науку, що дали потужний поштовх подальшим дослідженням.

Левенгук користувався двоопуклими лінзами, які він сам шліфував і вставляв у пластинки. Ці збільшувальні стекла («простий мікроскоп», або лупа) ледве досягали величини шпилькової голівки, їхнє використання вимагало чималого мистецтва і відмінного зору. Левенгук досягнув таких

великих збільшень, що міг бачити навіть червоні кров'яні клітини (їхній діаметр у людини становить 7-8 мікрон, тобто 0,007 міліметри). Найбільшу славу йому принесло відкриття мікроскопічних істот, які він назвав інфузоріями (від слова *Infusum*, що латиною означає «настій») [10].

Виготовлені Левенгуком мікроскопи були найдосконалішими на той час (рис.1.3).

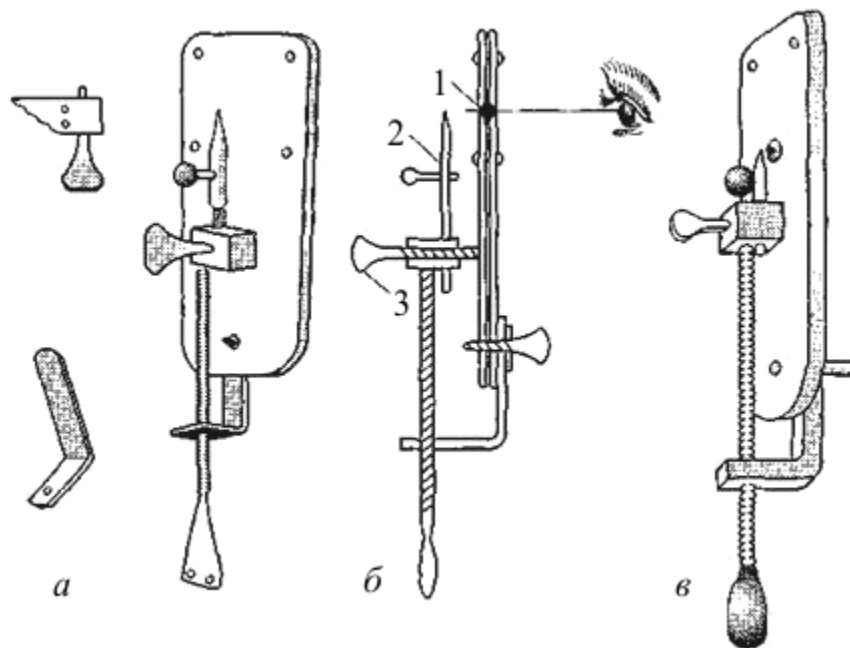


Рис.1.3 – Мікроскоп Антоні Ван Левенгука: а, в – вигляд ззовні; б – схематична побудова;
1 – щілина; 2 – рухома голка, на якій розміщують досліджуваний об'єкт;
3 – гвинт для наведення різкості

Вони збільшували досліджуваний об'єкт у 160-300 разів. Вивчаючи за допомогою таких мікроскопів зубний наліт, дощову і колодязну воду, а також різні настої, він виявив у них безліч дрібних, різних за формою «живих звірят» (рис.1.4).

Свої спостереження А. Левенгук старанно описував, замальовував і надсилав до Лондонського королівського товариства, членом якого його згодом було обрано.

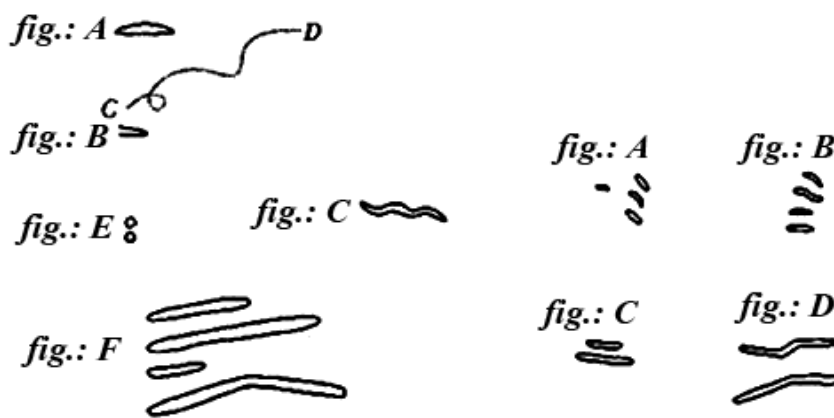


Рис.1.4 – Різні форми бактерій (з малюнку А.Левенгука, 1683)

17 вересня 1683 р. він, здивований побаченим, писав: «Я дослідив слиз, що залягає між зубами, і побачив безліч дуже маленьких звірят, які жваво рухались. У моєму роті їх більше, ніж людей в Об'єднаному королівстві». Більшу частину своїх спостережень він опублікував у 1695 р. у книжці «Таємниці природи, які були відкриті А. Левенгуком» («Areana nature detecte ab Antonio van Leeuwenhock»).

Відкриття А. Левенгука були настільки несподіваними і навіть фантастичними, що протягом майже 50 наступних років викликали загальний подив.

Відкриття Левенгука привернули увагу не тільки тогочасних учених, але й усього культурного товариства. Багато любителів настільки серйозно займалися мікроскопічними спостереженнями, що самі зробили низку важливих відкриттів, які увійшли в науку. Особливу популярність мали ілюстровані книги юриста Мартіна Ледермюллера (1719-1769). Одна з книг має характерну назву: «Мікроскопічні забави для очей та душі» (1762). Такі дослідники-любители, не ставили перед собою певної мети, описували найрізноманітніші об'єкти. Вони приносили велику користь, збагачуючи науку відомостями про нижчі форми живих істот.

Ці спостереження становили собою великий інтерес і пропагандували мікроскопічні дослідження.

Поряд із А. Левенгуком слід згадати такі прізвища як М.Мальпігі (1671-1675), Сваммердам (1737), К.Ф.Вольф (1749-1769). Вони поклали початок науковій мікроскопії і пробудили зацікавленість до цієї області знань, тому заслуговують великої пошани [14].

Отже, відкриття А. Левенгука поклали початок розвитку мікробіології, викликали зацікавлення до вивчення її таємничих об'єктів. Однак тривалий час (майже до середини ХІХ ст.) мікробіологія мала в основному описовий характер.

Вже в ХVІІІ ст. багато видатних учених розуміли, що галузь мікроскопічних досліджень складна саме своєю своєрідністю, специфічністю своїх зображень. Цікаві думки з цього питання ми знаходимо у одного з італійських природодослідників ХVІІІ ст. – Фелікса Фонтана (1723-1805). Він зазначав, що подивитися у мікроскоп може кожен, але одиниці можуть описати те, що бачать (1781). Ці глибокі слова й нині зберігають свою актуальність. Ф.Фонтан спеціально вказує, що всі наші думки про різні предмети ґрунтуються на порівняннях і зіставленнях, але оскільки мікросвіт абсолютно різноманітний, то досить небезпечно користуватися уявленнями, отриманими зі спостережень над макросвітом, тим більше, що «картина, що відкривається мікроскопом, може підходити одночасно до різноманітних предметів» [15]. Ці твердження вміщені у спеціальному розділі книги Ф.Фонтана під назвою «Про мікроскопічні помилки, які відбуваються при мікроскопічних спостереженнях».

У процесі мікроскопічного вивчення організмів були встановлені факти багатьох помилок. Навіть в основному питанні про природу і будову клітини ми зустрічаємо надзвичайно багато суперечливих даних [16]. Постає питання: чи не залежить це від недосконалості мікроскопічної техніки і недостатньо швидкого її прогресу. Проте це не зовсім відповідає дійсності. Виявляється, що мікроскоп – головний інструмент дослідження – майже не обмежував біологічні спостереження.

У переважній більшості випадків оптичні прилади надавали більші можливості у використанні. Наприклад, ядро в клітині було відкрите лише в 1833 р. Р. Броуном, але вже в XVIII ст. мікроскопи давали змогу чітко його спостерігати [17].

Все це свідчить про те, наскільки важливими в конкретних дослідженнях є теоретичні уявлення і рівень знань ученого.

Перші «зорові труби» були завезені в Росію ще в роки правління царя Олексія Михайловича. Вони призначалися для оснащення армії.

Перші мікроскопи були привезені Петром I і літературні дані [18] свідчать, що в 1716 р. у майстернях при дворі Петра I виготовляли перші в Росії мікроскопи. У травні 1698 р. він відвідав у м.Дельфте (Голландія) А.Левенгука, який продемонстрував за допомогою мікроскопа кровообіг у кровоносних капілярах вугра. Петро I настільки зацікавився мікроскопічними дослідженнями, що згодом не тільки розпорядився купити мікроскоп, але й вивіз із Голландії досвідченого майстра шліфовки оптичних стекол Л.Шеппера. При Академії наук у Петербурзі була організована спеціальна майстерня, де конструювання збільшувальних приладів велося вже самостійно протягом майже 100 років. Як свідчать архівні матеріали, наші російські майстри І.Є.Беляєв та І.І.Беляєв (батько і син), Матвєєв, Ремезів, Кулібін та інші, починаючи з 1726 року самі сконструювали з великою майстерністю і ентузіазмом власні мікроскопи відповідно до кращих тогочасних зразків. Проте доля цих мікроскопів була сумна: для наукової роботи «панове академіки», як скаржилися конструктори, не хотіли їх використовувати й очевидно, не вміли. До нас ці чудові мікроскопи не дійшли: всі вони загинули при пожежі академічних майстерень.

З російських вчених слід згадати Михайла Ломоносова, який не займався вивченням біологічних об'єктів, проте йому належить безперечний пріоритет у застосуванні мікроскопічних досліджень в галузі хімії. Ним уперше було використано вивчення явища кристалізації за допомогою мікроскопу й описана форма мікрокристалів. Цей метод нині широко увійшов у практику хімічних

досліджень. М.Ломоносов користувався двома мікроскопами, виготовленими спеціально для нього І.І.Беляєвим у майстерні Академії наук. М.Ломоносов сам проектував технічні вдосконалення у конструкції мікроскопу і працював над покращанням якості сплавів скла для шліфування лінз [19].

Згодом голландцем за національністю, фізиком і астрономом при дворі англійського короля Якова I був сконструйований Корнеліусом Дреббелем (1617-1619) мікроскоп. Важко сказати, чи був він зроблений за зразком голландського мікроскопу, чи Дреббель побудував власний прилад відповідно до даних отриманих про мікроскоп Галілея. Останнє вважається навіть вірогіднішим. Дреббелівський мікроскоп відрізнявся від мікроскопу Галілея тим, що був побудований за типом кеплерівської труби, тобто мав випуклі лінзи як об'єктиву, так і окуляра. Цей перший мікроскоп Дреббеля також не використовувався у науковій роботі і був загублений, але саме мікроскопи такого типу незабаром набули досить широкого поширення.

Складний мікроскоп виник як видозміна зорової (підзорної) труби, причому був сконструйований вже через декілька років після її появи, проте їхня подальша доля неоднакова. Значення підзорної труби було зрозуміло правлячим кругам Голландії, Бельгії й Італії, вони навіть намагалися засекретити появу цього інструменту. Очевидне застосування підзорної труби у військовій справі, мореплавстві, астрономії привернуло до неї велику увагу; виробництво підзорних труб і телескопів негайно набуло широких масштабів. Однак на мікроскоп тривалий час дивилися як на кумедну іграшку. Сам Дреббель разом зі своїм зятем Куффлером налагодив виробництво таких «складних мікроскопів»; вони широко рекламувалися і швидко поширювалися по всій Європі [20].

У 1624 р. Галілей значно удосконалив свій мікроскоп, ним вже можна було користуватися на практиці. Він був значно меншим за розміром, ніж перша модель, і давав, очевидно, максимальне збільшення у 35-40 разів.

В Італії мікроскопу було надано дещо більшого значення, ніж в Англії. У 1624 р. Галілей подарував свій мікроскоп «Академії проникливих» у Римі,

членом якої він був. Уже в 1625 р. член академії Стеллуті опублікував свої спостереження про будову органів бджоли, зроблені за допомогою мікроскопу. Зокрема, він уперше побачив і описав фасеточну будову ока комах. Зображення трьох бджіл Франческо Стеллуті було частиною печатки Папи Урбана VIII і вважається першим опублікованим мікроскопічним символом «Stephen Jay Gould, The Lying stones of Marrakech, 2000». Ф.Чезі (1628) використовував мікроскоп Галілея, вивчаючи спорангії папороті і описав за його допомогою спори, вважаючи їх насінням.

Сам термін «мікроскоп» уперше вжив Іоганн Фабер у 1625 році у листі до князя Ф.Чезі, запропонувавши так називати інструмент Галілея, призначений (на противагу телескопу) для розгляду дрібних предметів.

Термін цей існує до сьогодні і міцно увійшов у використання [21]. Проте число дослідників, які користувалися мікроскопом у XVII ст., було дуже невелике, та й ті застосовували його лише час від часу. У Німеччині мікроскопи випускалися у великій кількості майстернями іграшок (нюрнберзькі майстри) і, будучи зроблені з картону і дерева, були дешеві. В Англії на початку XVIII ст. вони були дещо складнішими, зокрема, мали макрометричний гвинт і робилися з бронзи, щоправда, ці мікроскопи коштували дуже дорого – до 40 фунтів стерлінгів. Оптика цих мікроскопів залишалася досить примітивною: об'єктиви давали значну хроматичну і сферичну аберацію, тому при значних збільшеннях зображення було невиразним. До всіх мікроскопів зазвичай додавалися готові колекції препаратів, які складалися з висушених дрібних комах (воші, блохи, головки мух тощо), а також різні додаткові прилади: мікроакваріуми, затискачі для утримання мальків, щоб можна було бачити рух крові в судинах тощо.

«Мікроскопічне аматорство» було в XVIII ст. досить поширеним. На багатьох тогочасних гравюрах із зображенням аристократичних салонів можна бачити, як людина, сидячи за столиком, щось розглядає в мікроскоп.

У кінці XVIII ст. мікроскоп вже створювався виключно майстрами-професіоналами, які значно його вдосконалювали. Центром мікроскопічної індустрії був Лондон (майстерня Джона Кеффа), звідки мікроскопи

поширювалися по всіх країнах. Об'єктивна оцінка тогочасних мікроскопів свідчить, що вони вже давали задовільне зображення, за їхньою допомогою помітні навіть дуже дрібні структури (до 5 мкм).

Аберация, принаймні, в очі не впадає, що досягалося введенням кільцевих діафрагм, які зрізали крайові промені.

Збільшення мікроскопів у XVIII ст. були досить різноманітними. Виготовлялися системи зі збільшенням у межах від 10 до 150 разів, але зустрічалися і значно потужніші. Проте їхня роздільна здатність була невеликою, тому великі збільшення були, по суті, ілюзорними. Цікаво, що теоретичні розрахунки об'єктивів і окуляра були на той час вже досить добре розроблені (Байкер, Кеплер, Ейлер, Гюйгенс і багато інших), проте спостерігалися значні труднощі, зокрема, важко досягалося центрування лінз [22].

Десятьма роками пізніше за Галілея Корнеліус Дребель винаходить новий тип мікроскопа, з двома випуклими лінзами. Крістіан Гюйгенс, інший голландець, винайшов просту двохлінзову систему окулярів наприкінці 1600-тих років, яка регулювалася ахроматично, отже, стала величезним кроком вперед в історії розвитку мікроскопів. Окуляри Гюйгенса робляться і до цього



дня, але їм бракує широти поля огляду, а розташування окулярів незручне для очей в порівнянні з сучасними широкооглядовими окулярами.

У 1665 році англієць Роберт Гук сконструював власний мікроскоп і випробував його на пробці, рис.1.4.

В результаті цього дослідження з'явився термін «клітини». Антон Ван Левенгук (1632-1723) вважається першим, хто зумів звернути увагу біологів до мікроскопа, попри те, що прості

Рис.1.4 – Мікроскоп Р.Гука

збільшувальні лінзи вже виготовлялися з початку XVI ст., а збільшувальні властивості наповнених водою скляних посудин згадувалися ще давніми римлянами (Сенека). Виготовлені вручну, мікроскопи Ван Левенгука були дуже невеликими виробами з однією дуже сильною лінзою. Вони були незручні у використанні, проте дозволяли дуже детально розглядати зображення лише через те, що не мали недоліків складеного мікроскопа (декілька лінз такого мікроскопа подвоювали дефекти зображення), рис.1.5.



Проте цей тип мікроскопа отримав велику популярність, і більшість мікроскопів кінця XVII – першої половини VIII століття будувалися за його схемою.

Рис.1.5 – Репліка однолінзового мікроскопа Левенгука

Мікробіологія порівняно молода наука. Вона зародилася наприкінці XVII ст. Тоді вже були зроблені великі географічні відкриття, розвинулося мореплавство, торгівля, почалося інтенсивне вивчення рослинного і тваринного світу Америки, Австралії, Центральної Африки, Індії та інших маловідомих на той час країн. Все це сприяло розвитку природничих наук. Великих успіхів досягли і такі галузі знань, як механіка, оптика.

У XVIII та XIX ст. мікроскопи продовжували удосконалюватися. У 1827 р. Г.Б. Амічі уперше застосував імерсійний об'єктив.

На кінці XVII – початку XIX ст. була запропонована конструкція та наданий розрахунок ахроматичних об'єктивів для мікроскопів, завдяки чому їх оптичні якості значно покращали, а збільшення об'єктів, що забезпечується таким мікроскопом, зросло з 500 до 1000 разів.

У 1850 р. англійський оптик Х.С. Сорбі сконструював перший мікроскоп для спостереження об'єктів в поляризованому світлі.

У 1872-1873 рр. Е. Аббе розробив теорію утворення зображень об'єктів, що самі не світяться і яка стала класичною в мікроскопії. Праці англійського оптика Дж. Сіркса (1893) започаткували основу інтерференційної мікроскопії.

У 1903 році Р. Жігмонді та Х. Зідентопф створили ультрамікроскоп, а в 1911 році М. Сан'яком був описаний перший двопроменевий інтерференційний мікроскоп. В 1935 році Ф. Зерніке запропонував використати метод фазового контрасту для спостереження в мікроскопах прозорих об'єктів, які слабо розсіюють світло. В 1953 році фінським фізіологом А. Вільською був винайдений аноптральний мікроскоп.

Великий вклад в розробку проблем теоретичної та прикладної оптики, удосконалення оптичних систем мікроскопа і мікроскопічної техніки внесли М.В. Ломоносов, І.П. Кулібін, Л.І. Мандельштам, Д.С. Рождественський, О.О. Лебедев, С. І. Вавілов, В. П. Лінник, Д.Д. Максудов та інші.

Рентгенівський мікроскоп — пристрій для дослідження дуже малих об'єктів, розміри яких порівнянні з довжиною рентгенівської хвилі. Принцип дії такого мікроскопу оснований на використанні електромагнітного випромінювання з довжиною хвилі від 0,01 до 1 нм, і по роздільній здатності знаходяться між оптичними та електронними мікроскопами.

Перший комерційний рентгенівський мікроскоп був створений в 50-тих роках XX століття американським інженером Стерлінгом Ньюбері, співробітником General Electric. Це був проєкційний мікроскоп – для отримання зображення в нім застосовувалися фотопластилини.

У групі німецького ученого Штефана Хеля з Інституту Біофізичної Хімії наукового співтовариства Макса Планка (м.Геттінген) в співпраці з аргентинським ученим Маріано Босі в 2006 році був розроблений оптичний мікроскоп під назвою Наноскоп, що дозволяє долати бар'єр Аббе і спостерігати об'єкти розміром близько 10 нм (а на 2012 рік – ще менше), залишаючись в діапазоні видимого випромінювання, отримуючи при цьому високоякісні тривимірні зображення об'єктів, раніше недоступних для звичайної світлової і конфокальної мікроскопії [6, 7].

1.2 Електронна мікроскопія

Растровий електронний мікроскоп є одним з найбільш універсальних приладів для дослідження і аналізу мікроструктурних характеристик твердих тіл. Головною причиною широкого використання растрового електронного мікроскопа є висока роздільна здатність при дослідженні масивних об'єктів, що досягає в серійних приладах 10 нм (100 Å). На кращих лабораторних приладах реалізована роздільна здатність 2,5 нм (25 Å) [23].

Історія електронної мікроскопії, зокрема і растрової електронної мікроскопії, розпочалася з теоретичних робіт німецького фізика Ганса Буша про вплив електромагнітного поля на траєкторію заряджених часток. У 1926 році він довів, що такі поля можуть бути використані як електромагнітні лінзи [24]. Таким чином були встановлені засадничі принципи геометричної електронної оптики. У відповідь на це відкриття виникла ідея електронного мікроскопа і дві команди — Макс Кнолл і Ернст Руска з Берлінського технічного університету, а також Ернст Бруш з лабораторії EAG спробували реалізувати цю ідею на практиці. В 1932 році Кнолл і Руска створили перший електронний мікроскоп, що працює на просвічування [25].

Після переходу в німецьку радіокомпанію Telefunken для проведення досліджень телевізорів на катодних трубках Макс Кнолл розробив аналізатор електронної трубки або «аналізатор електронного променя», який моделював усі необхідні характеристики скануючого електронного мікроскопа: зразок розташовувався з одного боку відпаяної скляної трубки, а електронна гармата з іншої. Електрони, прискорені напругою від 500 до 4000 В, фокусувалися на поверхні зразка, а система котушок забезпечувала їх відхилення. Промінь сканував поверхню зразка із швидкістю 50 зображень в секунду. Вимірювання струму, що пройшов через зразок, дозволяло відновити зображення його поверхні. Перший прилад, який використовував цей принцип, був створений в 1935 році [26].

У 1938 році німецький фахівець Манфред фон Ардене побудував перший скануючий електронний мікроскоп. Але цей апарат ще не був схожий на сучасний растровий електронний мікроскоп (РЕМ), оскільки на ньому можна було дивитися тільки дуже тонкі зразки на просвічування. Тобто це був швидше скануючий електронний мікроскоп, що працює на просвічування (СПЕМ або STEM). Крім того, окрім реєстрації зображення на кінескопі, в приладі була реалізована система фотореєстрації на плівку розташовану на барабані, що обертається. Фон Ардене по-суті додав систему сканування до електронного мікроскопа, що працює на просвічування. Електронний пучок діаметром 0,01 мкм сканував поверхню зразка, а електрони, що проходили крізь зразок засвічували фотоплівку, яка переміщувалася синхронно з електронним пучком.

Першими роботами, в яких описувалося використання сканування в електронній мікроскопії, мабуть, можна вважати роботи [27, 28]. Фактично до електронного мікроскопа, що працював на просвічування (РЕМ) були додані котушки, що відхиляли, і, таким чином, покладений початок першому растровому електронному мікроскопу, що працює на просвічування (ПРЕМ). У цих роботах були детально обговорені, навіть з точки зору сучасного підходу, як теоретичні основи, так і практичні аспекти ПРЕМ. Першою мікрофотографією, отриманою в растровому електронному мікроскопі, що працює на просвічування, була фотографія кристала ZnO. Робоча прискорююча напруга була 23 кВ. Збільшення в приладі було 8000×, а роздільна здатність знаходилася в межах між 500 до 1000 Å. Фотографія, яка містила 400×400 ліній сканування, була отримана впродовж 20 хвилин, при цьому фотоплівка сканувалася синхронно з електронним променем. Прилад мав дві електростатичні конденсорні лінзи, між якими були розміщені котушки, що відхиляли. У приладі була електронно-променева трубка, але вона не використовувалася для фотографування зображення.

У 1942 році російський фізик та інженер Володимир Зворикін, який працював у той час в лабораторії Radio Corporation of America в Принстоні

в США, опублікував деталі першого скануючого електронного мікроскопа, який дозволяв проаналізувати не лише тонкий зразок на просвічування, але й поверхню масивного зразка [29].

Автори цієї роботи виявили, що вторинна електронна емісія несе інформацію про топографію, і відповідно до цього сконструювали прилад, блок-схема якого показана на рис.1.6.

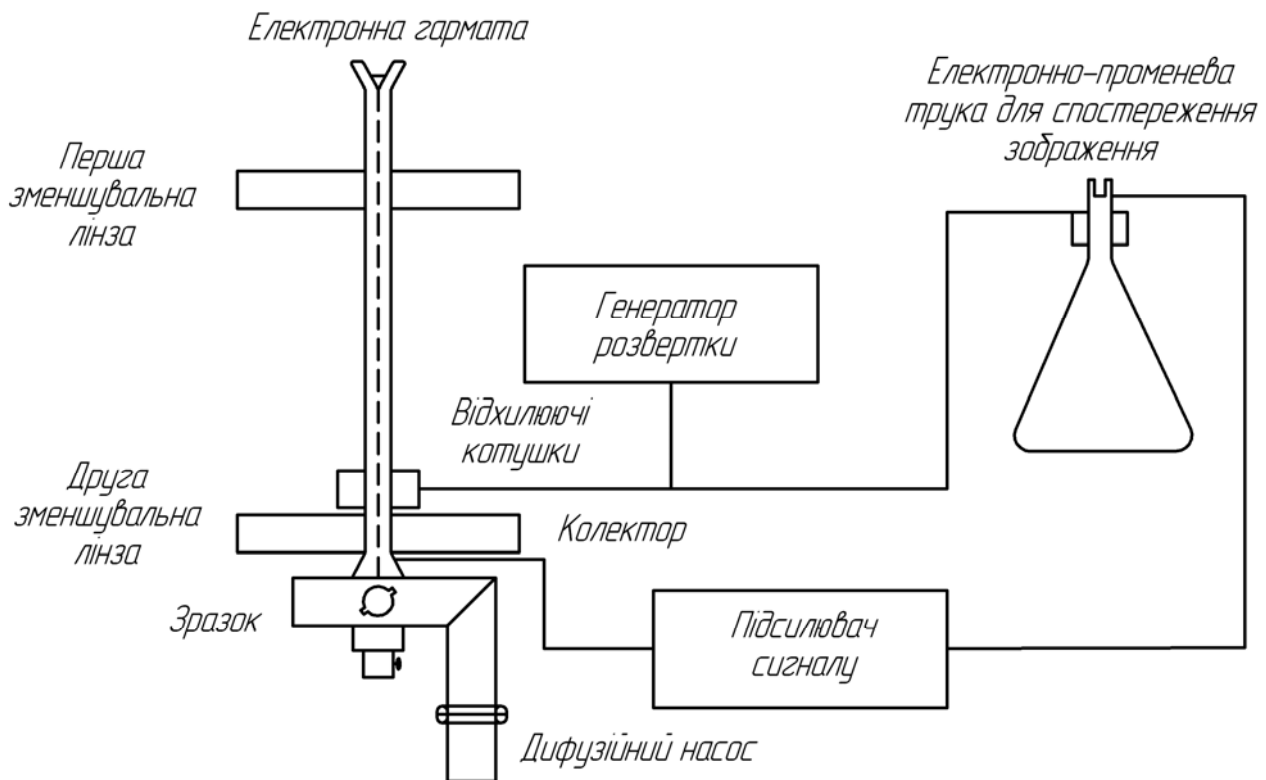


Рис.1.6 - Блок-схема РЕМ, розробленої в 1942 році

Електронна гармата з вольфрамовим катодом емітувала електрони, які потім прискорювалися напругою 10 кВ. Електронна оптика апарату була складена з трьох електростатичних котушок, а котушки, що відхиляли, розміщувалися між першою і другою лінзою. Щоб забезпечити зручність розміщення зразка і маніпулювання ним в конструкції РЕМ електронна гармата розташовувалася в низу мікроскопа.

Колектор знаходився під позитивним потенціалом +50 В відносно зразка. Струм зібраних ним вторинних електронів створював падіння напруги на опорі, і ця напруга, проходячи через звичайний телевізійний пристрій, створювала зображення.

У цієї конструкції була неприємна особливість – ризик падіння зразка в колону мікроскопа. Цей перший РЕМ досягав роздільну здатність близько 50 нм. Але в цей час бурхливо розвивалася електронна мікроскопія, що працює на просвічування, на фоні якої РЕМ здавався менш цікавим приладом, що позначилося на швидкості розвитку цього виду мікроскопії [30].

У зв'язку з цим Зворикін вирішив створити досконаліший прилад шляхом зменшення розміру плями і поліпшення відношення сигналу до шуму. Вони врахували усі можливі внесення у співвідношенні між аберацією лінз, яскравістю гармати і розміром плями і отримали правильний вираз для мінімального розміру плями як, функції струму променя. Далі вони намагалися підвищити яскравість гармати за рахунок використання джерела з автоемісією. Проте нестабільність роботи таких джерел з холодним катодом змусила їх повернутися до термоелектронного джерела. Проте вже в 1942 р. вістря з автоемісією використали для створення зображень з великим збільшенням і високим розділенням. Наступним кроком стало використання електронного помножувача як допідсилювача струму вторинних електронів із зразка. У варіанті Зворикіна вторинні електрони бомбардували флуоресціюючий екран спереду електронного помножувача. Результируючий фотострум відповідним чином посилювався і використовувався для формування зображення, яке спостерігалось на екрані електронно-променевої трубки. Шляхом спеціального підбору отримували збіг областей максимальної чутливості фосфорного сцинтилятора і фотокатода помножувача. В результаті були отримані мікрофотографії цілком високої якості, але з великим рівнем шуму (за сучасними стандартами). Остаточний варіант приладу включав три електростатичні лінзи і котушки, що відхиляли, розміщені між другою і третьою лінзами. Електронна гармата розміщувалася внизу, таким чином, що камера зразків знаходилася на досить зручній для оператора висоті. З цим першим модернізованим растровим електронним мікроскопом було

продемонстровано роздільну здатність принаймні 500 Å. Друга світова війна призупинила ці дослідження. Зворикін зі своєю командою не змогли остаточно допрацювати свій прилад. Фактично група розпалася і робота над цією проблемою в США була припинена до 1960 р.

Наприкінці 1940-вих років Чарльз Отлі – голова конференції відділу проектування Кембріджського університету у Великобританії зацікавився електронною оптикою і вирішив оголосити програму розробки скануючого електронного мікроскопа на доданок до робіт, що ведуться у відділі фізики, на електронному мікроскопі, що працює на просвічування, під керівництвом Еліс Кослет. Один із студентів Чарльза Отлі, Кен Сандер, почав працювати над колоною для РЕМ використовуючи електростатичні лінзи, але вимушений був через рік перервати роботи через хворобу.

В 1948 р. в Кембріджському університеті К.Оутлі зацікавився конструюванням електронних мікроскопів. Разом з Мак-Маленом він створив в Кембріджі перший РЕМ (SEM 1 або Scanning Electron Microscope 1), а в 1952 році цей інструмент досяг роздільну здатність 50 нм і, що найбільш важливо, забезпечив тривимірний ефект відтворення рельєфу зразка — характерну особливість усіх сучасних РЕМ [31].

За Мак-Маленом послідував Сміт, який виявив, що якість мікрофотографії може бути поліпшена за рахунок обробки сигналів. З цією метою він увів нелінійне посилення сигналу (γ-обробка). Електростатичні лінзи він замінив на електромагнітні і поліпшив систему сканування за рахунок введення подвійного відхилення. Сміт [32] першим ввів стігматор в РЕМ.

Наступним кроком вперед було удосконалення детектора, описаного Зворикінім. Енерхарт і Торувалі безпосередньо з'єднали світлопроводом сцинтилятор з торцем фотопомножувача. Це удосконалення привело до підвищення сигналу і поліпшення відношення сигнал/шум, що у свою чергу дало можливість краще досліджувати механізми формування слабого контрасту. Оутлі та Еверхарт змогли вперше спостерігати так званий вольтів контраст.

Під керівництвом Ніксона, Піз створив систему з трьома магнітними лінзами, гарматою в нижній частині приладу і детекторною системою Еверхарта-Торнлі, відому як PEM V. Цей прилад був прототипом приладу марки I фірми Cambridge Scientific Instruments і багато в чому був подібний до приладу 1942 р. Фактично, PEM V включав усі вищезгадані удосконалення, які були введені після 1952 р.

Промисловий прилад був сконструйований Стюартом із співробітниками в Cambridge Scientific Instrument Co. У наступному десятилітті понад 1000 растрових електронних мікроскопів були продані рядом фірм виробників США, Великої Британії, Франції, Голландії, Японії та ФРН, які активно займалися розробкою нових модернізованих приладів. Проте навіть зараз PEM у своїй основі ненабагато відрізняється від описаного в 1942 р.

У 1960 році Томас Еверхарт і Річард Торнлі винайшовши новий детектор (детектор Еверхарта-Торнлі) прискорили розвиток растрового електронного мікроскопа. Цей детектор ефективний для збору як вторинних, так і відбитих електронів стає дуже популярним і зустрічається зараз на багатьох PEM.

Основними частинами сучасного растрового електронного мікроскопа є система лінз, електронна гармата, колектор електронів, електронно-променеві трубки (ЕПТ) для спостереження і зйомки і пов'язана з ними система електроніки. Перша вдала промислова установка, яка включала усі ці частини, з'явилася в 1965 р. – прилад марки I фірми Cambridge Scientific Instruments. Зважаючи на сучасну популярність растрової електронної мікроскопії, здається неймовірним такий швидкий прогрес – пройшло усього лише 33 роки після того, як було створено перший електронний мікроскоп [33].

Починаючи з 1965 р. в конструкцію растрового електронного мікроскопа було введено багато нововведень. Одним з таких нововведень було розроблене Броерсом [34] джерело електронів з катодом із гексабориду лантану – LaB_6 . Електронна гармата з таким катодом має високу яскравість, внаслідок чого стало можливим сконцентрувати більший електронний струм в меншому по

перерізу потоку. Це може привести до ефективного поліпшення роздільної здатності. Джерело електронів з автоемісійним вістрям, який вперше використали в растровому електронному мікроскопі в 1942 р., було допрацьоване Крю і його стало можливим використати для отримання зображень з високою роздільною здатністю. Автоемісійна гармата була дуже гарною альтернативою для отримання високих розділень із-за її дуже високої яскравості і надзвичайно малих розмірів джерела. Внаслідок цього навіть при дуже малих струмах променя, близько 10^{-11} А, можна отримати дуже велику щільність струму, що досягає декількох тисяч ампер на квадратний сантиметр. Автоемісійні джерела мають два потенційні недоліки, один з яких – швидке погіршення роздільної здатності при роботі із струмами, що перевищують кілька наноампер, й інший пов'язаний з тим, що джерело не таке стабільне, як вимагається. Із-за останнього для отримання якісного зображення з такими джерелами майже завжди необхідно працювати зі швидкою розгорткою.

Інші удосконалення пов'язані з механізмами контрасту, які складно реалізувати в приладах інших типів. Так, кристалографічний контраст, що формується за рахунок орієнтації кристала і взаємодії його ґраток з первинним пучком, був виявлений Коутсом і спочатку розроблений співробітниками Оксфордського університету. Магнітний контраст в деяких некубічних матеріалах спостерігався одночасно, проте незалежно Бенбері (Кембрідж) та Джоєм (Оксфорд). Магнітний контраст в кубічних матеріалах уперше спостерігався Філібером та Тікс'є, а механізм контрасту був пояснений пізніше Фазерсом.

Часто контраст спостережуваних деталей настільки незначний, що виявляється непомітним для ока, у зв'язку з чим стало необхідним посилення контрасту за рахунок обробки сигналу. Спочатку обробка сигналу включала нелінійне посилення сигналу і диференціальне посилення (пригнічення рівня чорного), як це було зроблено і растровому електронному мікроскопі в Кембриджському університеті. Використання при обробці похідної сигналу (диференціювання) для дослідження дрібних деталей було введено пізніше.

Більшість серійних растрових електронних мікроскопів, які випускаються нині, мають усі ці можливості обробки сигналу.

Обробка зображення може проводитися або в аналоговій, або в цифровій формі. Були розроблені системи для запам'ятовування зображень; таким чином, можна спостерігати зображення і працювати з ним, вимкнувши промінь. Уайт із співробітниками розробив серію програм для обробки зображень за допомогою малої ЕОМ, які називаються CESEMI і за допомогою яких можна отримувати велику кількість інформації, такої, як розмір зерен, кількість присутніх фаз і так далі. Для використання усіх можливостей цих програм потрібно сканування по точках, при якому координати точок зображення та інтенсивність сигналу в точці подаються на ЕОМ. Фактично ЕОМ знаходиться у взаємодії з растровим електронним мікроскопом і управляє його роботою [35].

Велика глибина фокусу, властива растровому електронному мікроскопу, дозволяє здійснювати стереоспостереження трьохмірних об'єктів. Розроблені пристосування, які використовують цю особливість приладу і дозволяють отримати кількісні характеристики топографії поверхні. Описані також пристрої для прямого стереоспостереження зразків в растровому електронному мікроскопі [36].

Додавання детектора рентгенівського випромінювання з дисперсією по енергії до рентгенівського мікроаналізатора [37] послужило сигналом до можливого сполучення таких приставок з растровим електронним мікроскопом. Зараз більшість растрових електронних мікроскопів оснащена пристроями для рентгенівської аналізу. Таким чином, швидко і ефективно може бути отримана інформація про топографію, кристалографію і склад досліджуваного зразка.

Проте, історично склалося так, що растровий електронний мікроскоп і рентгенівський мікроаналізатор розроблялися як два різні прилади. Проте навіть при першому розгляді видно що ці прилади дуже схожі і відрізняються в основному різним їх використанням.

1.3 Зондова мікроскопія

Скануюча зондова мікроскопія (СЗМ) є потужним методом дослідження властивостей поверхні твердих тіл та її локальних характеристик. Процес побудови зображення оснований на скануванні поверхні зондом. У загальному випадку дозволяє отримати тривимірне зображення поверхні (топографію) з високою роздільною здатністю. Скануючий зондовий мікроскоп в сучасному вигляді винайдений (принципи цього класу приладів були закладені раніше іншими дослідниками) співробітниками швейцарської філії фірми ІВМ ученими Гердом Біннігом та Х. Рорером в 1981 р., а скануючий тунельний мікроскоп (СТМ) - Келвіном Гвейтом, Гердом Біннігом та Крістофером Гербером в 1986 р. Ці технології виявилися революційними в розвитку досліджень властивостей поверхонь і в 1985 винахід СТМ було відмічено присудженням Нобелівської премії по фізиці першовідкривачам - Г.Біннігу та Х.Рореру, яка була розділена між ними і винахідником електронного мікроскопа, що працює на просвічування, Е. Рускою.

Перший представник сімейства зондових мікроскопів – скануючий тунельний мікроскоп – був винайдений в 1981 р. швейцарськими ученими Г.Бінігом та Г.Ререром.

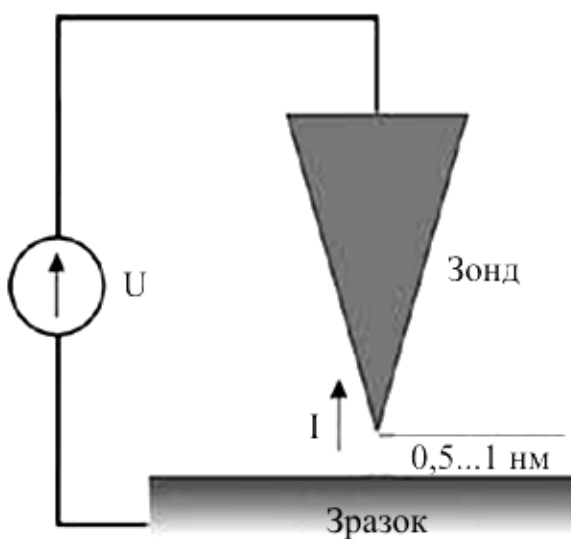


Рис.1.7 – Схема роботи скануючого тунельного мікроскопа

Принцип його роботи полягала в наступному: гостра голка (зонд), що проводить електричний струм, закріплена над поверхнею зразка. Якщо між голкою і зразком прикласти напругу зміщення, то при наближенні вістря голки до зразка на відстань близько 1 нм між ними виникає струм тунелювання, величина якого залежить від відстані "голка-зразок", а напрям – від полярності напруги, рис.1.7.

При віддаленні вістря голки від досліджуваної поверхні тунельний струм зменшується, а при наближенні – зростає. Таким чином, використавши дані про тунельний струм в деякій сукупності точок по поверхні, можна судити про топографію поверхні.

У подальші роки аналогічний принцип був використаний для створення цілого класу приладів, що називаються скануючими зондовими мікроскопами. Хронологія цих розробок наступна:

1982 р. - ближньопольний оптичний мікроскоп (Д.У. Поул);

1984 р. - скануючий ємнісний мікроскоп (Дж.Р. Матей, Дж. Бланк);

1982-1985 рр. - досягнення атомарної роздільної здатності з використанням СЗМ одночасно у багатьох групах (більше 10);

1985 р. - створення перших тунельних мікроскопів в Росії (групи В.І. Панова та М.С. Хайкіна);

1986 р. - атомно-силовий мікроскоп (К.Ф. Гвейт, Г. Бінніг, К. Гербер);

1987 р. - магнітно-силовий мікроскоп (Й. Мартін, Х.К. Вікрасасінж); скануючий фрикційний мікроскоп (К.М. Мате, Г.М. МакКлеланд, С.Чіань); перший комерційний скануючий тунельний мікроскоп Nanoscope - 1 (фірма Digital Instruments, Santa Barbara, USA);

1987 р. - подальші роки - створення більш ніж 20-ти різних модифікацій зондових мікроскопів.

Незважаючи на великі успіхи скануючої тунельної мікроскопії було зрозуміло, що СТМ має фундаментальний недолік - за допомогою СТМ можна досліджувати тільки ті зразки, які проводять електричний струм або покриті електропровідними плівками.

Цей недолік був подоланий з винаходом Біннігом атомно-силового мікроскопа [38]. Він був першим, хто здогадався, що при взаємодії з поверхнею зразка макроскопічна гнучка консоль (кантилевер) з гострою голкою під дією атомних сил може бути зігнута на досить велику величину, щоб бути виміряною за допомогою звичайних засобів. У першому варіанті для виміру вигину кантилевера використовувався СТМ (рис.1.8).

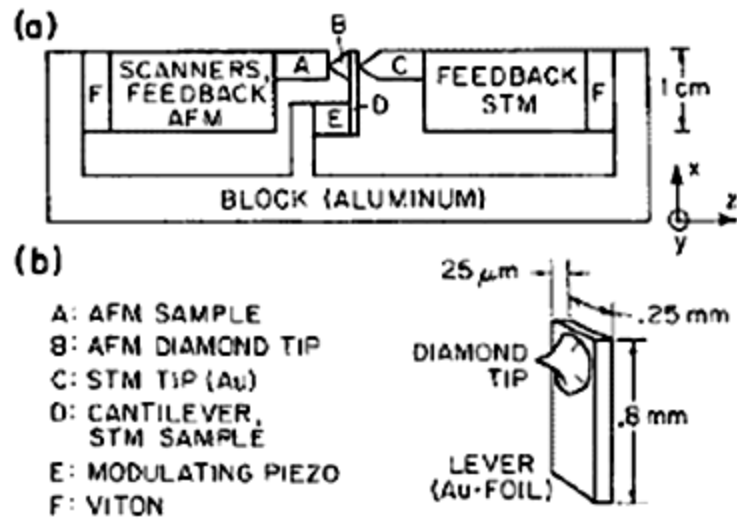


FIG. 2. Experimental setup. The lever is not to scale in (a). Its dimensions are given in (b). The STM and AFM piezoelectric drives are facing each other, sandwiching the diamond tip that is glued to the lever.

Рис.1.8 - Схематичне зображення першого ACM (фрагмент із статті «Binnig, Quate and Gerber Phys.Rev.Lett.56,930, 1986»).

Надалі для реєстрації вигину кантилевера було використано багато методів, але нині найбільш зручним і широко використовуваним є метод, запропонований Амером і Мейєром [39]. Відповідно до запропонованого методу атомно-силовий мікроскоп включає голку, встановлену на мікромеханічний кантилевер. В процесі сканування досліджуваної поверхні міжатомні сили взаємодії кінчика голки і поверхні зразка викликають зміщення голки і, відповідно, вигин кантилевера.

Промінь лазера спрямовується на кантилевер і відбивається від нього для виміру вигину кантилевера. Відбитий лазерний промінь детектується позиційно-чутливим (двосекційним) фотоприймачем, рис.1.9. Вихідний сигнал з двосекційного фотоприймача подається на комп'ютер для оброблення даних, що відображають данні про рельєф поверхні зразка з атомарною роздільною здатністю. Використовувані нині позиційно-чутливі фотодетектори є чотирьохсекційними і дозволяють вимірювати не лише подовжні, але також і торсійні вигини кантилевера.

Кантилевер може згинатися не лише під дією безпосередньо контактних сил, але також і під дією сил, які діють на відстані, - відносно короткодіючих вандерваальсових і більше довгодіючих електричних і магнітних сил. В процесі сканування кантилевер може здійснювати коливання, як це уперше було запропоновано Біннігом [40]. Коливання можуть відбуватися у безпосередньому контакті голки з поверхнею зразка, без торкання поверхні зразка в процесі коливань і з частковим торканням поверхні (з переривчастим контактом). Сканування може здійснюватися в декілька проходів, кожен новий прохід може давати додаткову інформацію відносно досліджуваного зразка.

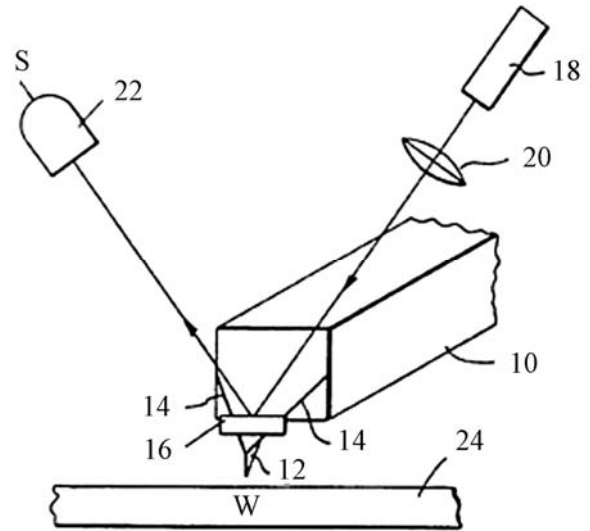


Рис.1.9 – Схематичне зображення АСМ (фрагмент із патенту «Atomic Force Microscope» // US RE37, 299), де 10 – п'єзoeлектричний датчик; 12 – зонд; 14 – відбиваюча поверхня; 16 – консоль; 18 – лазер; 20 – фокусуюча лінза; 22 – фотодатчик; 24 – зразок.

У СРСР перші роботи з цієї тематики були зроблені в 1985 році в Інституті Фізичних проблем АН СРСР.

Як різновид СЗМ, найбільший розвиток на сьогодні досягла ближньопольна оптична мікроскопія (БОМ) – оптична мікроскопія, що забезпечує більшу роздільну здатність, ніж у звичайного мікроскопа. Підвищення роздільної здатності у БОМ досягається детектуванням розсіяння світла від об'єкту, що вивчається, на відстанях менших, ніж довжина хвилі світла. [41]. У разі, якщо зонд (детектор) мікроскопа ближнього поля забезпечений облаштуванням просторового сканування, то такий прилад називають скануючим оптичним мікроскопом ближнього поля. Такий мікроскоп дозволяє отримувати растрові зображення поверхонь і об'єктів з роздільною здатністю нижче дифракційної межі.

Ідея БОМ була запропонована ще в 1928 році Є.Х. Сінгхом, але вона набагато випередила технічні можливості свого часу і залишилася практично не поміченою. Її перше підтвердження було отримане Є.А. Ешем в дослідях з мікрохвилями в 1972 році. На початку 80-тих років група дослідників з Цюрихської лабораторії фірми IBM на чолі з Дітером Полем проникла всередину дифракційної межі і продемонструвала роздільну здатність $\lambda/20$ на приладі, що працював у видимому оптичному діапазоні, який в результаті дістав назву скануючого оптичного мікроскопа ближнього поля. Трохи раніше в тій же лабораторії був створений перший скануючий тунельний мікроскоп, що приніс його винахідникам всесвітню популярність [42].

Усі ці можливості дозволяють реалізувати багато різних методів та методик проведення СЗМ досліджень.

1.4 Роль мікроскопії в науці та техніці

Велику частину інформації про світ людина отримує візуально. Давно вже пошли в минуле органолептичні методи дослідження речовин алхіміками. Проте нині у зв'язку з бурхливим розвитком технічних можливостей, які ще зовсім нещодавно були не більші, ніж мрією багатьох учених, все більшого значення набувають різні методи візуалізації мікроструктури матеріалів, як на рівні сотих і тисячних частин міліметра (ОМ, РЕМ), так і на нанорівні, тобто на шкалі розмірів всього десятків або сотень атомів (АСМ, ПЕМ), рис.1.10.

Магнітні і надпровідні матеріали, матеріали для фотоніки, іоніки твердого тіла, біології та медицини, а також наноматеріали формують "ядро" сучасних матеріалів, яке притягує до себе, залучає до своєї орбіти учених, що займаються мікроструктурними дослідженнями і найбільш передовими методами аналізу.

Розвиток техніки і технології промислового виробництва припускає перехід на якісно новий рівень тих областей науки, які використовують результати цього процесу. В даному випадку йдеться про напрямки науки та техніки, які широко застосовують мікроскопічні дослідження.

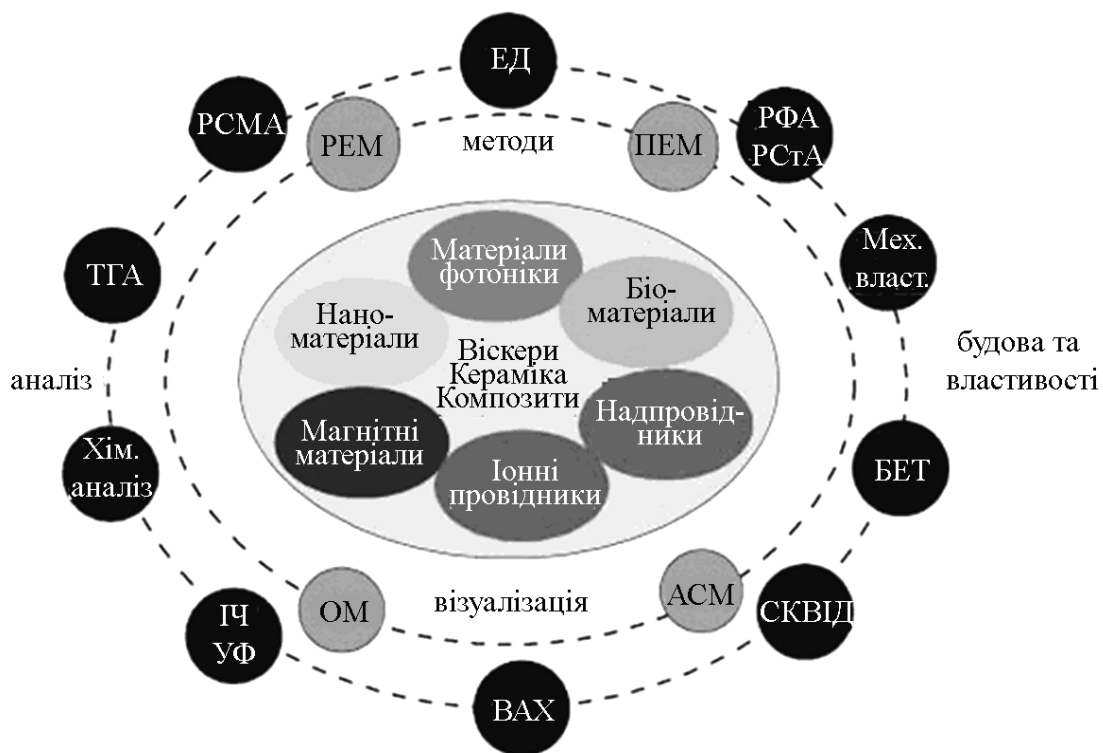


Рис.1.10 – Комплексний підхід до дослідження сучасних матеріалів:

ОМ - оптична мікроскопія, РЕМ - растрова електронна мікроскопія, ПЕМ - електронна мікроскопія, що працює на просвіт, АСМ - атомно-силова мікроскопія, РСМА - рентгеноспектральний мікроаналіз, РФА - рентгенофазовий аналіз, РСтА - рентгеноструктурний аналіз, ЕД - дифракція електронів, ІЧ - спектроскопія в інфрачервоній області, УФ - спектроскопія у видимій і ультрафіолетовій областях, ТГА - термічний аналіз, ВАХ - визначення вольт-амперних характеристик, СКВІД - вимірювання магнітних властивостей, БЕТ - визначення площі поверхні.

У світовій практиці проведення клініко-діагностичних робіт спостерігається цілком певна тенденція, пов'язана із спрощенням технології проведення досліджень аналізів. З одного боку, це традиційні методи мікроскопічних досліджень, з іншого боку, використання тестових систем і застосування вузькоспеціалізованих аналізаторів крові, сечі тощо.

Точність і якість отримання результатів за допомогою спектрофотометричних, фотометричних й інших аналізаторів визначається в основному двома чинниками – правильністю приготування проби і калібруванням (атестацією) приладу. При цьому результат є досить об'єктивним, хоча і тут виявляються помилки.

Природно, що будь-яка технологічна операція, що ґрунтується на суб'єктивності сприйняття й оцінки, є джерелом масових помилок. Це пов'язано з людиною, її психофізіологічним станом – глядацьким сприйняттям, станом здоров'я і настрою. Суб'єктивність методів є одним з основних джерел помилок разом з приготуванням препаратів і налаштуванням, а також проведенням операцій виявлення і власне ідентифікації.

На рис.1.11 представлені результати використання оптичних мікроскопів в різних напрямках лабораторної діагностики, пов'язані з технікою роботи на мікроскопі.

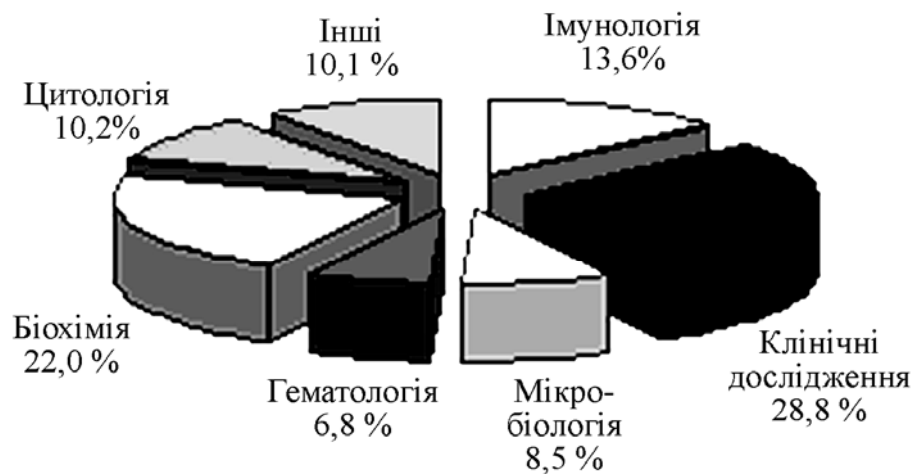


Рис.1.11 - Результати використання оптичних мікроскопів в різних напрямках лабораторної діагностики, пов'язані з технікою роботи на мікроскопі

Знаходячись по 6-8 годин за мікроскопом, користувач часом не замислюється чому швидко втомлюється на роботі. І чимала доля стомлюваності може бути віднесена за рахунок неправильного налаштування мікроскопа.

На сьогодні в світі існує біля 650 фірм-виробників засобів електронної мікроскопії, серед яких, лідерами є німецькі фірми Carl Zeiss, Leica, японські Nikon, Olympus та американська фірма Hewlett Packard, рис.1.12.

Загальний обсяг приладів мікроскопії, що виготовляються цими фірмами складає понад 80%.

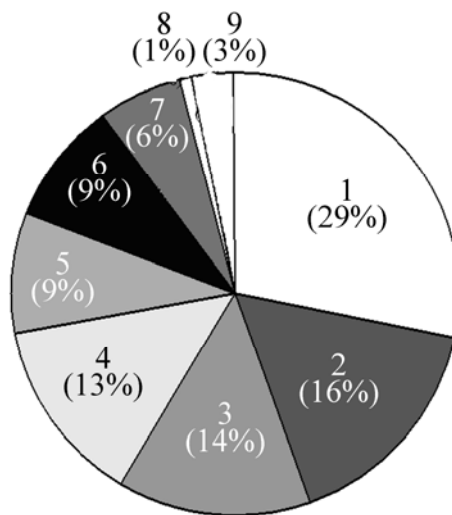


Рис.1.12 – Передові наукові організації та фірми, що є виробниками мікроскопів:

1 - Carl Zeiss (Німеччина); 2 - Leica Microsystems (Німеччина); 3 - Nikon (Японія); 4 - Hewlett Packard (США); 5 - Olympus (Японія); 6 - Oxford Instruments (Великобританія); 7 - Intel Inc. (США); 8 - ОАО “ЛОМО” (Росія); 9 - Інші

При цьому, аналіз сучасних інформаційних джерел в Світовій мережі показав, що саме ці фірми виготовляють моделі мікроскопів, які користуються максимальним попитом серед науково-дослідних фірм та організацій, а саме:

- Eva8000+ (Carl Zeiss, Німеччина);
- Leica DM6000B (Leica Microsystems, Німеччина);
- Infinitive MX8500 (Meiji Techno, Японія);
- Mantis ESM8X (Grasham Instruments, Великобританія);
- SeoTem 100kV (Nikon, Японія);
- Lext17AT (Olympus, Японія);
- МикроСкан МС-20 (ОАО “ЛОМО”, Росія);
- Микмед-5 (ОАО “ЛОМО”, Росія);
- Digital Blue QX5 (Intel, США)

Серед основних напрямків досліджень із залученням засобів мікроскопії слід відмітити медико-біологічні дослідження, на частку яких припадає близько 60% усіх досліджень, та дослідження в області матеріалознавства (18%), рис.1.13.

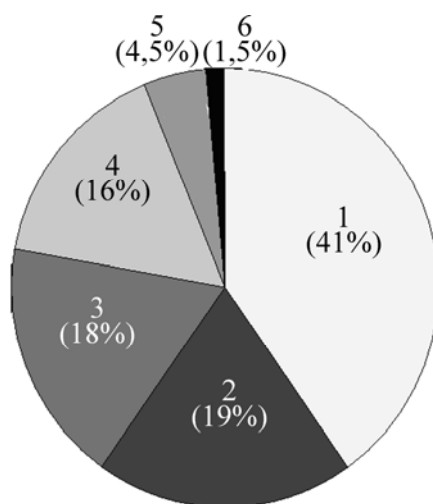


Рис.1.13 - Основні напрямки досліджень із залученням засобів мікроскопії:

- 1 - Медичні дослідження (гістологія, цитологія, вірусологія, онкологія, тощо); 2 - Біологічні дослідження (біохімічні та структурні перетворення під дією різних хімічних препаратів та фізичних методів); 3 - Матеріалознавство (елементна та фазова структура, склад металів, їхніх сплавів та композиційних матеріалів); 4 - Мікроелектроніка та мікрооптика; 5 - Нанотехнологічні дослідження (виявлення та дослідження окремих нанoeлементів та їхніх формацій – нанотрубок, квантових точок, комірок і т.д.); 6 - Інше

Також слід відмітити, що дослідження в нових, перспективних напрямках нанотехнологій (біля 4,5%) методами електронної мікроскопії на сьогодні не мають широкого розповсюдження через специфіку досліджуваних об'єктів.

Також хочеться звернути увагу на збільшення кількості задіяного у галузях обладнання мікроскопії за період 2003-2008 рр., рис.1.14.

При цьому, відмічається зменшення кількості використаних приладів в секторі медичних та біологічних досліджень при одночасному їх збільшенні в секторі матеріалознавства. Для інформації: в Україні, за період 2003-2008 рр., кількість одиниць обладнання, наприклад, електронної мікроскопії збільшилося в чотири рази: з 300 до 1200 штук.

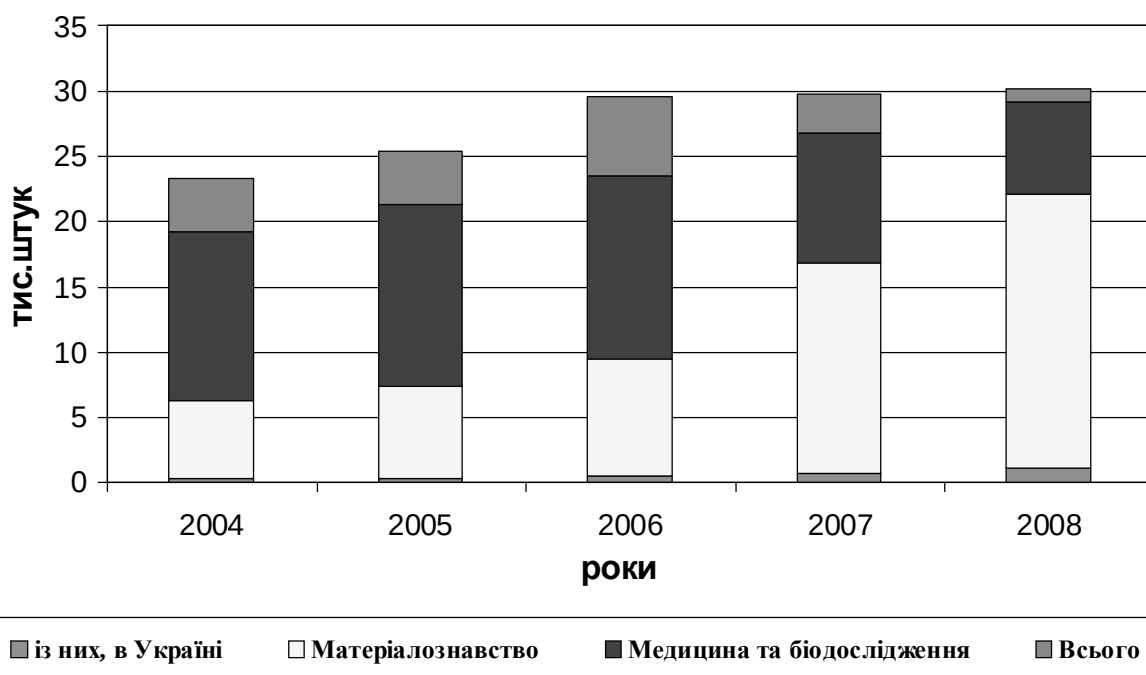


Рис.1.14 - Кількість одиниць обладнання мікроскопії, задіяного в наукових дослідженнях

Таким чином, основними напрямками використання методів та засобів мікроскопії в науці та техніці є:

- метрологія та стандартизація.
- медицина та фармакологія;
- матеріалознавство (дослідження функціональних матеріалів, матеріалів з особливими фізичними властивостями та високочистих речовин);
- електроніка;
- енергетика;
- космічні технології;
- наноінженерія;
- біоніка та біотехнології;
- сільське господарство;

На сьогодні, нажаль, не існує універсального методу та методології дослідження, тому в інструментальному плані дослідження мікроструктури матеріалу повинні неодмінно доповнюватися потужним комплексом інших методів фізико-хімічного аналізу: складу (РСМА), структури (РФА, РСТА, ЕД, ІЧ, УФС) і властивостей (ТГА, ВАХ, СКВІД, БЕТ тощо).

Розділ 2 МЕТОДОЛОГІЯ ТА ТЕХНІЧНІ ЗАСОБИ ОПТИЧНОЇ МІКРОСКОПІЇ

В даному розділі наводяться принципи роботи та схеми основних типів оптичних мікроскопів, а також приведені основні технічні характеристики та розрахунки параметрів цих мікроскопів та приклади застосування методів оптичної мікроскопії.

2.1 Загальна будова оптичних мікроскопів

Око людини є біологічною оптичною системою, що характеризується певної роздільною здатністю, тобто, найменшою відстанню між елементами спостережуваного об'єкту (сприйнятими як точки або лінії), при якому вони ще можуть бути відрізнені один від одного. Для нормального ока при віддаленні від об'єкту на відстань найкращого бачення ($D = 250$ мм), середньостатистична нормальна роздільна здатність складає 1'. Розміри мікроорганізмів, більшості рослинних і тваринних клітин, дрібних кристалів, деталей мікроструктури металів і сплавів та інше значно менше цієї величини.

На відміну від лупи, оптичний мікроскоп має, як мінімум, два ступені збільшення. Функціональні та конструктивно-технологічні частини мікроскопа призначені для забезпечення роботи мікроскопа і отримання стійкого, максимально точного, збільшеного зображення об'єкту. Розглянемо будову оптичного мікроскопа та зробимо опис його основних частин (рис.2.1).

1. Освітлювальна частина - призначена для створення світлового потоку, який дозволяє освітити об'єкт так, щоб наступні частини мікроскопа якомога точно виконували свої функції. Освітлювальна частина мікроскопа, що працює на просвіт, розташована за об'єктом під об'єктивом в прямих мікроскопах (наприклад, біологічні, поляризаційні тощо) і перед об'єктом над об'єктивом в інвертованих мікроскопах. Освітлювальна частина мікроскопа включає джерело світла (лампа і електричний блок живлення) і оптико-механічну систему (колектор, конденсор, польова і апертурна регульовані або ірисові діафрагми).

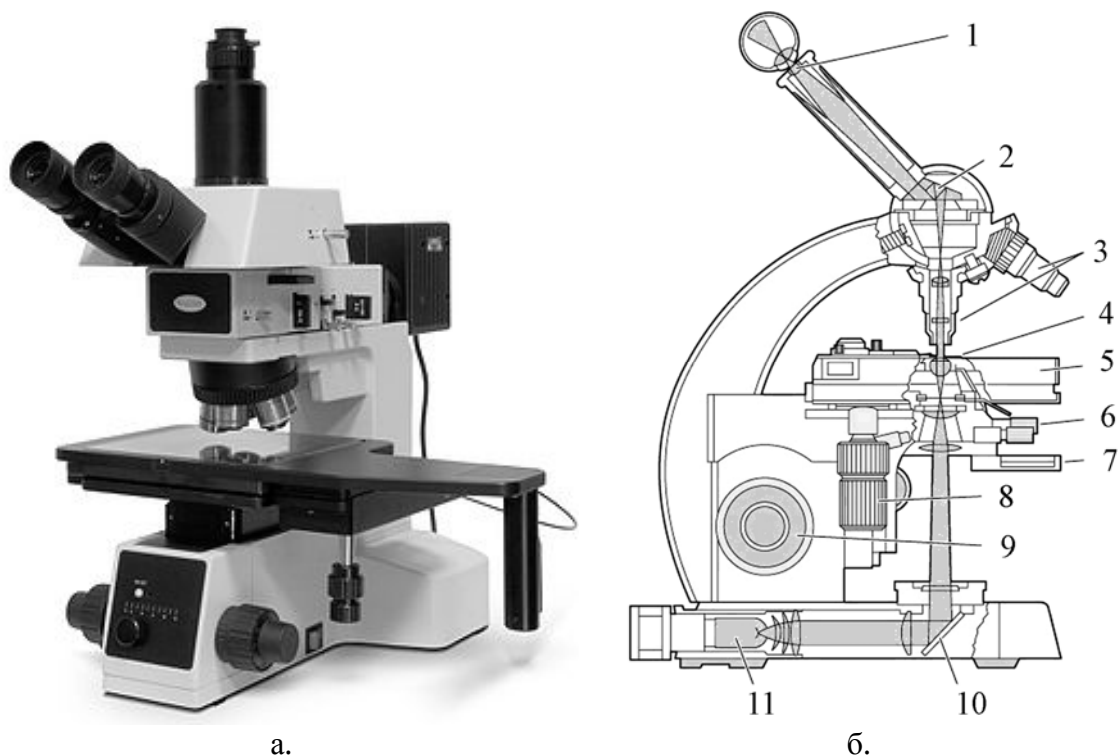


Рис.2.1. Загальний вигляд (а) та типова схема (б) сучасного оптичного мікроскопа із зазначенням основних його елементів:

1 – окуляр; 2 – призма; 3 – об’єктиви; 4 – мікропрепарат; 5 – предметний стіл; 6 – конденсор;
7 – світлофільтр; 8 – керування предметним столом; 9 – фокусний механізм; 10 – дзеркало;
11 – джерело світла.

2. Відтворююча частина – призначена для відтворення об’єкту в площині зображення з потрібною для дослідження якістю зображення і ступенем збільшення (тобто для побудови такого зображення, яке як можна точніше і в усіх деталях відтворювало б об’єкт з роздільною здатністю, збільшенням, контрастом і перенесенням кольорів, які відповідають оптиці мікроскопу). Відтворююча частина забезпечує перший ступінь збільшення і розташована після об’єкту до площини зображення мікроскопа. Відтворююча частина включає об’єктив і проміжну оптичну систему.

Сучасні оптичні мікроскопи останнього покоління базуються на оптичних системах об’єктивів, скоректованих на безмежність. Це вимагає додатково застосування так званих тубусних систем, які «збирають» паралельні потоки світла, які виходять з об’єктиву в площині зображення мікроскопа.

3. Візуалізуюча частина – призначена для отримання реального зображення об'єкту на сітківці ока, фотоплівці або пластинці, на екрані телевізійного або комп'ютерного монітора з додатковим збільшенням (другий ступінь збільшення). Візуалізуюча частина розташована між площиною зображення об'єктиву і очима спостерігача (цифровою камерою).

Візуалізуюча частина включає монокулярну, біноклярну або тринокулярну візуальну насадку із системою спостереження (окулярами, які працюють як лупа). Крім того, до цієї частини відносяться системи додаткового збільшення (системи оптовану або зміни збільшення); проєкційні насадки, у тому числі дискусійні для двох і більше спостерігачів; відтворюючі апарати; системи аналізу і документування зображення з відповідними адаптерами для цифрових камер.

Сучасний мікроскоп складається з наступних конструктивно-технологічних частин: оптичної, механічної та електричної.

Механічна частина мікроскопа. Конструкція оптичного мікроскопа включає штатив, який є його основним конструктивно-механічним блоком. Штатив включає наступні основні блоки: основа і тубусотримач.

Основа є блоком, на якому кріпиться увесь мікроскоп і є однією з основних частин мікроскопа. У простих мікроскопах на основу встановлюють освітлювальні дзеркала або накладні освітлювачі. У складніших моделях освітлювальна система вбудована в основу без (або) з блоком живлення.

Різновиди основ мікроскопа: основа з освітлювальним дзеркалом; так зване «критичне» або спрощене освітлення; освітлення по Келеру.

Тубусотримач є блоком, частиною конструкції мікроскопа, на якому закріплюються:

- вузол зміни об'єтивів, що має наступні варіанти виконання: револьверний пристрій, різбовий пристрій для вгвинчування об'єктиву, «санчата» для безрізбового кріплення об'єтивів за допомогою спеціальних напрямних;
- фокусуєчий механізм грубого та точного налаштування мікроскопа на різкість: механізм фокусуєчого переміщення об'єтивів або столиків;

- вузол кріплення змінних предметних столиків;
- вузол кріплення фокуруючого та центрувального переміщення конденсора;
- вузол кріплення змінних насадок (візуальних, фотографічних, телевізійних, різних передавальних пристроїв).

У мікроскопах можуть використовуватися стійки для кріплення вузлів (наприклад, фокуруючий механізм в стереомікроскопах або кріплення освітлювача в деяких моделях інвертованих мікроскопів).

Чисто механічним вузлом мікроскопу є предметний столик, який призначений для кріплення або фіксації в певному положенні об'єкту спостереження. Столики бувають нерухомі, координатні та такі, що обертаються (центровані та нецентровані).

Оптика мікроскопа. Оптичні вузли забезпечують основну функцію мікроскопа – створення збільшеного зображення об'єкту з достатньою мірою достовірності за формою, співвідношенню розмірів складових елементів та кольору. Окрім цього, оптика повинна забезпечувати таку якість зображення, яке відповідає завданням дослідження і вимогам методик аналізу, що проводиться.

Основними оптичними елементами мікроскопа є оптичні деталі, що утворюють освітлювальну (у тому числі, конденсор), візуалізуючу (окуляри) та відтворюючу (у тому числі об'єктиви) системи мікроскопа.

Об'єктиви мікроскопа – це оптичні системи, призначені для побудови мікроскопічного зображення в площині зображення з відповідним збільшенням, роздільною здатністю елементів, точністю відтворення за формою і кольору об'єкту дослідження. Об'єктиви є одними з основних вузлів мікроскопу. Вони мають складну оптико-механічну конструкцію, яка включає декілька окремих лінз та систем утворених з двох або трьох лінз.

Кількість лінз обумовлена колом вирішуваних об'єктивом завдань. Чим вища якість зображення, що формується об'єктивом, тим складніше його оптична схема. Загальне число лінз в складному об'єктиві може доходити

до 14 (наприклад, це може відноситися до пленарно-хроматичного об'єктиву зі збільшенням $\times 100$ і числовою апертурою 1,40).

Класифікація об'єктів значно складніша за класифікацію мікроскопів. Об'єктиви розділяють за принципом розрахункової якості зображення, параметричними і конструктивно-технологічними ознаками, а також по методах дослідження і контрастування.

За принципом розрахункової якості зображення об'єктиви можуть бути: ахроматичними, апохроматичними, об'єктивами плоского поля (план-об'єктиви).

Ахроматичні об'єктиви розраховані для застосування в спектральному діапазоні 486-656 нм. виправлення будь-якої аберації (ахроматизація) виконується для двох довжин хвиль. У цих об'єктивах усунені сферична аберація, хроматична аберація положення, кома, астигматизм і частково – сферохроматична аберація. Зображення об'єкту має дещо синювато-червонястий відтінок.

Апохроматичні об'єктиви мають розширену спектральну область, і ахроматизація виконується для трьох довжин хвиль. При цьому, окрім хроматизму положення, сферичної аберації, коми і астигматизму, досить добре виправляються також вторинний спектр і сферохроматична аберація, завдяки введенню в схему лінз з кристалів та спеціальних стекол. В порівнянні з ахроматами, ці об'єктиви зазвичай мають підвищені числові апертури, дають чітке зображення і точно передають колір об'єкту.

Напівапохромати або мікрофлюари – сучасні об'єктиви, що мають проміжну якість зображення.

План-об'єктиви. У план-об'єктивах виправлена кривизна зображення по полю, що забезпечує різке зображення об'єкту по усьому полю спостереження. План-об'єктиви зазвичай застосовуються при фотографуванні, причому найбільш ефективно застосування знаходять план-апохромати.

Потреба в подібного типу об'єктивах зростає, проте вони досить дорогі із-за оптичної схеми, що реалізовує плоске поле зображення і вживаних

оптичних середовищ. Тому робочі мікроскопи комплектуються так званими економічними об'єктивами. До них відносяться об'єктиви з поліпшеною якістю зображення по полю: ахростигмати (LEICA), СР-ахромати і ахроплани (CARL ZEISS), стигмахромати (ЛОМО).

Висота - відстань від опорної площини об'єктиву (площини перетину угвинченого об'єктиву з револьверним пристроєм) до площини предмета при сфокусованому мікроскопі є постійною величиною і забезпечує парфокальність комплекту аналогічних по висоті об'єктивів різного збільшення, встановлених в револьверному пристрої.

За параметричними ознаками об'єктиви поділяються таким чином:

- об'єктиви з кінцевою довжиною тубуса (наприклад, 160 мм) і об'єктиви, скоректовані на довжину тубуса «нескінченність» (наприклад, з додатковою тубусною системою, що має фокусну відстань 160 мм);
- об'єктиви малих (до $\times 10$); середніх (до $\times 50$) і великих (більше $\times 50$) збільшень, а також об'єктиви з надвеликим збільшенням (понад $\times 100$);
- об'єктиви малих (до 0,25), середніх (до 0,65) і великих (більше 0,65) числових апертур, а також об'єктиви зі збільшеними (в порівнянні із звичайними) числовими апертурами (наприклад, об'єктиви апохроматичної корекції, а також спеціальні об'єктиви для люмінесцентних мікроскопів);
- об'єктиви зі збільшеними (в порівнянні із звичайними) робочими відстанями, а також з великими і надвеликими робочими відстанями (об'єктиви для роботи в інвертованих мікроскопах). Робоча відстань – це вільна відстань між об'єктом (площиною покривного скла) і нижнім краєм оправы (лінзи, якщо вона виступає) фронтального компонента об'єктиву;
- об'єктиви, що забезпечують спостереження в межах нормального лінійного поля (до 18 мм); широкопольні об'єктиви (до 22,5 мм); надширокопольні об'єктиви (більше 22,5 мм);
- об'єктиви стандартні (45 мм, 33 мм) і нестандартні по висоті.

За конструктивно-технологічними ознаками існує наступний поділ:

- об'єктиви, що мають пружну оправу (з числовою апертурою від 0,5) та без неї;

- об'єктиви, що мають ірисову діафрагму усередині для зміни числової апертури (наприклад, в об'єктивах зі збільшеною числовою апертурою, в об'єктивах, що працюють на просвітлення, для реалізації методу темного поля, в поляризаційних об'єктивах відбитого світла);
- об'єктиви з оправою, що коригує (управляє), яка забезпечує рух оптичних елементів усередині об'єктиву (наприклад, для коригування якості зображення об'єктиву при роботі з різною товщиною покривного скла або з різними імерсійними рідинами; а також для зміни збільшення при плавній – панкреатичній зміні збільшення) та без неї.

По забезпеченню методів дослідження і контрастування об'єктиви можна поділити таким чином:

- об'єктиви, які працюють з покривним та без покривного скла;
- об'єктиви, що працюють на просвітлення та об'єктиви відбитого світла (безрефлексні), люмінесцентні об'єктиви (з мінімумом власної люмінесценції), поляризаційні об'єктиви (без натягнення скла в оптичних елементах, тобто такі, що не вносять власну деполаризацію), фазові об'єктиви (що мають фазовий елемент – напівпрозоре кільце усередині об'єктиву), об'єктиви ДІК (DIC), які працюють по методу диференціально-інтерференційного контрасту (поляризаційні з призматичним елементом), епіоб'єктиви (об'єктиви відбитого світла, які призначені для забезпечення методів світлого і темного поля та мають в конструкції спеціально розраховані освітлювальні епідзеркала), імерсійні та безімерсійні об'єктиви.

Імерсія (від лат. *immersio* – занурення) – рідина, що заповнює простір між об'єктом спостереження і спеціальним імерсійним об'єктивом (конденсором та предметним склом). В основному застосовуються три типи імерсійних рідин: масляна імерсія (MI/Oil), водна імерсія (BI/W) та гліцеринова імерсія (GI/Glyc), причому остання в основному застосовується в ультрафіолетовій мікроскопії.

Імерсія застосовується в тих випадках, коли вимагається підвищити роздільну здатність мікроскопа або її застосування вимагає технологічний процес мікроскопування. При цьому відбувається:

- підвищення видимості за рахунок збільшення різниці показника заломлення середовища і об'єкту;
- збільшення глибини шару, що досліджується, який залежить від показника заломлення середовища.

Крім того, імерсійна рідина може зменшувати кількість розсіяного світла за рахунок зникнення відблисків від об'єкту. При цьому усуваються неминучі втрати світла при його попаданні в об'єкти.

Імерсійні об'єктиви. Якість зображення, параметри і оптична конструкція імерсійних об'єктивів розраховуються і вибираються з урахуванням товщини шару імерсії, який розглядається як додаткова лінза з відповідним показником заломлення. Імерсійна рідина, розташована між об'єктом і фронтальним компонентом об'єктиву, збільшує кут під яким розглядається об'єкт (апертурний кут). Числова апертура безімерсійного (сухого) об'єктиву не перевищує 1,0 (роздільна здатність близько 0,3 мкм для основної довжини хвилі); імерсійного – доходить до 1,40 залежно від показника заломлення імерсії та технологічних можливостей виготовлення фронтальної лінзи (роздільна здатність такого об'єктиву близько 0,12 мкм).

Імерсійні об'єктиви великих збільшень мають коротку фокусну відстань - 1,5-2,5 мм при вільній робочій відстані 0,1-0,3 мм (відстань від площини препарату до оправы фронтальної лінзи об'єктиву).

Маркування об'єктивів. Дані про кожен об'єктив вказуються на його корпусі з наступних параметрів :

- збільшення («×»- крат, разів), наприклад, ×8, ×40, ×90;
- числова апертура: 0,20; 0,65, наприклад, 40/0,65 або ×40/0,65;
- додаткове літерне маркування, якщо об'єктив використовується при різних методах дослідження та контрастування: фазовий – Ф (Рп2 - цифра відповідає маркуванню на спеціальному конденсорі або вкладиші), поляризаційний - П (Pol), люмінесцентний - Л (L), фазово-люмінесцентний - ФЛ (PhL), ЕПІ (Epi, HD) – епіоб'єктив для роботи у відбитому світлі по методу темного поля,

диференціально-інтерференційний контраст - ДІК (DIC), наприклад, $\times 40/0,65$ Ф або Ph2 $\times 40/0,65$;

- маркування типу оптичної корекції: апохромат – АПО (APO), план-ахромат – ПЛАН (PL, Plan), план-апохромат – ПЛАН-АПО (Plan-Apo), поліпшений ахромат, напівплан – CX – стигмахромат (Achrostigmat, CP – achromat, Achroplan), мікрофлюар (напівплан-напівапохромат) – CF або М-ФЛЮАР (MICROFLUAR, NEOFLUAR, NPL, FLUOTAR).

Окуляри – це оптичні системи, призначені для побудови мікроскопічного зображення на сітківці ока спостерігача (Рис.2.2). У загальному вигляді окуляри складаються з двох груп лінз: очної – найближчої до ока спостерігача – і польової – найближчої до площини, в якій об'єктив будує зображення даного об'єкту.

Окуляри класифікуються по тих же групах ознак, що і об'єктиви:

- окуляри компенсаційної К (компенсують хроматичну різницю збільшення об'єктивів понад 0,8%) і безкомпенсаційної дії;
- окуляри звичайні та плоского поля;
- окуляри ширококутні (з окулярним числом – добутком збільшення окуляра на його лінійне поле – більше 180); надширококутні (з окулярним числом більше 225);
- окуляри з винесеною зіницею для роботи в окулярах та без;
- окуляри для спостереження, проекційні, фотоокуляри, гамали;
- окуляри з внутрішнім наведенням (за допомогою рухливого елемента усередині окуляра відбувається налаштування на різке зображення сітки або площину зображення мікроскопа; а також плавна, панкратична зміна збільшення окуляра) та без неї.



Рис.2.2. Окуляри мікроскопа

Альтами 136

Освітлювальна система – є важливою частиною конструкції мікроскопа і має систему лінз, діафрагм та дзеркал (останні застосовуються при

необхідності), що забезпечує рівномірне освітлення об'єкту і повне заповнення апертури об'єктиву.

Освітлювальна система мікроскопа, що працює на просвітлення, складається з двох частин – колектора і конденсора.

Колектор. При вбудованій освітлювальній системі, що працює на просвітлення, колекторна частина розташована поблизу джерела світла в основі мікроскопа і призначена для збільшення розміру тіла, що освітлюється. Для забезпечення налаштування колектор може бути виконаний рухливим і переміщатися уздовж оптичної осі. Поблизу колектора розташовується польова діафрагма мікроскопа.



Рис.2.3. Система освітлення
з конденсором

Конденсор. Оптична система конденсора призначена для збільшення кількості світла, що поступає в мікроскоп, рис.2.3. Конденсор розташовується між об'єктом (предметним столиком) і освітлювачем (джерелом світла).

Найчастіше у навчальних та простих мікроскопах конденсор може бути виконаний незнімним і нерухомим. В інших випадках конденсор є знімною частиною і при налаштуванні освітлення має фокусує переміщення уздовж оптичної осі та центрувальне переміщення, яке перпендикулярне оптичній осі.

При конденсорі завжди знаходиться освітлювальна апертурна ірисова діафрагма.

Конденсор є одним з основних елементів, що забезпечують роботу мікроскопа за різними методами освітлення і контрастування: косе освітлення (діафрагмування від краю до центру і зміщення освітлювальної апертурної діафрагми відносно оптичної осі мікроскопа), темне поле (максимальне діафрагмування від центру до краю освітлювальної апертури), фазовий контраст (кільцеве освітлення об'єкту, при цьому зображення світлового кільця вписується у фазове кільце об'єктиву).

Маркування конденсора. На фронтальній частині конденсора наноситься маркування числової апертури (освітлювальної).

Класифікація конденсорів близька по групах ознак до об'єтивів:

- конденсори за якістю зображення і типу оптичної корекції поділяються на неахроматичні, ахроматичні, апланатичні та ахроматично-апланатичні;
- конденсори малої числової апертури (до 0,30), середньої числової апертури (до 0,75), великої числової апертури (понад 0,75);
- конденсори із звичайною, великою і надвеликою робочою відстанню;
- звичайні і спеціальні конденсори для різних методів дослідження і контрастування;
- конструкція конденсора – єдина, з відкидним елементом (фронтальним компонентом або лінзою великого поля), з фронтальним елементом, що згвинчується.

Конденсор Аббе – не виправлений за якістю зображення конденсор, що складається з двох неахроматичних лінз: одної – двовипуклої, іншої – плосковипуклої, оберненої до об'єкту спостереження (плоска сторона цієї лінзи спрямована вгору). Апертура конденсора $A=1,2$. Має ірисову діафрагму.

Апланатичний конденсор – конденсор, що складається з трьох лінз, розташованих таким чином: верхня лінза – плосковипукла (плоска сторона спрямована до об'єктиву), далі йде конфокальна та двовипукла лінзи. Виправлений відносно сферичної аберації і коми. Апертура конденсора $A=1,40$. Має ірисову діафрагму.

Ахроматичний конденсор – це конденсор, який повністю виправлений відносно хроматичної та сферичної аберації.

Конденсор темного поля призначений для отримання ефекту темного поля. Може бути спеціальним або перероблений із звичайного світлопольного конденсора шляхом встановлення в площині ірисової діафрагми конденсора непрозорого диска певного розміру.

2.2 Схеми оптичних мікроскопів

2.2.1 Біологічні мікроскопи, що працюють на просвітлення

Узагальнена принципова схема біологічного мікроскопу, що працює на просвітлення наведена на рис.2.4.

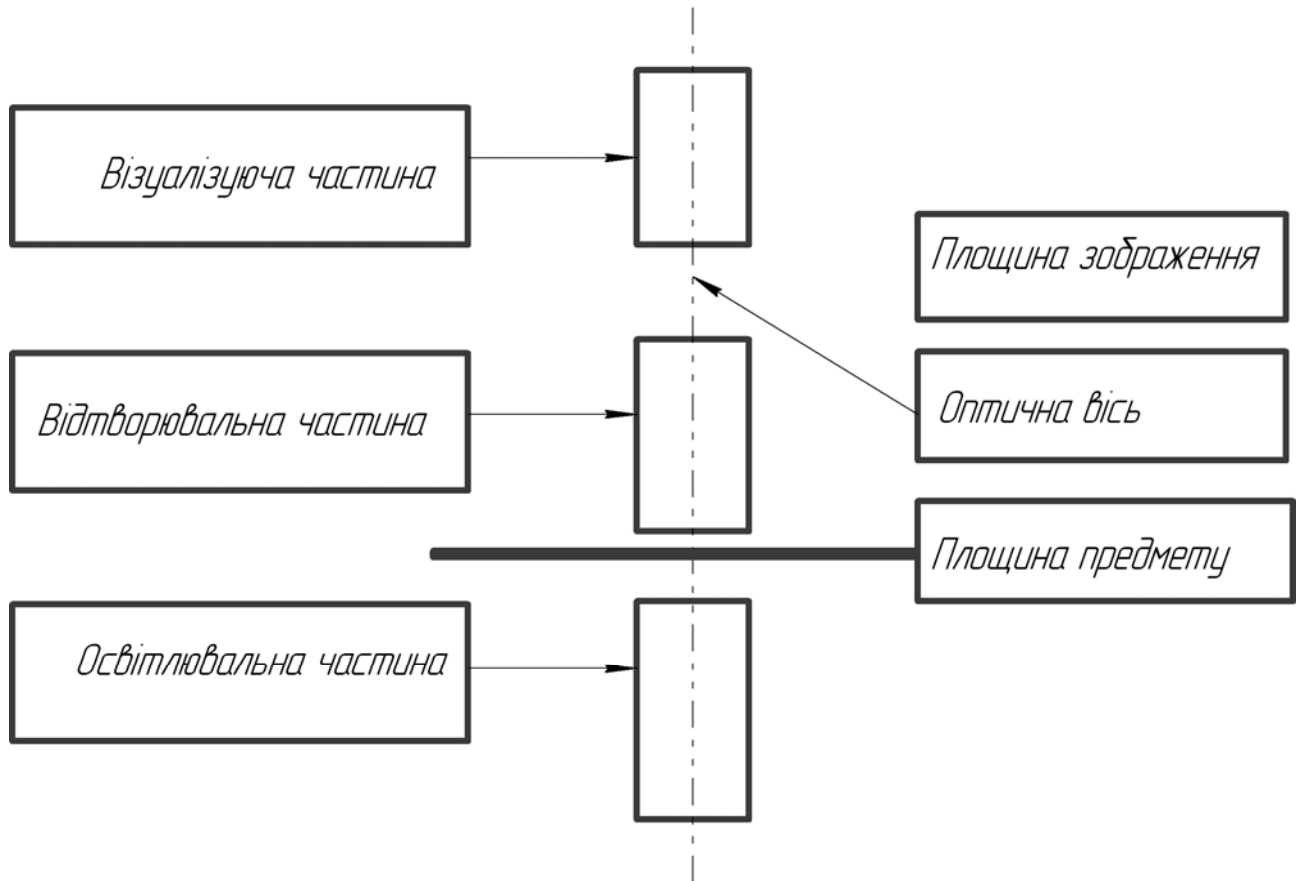


Рис.2.4. Принципова схема мікроскопів, що працюють на просвітлення

Оптична система таких мікроскопів розрахована на об'єктиви для тубуса завдовжки 150-200 мм, рис.2.5. Для збереження корекції системи в них вводиться додаткова ахроматична лінза 7. Ця лінза підвищує загальне збільшення системи в 1,2 рази. Оптична система для дослідження об'єктів у світлі, що проходить через них.

Джерело світла 1 через колектор 2 та дзеркало 3 проектується в площину апертурної діафрагми конденсора. Ця діафрагма апланатичним конденсором ОИ-14 (поз.6) проектується у вихідну зіницю об'єктиву 15 мікроскопа. Ірисова польова діафрагма 5 проектується конденсором в площину об'єкту.

Окрім апланатичного конденсора ОІ-14, в прилад можуть бути встановлені конденсор темного поля (поз.4), або фазо-контрастне облаштування КФ-4.

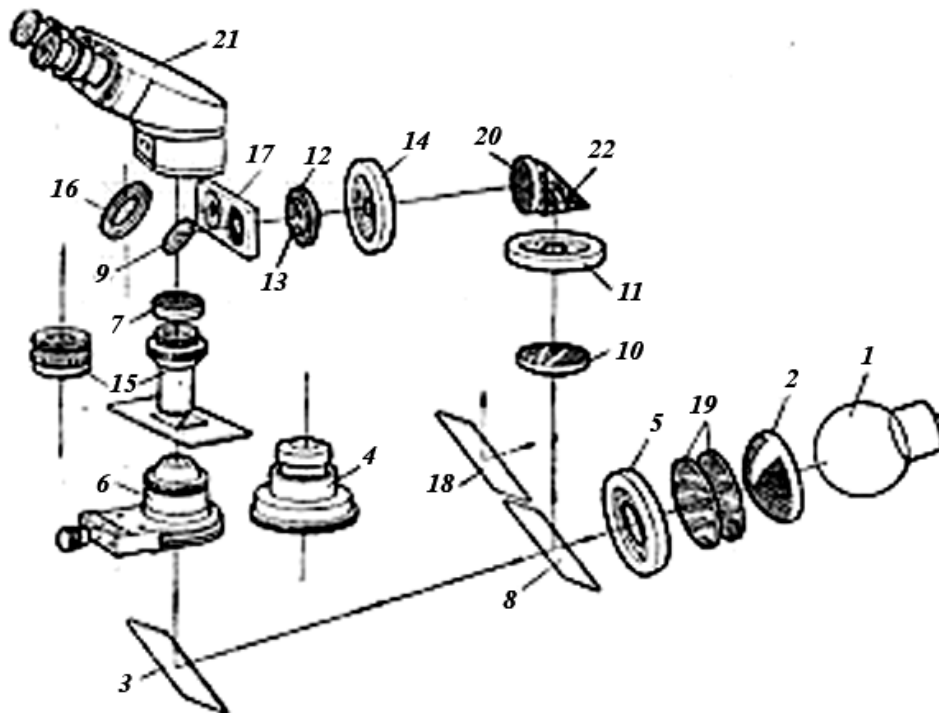


Рис.2.5. Оптична схема мікроскопу, що працює на просвітлення:

1 – джерело світла, 2 – колектор, 3 – дзеркало, 4 – конденсор ОІ-13, 5 – вольова діафрагма, 6 – апланатичний конденсор ОІ-14, 7 – ахроматична лінза, 8 – дзеркало, 9 – віддзеркалювач світлового поля, 10, 12, 13, 20 – лінза, 11 – апертурна діафрагма, 14 – польова діафрагма для віддзеркаленого світла, 15 - об'єктив, 16 – кільцеве дзеркало, 17 – діафрагма, 18 – світло подільна пластинка, 19 – світлофільтри, 21 – візуальна насадка, 22 - призма

Загальний вигляд такого мікроскопу показаний на рис.2.6

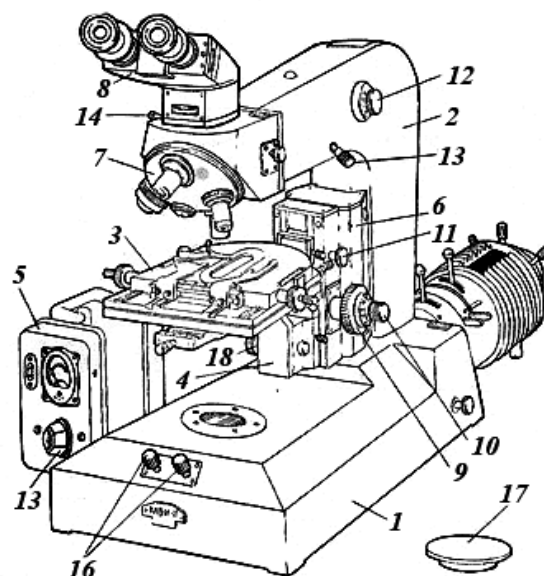


Рис.2.6. Загальний вигляд мікроскопу, що працює на просвітлення

Пояснення до рис.2.6: 1 – основа мікроскопу з освітлювачем, 2 – тубусотримач, 3 – предметний столик, 4 – кронштейн з конденсором, 5 – трансформатор, 6 – блок механізмів грубого та мікрометричного переміщення препарату, 7 – револьвер для об'єтивів, 8 – бінокулярна насадка, 9 – ручка грубого переміщення препарату, 10 – ручка мікрометричного переміщення препарату, 11 – ручка гальма грубого руху, 12 – ручка польової діафрагми, 13 – гвинти для центрування польової діафрагми, 14 – гвинт для кріплення насадки, 15 – перемикач для регулювання накаливання лампи, 16 – гвинти для центрування зображення польової діафрагми

Основне призначення окремих частин мікроскопу є наступним.

На основі мікроскопа є регульовальні гвинти (поз.13), які служать для приведення зображення польової діафрагми в центр поля зору мікроскопа.

Тубусотримач (поз.2) жорстко з'єднаний з основою мікроскопа; до нього кріпляться коробка (поз.6) з механізмами грубого і мікрометричного (вертикального) переміщення препарату, голівка з револьвером (поз.7) з об'єктивами та бінокулярна насадка (поз.8). Ручки грубого та мікрометричного переміщення препарату змонтовані на одній осі. Обертанням ручки (поз.9) здійснюється грубе переміщення, а обертанням ручки (поз.10) – тонке наведення на препарат. Грубий рух стопориться поворотом ручки (поз.11).

Об'єктиви для світла, що проходить, угвинчуються в револьвер через перехідні втулки.

Для роботи з об'єктивами, які не входять в комплект приладу і отримуються окремо (наприклад, фазові об'єктиви), є додаткові перехідні втулки. На гніздах револьвера є гравіювання "1", "2", "3" і "4", що дозволяє підібрати для кожного об'єктиву, який не входить в комплект приладу, відповідне гніздо, при установці в яке розцентрування системи буде мінімальною.

На тубусотримачі знаходиться ручка для зміни діаметру апертурної та польової діафрагм при роботі у віддзеркаленому світлі. Апертурна діафрагма відкривається і закривається ручками 5-1, а польова діафрагма – ручками (поз.12). Гвинти (поз.13) призначені для приведення зображення польової

діафрагми в центр поля зору мікроскопа. При роботі у відбитому світлі ручками, що знаходяться на голівці тубусотримача, здійснюється перемикання кільцевого дзеркала для спостереження в темному полі або відбивача для спостереження у світлому полі.

На голівці мікроскопа за допомогою гвинта (поз.14) може кріпитися біноклярна насадка (наприклад, АУ-26). Насадку можна повернути навколо вертикальної осі у будь-яке положення за бажанням спостерігача.

Установка необхідного збільшення насадки робиться обертанням диска за накатану частину. Диск має чотири фіксовані положення. На циліндричній частині диска вигравірувані позначення " $\times 1,1$ ", " $\times 1,6$ ", " $\times 2,5$ " і "ФК".

Установка окулярів по очах спостерігача робиться паралельним переміщенням окулярних трубок. При установці відстані між осями окулярних трубок по очах спостерігача відбувається зміна розрахункової довжини тубуса. Компенсація довжини тубуса робиться підйомом або опусканням окулярів.

Для компенсації помилки ока спостерігача треба додатково пересунути окулярні трубки на відповідну величину, причому для короткозорого (міопічного) ока окулярні трубки треба всувати, а для далекозорого (гіперметропічного) ока - висувати.

Предметний столик може переміщати препарат в двох взаємно-перпендикулярних напрямках. Переміщення препарату здійснюється обертанням ручок, змонтованих в підшипниках на одній осі. Препарат закріплюється між утримувачами препарату. Для цього треба ручками відвести убік утримувач препарату, поставити препарат і відпустити утримувач. Залежно від розміру препарату утримувачі можуть переміщатися один відносно одного. Для переміщення утримувачів необхідно відгвинтити гвинти, пересунути утримувачі по пазу і знову затягнути гвинти. Відлік величин переміщення препарату здійснюється по шкалах та ноніусам.

Предметний столик має поворот на 180° . Гальмівний гвинт (поз.11) служить для фіксації повороту столика, а гвинти (поз.13) - для центрування

столика, тобто для поєднання осі обертання столика з оптичною віссю мікроскопа.

Предметний столик за допомогою кронштейна типу "ластівчиного хвоста", що має паз, кріпиться до прямої мікроскопа і затискається на ній гвинтом на будь-якій висоті.

Кронштейн з конденсором встановлюється на ту саму пряму мікроскопа, що і предметний столик. Для цього кронштейн ставиться на пряму, опускається вниз до упору і закріплюється гвинтом. Потім конденсор вставляється в кільце кронштейна знизу до упору і кріпиться гвинтом.

Трансформатор (поз.5) служить для живлення електролампи освітлення. На корпусі трансформатора розташовано перемикач (поз.15), який регулює напругу на лампі. Для збільшення терміну служби лампи рекомендується при візуальному спостереженні працювати не з повним навантаженням на лампу.

2.2.1.1 Інтерференційна мікроскопія

За допомогою звичайного біологічного мікроскопа можна спостерігати тільки такі об'єкти, які по відношенню до середовища, що їх оточує, поглинають світло різною мірою і, отже, відрізняються деякою природною контрастністю. Такі предмети часто називаються амплітудними, оскільки вони викликають зміну амплітуди світла, що проходить через них. Проте, в природі існують такі мікрооб'єкти і структури, які не проявляють ніяких різниць в поглинанні світла і відрізняються від середовища, що їх оточує, тільки коефіцієнтом заломлення або товщиною.

Такі об'єкти називаються фазовими, оскільки вони викликають тільки зміну фази світлової хвилі, що проходить. У звичайному мікроскопі, в світлі, яке проходить вони абсолютно невидимі або майже невидимі, тому що людське око реагує тільки на зміни сили світла, тобто на зміну амплітуди світлової хвилі (як відомо сила світла пропорційна квадрату амплітуди).

Щоб можна було спостерігати фазові об'єкти за допомогою звичайного біологічного мікроскопа, необхідно їх забарвити. Фарбування препаратів є достатньо складним процесом і спричиняє собою різні небажані явища. Зокрема, не можна забарвлювати живі клітини і тканини, оскільки фарбування, як правило, пов'язане з їх умертвінням.

У зв'язку з цим, можливість дослідження абсолютно прозорих і не поглинаючих світла живих мікроорганізмів, за допомогою звичайного мікроскопа, є значною мірою обмеженою.

Нині, для спостереження фазових об'єктів, застосовуються фазово-контрастні мікроскопи. Слабкою стороною цих мікроскопів (окрім деяких дефектів, як-то "гало", невелика контрастність тісно укладених структур та структур, що примикають, а також погане відтворення розтягнутих предметів з порівняно високими поперечними розмірами) є те, що в основному вони служать для якісних та описових досліджень. Введення методу фазового контрасту дозволяє швидко оцінити, чи є коефіцієнт заломлення цього досліджуваного об'єкту великим або меншим по відношенню до коефіцієнта довкілля, і навіть робить можливим, в деяких випадках, точне визначення величини цього коефіцієнта (шляхом підбору відповідної імерсійної рідини).

Але на цьому, по суті, і закінчується можливість кількісних досліджень цього методу (не рахуючи можливості вимірювань лінійних та планіметричних величин). Значно більше можливостей відносно кількісних досліджень представляє інтерференційна мікроскопія в цілому, а зокрема поляризаційно-інтерференційна мікроскопія, основні принципи якої розглянемо на прикладі поляризаційно-інтерференційної приставки UPI для біологічного мікроскопа BIOLAR.

Цей мікроскоп служить для спостереження мікрооб'єктів, як фазових (прозорих), так і амплітудних (тих, що поглинають світло), а також для вимірювань різниці оптичного шляху (фазового зрушення), градієнта різниці оптичного шляху товщини, коефіцієнта заломлення, подвійного променезаломлення, кута торкання, виду мікроповерхні, концентрації

речовини, вмісту сухих речовин в клітинах, світлопропускання, а також й інших фізичних величин.

У основі принципу дії поляризаційних мікроскопів лежить отримання зображення досліджуваного об'єкту при його опроміненні поляризованими променями, які у свою чергу мають бути отримані із звичайного світла за допомогою спеціального приладу – поляризатора. По суті при проходженні поляризованого світла через речовину, або відбите від неї світло, змінює площину поляризації світла внаслідок чого на другому поляризаційному фільтрі виявляється у вигляді зайвого затемнення або дають специфічні реакції як подвійне променезаломлення в жирах.

Неполяризований потік випромінювання можна представити у вигляді пучка хвиль, коливання в яких відбуваються в площинах уздовж ліній поширення променя. Якщо цей потік пропустити через поляризатор, то кожна хвиля в пучку розкладається на складові. Поляризуючий матеріал поглинає одну із складових коливань і пропускає іншу. Таким чином, коливання відбуватимуться в одній площині і такий світловий потік називають плоскополяризованим.

Другий поляризатор (аналізатор), поміщений на шляху світлового потоку, так само пропускає ту складову випромінювання, яка коливається паралельно його осі. Оскільки потік вже поляризований, усе випромінювання проходитиме через аналізатор тільки при одному куті повороту, а при повороті на 90 градусів потужність світлового потоку впаде до нуля.

Технічно цей метод реалізується розміщенням в освітлювальній системі мікроскопа поляризатору, а в проміжку між об'єктивом і окуляром – аналізатора.

Поляризаційний мікроскоп дозволяє проводити дослідження двома методами - ортоскопічним та коноскопичним.

При ортоскопічному ході променів, зображення об'єкту проектується у фокальну площину окуляра. Спостережувана при цьому інтерференція поляризованих променів локалізована в площині препарату. Для отримання

якісної картини препарат освітлюється паралельним пучком світла. Таке освітлення досягається шляхом зменшення діаметру апертурної діафрагми конденсора, що виключає похилі промені, які спотворюють результати дослідження.

При коноскопичному ході променів, апертурна діафрагма конденсора відкривається і препарат освітлюється пучками променів, що сильно сходяться. Інтерференція поляризованих променів при цьому локалізована в нескінченності, а інтерференційна картина виникає в задній фокальній площині об'єктиву. Спостереження інтерференційної картини проводиться за допомогою лінзи Бентрона, яка проектує вихідну зіницю у фокальну область окуляра. Діафрагма обмежує певну ділянку зображення препарату і тим самим локалізує об'єкт дослідження.

За допомогою поворотного механізму і компенсаторів різних типів робляться виміри величини подвійного променезаломлення, кутів повороту площини поляризації, визначення кутів згасання та інших характеристик.

Метод дослідження в поляризованому світлі застосовується для вивчення препаратів, оптичні властивості яких не однакові в різних напрямках. Анізотропний препарат в силу своєї природи вносить зміни в структуру поляризованого світла. Знання анізотропії дозволяє встановити структуру препарату та його фізико-хімічні властивості.

Поляризаційно-інтерференційний мікроскоп застосовують передусім у біологічних та медичних науках (особливо в цитології, гістології, морфології, біохімії, мікробіології), а також у фізико-хімії, кристалографії, мінералогії, у текстильній промисловості, в техніці тонких шарів та плівок.

Крім того, метод мікроскопії в поляризованому світлі застосовується в петрографії - дослідження гірських порід та різних мінералів, в металографії – визначення анізотропних властивостей металів.

Поляризаційний метод можна реалізувати лише на професійних моделях мікроскопів. Наприклад, компанія "Micros" комплектує поляризаційним набором моделі мікроскопів MC 300P і MC 300X ERGO.

Принцип дії поляризаційно-інтерференційного мікроскопа з однією двозаломлюючою призмою. Схема оптичної системи і принцип дії поляризаційно-інтерференційного мікроскопа показані на рис.2.7.

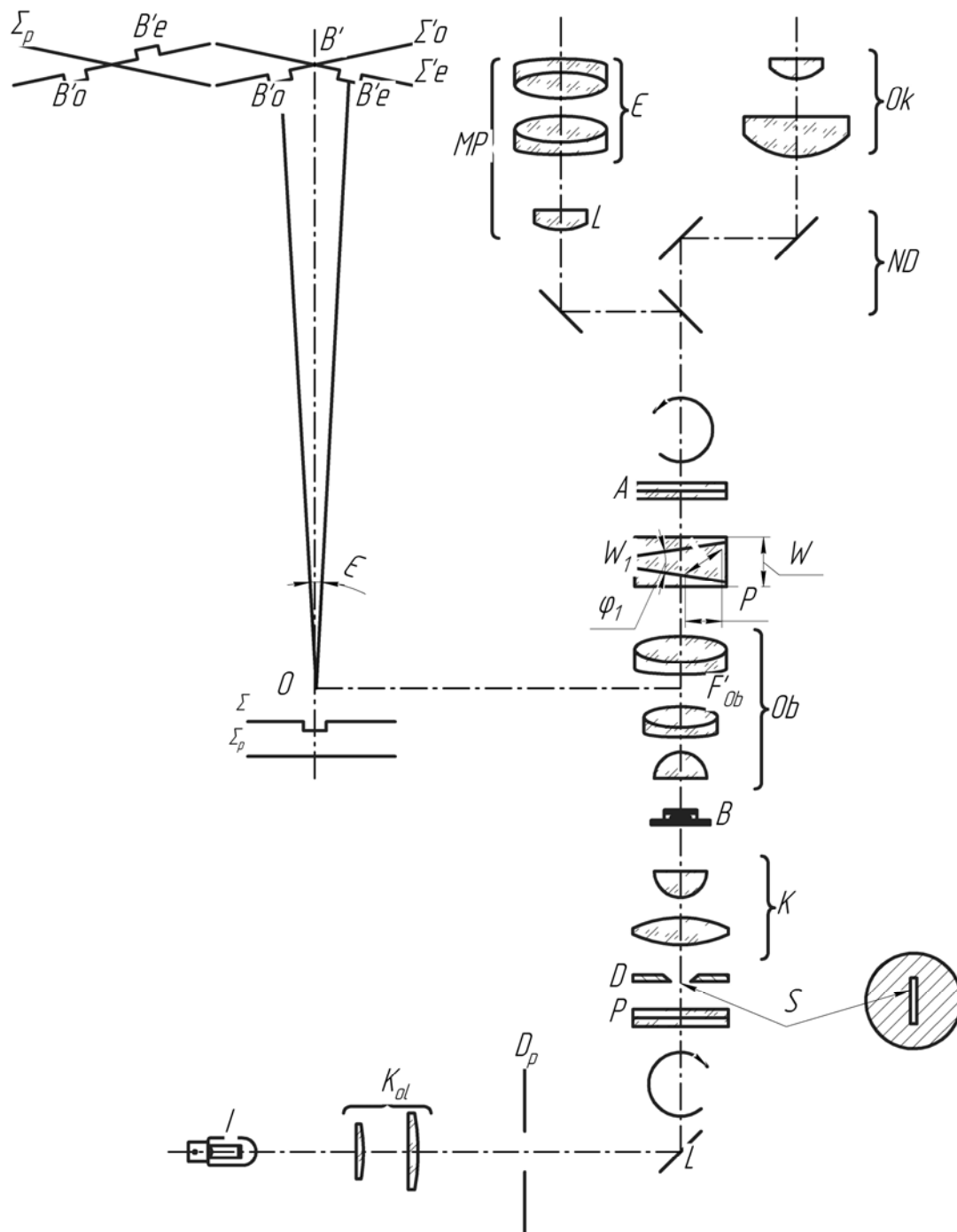


Рис.2.7. Схема оптичної системи поляризаційно-інтерференційного мікроскопа з однією двозаломлюючою призмою: Z - джерело світла, K_{ol} - колектор, D_p - діафрагма поля, P - поляризатор, D - щілинна діафрагма, S - щілина, K - конденсор, B - препарат, Ob - об'єктив, W_1 - двозаломлююча призма, A - аналізатор, ND - біноклярна насадка, Ok - окуляр, MP - допоміжний мікроскоп, E - окуляр, L - об'єктив (пояснення інших позначень знаходиться в тексті).

Основною частиною, що відрізняє цей мікроскоп від звичайного біологічного мікроскопа, є поляризаційно-інтерференційна система, що складається з двохзаломлюючої призми W1, поляризатора Р, аналізатора А і щілинної діафрагми D або відповідного кварцового компенсатора.

Двозаломлююча призма W1 є призмою спеціального у типу Волластона. Вона розміщена за об'єктивом Ob і може переміщатися як в паралельному так і в перпендикулярному напрямках по відношенню до осі тубуса мікроскопа. Дія цієї призми полягає в роздвоєнні світлового пучка, що падає на неї, на два пучки: звичайний і незвичайний, а також в створенні відповідного фазового зрушення між цими пучками.

Кутове роздвоєння ε променів тим більше, чим більше заломлюючий кут φ двозаломлюючої призми. Завданням поляризатора Р і аналізатора А є лінійна поляризація світла. Це звичайні поляризаційні фільтри (поляроїди). Їх можна повертати навколо осі, паралельної напрямку проходження світла в мікроскопі. Поляризатор Р знаходиться в освітлювальній частині мікроскопа під конденсором, а аналізатор А між двозаломлюючою призмою і окуляром.

Система, що складається з поляризатора Р і аналізатора А, а також поміщеною між ними двозаломлюючою призмою W1, створює у світлі, що проходить, систему прямолінійних інтерференційних смуг. Інтенсивність цих смуг буде максимальною, якщо площини поляризації поляризатора Р і аналізатора А встановлені по відношенню до себе перпендикулярно або паралельно і складають кут 45° із заломлюючою гранню двозаломлюючої призми W1 (грань, що знаходиться при куті φ , перпендикулярна до площини рис.2.7).

Ці смуги знаходяться усередині призми W1 або на деякій відстані нижче її, тобто там, де знаходяться точки С розгалужень світлових променів. Відстань h між смугами постійна уздовж усієї довжини призми і виражено формулою:

$$h = \lambda / \varepsilon,$$

де λ - довжина світлової хвилі.

Щілинна діафрагма D знаходиться у фокусі конденсора K , причому щілина S встановлена паралельно заломлюючій грані двозаломлюючої призми $W1$. Щілина S разом з конденсором K складає коліматор, з якого виходять паралельні пучки когерентного світла, що піддається інтерференції в площині зображення мікроскопа.

Інтерференційні смуги в цій площині з'являються тільки при відповідно до звуженої щілини S , тоді як інтерференційні смуги у вихідній зіниці об'єктиву Ob , обумовлені вище, з'являються при будь-якій ширині щілини.

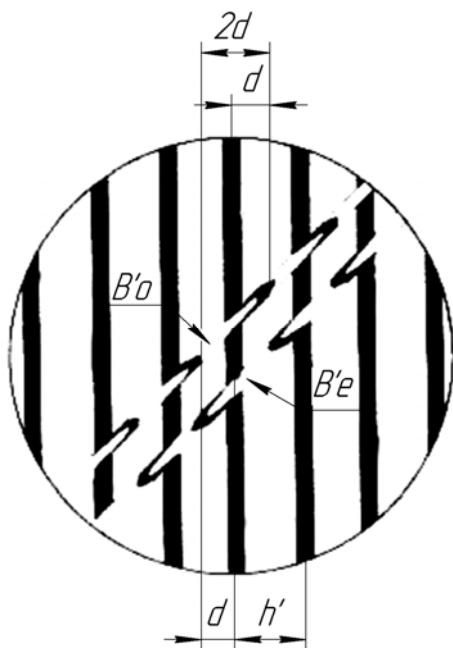


Рис.2.8. Зображення вузької смуги в інтерференційному полі смуг:

$B'o$ - звичайне зображення,

$B'e$ - незвичайне зображення,

h' - міжсмужна відстань,

d - відхилення смуг інтерференції

Після проходження світлових променів через аналізатор A отримуємо дві хвилі: звичайна $B'o$ і незвичайна $B'e$, лінійно поляризовані в паралельних по відношенню до себе площинах. Ці хвилі підлягають взаємній інтерференції і в результаті їх суперпозиції в площині зображення мікроскопа з'являється, загалом, інтерференційне зображення у вигляді прямолінійних інтерференційних смуг, спотворених в протилежних напрямках в місці появи звичайного $B'o$ і незвичайного $B'e$, зображень об'єкту B (рис.2.8).

Інтерференційне зображення в площині зображення мікроскопа, можна інтерпретувати як суперпозицію плоскої

хвилі Σ_r і хвилі Σ' , яка в просторі одного зображення досліджуваного об'єкту є такою, що випереджає по фазі, а в просторі другого зображення, такою, що запізнюється по фазі. Можна це собі уявити таким чином: за допомогою звичайного інтерферометра спостерігаємо два предмети з оптичною товщиною, відповідно, $t(n_1 - n)$ та $-t(n_1 - n)$, розсунені по відношенню до себе на відстань $r = l\epsilon / G$, де l є відстанню між точкою розбіжності світлових променів і

площиною зображення мікроскопа ($l=CB'$), ε - кут розбіжності, виражений в радіанах, G - збільшення об'єктиву мікроскопа. Отримуване інтерференційне зображення аналогічно загальновідомим інтерференційним фігурам рівної товщини, що з'являються на повітряному клині, з тією лише різницею, що в цьому випадку отримуємо два розсунені зображення одного і того ж об'єкту, причому відхилення інтерференційних смуг в цих зображеннях виступає в протилежних напрямках.

У багатьох випадках досліджень така ситуація дуже вигідна, тому що, вимірюючи подвійне відхилення смуг $2d$ (рис.2.8), отримуємо велику точність виміру різниці оптичного шляху. При застосуванні монохроматичного світла виходить інтерференційне зображення у вигляді темних і світлих смуг, що переміщуються.

При схрещених поляризаторі P і аналізаторі A , темні смуги з'являються в тих місцях, де різниця оптичного шляху між інтерференційними хвилями

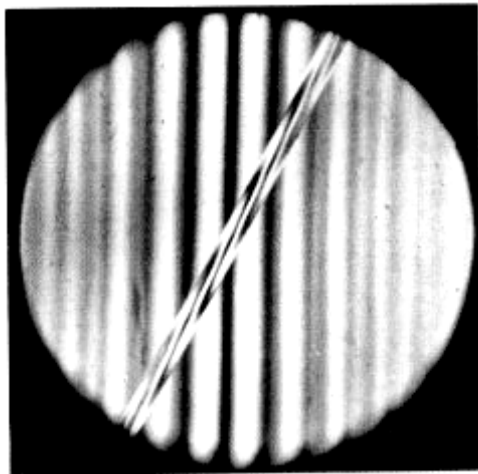


Рис.2.9. Інтерференційне поле смуг у білому світлі разом з роздвоєним зображенням волокна канадського бальзаму, зануреного в кедровій олії (двозаломлююча призма №2, об'єктив зі збільшенням $\times 10$).

Во і $B'e$ дорівнює нулю або дорівнює повній кратності довжини хвилі застосованого світла; при паралельних же поляризаторі та аналізаторі темні смуги пробігають в тих місцях, де різниця оптичного шляху між цими хвилями дорівнює непарній кратності $\lambda/2$. У разі застосування білого світла, інтерференційні смуги забарвлені, за винятком нульової смуги при схрещених поляризаторі і аналізаторі, причому у міру зростання порядку інтерференції вони стають усе менш інтенсивними і врешті-решт зникають (рис.2.9).

Представлений вище метод, який надалі називатиметься методом інтерференційних смуг, придатний для досліджень особливих об'єктів, а також невеликих об'єктів, яких зображення

можуть бути роздвоєні принаймні в 50%. При цьому подовжені предмети, якість: волокна, тонкі поясочки або грані, треба встановлювати під кутом в 45° до напрямку інтерференційних смуг (рис.2.8).

Вимірюючи відстань між смугами h' і зміщення смуг d , а також знаючи коефіцієнт заломлення n_1 докільля, можна визначити коефіцієнт заломлення n , досліджуваного об'єкту, якщо відома його товщина t , або ж товщину t , якщо відомий коефіцієнт заломлення n . Застосовуючи дві імерсійні рідини з відомими коефіцієнтами заломлення n_1 і n , можна одночасно визначити t і n .

Інтерференційне зображення смуг в площині зображення мікроскопа виходить тільки тоді, коли площина локалізації інтерференційних смуг двозаломлюючої призми $W1$ не співпадає з фокусом $F'ob$ об'єктиву Ob мікроскопа. Якщо двозаломлюючу призму наближатимемо до об'єктиву Ob , то інтерференційні смуги все більш і більш розширюються в площині зображення мікроскопа, переходячи в широкі смуги, і нарешті, виходить однорідне поле. Такі умови з'являються тоді, коли точка розділу світлових променів точно співпадає з фокусом $F'ob$ об'єктиву. У такому разі, фронтальні поверхні хвилі $B'o$ і $B'e$ не перетинаються та не нахилені по відношенню до себе, як це має місце у разі раніше описаного методу інтерференційних смуг, але є взаємно паралельними (рис.2.10).

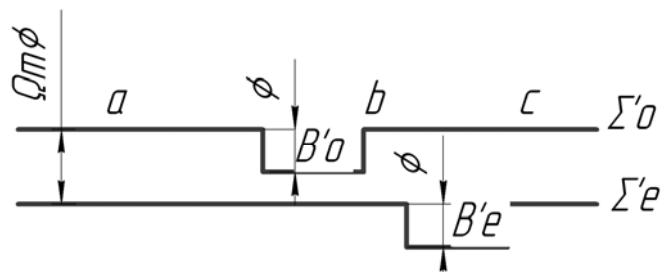


Рис.2.10. Схема методу інтерференційних смуг

Різниця оптичного шляху ψ за межами простору, де з'являються роздвоєні зображення $B'o$ і $B'e$ об'єкту B , не змінюється тепер безперервно, але є постійною величиною. В результаті, фон поля зору мікроскопа представлений у вигляді однорідного кольору, а спостерігаємий об'єкт у вигляді зміни цього кольору в місці появи роздвоєних зображень $B'o$ і $B'e$ або зміни яскравості за умови застосування монохроматичного світла. Яскравість поля зору залежить при цьому від різниці оптичного шляху між хвилями $B'o$ і $B'e$. При схрещених поляризаторі і аналізаторі, фон поля зору буде максимально темним, якщо

різниця оптичного шляху ψ дорівнює нулю або повній кратності довжини хвилі λ застосованого світла. Навпаки, для різниці оптичного шляху ψ рівної непарної кратності $\lambda/2$ поле зору буде максимально світлим. Для проміжних значень яскравість поля відповідно змінюватиметься. При паралельному встановленні поляризатора і аналізатора ситуація змінюється: мінімальне затемнення поля зору маємо для $\psi = m\lambda$ ($m = 0; 1; 2...$), а максимальне для $\psi = m \lambda/2$ ($m = 1; 3; 5$).

При застосуванні білого світла, разом зі зміною різниці оптичного шляху ψ , маємо справу загалом, не зі змінами яскравості, але зі зміною кольору. Інтерференційні кольори для різних оптичних шляхів ψ , як при тих, що схрещуються так і при паралельно встановленому поляризаторі і аналізаторі. Отже, наприклад, для $\psi = 0$, у разі схрещених поляризатора і аналізатора, отримуємо темний колір, який потім, у міру зростання ψ , переходить в сірий колір, білий колір і в різні відтінки жовтого і червоного кольорів. Для $\psi = 565$ нм з'являється так званий чутливий колір першого інтерференційного порядку. Це пурпурний колір, що характеризується тим, що швидко переходить в червоний або фіолетовий колір, якщо різниця оптичного шляху ψ піддається незначній зміні. Таким чином, отримуємо великий стрибок кольору, при незначній зміні різниці оптичного шляху. У разі паралельної установки поляризатора і аналізатора, чутливий колір першого порядку з'являється для $\psi = 280$ нм.

Значення різниці оптичного шляху ψ , між хвилями $B'o$ і $B'e$, що інтерферують залежить від того, в якому місці двозаломлюючої призми W_1 проходить світло. Пересуваючи цю призму в напрямі перпендикулярному до осі мікроскопа, можна змінювати різницю оптичного шляху ψ і тим самим, яскравість або колір фону поля зору мікроскопа і зображень спостерігаємих об'єктів.

Це дає можливість відповідного підбору умов спостереження в кольірному інтерференційному контрасті, а також робить можливим виконання виміру різниці оптичного шляху Φ , викликаної досліджуваним об'єктом.

Нехай, наприклад $\Phi = 100$ нм, тоді у В'о різниця оптичного шляху $\psi = 460$ нм (помаранчевий колір), а у В'е $\psi = 660$ нм (блакитний колір). Для $\psi = 0$ (при схрещених поляроїдах), тобто при установці двозаломлюючої призми на темний колір, обидва зображення будуть забарвлені однаково в лавандо-сірий колір. При установці двозаломлюючої призми на інший колір фону поля зору, роздвоєні зображення приймають звичайно інший колір. Отже, встановлюючи двозаломлюючу призму на різні кольори фону поля зору і оцінюючи зміну кольору в роздвоєних зображеннях досліджуваного об'єкту можна потім визначити різницю оптичного шляху Φ цього об'єкту по відношенню до довкілля.

У разі дослідження об'єктів з товщиною, що змінюється, або з коефіцієнтом заломлення, що змінюється, різниця оптичного шляху ψ в зонах роздвоєних зображень не є постійною, а змінюється (рис.2.11).

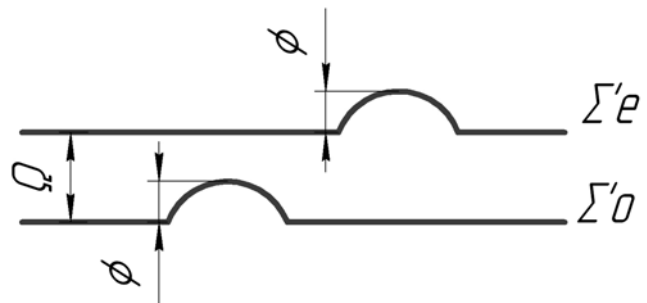


Рис.2.11. Схема визначення різниці оптичного шляху в зонах роздвоєних зображень

У зв'язку з цим відповідно змінюватимемося також колір або яскравість окремих місць зображення. По зміні кольору можна судити про зміну різниці оптичного шляху в предметі, або навпаки, затемнюючи окремі частини зображення можна визначити різницю оптичного шляху в кожній точці досліджуваного об'єкту.

Досі розглядався тільки випадок повного роздвоєння обох (звичайного і незвичайного) зображень досліджуваного об'єкту. Ситуація дещо міняється, коли зображення не розділені повністю і частково знаходяться на собі. Різниця полягає в тому, що в зоні узгодження зображень відсутня зміна кольору (чи яскравості фону поля зору), якщо досліджуваний предмет ізотропний і оптично однорідний. Представлений вище метод, який надалі називатиметься методом однорідного кольору з великим роздвоєнням зображення, особливо

добре годиться для дослідження окремих об'єктів (клітин, бактерій невеликих мікроорганізмів), тонких однорідних шарів і плівок, дрібних кристалів тощо.

Особливо цікавий варіант методу однорідного кольору в поляризаційно-інтерференційному мікроскопі є диференціальний метод, при якому поперечне роздвоєння хвиль, що підлягають інтерференції, дуже невелике, порядку роздільної здатності об'єктиву мікроскопа.

Цей метод може бути пояснено самим кращим чином на прикладі порівняно простого об'єкту, що відрізняється м'яким зменшенням різниці оптичного шляху, наприклад, краплі рідини, поміщеної на предметному склі мікроскопа (рис.2.12, а).

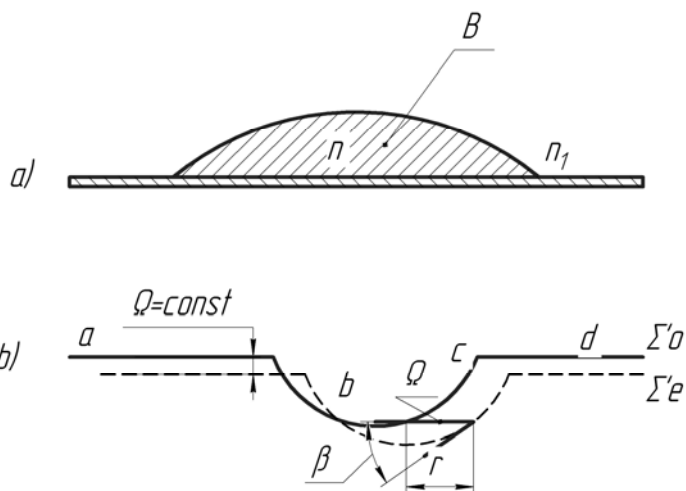


Рис.2.12. Схема розташування (а) та розрахункова схема (б) краплини рідини на предметному склі

Якщо коефіцієнт заломлення n цього об'єкту більше коефіцієнта заломлення n_1 довкілля, то фронтальні поверхні хвиль $B'o$ і $B'e$, що підлягають інтерференції, набувають форми, представлені на рис.2.12, б. Як видно, різниця оптичного шляху між хвилями $B'o$ і $B'e$ є постійною тільки за межами зображення даного об'єкту в просторі a і d , де колір однорідний. У просторі зображення різниця оптичного шляху не є постійною і змінюється безперервним чином. Отже і забарвлення зображення безперервно змінюється. При симетричній зміні оптичного шляху в даному об'єкті, окремі кольори в його зображенні змінюються симетрично по відношенню до кольору фону, причому центральна частина зображення має такий же колір як фон поля зору.

Основною відмінністю від раніше описаних методів, є те, що різниця оптичного шляху ψ в інтерференційному зображенні не виражає безпосередньо різниці оптичного шляху Φ в об'єкті, але тільки зменшення цієї різниці у напрямі роздвоєння зображень.

Як видно з вище викладеного, диференціальний метод надає значно більше можливостей вимірів, чим метод однорідного кольору з великим роздвоєнням зображення. Але не лише в цьому полягає перевага методу. Окрім численних можливостей виконання кількісних вимірів він надає також надзвичайно цікаві можливості якісних досліджень. Пов'язано це з тим, що диференціальне інтерференційне зображення відрізняється великою пластичністю, просторовістю і точністю відтворення, позбавлено шкідливих облямовувань ("гало") й інших небажаних ефектів типових для фазового контрасту, і дає значно більше інформації про форму, структуру і вид різних об'єктів (як фазових, так і амплітудних), чим фазовий контраст.

Збільшення контрастності в темному полі теж має свої недоліки. При темнопольному методі дослідження спостерігається картина протилежна до контрастного зображення у світлому полі. Темні місця в темному полі будуть світлими, а світлі - темними. Крім того, темнопольна мікроскопія дозволяє побачити тільки контури мікрооб'єкту, але не дає можливості вивчити внутрішню структуру клітини або мікроорганізму.

Перераховані недоліки виключає метод фазово-контрастної мікроскопії. Основна відмінність цього методу полягає в тому, що при його допомозі отримують надзвичайно контрастні зображення у світлому полі живих незабарвлених клітин і тканин.

Суть фазово-контрастного методу полягає в перетворенні фазових зміщень світлових хвиль, які утворюються при проходженні через напівпрозорі елементи препарату в коливання з іншою амплітудою.

Практичне здійснення методу фазового контрасту досягається таким чином. У передній фокальній площині конденсора замість ірисової діафрагми встановлена кільцеподібна діафрагма, яка зображується у вихідній зіниці об'єктиву поблизу заднього фокусу. Фазова пластинка з фазовим кільцем поміщається в площині зіниці виходу об'єктиву. Розміри кільця дорівнюють розмірам зображення кільцевої діафрагми конденсора. Фазове кільце поглинає значну частину прямо минулого світла і змінює амплітуду світлових коливань.

Фазове кільце є витравленою канавкою. Таким чином, промені, не відхилені об'єктивом, проходять в пластині дещо менший шар скла, чим діафрагмовані промені і фаза світла, що проходить прямо випереджає фазу діафрагмованого. Тому, зображення фазових утворень препарату, що досліджується, які мають високий коефіцієнт заломлення, виглядає темнішим за зображення фазових утворень з малим коефіцієнтом заломлення. Описана вище методика носить назву «Позитивний фазовий контраст».

Якщо фазове кільце представляє собою тонку кільцеподібну плівку з прозорої речовини, то прямі промені проходять з деяким запізнюванням і елементи препарату з великим коефіцієнтом заломлення виглядають світлішими. Ця методика дістала назву "Негативний фазовий контраст".

У основному, фазово-контрастний мікроскоп застосовується в мікробіологічних і цитологічних дослідженнях - вивченні різних видів живих мікроорганізмів на різних стадіях життєвого циклу, в дослідженнях структури клітин (хромосоми, ядра, апарат Гольджі) і при аналізі змін, викликаних різними хімічними агентами.

Широко використовується фазово-контрастний мікроскоп в клінічних лабораторіях при вивченні опадів сечі, вагінальних виділень, для обліку і вивчення рекулоцитів і кров'яних пластинок, для дослідження простих і їх цист, живих бактерій, процесів аглютинації, вірусів і вірусних тілець, крім того при дослідженні матеріалу біопсій.

Провідні компанії по розробці і виробництву мікрооптичних систем комплектують біологічні мікроскопи устаткуванням для проведення фазово-контрастної мікроскопії. Так, компанія "Micros" пропонує подібний набір для мікроскопів MC 100, MC 300 и MC 300X ERGO.

Принцип дії поляризаційно-інтерференційного мікроскопа з двома двозаломлюючими призми (застосування поляризаційно-інтерференційних об'єктивів).

Сфера застосування поляризаційно-інтерференційного мікроскопа з однією двозаломлюючою призмою у разі використання методу однорідного

кольору з великим роздвоєнням зображення (призма №3) обмежується дослідженнями об'єктів, що мають порівняно невеликі поперечні розміри невеликих біологічних клітин і тонких волокон або таких подовжених препаратів, які відрізняються крутими краями і однорідні відносно різниці оптичного шляху.

Значне роздвоєння зображення в інтерференційному однорідному полі виходить при заміні звичайних об'єктивів, що входять в комплект мікроскопа, об'єктивами з великим роздвоєнням зображення (поляризаційно-інтерференційні об'єктиви). Введення об'єктивів з великим роздвоєнням зображення в систему мікроскопа створює поляризаційно-інтерференційний мікроскоп, схема якого представлена на рис.2.13.

Призма W_1 (у інтерференційній голівці) і W_2 (у об'єктиві) разом зі схрещеними або встановленими паралельно поляроїдами P і A і щілиною S , поміщеною у фокусі конденсатора K і встановленої паралельно заломлюючої грані призми W_1 , є як би подвійним поляризаційним інтерферометром. Призма W_2 з порівняно великим заломлюючим кутом знаходиться безпосередньо за останньою лінзою об'єктиву Ob і може обертатися навколо його осі, причому площина H_2 в якій поміщаються інтерференційні смуги цієї призми, співпадає з фокусом F' , об'єктиву Ob . В той же час двозаломлююча призма W_1 має значно менший заломлюючий кут φ_1 знаходиться в інтерференційній голівці.

Обертальний рух призми W_2 служить зміні величини роздвоєння зображення, а саме, якщо ця призма встановлена так, що її заломлюючий кут φ_2 спрямований також як заломлюючий кут φ_1 призми W_1 , то виходить максимальне роздвоєння g зображення, що є сумою роздвоєнь g_1 і g_2 , що задаються кожною призмою окремо.

Навпаки, якщо призма W_2 встановлена так, що її заломлюючий кут φ_2 спрямований в протилежному напрямі по відношенню до заломлюючого кута φ_1 призми отримуємо результуюче роздвоєння g зображення рівне різниці роздвоєнь g_2 і g_1 .

У проміжному положенні, коли заломлююча грань призми W_2 знаходиться під кутом 45° по відношенню до заломлюючої грані призми W_1 , отримуємо результуюче роздвоєння γ рівне роздвоєнню γ_1 , яке дає тільки призма W_1 .

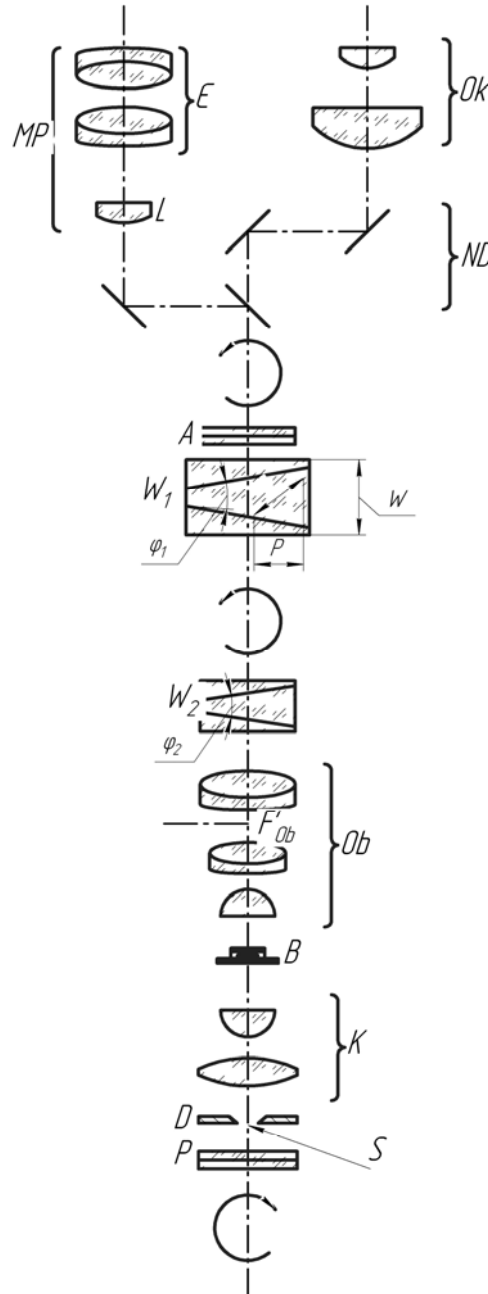


Рис.2.13. Схема оптичної системи поляризаційно-інтерференційного мікроскопа з двома двозаломлюючими призмами: P - поляризатор, D - діафрагма конденсора з щілиною S, K - конденсор, П - предметна площина мікроскопа, Об - об'єктив, W_2 - двозаломлююча призма, що обертається, W_1 - двозаломлююча призма, що пересувається у вертикальному напрямі "w" і горизонтальному "p", A - аналізатор, ND - бінокулярна насадка, Ok - окуляр, MP - допоміжний мікроскоп, L - об'єктив, E - окуляр (пояснення інших позначень знаходяться в тексті).

Таким чином, повертаючи призму W_2 навколо осі об'єктиву Об отримуємо три різні величини роздвоєнь зображення: $r_2 + r_1$; r ; $r_2 - r_1$.

Отже, залежно від ширини досліджуваного предмета, можна швидко підбирати відповідне роздвоєння зображення без необхідності заміни об'єктиву або двозаломлюючої призми, як це має місце при поляризаційно-інтерференційному мікроскопі з однією тільки двозаломлюючою призмою. Максимальних значень роздвоєнь, що набувають при цьому, при об'єктивах з різними збільшеннями можуть бути у декілька разів більше, що створює можливість проведення вимірів різниці оптичного шляху на розтягнутих об'єктах, широких біологічних клітинах і навіть на біологічних зрізах.

У разі застосування призми з інтерференційними смугами №2 (W_1) і при протилежній установці призми W_2 по відношенню до неї (φ_1 спрямований в протилежному напрямі по відношенню до φ_2), отримуємо поле з інтерференційними смугами з диференціальним роздвоєнням зображення. Ця можливість недопустима при системі з однією двозаломлюючою призмою. Пересуваючи призму з інтерференційними смугами №2 у вертикальному напрямі можна отримати незначні різниці роздвоєнь зображення, що викликаються однією та іншою призмою, і тим самим, залежно від ширини досліджуваного об'єкту і існуючого в ній градієнта різниці оптичного шляху, можна підбирати оптимальні умови спостереження і вимірів.

Метод диференціальної інтерференції із смугастим полем особливо придатний при вимірі подвійного променезаломлення волокна і двозаломлюючих плівок, особливо плівок, які характеризуються дрібними місцевими неоднорідностями.

Повертаючи призму W_2 на 180° так, щоб напрям її заломлюючого кута φ_2 співпадав з напрямом заломлюючого кута призми з інтерференційними смугами №2, отримуємо велике роздвоєння зображення, що дозволяє вимірювати різницю оптичного шляху, як ізотропних так і анізотропних об'єктів, а також визначення їх товщини, коефіцієнтів заломлення й інших фізичних величин.

Маючи у своєму розпорядженні комплект об'єтивів з двозаломлюючими призми W_2 можна проводити мікроскопічні дослідження, використовуючи чотири інтерференційні методи, а саме:

- метод однорідного інтерференційного кольору з великим роздвоєнням зображення, що змінюється (призми №3 і 1),
- метод диференціальної інтерференції в однорідному полі (призма №1),
- метод інтерференційних смуг з великим роздвоєнням зображення, що змінюється (призма №2),
- метод диференціальної інтерференції в смугастому полі (призма №2).

2.2.1.2 Інвертовані мікроскопи

Інвертовані мікроскопи - це фактично перевернуті звичайні мікроскопи, в яких об'єкт досліджується з нижнього боку. У місце покривного скла, яке не потрібно для мікроскопів цієї конструкції, використовується прозоре дно лабораторного посуду, через яке і ведеться спостереження. Ці мікроскопи дозволяють досліджувати об'єкти великої товщини і об'єктів, поміщених в лабораторний посуд. Подібні моделі успішно використовуються для дослідження рослинних, тваринних клітин і тканин, що проводяться в таких галузях науки, як вірусологія, бактеріологія, молекулярна біологія та репродукція.

Особливостями інвертованих мікроскопів (рис.2.14) є: достатньо великий предметний стіл, що дозволяє встановлювати на нього посуд будь-якої форми і розміру; збільшена робоча відстань використовуваних об'єтивів, а також і конденсорів, що дозволяє проводити маніпуляції з об'єктом дослідження; наявність пристроїв для проведення досліджень по методу фазового контрасту, оскільки об'єкти дослідження, у більшості своїй, прозорі і мало контрастні.



Рис.2.14. Зовнішній вигляд інвертованого мікроскопу

2.2.2 Мікроскопи, що працюють на віддзеркалення

Розглянемо детальніше принципову оптичну схему біологічних мікроскопів, що працюють на віддзеркалення (рис.2.15) [43]. Оптична система для дослідження об'єктів у віддзеркаленому світлі та при змішаному освітленні, аналогічна до оптичної схеми мікроскопу, що працює на просвітлення (див. рис.2.5).

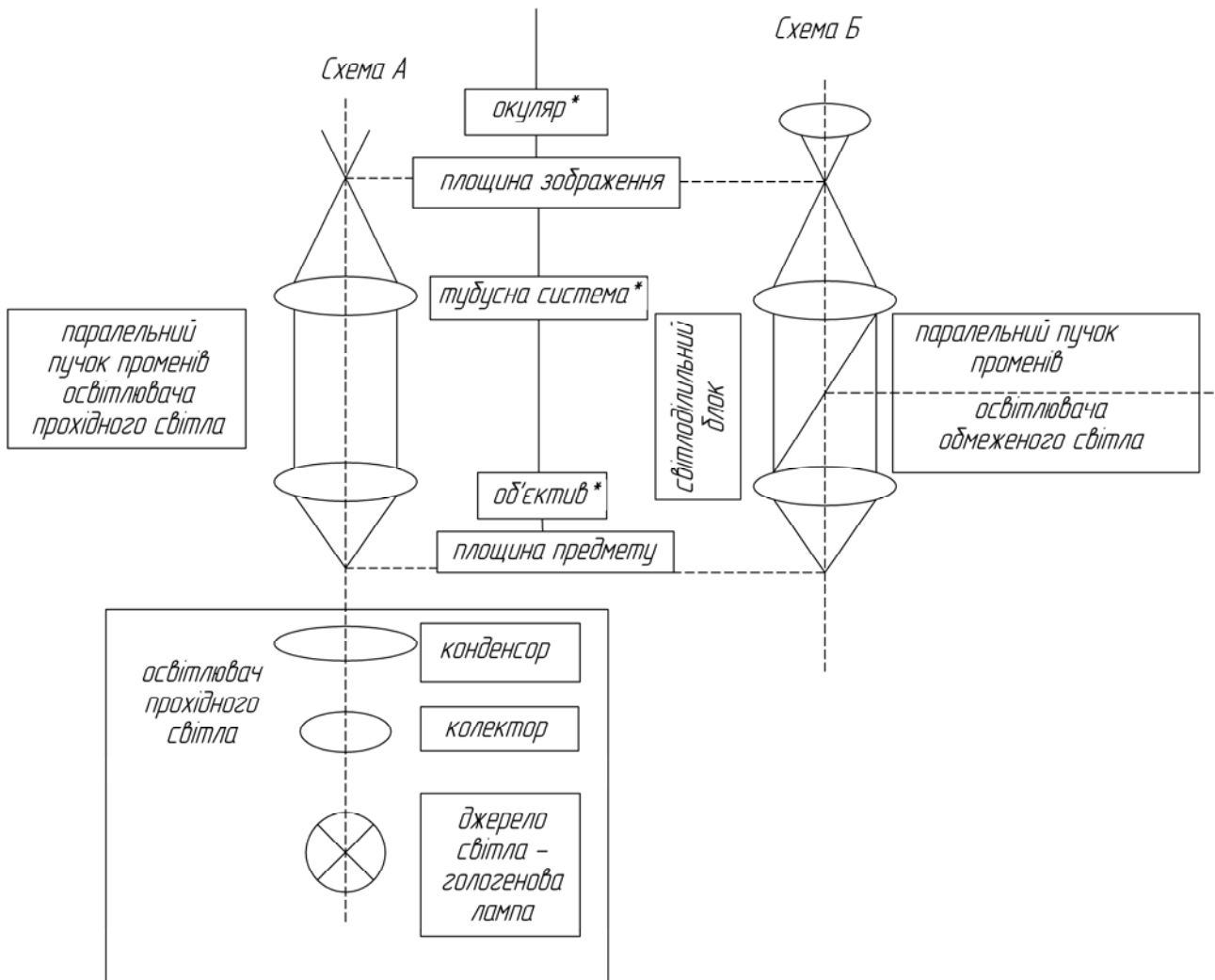


Рис.2.15. Принципова оптична схема мікроскопів останнього покоління з довжиною тубуса "нескінченність": а - мікроскоп світла, що проходить; б - мікроскоп люмінесцентний, що працює на віддзеркалення

При дослідженні об'єктів у віддзеркаленому світлі у світловому полі в хід променів включають дзеркало (поз.8) і віддзеркалювач (поз.9) світлого поля ("СП"). Колектор (поз.2) і лінза (поз.10) проєктують джерело світла в площину апертурної діафрагми (поз.11), яка лінзами (поз.12, 13, 20) проєктується

у вихідну зіницю об'єктиву (поз.15). Польова діафрагма (поз.14) лінзами (поз.12, 13), відбивачем (поз.9) і об'єктивом (поз.15) проектується в площину об'єкту. Світло, відбите від об'єкту, проходить через об'єktiv (поз.15) і відбивач (поз.9) у візуальний тубус (поз.21).

При роботі у віддзеркаленому світлі використовуються епіоб'єктиви, розраховані для тубуса завдовжки понад 190 мм. Ахроматична лінза (поз.7) при цьому має бути вилучена з ходу променів.

Для отримання темного поля при роботі у відбитому світлі замість відбивача (поз.9) включається кільцеве дзеркало (поз.16) і діафрагма (поз.17).

Для дослідження невеликих напівпрозорих і непрозорих об'єктів (наприклад, дрібних комах, зерен, кристалів і тому подібне) за допомогою слабких і середніх об'єktivів рекомендується використати змішане освітлення, тобто освітлення об'єкту знизу і згори.

Розділення світлового пучка від джерела світла, відбувається за допомогою світлоподільної пластинки (поз.18).

Між освітлювальною системою, що закінчується конденсором, і відтворюючою оптичною системою, що розпочинається з об'єктиву, розташована площина предмета, на яку встановлюється препарат (об'єкт спостереження). Завершальною в оптичній схемі мікроскопа світла, що проходить, є візуалізуюча система, що складається з тубусної системи, додаткових оптичних систем збільшення, так званої "система Оптовар" (якщо така є) і окулярів.

Між об'єктивом і окуляром знаходиться площина зображення, розташована на строго фіксованій відстані, визначена поняттям "Довжина тубуса" мікроскопа.

Тубусна система – це проміжна оптична система, яка забезпечує проекцію зображення, що створюється об'єктивом, розрахованим на "нескінченність", в площину зображення. Таким чином, паралельний пучок світла, що виходить з об'єктиву, тубусна система "перетворює" на пучок, що сходиться, і забезпечує формування зображення для подальшої проекції його за

допомогою окуляра (чи адаптера фотовідеосистеми) на сітківку ока спостерігача (чи на матрицю /фотоплівку камери).

У концепції покоління мікроскопів 60-х-70-х років, коли довжина тубуса була "кінцевою" і визначеною (160 мм), тубусна система виконувала роль додаткової системи збільшення (системи Оптовар) і мала збільшення більше або менше $\times 1$.

Наприклад, у вітчизняних мікроскопах бінокулярна насадка ДУ-12 мала збільшення $\times 1,5$ (якщо "новий" мікроскоп має кінцеву довжину тубуса 160 мм і тубусну систему зі збільшенням більше або менше $\times 1$, то це говорить про те, що мікроскоп відноситься до попереднього покоління). У нових мікроскопах, розрахованих на довжину тубуса "нескінченність" (маркування на бінокулярній насадці " ∞ "), ця система має збільшення $\times 1$.

У сучасних мікроскопах, що працюють на віддзеркалення відбувається поєднання обох оптичних освітлювальних систем - світла, що проходить, і віддзеркаленого світла. Останнє відноситься до оптичної схеми люмінесцентної освітлювальної системи (системи віддзеркаленого світла), де роль конденсора виконує об'єктив. Через об'єктив проходить світловий потік, освітлюючий препарат, і за допомогою того ж об'єктиву будується зображення препарату.



Рис.2.16. Схема темнопольної мікроскопії у світлі, що падає

2.2.2.1 Темнопольна оптична мікроскопія

Темнопольна оптична мікроскопія – вид оптичної мікроскопії, в якій контраст зображення збільшують за рахунок реєстрації тільки світла, розсіяного зразком, що вивчається.

При використанні методу темного поля реєструються навіть незначні

відмінності в заломлюючій здатності ділянок препарату [20].

Принцип дії оптичної мікроскопії темного поля полягає в тому, що неоднорідності зразка розсіюють світло, і це розсіяне світло формує зображення досліджуваного зразка.

Особливістю мікроскопа темного поля є спосіб освітлення зразка, який здійснюється "збоку" (стрілка на рис.2.16). При такому освітленні неоднорідності, наявні в зразку, розсіюють світло, що падає, і в мікроскопі зображення зразка спостерігають в розсіяному світлі, а освітлююче світло "безпосередньо" не потрапляє в об'єктив.

Підсвічування зразка здійснюється збоку. Зображення створюється світлом, що розсіюється на неоднорідностях зразка.

Таке освітлення називається епіпідсвіткою (EPI - illuminator, EPI - microscope, EPI - objective lens).

У мікроскопах використання методу темного поля може бути передбачене конструкцією [44] чи реалізується установкою додаткових вузлів, таких, як конденсор темного поля ОИ-13.

Темнопольна мікроскопія застосовується для отримання зображень живих і незабарвлених біологічних зразків, таких, як окремі водні одноклітинні організми, рис.2.17.

Основним обмежуючим чинником методу є те, що тільки мала частина світла, що падає, у результаті формує зображення, тому необхідно застосовувати досить потужні джерела світла, що іноді призводить до ушкоджень зразка (зараз іноді використовують лазери).

Темнопольна мікроскопія практично позбавлена артефактів. Проте, інтерпретація отримуваних зображень вимагає великої обережності, оскільки деякі деталі, не видимі методом світлопольної мікроскопії, видно методом темнопольної мікроскопії, і навпаки. На перший погляд можна було б



Рис.2.17. Зображення мізиди, отримане темнопольною мікроскопією (інвертоване зображення)

зробити припущення, що зображення, яке отримується темнопольним методом являється просто негативом по відношенню до отримуваних світлопольним методом, проте, насправді, кожен з цих методів робить видимою різні особливості зразка. У світлопольній мікроскопії особливості видимі, якщо вони роблять тіні, або мають відмінний від оточення коефіцієнт заломлення і при цьому досить різкі, тоді як, наприклад, плавні неоднорідності не можуть бути спостережувані цим методом, проте, добре помітні на картинках, що отримуються методом темнопольної мікроскопії, рис.2.18.

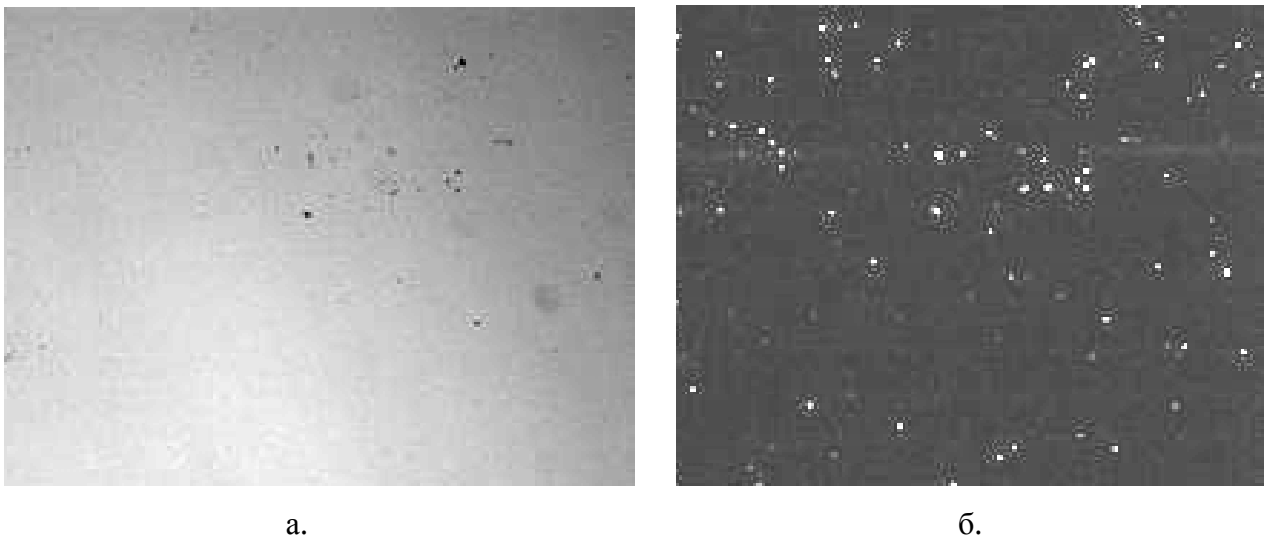


Рис.2.18. Зображення полірованої алмазної пластини, яке отримане в мікроскопі світлого поля (а) та темного поля (б)

Темнопольна мікроскопія може застосовуватися для прижиттєвого вивчення незабарвлених біологічних об'єктів - простих, ізольованих клітин, тканинних культур, для дослідження субклітинних структур живих незабарвлених клітин [45].

Темнопольна мікроскопія останнім часом використовується у виробництві комп'ютерних мишей [46] з тим щоб забезпечити роботу оптичних мишей у тому числі і на прозорих стеклах, що мають мікроскопічні дефекти або пил на поверхні.

2.2.2.2 Стереомікроскопія

Стереомікроскопи, як і інші види оптичних мікроскопів, дозволяють працювати як у світлі, що проходить, так і у віддзеркаленому світлі [47], рис.2.19. Зазвичай вони мають змінні окуляри бінокулярної насадки і один незмінний об'єктив (є і моделі зі змінними об'єктивами). Більшість стереомікроскопів дають істотно менше збільшення, ніж сучасні оптичні мікроскопи, проте має істотно більшу фокусну відстань, що дозволяє розглядати великі об'єкти. Крім того, на відміну від звичайних оптичних мікроскопів, які дають, як правило, інвертоване зображення, оптична система стереомікроскопів не «перевертає» зображення. Це дозволяє широко використати їх для препарування мікроскопічних об'єктів вручну або з використанням мікроманіпуляторів.

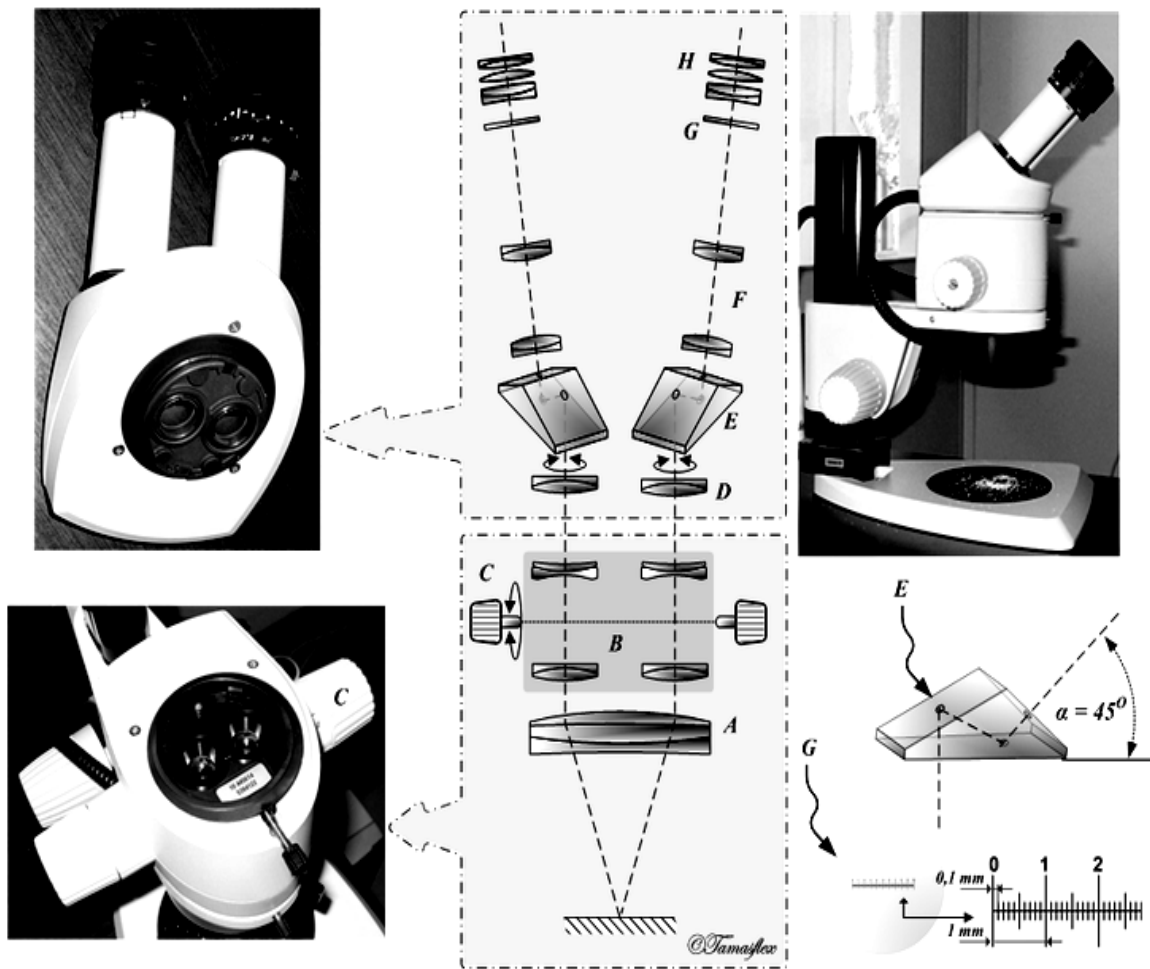


Рис.2.19. Оптична схема сучасного стереомікроскопу «Альтами ПС II»:

А – об'єктив, В – тубус Галілея (обертівні об'єктиви), С – регулятор збільшення,
D – вбудований об'єктив, Е – призма, F – лінзи Релея, G – візир, H – окуляр

Найширше бінокулярні використовуються для дослідження неоднорідностей поверхні твердих непрозорих тіл, таких як гірські породи, метали, тканини, у мікрохірургії тощо.

2.2.2.3 Люмінесцентна мікроскопія

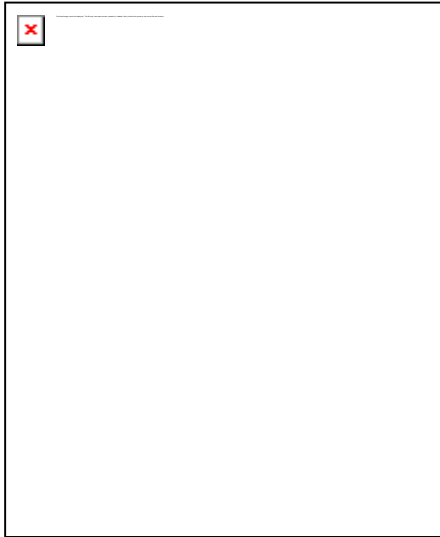


Рис.2.20 - Люмінесцентний мікроскоп Альтами ЛЮМ 1

Принцип дії люмінесцентних мікроскопів ґрунтується на властивостях флуоресцентного випромінювання, рис.2.20. Мікроскопи використовуються для дослідження прозорих і непрозорих об'єктів. Люмінесцентне випромінювання, по-різному відбивається різними поверхнями і матеріалами, що і дозволяє успішно застосовувати його для проведення імунохімії, імунологічних, імуноморфологічних та імуногенетичних досліджень.

В порівнянні з іншими методами мікроскопії, дослідження у світлі люмінесценції має ряд переваг: швидка підготовка препаратів, кольорове світіння, висока міра контрастності, можливість дослідження прозорих і непрозорих живих об'єктів, проведення динамічних спостережень за функціональними змінами в клітинах і тканинах, рис.2.21. При опроміненні ультрафіолетовими або синьо-фіолетовими променями препарат починає виділяти світлові промені, які мають велику довжину хвилі чим поглинені.

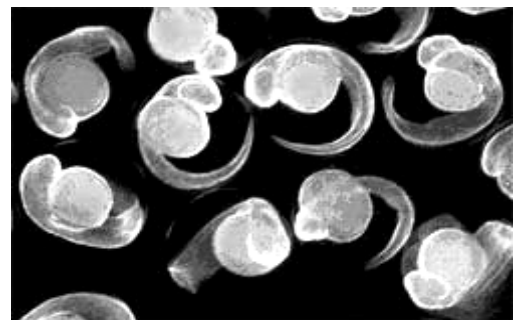


Рис.2.21. Зображення зародків
мальків отримане методом
люмінесцентної мікроскопії

У цій методиці використовуються також барвники - флуорохроми, які не викликають сильного забарвлення препаратів в звичайному світлі, але викликають флуоресценцію при опроміненні ультрафіолетовими променями.

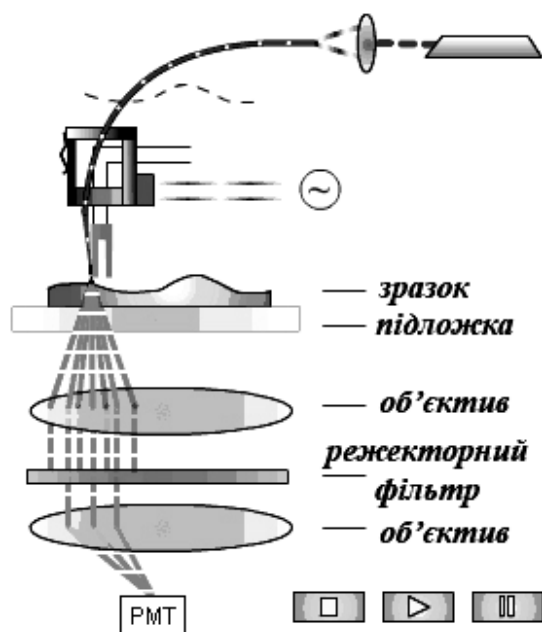


Рис.2.22. Принципова схема люмінесцентного мікроскопу

Принципова схема флуоресцентного мікроскопа, рис.2.22, складається з джерела ультрафіолетового випромінювання, що збуджує і замикає світлофільтрів, теплозахисного фільтру і спеціального люмінесцентного об'єктиву.

Джерело світла випромінює хвилі ультрафіолетового спектру, які проходять через фільтр, де відсікаються хвилі іншого спектрального ряду. Ультрафіолетові промені потрапляють на препарат, що вивчається, і викликають його люмінесценцію. Світло

люмінесценції проходить через замикаючий фільтр, який не пропускає світло збудження (ультрафіолетові хвилі) і формує зображення в об'єктиві.

Для проведення флуоресцентної мікроскопії використовують метод освітлення препарату у світлі, що проходить, і метод освітлення у світлі, що падає.

При освітленні у світлі дослідження, що проходить, проводяться так само як і при звичайному світлопольному методі мікроскопування, лише з тією різницею, що джерело видимого світла замінюється на джерело ультрафіолетового світла, а освітлювальна і приймаюча система комплектується спеціалізованими фільтрами. Проте цей спосіб освітлення має цілий ряд недоліків.

При фокусуванні світлопольним конденсором практично увесь пучок ультрафіолетових хвиль потрапляє в об'єктив, що вимагає наявності замикаючих фільтрів високої якості, оскільки інтенсивність ультрафіолетової хвилі, що проходить, значно інтенсивніша за світлову хвилю флуоресценції.

Технологічно важко поєднати метод флуоресценції з іншими методами мікроскопії (фазовим контрастом, світлопольної мікроскопії).

При освітленні у світлі, що падає, ультрафіолетова хвиля проходить через систему світлоподільних дзеркал, яка розташовується на шляху світла і освітлює досліджуваний препарат згори. Кольорові світлоподільні дзеркала є пристроєм, що збуджує і замикає фільтри. Світлові хвилі люмінесценції препарату падають на додатковий світловий фільтр, що відсікає залишки ультрафіолетових хвиль, і потрапляють в об'єктив мікроскопа.

Освітлення променем, що падає, при флуоресцентному методі має значні переваги перед освітленням у світлі, що проходить. Оптична система працює і як конденсор і як об'єктив, що значно полегшує налаштування мікроскопа. При масляній імерсії олія наноситься тільки на препарат, тоді як у світлі, що проходить, олія наноситься і на високоапертурний конденсор.

Крім того, освітлення у світлі, що падає, дозволяє легко переходити від флуоресцентної мікроскопії до фазово-контрастної і світлопольної мікроскопії, оскільки освітлення залишається легкодоступним.

Провідні виробники мікрооптичних систем комплектують флуоресцентним блоком "професійні" мікроскопи для біологічних досліджень, а також інвертовані мікроскопи, які застосовуються в області медицини, біології та металургії. Компанія "Micros" оснащує подібним блоком мікроскопи MC-300, MC 300X ERGO, інвертований мікроскоп для біологічних досліджень MC 300X Invert ERGO.

Флуоресцентний мікроскоп використовується в медицині для виявлення цілого ряду патогенних бактерій - збудника туберкульозу, гонореї, дифтерії, поворотного тифу, дозволяє вести підрахунок бактерій в препаратах з невисоким їх вмістом; у біології при дослідженні клітинних мікроструктур, які вибірково поглинають флуорохроми; у металографії при вивченні структури металу і виявленні дефектів в сплавах; у криміналістиці для виявлення мікрочасток біологічних тканин [48].

2.2.2.4 Металографічні мікроскопи

2.2.2.4.1 Принцип дії та будова металографічних мікроскопів

Для вивчення мікроструктури металів використовують металографічні мікроскопи, принципова конструктивна схема якого наведена на рис.2.23, а оптична – на рис.2.24.

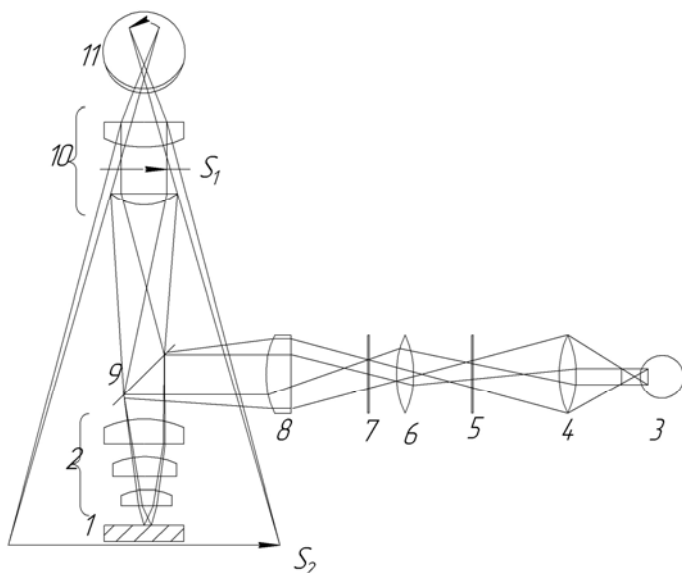
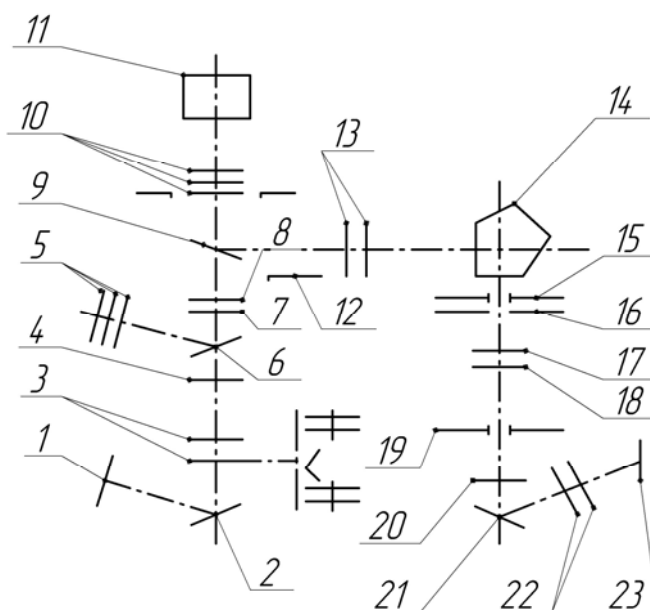


Рис.2.23. Принципова конструктивна схема металографічного мікроскопа:

- 1 – шліф, 2 – об'єктив,
- 3 – джерело світла,
- 4 – колекторна лінза,
- 5 – апертурна діафрагма,
- 6, 8 – допоміжна лінза,
- 7 – польова діафрагма,
- 9 – напівпрозора пластинка,
- 10 – окуляр, 11 – око спостерігача

Рис.2.24. Оптична система вертикального металографічного мікроскопу (на прикладі пристрою МИМ-7):

- 1 - матове скло фотокамери;
- 2, 6, 9, 21 - дзеркало;
- 3 - оптична система фотоокуляра;
- 4 - рамка; 5 - оптична система окуляра;
- 7 - ахроматична лінза; 8 - аналізатор;
- 10 - оптична система об'єктиву;
- 11 - зразок; 12 - відкидна діафрагма;
- 13, 18 - лінза; 14 - відбивна призма;
- 15 - польова діафрагма; 16 - фотозатвор;
- 17 - вкладний аналізатор;
- 19 - апертурна діафрагма;
- 20 - світлофільтр; 22 - колектор;
- 23 - освітлювальна лампа



Підготовлений відповідним чином шліф 1 поміщають перпендикулярно оптичній осі мікроскопа в площині, співпадаючій з передньою головною фокальною площиною об'єктиву 2. Шліф освітлюється таким, що проходить через об'єктив майже паралельно оптичній осі пучком світла, яке формується за допомогою освітлювальної системи, що складається з джерела (лампи) 3, колекторної лінзи 4, апертурною 5 і польовий 7 діафрагм, допоміжних лінз 6, 8 і напівпрозорої пластинки 9. Світлові промені, що відбиваються від ділянок поверхні шліфа, приблизно нормальних оптичній осі мікроскопа, потрапляють в об'єктив, а ті промені, які відбиваються від нерівностей поверхні, не потрапляють в його поле. На кінцевому зображенні поверхні ці зерна, які при підготовці шліфа зазвичай витравлюються в канавки, або частки виділень, включення і пори.

Об'єктив створює зворотне дійсне збільшене зображення зразка в передній фокальній площині окуляра S1. Окуляр додатково збільшує це зображення і формує остаточне уявне збільшене зображення зразка S2 на відстані ~250 мм від очей спостерігача 11.

При фотографуванні зображення або його спостереженні на екрані замість "очних" окулярів використовують спеціальні фотоокуляри (чи гомали), які приймають світлові промені, що йдуть безпосередньо з об'єктиву, і створюють дійсне первинне зображення на фотопластині або екрані.

Об'єктив мікроскопа складається з декількох лінз, встановлених коаксіально. Система лінз забезпечує більш повне усунення дефектів зображення (аберації), до яких відноситься хроматична і сферична аберація, астигматизм, кома, кривизна зображення і дисторсія.

Хроматична аберація обумовлена тим, що при використанні немонохроматичного світла промені з меншою довжиною хвилі заломлюються лінзою сильніше, ніж промені з більшою довжиною хвилі; в результаті виникають зображення різної величини, розташовані в різних площинах.

Сферична аберація пов'язана з різним заломленням монохроматичних променів, що проходять через різні ділянки лінзи. У разі світлових пучків

з досить великим діаметром до сферичної аберації додаються дефекти асиметрії (кома), в результаті яких зображення окремих деталей зразка, розташованих на деякій відстані від осі лінзи, виходить розмитим. Внаслідок астигматизму при проходженні через лінзу пучка променів від точкового джерела, що світиться, розташованого поза оптичною віссю, утворюються дві фокусні лінії, що знаходяться в різних площинах, а зображення точки в проміжних площинах має форму круглої або еліптичної плями розсіяння.

Аберація, що називається дисторсією, пов'язана з різним збільшенням деталей об'єкту, що знаходяться на різній відстані від оптичної осі, так що зображення прямих ліній виявляються викривленими і порушується подібність в геометричній формі між предметом і його зображенням. І нарешті, можливе викривлення зображення, при якому точкові зображення, що виникають від плоского об'єкту, перпендикулярного оптичній осі, лежать не на площині, а на викривленій поверхні.

Залежно від міри виправлення аберації і області спектру, в якій вони працюють, об'єктиви металомікроскопів поділяються на ахромати, апохромати, план-ахромати та план-апохромати.

У ахроматичних об'єктивів виправлена сферична аберація, кома і хроматична аберація для двох кольорів, найбільш важливих для візуального спостереження; кривизна зображення не виправлена. Апохроматичні об'єктиви відрізняються більш високою мірою виправлення сферичної аберації і коми, а також забезпечують правильніше перенесення кольорів. У поєднанні з компенсаційними окулярами ці об'єктиви дають високу якість зображення і особливо підходять для великих збільшень і мікрофотографування. План-ахромати та план-апохромати скоректовані відповідно так само, як ахроматичні та апохроматичні об'єктиви, і, крім того, у них виправлена кривизна зображення.

Окуляри мікроскопів, як і об'єктиви, характеризуються власним збільшенням, а також мірою корекції зображення. Сучасні металомікроскопи забезпечуються окулярами зі збільшеннями від $5^{\times}$ до $20^{\times}$. По роду і мірі корекції

розрізняють наступні основні типи окулярів: прості, або окуляри Гюйгенса, при візуальній роботі з об'єктивами-ахроматами з низькою або середньою апертурою; компенсаційні окуляри, спеціально розраховані на виправлення залишкової хроматичної аберації об'єктивів-апохроматів і вживані з цими об'єктивами; фотоокуляри і гомали, які призначені для мікрофотографування або проектування зображення на екран.

Для чіткого спостереження мікроструктури важливо створити певні умови освітлення шліфа. Контрастність зображення зростає зі збільшенням інтенсивності освітлення. Тому, з урахуванням складного шляху променя в мікроскопі і значних втрат світла, вживані джерела світла повинні мати достатню потужність при порівняно малих габаритах. Тому в сучасних металомікроскопах зазвичай використовують кварцові лампи з йодним циклом (галогенні лампи), а для отримання найбільшої інтенсивності - ксенонові лампи високого тиску. Для зменшення витрат інтенсивності світла, що падає, в деяких мікроскопах замість напівпрозорої пластинки в хід променів вводять призму.

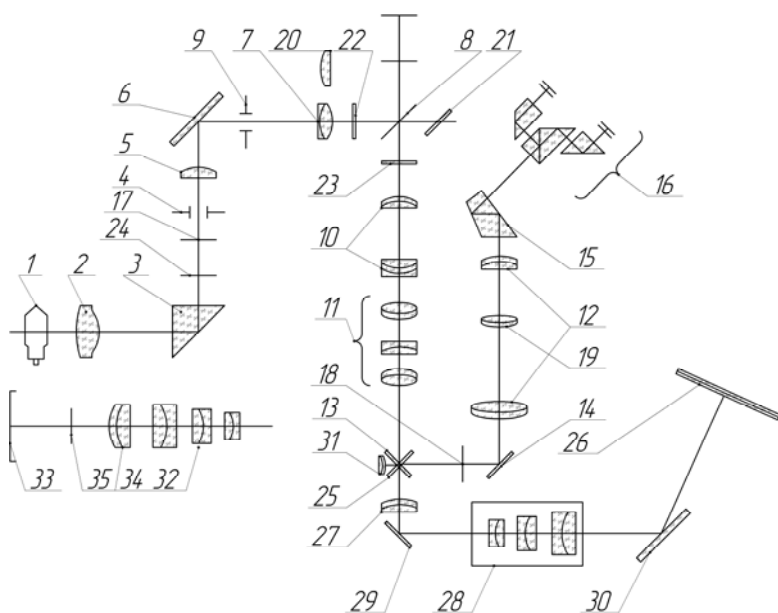
Збільшення світлопроникності і підвищення контрастності зображення досягаються також в результаті застосування просвітленої оптики, що забезпечує усунення рефлексів при віддзеркаленні.

Залежно від призначення металографічні мікроскопи мають різні межі збільшення і дозволяють використати ті або інші види освітлення, а також деякі спеціальні методи металографічного дослідження. Мікроскопи, призначені для металографічного контролю металопродукції в заводських умовах, оцінки якості приготування мікрошліфів й інших рядових робіт (робочі мікроскопи), зазвичай дозволяють спостерігати і фотографувати структури у світлому і темному полях і в поляризованому світлі при збільшенні до $1000\times$ - $1500\times$. Сучасні дослідницькі мікроскопи розраховані на граничне (що досягається у видимому світлі) збільшення і, як правило, є універсальними, тобто передбачають можливість використання усіх перелічених вище методів дослідження.

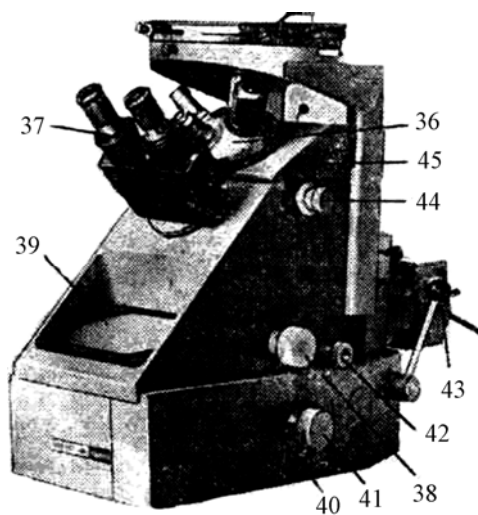
2.2.2.4.2 Основні типи та конструктивні особливості металографічних мікроскопів

Найширше для металографічних досліджень використовують вертикальні мікроскопи МИМ-7 або ММР-4 і горизонтальний мікроскоп ММУ-3.

Робочий металографічний мікроскоп ММР-4 призначений для спостереження і фотографування мікроструктури металів у світлому полі при прямому і косому освітленні, темному полі, поляризованому світлі і методом фазового контрасту. Оптична схема мікроскопа показана на рис.2.25, а.



а.



б.

Рис.2.25. Оптична схема (а) і загальний вигляд (б) мікроскопа ММР-4:

- 1 - джерело світла; 2 - колектор; 3 - призма; 4 - апертурна діафрагма; 5, 7, 27, 31, 34 - лінза; 6, 13, 14, 25, 29, 30 - дзеркало; 8 - напівпрозора пластинка; 9 - польова діафрагма; 10 - телеоб'єктив; 11 - панкратичний окуляр; 12 - лінзи обертаючої системи; 15 - призма; 16 - призми бінокулярної насадки; 17 - кільцева діафрагма; 18 - фазова пластинка; 19 - лінза Бертрана; 20 - кільцева діафрагма темного поля; 21 - кільцеве дзеркало; 22 - поляризатор; 23 - аналізатор; 24 - набір світлофільтрів; 26, 39 - екран; 28, 32 - гомаль; 33 - фотопластина; 35 - фотоплівка; 36 - револьверна голівка; 37 - бінокулярна насадка; 38 - руків'я панкратичного окуляра; 40 - ручка включення фазової пластинки; 41 - ручка перемикання дзеркал 13 та 25; 42 - ручка мікрометричного подання; 43 - ручка переміщення столика; 44 - ручка включення поляризатора і аналізатора; 45 - ручка включення темнопольного освітлення

Розглянемо основні типи та конструктивні особливості металографічних мікроскопів на прикладі окремих представників цього класу приладів.

У комплекті оптики мікроскопа ММР-4 об'єктиви-план-ахромати змонтовані на револьверній голівці 36, що забезпечує їх швидку заміну. Разом з компенсаційними окулярами зі збільшенням 10, встановленими у біокулярній насадці 37, мікроскоп забезпечений панкратичною системою лінз, що дозволяє змінювати збільшення мікроскопа в 2-3 рази обертанням ручки (поз.38) без додаткового фокусування. Загальне збільшення мікроскопа від 50 до 1500.

Світло від джерела 1 (лампи розжарювання з йодним циклом типу КИМ9-75) проходить через колектор 2 і призмою 3 проектується в площину апертурної діафрагми 4; далі лінзою 5, дзеркалом 6, лінзою 7 і напівпрозорою пластинкою 8 зображення джерела 1 і апертурної діафрагми проектується в площину опорного торця під об'єктив. Польова діафрагма 9 поміщається у фокальній площині другої освітлювальної лінзи 7 і проектується нею в нескінченність, а після об'єктиву - в площину предмета. Промені, пройшовши об'єктив і відбившись від шліфа, знову проходять через об'єктив, пластинку 8 і телеоб'єктивом 10 збираються в проміжній площині, що є площиною предмета для панкратичної системи 11. Потім промені відбиваються від дзеркал 13 і 14, проходять через лінзи обертаючої системи 12 і призму 15 і поступають у біокулярну насадку 16.

При спостереженні в темному полі замість лінзи 7 і пластинки 8 в хід променів включаються лінза 20 (кільцева діафрагма) і кільцеве дзеркало 21. При роботі в поляризованому світлі в хід променів одночасно вводяться поляризатор 22 і аналізатор 23.

При використанні методу фазового контрасту в освітлювальну систему включається кільцева діафрагма 17, а в систему спостереження - фазова пластинка 18.

При налаштуванні системи фазового контрасту між лінзами обертаючої системи включається лінза Бертрана 19.

При фотографуванні в хід променів замість дзеркала 13 вводиться дзеркало 25; при спостереженні зображення на екрані 26 дзеркал 13 і 25 вимикаються. Зображення проектується лінзою 27 і гомалью 28 за допомогою дзеркал 29 і 30 на екран 26 або лінзою 31 і гомалью 32 на фотопластину 33 розмірами 9×12 см або за допомогою лінзи 34 на плівку 35 фотоапарата "Зоркий-4К".

Мікроскоп ММУ-3 (рис.2.26). Спрощена модель металомікроскопу з нижнім розташуванням предметного столика. З його допомогою можна здійснювати візуальне спостереження у світлому і темному полях і поляризованому світлі при збільшеннях $\times 100$, $\times 300$ і $\times 500$. У мікроскопі є перехідна втулка для стандартних мікрофотонасадок МФН-12 (з фотокамерою "Зоркий-4"), МФН-8 (з пластинковою фотокамерою 9×12 см) або МФН-7 (з пластинковою фотокамерою 6,5×9 см).

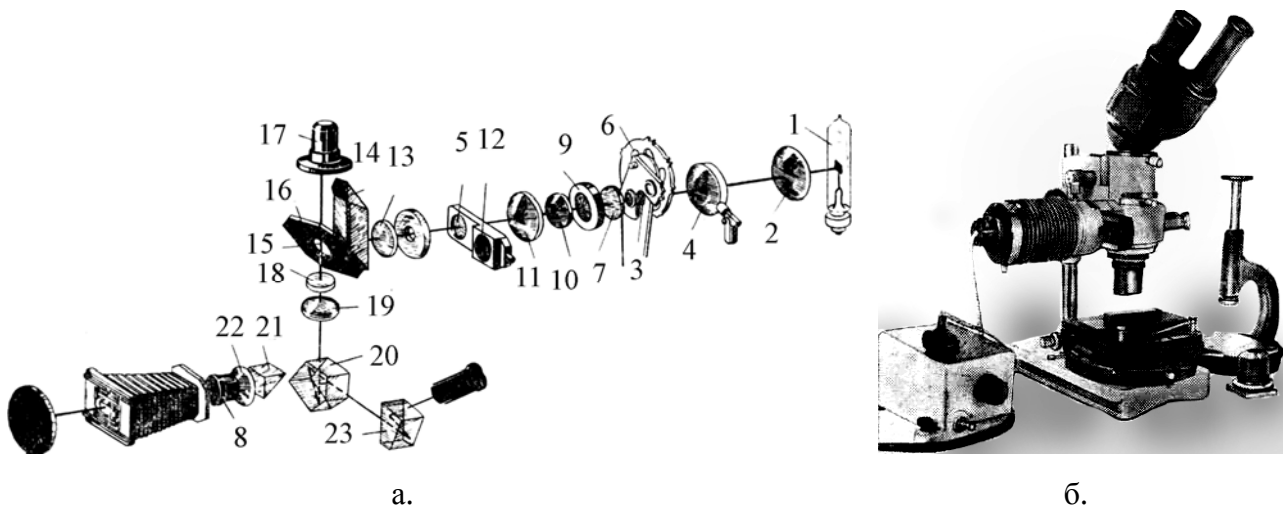


Рис.2.26. Оптична схема (а) і загальний вигляд (б) мікроскопа ММУ-3:

1 - джерело світла (лампа К-30, 170 Вт); 2 - колектор; 3 – теплопоглинач (для оберігання поляризатора); 4 - відкидна лінза (для роботи в темному полі); 5 - кільцева діафрагма; 6 - світлофільтри; 7 - поляризатор; 8 - гомаль або окуляр; 9 - апертурна діафрагма; 10, 11 - лінза освітлювального тубуса; 12 - польова діафрагма; 13 - лінза освітлювального тубуса; 14 - призма косого освітлення; 15 - напівпрозора пластинка; 16 - кільцеве дзеркало; 17 - об'єктив; 18 - аналізатор; 19 - ахроматична лінза; 20 - призма візуального тубуса; 21 - призма фототубуса; 22 - ахроматична лінза; 23 - нерухома призма

Разом з вітчизняними мікроскопами в дослідницьких і заводських лабораторіях широко застосовуються мікроскопи фірми "Karl Zeiss, Jena" (Німечина); особливо горизонтальний дослідницький мікроскоп "Неофот-21". Цей мікроскоп забезпечений високоякісними об'єктивами – план-ахроматами і план-апохроматами, дає збільшення від 10 до 2000 і передбачає різні види освітлення, включаючи фазовий контраст, а також має пристосування для виміру мікротвердості. Мікроскоп забезпечений вбудованим облаштуванням автоматичного експонування для великоформатної камери (зйомка на пластинки 13×18 см і 9×12 см). Крім того, можлива зйомка за допомогою малоформатної камери на плівку 24×36 мм з використанням окремого експозиційного автоматичного пристрою. Додаткові зручності роботи на мікроскопі: швидкий перехід з одного виду освітлення на інший, швидка зміна об'єктивів за допомогою механізму швидкого підйому предметного столика і можливість зміни кратності збільшення без зміни окулярів за допомогою спеціального перемикача. За допомогою двох змінних opak-ілюмінаторів можна здійснювати спостереження і фотографування у світлому і темному полях при збільшеннях від $10^{\times}$ до $50^{\times}$. Для полегшення металографічного контролю можна використати додатковий пристрій, що дозволяє одночасно спостерігати досліджуваний шліф і еталонні знімки (наприклад, зерна, що відповідають різному номеру) при однаковому збільшенні і форматі зображень.

2.2.2.4.3 Методи металографічних досліджень металевих матеріалів

Більшість металографічних досліджень проводять із застосуванням світлопольного (вертикального) освітлення. Для додаткового підвищення контрастності застосовують інші види освітлення.

Метод косого освітлення. При цьому методі в створенні зображення беруть участь переважно косі промені, не паралельні оптичній осі системи. Підвищення контрасту при косому освітленні пов'язане, по-перше, зі збільшенням ролі дифрагованих на різних елементах структури об'єкту променів у формуванні зображення і, по-друге, з утворенням тіней від рельєфу

поверхні об'єкту. Тому косе освітлення доцільно застосовувати при досить різкому рельєфі поверхні шліфа, оскільки тільки за цієї умови ділянки, що виступають, відкидатимуть тінь на іншу поверхню, яка дає менше відображення променів. Косе освітлення досягається зазвичай включенням між об'єктивом і напівпрозорою пластинкою призми косою освітлення або зміщенням, по відношенню до оптичної осі системи апертурної діафрагми, обертанням якої змінюється площа падіння світла на об'єкт.

Метод темнопольного освітлення. При темнопольному освітленні, на відміну від світлопольного, світло не проходить через об'єкт. Пройшовши через кільцеву діафрагму 5 (рис.2.26), світло відбивається від кільцевого дзеркала 16, встановленого на місці напівпрозорої пластинки, і потрапляє на дзеркальну відзеркалювальну параболічну поверхню спеціального конденсора темного поля, який встановлюється на об'єktiv або монтується в одній оправі з ним (епіоб'єktiv). Така система створює косе освітлення об'єкту, при якому освітлюючий пучок має більшу апертуру, ніж у разі світлопольного освітлення. Темнопольне зображення є зворотним по відношенню до світлопольного (поглиблення і виступи стають світлими на однорідному темному фоні), оскільки в об'єktiv потрапляють промені, відбиті нерівностями поверхні. Цей тип освітлення дає висококонтрастні зображення, чітко виявляє зернисту структуру металу, межі між окремими фазами, натуральний колір неметалічних включень і дефектів на відполірованій поверхні мікрошліфа (подряпини, пори, тріщини).

Дослідження в поляризованому світлі. Оскільки більшість металів, а також металевих і неметалічних фаз є оптично анізотропними, в металографічних дослідженнях часто доцільно використати поляризоване світло. З цією метою перед колекторною лінзою поміщають поляризатор (призму Ніколя або поляроїд). Плоскополяризоване світло, що створюється в поляризаторі, після відбиття від об'єкту проходить через аналізатор, розташований між об'єktivом і окуляром або над окуляром. Якщо об'єкт оптично ізотропний, то при відповідному взаємному положенні поляризатора

і аналізатора ("положення схрещення") можна добитися повного поглинання світла. Проте, якщо кристали одної або різних фаз оптично анізотропні, то при схрещених полярофільтрах повного поглинання не відбувається і окремі кристали виявляються світлими, тобто виходить видиме контрастне зображення. Ця переважна освітленість окремих кристалів пояснюється ефектами еліптичної поляризації і обертанням площини поляризації.

Структурні складові, які мають кубічні ґрати, ізотропні, тому їх легко відрізнити від інших складових. За допомогою поляризованого світла на нетравлених зразках анізотропних матеріалів можна вивчати їх мікроструктуру і визначати розмір зерна. Цей метод дозволяє також спостерігати інтерметалеві фази в легуваних сталях. Але найчастіше металографічне дослідження в поляризованому світлі застосовують для ідентифікації неметалічних включень в сталях, оскільки ці включення мають характерні кольори або змінюють колір при обертанні предметного столика мікроскопа.

Конструкція металомікроскопу, пристосованого для дослідження в поляризованому світлі, передбачає включення і виключення поляризаційних фільтрів та обертання аналізатора в межах $0-90^\circ$.

Для вивчення структури металів і природи неметалічних включень в поляризованому світлі потрібно мати високу якість поверхні шліфа.

Метод фазового контрасту. Контрастність зображення рельєфних структур може бути додатково підвищена при використанні системи фазового контрасту, наявної в деяких металомікроскопах, або окремої фазо-контрастної приставки до мікроскопа. Нерівності поверхні шліфа створюють різницю фаз відбитих світлових променів, яка посилюється системою, що складається з кільцевої діафрагми 1 і фазової пластинки 2 (рис.2.27).

Кільцеву діафрагму встановлюють так, що її зображення розташовується в задній фокальній площині об'єктиву і співпадає з кільцем фазової пластинки, товщина якого інша, чим у іншій частини пластинки.

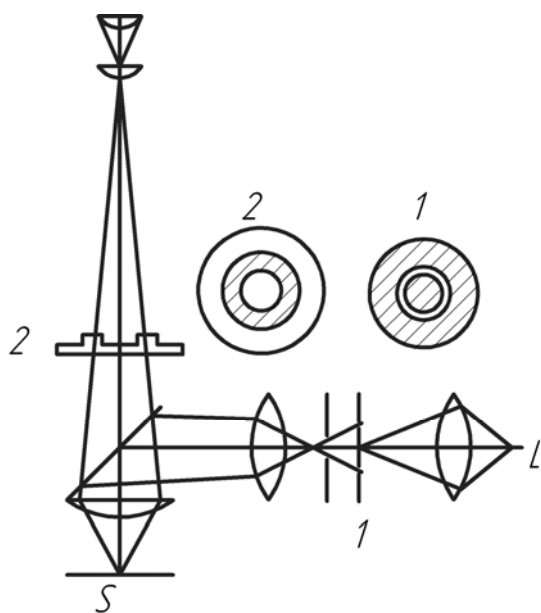


Рис.2.27. Схема методу фазового контрасту: L – джерело світла;
S – об'єкт; 1 – кільцева діафрагма;
2 – фазова пластинка

В результаті цього світлові промені, що проходять через кільце, зрушуються по фазі (зазвичай на 90°) відносно променів, що дифрагованих поверхнею зразка і проходять через пластинку за межами кільця. Окрім цього, кільце фазової пластинки поглинає значну частину світла, що проходить через нього, що забезпечує оптимальний контраст і різкість зображення. Для введення системи фазового контрасту в оптичну систему мікроскопа включається лінза Бертрана, за допомогою якої домагаються поєднання зображення апертурної діафрагми з кільцем фазової пластинки.

За допомогою фазо-контрастного методу вдається виявити різницю в рівнях рельєфу поверхні до 50 нм. Цей метод особливо корисно використати для вивчення меж зерен, двійників, ліній ковзання і дисперсних виділень.

Метод інтерференційного контрасту.

Невеликі зміни мікрорельєфу поверхні можна виявити за допомогою інтерференційного мікроскопа або мікроінтерферометра. Останній прилад дозволяє, крім того, кількісно оцінювати рельєф, що вивчається, що особливо важливо для дослідження структурного механізму пластичної деформації. Використовують методи двопроменевої та багатопроменевої інтерферометрії. У першому випадку (інтерферометр Лінника) світло від джерела L

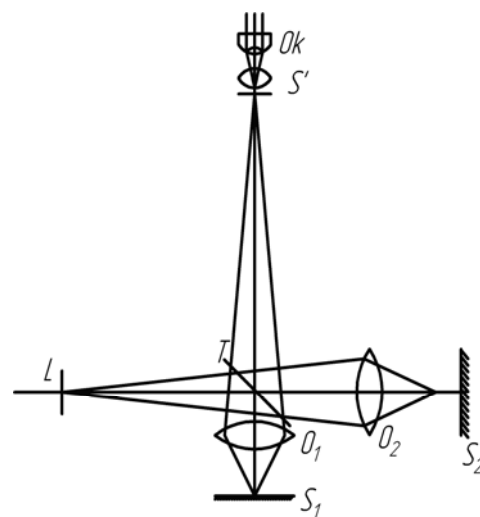


Рис.2.28. Принципова схема методу двопроменевої інтерферометрії: Ok – окуляр (інші позначення в тексті)

розщеплюється напівпрозорою пластинкою T на два пучки (рис.2.28). Один пучок, відбитий від пластинки T , падає на досліджувану поверхню S_1 , а інший пучок, що пройшов через пластинку T , освітлює еталонну плоску поверхню дзеркала S_2 . Промені, відбиті від поверхонь S_1 і S_2 проходять через об'єктиви O_1 і O_2 і утворюють в площині S' зображення поверхонь S_1 і S_2 , що накладаються одне на інше.

За наявності різниці ходу двох пучків повинне виникати чергування максимумів і мінімумів освітленості. Спостережувана інтерференційна картина дозволяє оцінити глибину рельєфу з точністю до $1/20$ довжини хвилі.

При використанні багатопроменевої інтерферометрії зразок поміщають на еталонну поверхню ретельно відполірованої і посрібленої скляної пластинки. Якщо здійснити щільний контакт зразка і пластинки і освітити їх монохроматичним світловим пучком, то утворюються дуже тонкі інтерференційні смуги. Чутливість і точність методу збільшуються в десятки разів і досягають $1/250$ довжин хвилі.

Необхідно враховувати, що застосування методів фазового та інтерференційного контрастів вимагає особливо ретельної підготовки мікрошліфів. Шліфи повинні мати високоякісну поліровану (слабо протравлену) поверхню, на якій відсутні помітний рельєф і поверхневий наклеп. Для видалення деформованого поверхневого шару, особливо у разі сплавів, що легко наклепують, після механічного полірування доцільно застосовувати остаточне слабке електролітичне полірування.

У останніх моделях металографічних мікроскопів замість описаних методів фазового та інтерференційного контрасту використовується система диференціального інтерференційного контрасту (система Номарського), що дозволяє отримувати кольорові об'ємні зображення структурних складових, які важко виявити звичайними методами, а також досліджувати без протравлення мікрошліфів різних матеріалів.

2.3 Основні технічні характеристики та розрахунки параметрів оптичних мікроскопів

Серед основних параметрів будь-якого оптичного мікроскопу можна виділити такі: збільшення, роздільна здатність, поле зору та числова апертура.

Збільшення мікроскопа дорівнює добутку відповідних збільшень об'єктиву і окуляра. Основне збільшення забезпечується об'єктивом, воно може досягати 100. Збільшення окуляра зазвичай не перевищує 20.

Загальне збільшення мікроскопа визначається добутком збільшень об'єктиву і окуляра. Якщо між ними розташована одна або декілька систем збільшення, то загальне збільшення мікроскопа дорівнює добутку значень збільшень усіх оптичних елементів мікроскопа, включаючи проміжні: об'єктиву, окуляра, біокулярної насадки, проекційних систем тощо.

$$\Gamma_m = \beta_{об} \cdot \Gamma_{ок} \cdot q_1 \cdot q_2 \cdot \dots,$$

де Γ_m - загальне збільшення мікроскопа, $\beta_{об}$ - збільшення об'єктиву, $\Gamma_{ок}$ - збільшення окуляра, $q_1, q_2 \dots$ - збільшення додаткових систем

Наприклад, у вітчизняних мікроскопах БІОЛАМ Р-11, С-11 монокулярна насадка не має збільшення, отже: загальне збільшення мікроскопа з об'єктивом $\times 90$ і окуляром $\times 10$ буде: $90 \cdot 10 = \times 900$.

Біокулярна насадка АУ-12, встановлювана на мікроскопах БІОЛАМ І, БІОЛАМ Р-15 має власне збільшення $\times 1,5$. Отже, загальне збільшення мікроскопа в цьому випадку буде: $90 \cdot 10 \cdot 1,5 = \times 1350$. Збільшення мікроскопа може досягати $\times 2000$.

Корисне збільшення мікроскопа має бути не більше 1000 числових апертур об'єктиву і не менше 500: $500 A_{об} < \Gamma_m < 1000 A_{об}$, де $A_{об}$ - числова апертура об'єктиву.

Наприклад, для об'єктиву $90 \times 1,25$ корисне збільшення мікроскопа лежить в діапазоні $\times 625$ - $\times 1250$. При більшому збільшенні зображення стає нечітким і малоконтрастним, зі зниженою роздільною здатністю; при меншому збільшенні - зображення об'єкту, незважаючи на чіткість і підвищений контраст, стає настільки дрібним, що елементи об'єкту практично невиразні. У повсякденній

практиці для цього об'єктиву зазвичай використовують збільшення близько $\times 630$ - $\times 900$.

Приклад розрахунку корисного збільшення і підбору оптики. Для вибору оптимального корисного збільшення мікроскопа необхідно правильно підібрати окуляр. Наприклад, в мікроскопі встановлений об'єктив $90\times 1,25$ МІ; біокулярна насадка АУ-12 має власне збільшення $\times 1,5$, числова апертура об'єктиву - $A_{об} = 1,25$.

- нижня межа збільшення мікроскопа має бути: $500 \cdot 1,25 = 625$,
- верхня межа збільшення мікроскопа має бути: $1000 \cdot 1,25 = 1250$,
- верхня межа збільшення мікроскопа має бути: $90 \cdot 1,5 = 135$

Таким чином, мінімальне робоче корисне збільшення окуляра має бути: $625 : 135 = \times 4,6$, а максимально робоче корисне збільшення – $1250 : 135 = \times 9,2$. Виходячи з цього, для роботи з об'єктивом $\times 90$, наприклад, на мікроскопі БІОЛАМ оптимальним буде використання окулярів $\times 5$, $\times 7$ та $\times 10$.

Інший приклад. У мікроскопах нового покоління, наприклад, БИМАМ Р (МИКМЕД-2) збільшення об'єктиву з масляною імерсією - $100\times 1,25$, біокуляр має збільшення $\times 1$. В цьому випадку, якщо провести аналогічний розрахунок, необхідно використати окуляри $\times 6,25$ і $\times 12,5$ для мінімального і максимального корисного збільшення мікроскопа. Окуляри $\times 7$ і $\times 10$ також можна використати, оскільки вони входять у вказаний діапазон.

При кінцевій довжині тубуса (наприклад, 160 мм) збільшення об'єктиву визначається таким чином:

$$\beta_{об} = ДТ / F_{об} = 160 / F_{об},$$

де ДТ - механічна довжина тубуса, $F_{об}$ - фокусна відстань об'єктиву.

Визначальним для розрахунку збільшення об'єктиву скоректованого на "нескінченність" являється фокусна відстань тубусної лінзи або системи і фокусна відстань самого об'єктиву:

$$\beta_{об} = F_{т.л} / F_{об},$$

де $F_{т.л}$ - фокусна відстань тубусної лінзи.

Збільшення окуляра визначається по формулі:

$$\Gamma_{\text{ок}} = 250 / F_{\text{ок}},$$

де 250 - відстань найкращого бачення в мм, $F_{\text{ок}}$ - фокусна відстань окуляра.

Якщо необхідно точно визначити збільшення проектного зображення, то в якості об'єкту слід використати пластинку з мікрометричною шкалою (об'єкт-мікрометр), на якій нанесені через кожні 0,01 мм поділки на загальній довжині 1 мм.

Роздільна здатність МІКРОСКОПА ХАРАКТЕРИЗУЄТЬСЯ МІНІМАЛЬНОЮ ВІДСТАННЮ d МІЖ ДВОМА СУСІДНІМИ ДЕТАЛЯМИ СТРУКТУРИ ОБ'ЄКТУ, ЯКІ ЩЕ МОЖУТЬ БУТИ ОКРЕМО ПОМІТНІ.

Для нормального ока граничне кутове розрізнення на сітківці ока складає близько 1', що відповідає мінімальній відстані між двома помітними точками - 0,0045 мм.

Хвильові властивості світла визначають межу розрізнення в оптичних приладах. Згідно дифракційної теорії утворення зображення (теорія Аббе), у світловому мікроскопі не можна бачити об'єкти, розмір яких менше половини довжини хвилі і не можна отримати зображення менше напівдовжини хвилі:

$$d \geq 0,5 \lambda_0 / A,$$

де d - роздільна здатність мікроскопа (мкм), λ_0 - довжина хвилі (мкм),

A - числова апертура об'єктиву.

Для освітлення об'єкту найчастіше застосовують біле світло, для якого можна прийняти $\lambda = 0,55$ мкм. Згідно з вищенаведеною умовою максимальна роздільна здатність мікроскопа дорівнює: $d \approx 0,55 \cdot 2 \cdot 1,44 \approx 0,2$ мкм.

Щоб використати роздільну здатність об'єктиву, тобто побачити ті деталі структури об'єкту, які дозволяються об'єктивом, необхідно встановити відповідне збільшення мікроскопа. Збільшення мікроскопа N називають *корисним*, якщо деталі структури, що можна розрізнити, спостерігаються під кутом зору 2' - 4'. Корисне збільшення знаходиться в межах $N \approx 500A - 1000A$.

Збільшення менше 500A не дозволяє розрізнити усі деталі структури, зображення яких формується об'єктивом при апертурі A , а застосування збільшень, що перевищують 1000A, недоцільно, оскільки воно не дає яких-

небудь нових деталей в зображенні структури, а лише призводить до погіршення якості зображення.d

При дослідженні структури металу об'єktiv вибирають, виходячи з необхідного корисного збільшення мікроскопа, яке визначається з виразу $N=200/d'$ де d' , – мінімальний розмір деталей структури (наприклад, частин фази), мкм; 200 – відстань, що розрізняється для ока спостерігача, мкм.

Знаючи величину N , можна визначити відповідну числову апертуру і вибрати об'єktiv, а потім окуляр.

Слід враховувати, що в практиці металографічних досліджень іноді доводиться на збиток роздільної здатності піклуватися про підвищення контрастності зображення і про збільшення глибини різкості, що характеризується величиною вертикального зміщення деталей мікроструктури, яке не призводить до втрати фокусування.

Ця величина обернено пропорційна до числової апертури і загального збільшення мікроскопа, тобто при більш рельєфній поверхні зразка доцільно використати об'єktivи з малою апертурою. Контрастність зображення підвищується до тих пір, поки загальне збільшення мікроскопа не перевершить корисного збільшення. Тому збільшення окуляра не має бути надмірно високим, оскільки це викликає розмиття зображення деталей структури.

Розмір поля зору в площині предмета розраховується з урахуванням лінійного поля зору окуляра і збільшення об'єктива, а також додаткових оптичних елементів, які мають збільшення і розташовані до окуляра усередині мікроскопа. Наприклад, лінійне поле широкопольного окуляра в мікроскопах БЮЛАМ, МИКМЕД-2 дорівнює $\times 10$, тобто 18 мм. При роботі з монокулярною насадкою ($\times 1$) і об'єктивом $\times 40$ розмір поля зору в площині препарату складатиме $18 \text{ мм} : \times 40 = 0,45 \text{ мм}$.

При роботі з біноклярною насадкою АУ-12, збільшення якої $\times 1,5$ з тим же об'єктивом розмір поля зору в площині препарату буде дорівнювати:

$$18 \text{ мм} : \times 40 : \times 1,5 = 0,21 \text{ мм}$$

Числова апертура об'єктиву (A) дорівнює добутку синуса половини апертурного кута об'єктиву на показник заломлення середовища між предметом і об'єктивом:

$$A = n \sin u/2,$$

де n - показник заломлення середовища між об'єктом спостереження і об'єктивом, u - апертурний кут об'єктиву.

Числова апертура визначає ряд найважливіших властивостей мікроскопа: яскравість зображення і розрізнявальна здатність мікроскопа - чим більше числова апертура об'єктиву, тим більше дрібні деталі об'єкту можна розрізнити.

2.4 Приклади застосування методів оптичної мікроскопії

Методи мікроскопії вибираються (і забезпечуються конструктивно) залежно від характеру і властивостей об'єктів, що вивчаються, оскільки останні, як відзначалося вище, впливають на контрастність зображення.

Метод світлого поля і його різновиди. Метод світлого поля у світлі, що проходить, застосовується при вивченні прозорих препаратів з включеними в них абсорбуючими (що поглинають світло) частками і деталями. Це можуть бути, наприклад, тонкі забарвлені зрізи тваринних і рослинних тканин, тонкі шліфи мінералів тощо. У відсутність препарату пучок світла з конденсора, проходячи через об'єктив, дає поблизу фокальної площини окуляра рівномірно освітлене поле. За наявності в препараті абсорбуючого елемента відбувається часткове поглинання і часткове розсіювання світла, що падає на нього, що і обумовлює появу зображення. Можливе застосування методу і при спостереженні неабсорбуючих об'єктів, але лише у тому випадку, якщо вони розсіюють освітлюючий пучок настільки сильно, що значна частина його не потрапляє в об'єктив.

Метод косого освітлення - різновид попереднього методу. Відмінність між ними полягає в тому, що світло на об'єкт направляють під великим кутом до напрямку спостереження. Іноді це допомагає виявити "рельєфність" об'єкту за рахунок утворення тіней.

Метод світлого поля у відбитому світлі застосовується при дослідженні непрозорих об'єктів, що віддзеркалюють світло, наприклад шліфів металів або руд. Освітлення препарату (від освітлювача і напівпрозорого дзеркала) робиться згори, через об'єтив, який одночасно грає і роль конденсора. У зображенні, що створюється в площині об'єктивом спільно з тубусною лінзою, структуру препарату видно із-за відмінності у відбиваючій здатності її елементів; на світлому полі виділяються також неоднорідності, розсіювальні світло, що падає на них.

Метод темного поля у світлі (Dark-field microscopy), що проходить, використовується для отримання зображень прозорих неабсорбуючих об'єктів, які не можуть бути видні, якщо застосувати метод світлого поля. Частенько це біологічні об'єкти. Світло від освітлювача і дзеркала спрямовується на препарат конденсором спеціальної конструкції – конденсором темного поля. Після виходу з конденсора основна частина променів світла, що не змінила свого напрямку при проходженні через прозорий препарат, утворює пучок у вигляді порожнистого конуса і не потрапляє в об'єтив (який знаходиться усередині цього конуса). Зображення в мікроскопі формується за допомогою лише невеликої частини променів, розсіяних мікрочастками препарату, що знаходиться на предметному склі, всередину конуса і що пройшли через об'єтив. Темнопольна мікроскопія основана на ефекті Тиндалля (Tyndall effect), відомим прикладом якого служить виявлення порошинок в повітрі при освітленні їх вузьким променем сонячного світла. У полі зору на темному фоні видно світлі зображення елементів структури препарату, що відрізняються від довкілля показником заломлення. У великих часток видно тільки світлі краї, розсіювальні промені світла. Використовуючи цей метод, не можна визначити по виду зображення, прозорі частки або непрозорі, більший або менший показник заломлення вони мають в порівнянні з довкіллям.

Проведення темнопольного дослідження. Предметне скло має бути не товщим 1,1-1,2 мм, покривні 0,17 мм, без подряпин і забруднень. При приготуванні препарату слід уникати наявності бульбашок і великих

частинок (ці дефекти будуть видні такими, що яскраво світяться і не дозволять спостерігати препарат). Для темнопольної застосовують потужніші освітлювачі і лампи.

Налаштування темнопольного освітлення в основному полягає в наступному:

- встановлюють світло по Келеру;
- замінюють світлопольний конденсор темнопольним;
- на верхню лінзу конденсора наносять імерсійну олію або дистильовану воду;
- піднімають конденсор до перетину з нижньою поверхнею предметного скла;
- об'єктив малого збільшення фокусують на препарат;
- за допомогою центрувальних гвинтів переводять в центр поля зору світлу пляму (що іноді має затемнену центральну ділянку);
- піднімаючи і опускаючи конденсор, домагаються зникнення затемненої центральної ділянки і отримання рівномірно освітленої світлої плями.

Якщо цього зробити не вдається, то потрібно перевірити товщину предметного скла (зазвичай таке явище спостерігається при використанні занадто товстих предметних стекол - конус світла фокусується в товщі скла).

Після правильного налаштування світла встановлюють об'єктив потрібного збільшення і досліджують препарат.

Метод фазового контрасту та його різновид - метод "аноптрального" контрасту призначені для отримання зображень прозорих і безбарвних об'єктів, невидимих при спостереженні по методу світлого поля. До таких відносяться, наприклад, живі незабарвлені тваринні тканини. Суть методу в тому, що навіть при дуже малих відмінностях в показниках заломлення різних елементів препарату світлова хвиля, що проходить через них, зазнає різні зміни по фазі (фазовий рельєф). Не сприймані безпосередньо ні оком, ні фотопластиною, ці фазові зміни за допомогою спеціального оптичного пристрою перетворюються в зміни амплітуди світлової хвилі, тобто у зміни яскравості ("амплітудний рельєф"), які вже помітні оком або фіксуються на фоточутливому шарі. Іншими словами, в отримуваному видимому зображенні розподіл яскравості (амплітуд)

відтворює фазовий рельєф. Отримуване таким чином зображення називається фазово-контрастним.

Фазово-контрастний пристрій може бути встановлений на будь-якому світловому мікроскопі і складається з: набору об'єтивів із спеціальними фазовим пластинками; конденсора з диском, що обертається (у нім встановлені кільцеві діафрагми, що відповідають фазовим пластинкам в кожному з об'єтивів); допоміжного телескопа для налаштування фазового контрасту.

Налаштування фазового контрасту полягає в наступному:

- замінюють об'єктиви і конденсор мікроскопа на фазові (позначені Ph);
- встановлюють об'єктив малого збільшення. Отвір в диску конденсора має бути без кільцевої діафрагми (позначеною цифрою "0");
- настроюють світло по Келеру;
- обирають фазовий об'єктив відповідного збільшення і фокусують його на препарат;
- повертають диск конденсора і встановлюють кільцеву діафрагму, що відповідає об'єктиву;

Виймають з тубуса окуляр і вставляють на його місце допоміжний телескоп. Настроюють його так, щоб були різко видні фазова пластинка (у вигляді темного кільця) і кільцева діафрагма (у вигляді світлого кільця того ж діаметру). За допомогою регулювальних гвинтів на конденсорі поєднують ці кільця. Виймають допоміжний телескоп і знову встановлюють окуляр.

Завдяки застосуванню цього способу мікроскопії контраст живих незабарвлених мікроорганізмів різко збільшується і вони виглядають темними на світлому фоні (позитивний фазовий контраст) або світлими на темному фоні (негативний фазовий контраст).

Фазово-контрастна мікроскопія застосовується також для вивчення клітин культури тканини, спостереження дії різних вірусів на клітини. В цих випадках часто застосовують біологічні мікроскопи із зворотним розташуванням оптики - інвертовані мікроскопи. У таких мікроскопів об'єктиви розташовані знизу, а конденсор - згори.

Поляризаційна мікроскопія - це метод спостереження в поляризованому світлі для мікроскопічного дослідження препаратів, що включають оптично анізотропні елементи (або які цілком складаються з таких елементів). Такими зразками є мінерали, зерна в шліфах сплавів, деякі тваринні і рослинні тканини тощо. Оптичні властивості анізотропних мікрооб'єктів різні в різних напрямках і проявляються по-різному залежно від орієнтації цих об'єктів відносно напрямку спостереження і площини поляризації світла, що падає на них. Спостереження можна проводити як у світлі, що проходить, так і у віддзеркаленому. Світло, що випромінюється освітлювачем, пропускають через поляризатор. Повідомлена йому при цьому поляризація змінюється при подальшому проходженні світла через препарат (чи віддзеркалені від нього). Ці зміни вивчаються за допомогою аналізатора і різних оптичних компенсаторів. Аналізуючи такі зміни, можна визначити про основні оптичні характеристики анізотропних мікрооб'єктів: силу подвійного променезаломлення, кількість оптичних осей та їх орієнтації, обертання площини поляризації, дихроїзмі.

Метод інтерференційного контрасту (інтерференційна мікроскопія) полягає в тому, що кожен промінь роздвоюється, входячи в мікроскоп. Один з отриманих променів спрямовується крізь спостережувану частку, інший - повз неї по тій же або додатковій оптичній гілці мікроскопа. У окулярній частині мікроскопа обидва промені знову з'єднуються та підлягають інтерференції між собою. Один з променів, проходячи через об'єкт, запізнюється по фазі (придбаває різницю ходу в порівнянні з другим променем). Величина цього запізнювання вимірюється компенсатором. Можна сказати, що метод інтерференційного контрасту схожий з методом фазового контрасту - вони обидва засновані на інтерференції променів, що пройшли через мікрочастку і минули її. Як і фазово-контрастна мікроскопія, цей метод дає можливість спостерігати прозорі і безбарвні об'єкти, але їх зображення можуть бути і різноколірними (інтерференційні кольори). Обидва методи придатні для вивчення живих тканин і клітин застосовуються у багатьох випадках саме з цією метою. Головна відмінність інтерференційної мікроскопії

від методу фазового контрасту - це можливість вимірювати різниці ходу, що вносяться мікрооб'єктами. Метод інтерференційного контрасту часто застосовують спільно з іншими методами мікроскопії, зокрема із спостереженням

в поляризованому світлі. Його застосування у поєднанні з мікроскопією в ультрафіолетових променях дозволяє, наприклад, визначити вміст нуклеїнових кислот в загальній сухій масі об'єкту. До інтерференційної мікроскопії відносяться також методи використання мікроінтерферометрів.

Метод дослідження у світлі люмінесценції (люмінесцентна мікроскопія, або флуоресцентна мікроскопія) полягає в спостереженні під мікроскопом зелено-помаранчевого світіння мікрооб'єктів, яке виникає при їх освітленні синьо-фіолетовим світлом або не видимими оком ультрафіолетовими променями. У оптичну схему мікроскопа вводяться два світлофільтри. Один з них поміщають перед конденсором. Він пропускає від джерела-освітлювача випромінювання тільки тих довжин хвиль, які збуджують люмінесценцію або самого об'єкту (власна люмінесценція), або спеціальних барвників, введених в препарат і поглинених його частками (вторинна люмінесценція). Другий світлофільтр, який встановлений після об'єктиву, пропускає до ока спостерігача (чи на fotocутливий шар) тільки світло люмінесценції. У люмінесцентній мікроскопії використовують освітлення препаратів як згори (через об'єktiv, який в цьому випадку служить і конденсором), так і знизу, через звичайний конденсор. Спостереження при освітленні згори іноді називають "люмінесцентною мікроскопією у відбитому світлі" (цей термін умовний - збудження світіння препарату не є простим віддзеркаленням світла). Його часто використовують спільно із спостереженням по фазово-контрастному методу у світлі, що проходить. Метод знайшов широке застосування в мікробіології, вірусології, гістології, цитології, в харчовій промисловості, при дослідженні ґрунтів, в мікрохімічному аналізі, в дефектоскопії. Таке різноманіття застосувань пояснюється дуже високою колірною чутливістю ока і високою контрастністю зображення самосвітного об'єкту на темному фоні,

що не підлягає люмінесценції. Крім того, інформація про склад і властивості досліджуваних речовин, яку можна отримати, знаючи інтенсивність і спектральний склад їх люмінесцентного випромінювання, має величезну цінність.

2.4.1 Дослідження біологічних об'єктів методом мікроскопії на просвітлення

Якість зображення значною мірою залежить від освітлення, тому налаштування освітлення є важливою підготовчою операцією при роботі з мікроскопом. В якості прикладу, розглянемо дослідження біологічних об'єктів на мікроскопі, що працює на просвітлення (рис.2.6).

Для правильного використання біологічного мікроскопа необхідно освоїти наступні види його налаштування:

- налаштування для спостереження об'єктів у світлі, що проходить, у світлому полі, а також в темному полі та з фазовим контрастом;
- налаштування для спостереження об'єктів у відбитому світлі у світлому і темному полі;
- налаштування для роботи при змішаному освітленні.

Для усунення відблисків при фотографуванні рекомендується в прямий тубус насадки (знизу) вставити діафрагму.

Якщо для вивчення препарату вимагається застосувати об'єктив водної або масляної імерсії, то, вибравши потрібну ділянку препарату і привівши її в центр поля зору, треба включити і хід променів об'єктиву. Потім необхідно виправити фокусування мікроскопа і знову привести в центр поля зору вибрану ділянку препарату. Перед початком роботи на фронтальну лінзу імерсійного об'єктиву і на препарат необхідно нанести по краплі дистильованої води.

При роботі конденсор має бути піднятий до упору. Не можна допускати зіткнення об'єктиву з препаратом, оскільки це може спричинити їх ушкодження.

Спостерігаючи збоку штатива мікроскопа за просвітом між об'єктивом і препаратом, обертанням ручки механізму грубого фокусування мікроскопа

дуже обережно підняти столик майже до зіткнення об'єктиву з препаратом. При цьому між фронтальною лінзою об'єктиву і препаратом утворюється шар рідини. У цьому шарі рідини на шляху променів не повинно міститися бульбашки повітря.

Добитися різкого зображення препарату. Потім, спостерігаючи в окуляр мікроскопа, виправити центричність і різкість зображення польової діафрагми освітлювача по вказівках, зроблених для об'єктиву. Спостерігаючи за зображенням апертурної діафрагми у вихідній зіниці об'єктиву при включеній лінзі з гравіюванням "ФК", встановити необхідний розмір апертурної діафрагми. Після цього можна приступити до спостереження препарату.

Після закінчення роботи дистильовану воду з об'єктиву і препарату необхідно зняти чистою ганчірочкою або ватою, наведеною на дерев'яну паличку або сірник.

Об'єктиви масляної імерсії мають на корпусі чорне кільце, а об'єктиви водної імерсії - біле кільце.

Налаштування мікроскопа для роботи у світлі, що проходить, в темному полі з фазовим контрастом. Налаштування мікроскопа в темному полі з конденсором ОИ-13 вимагає особливої ретельності та навички.

Апертура конденсора темного поля має бути більше апертури об'єктиву.

Необхідно звертати увагу на стан імерсійної олії. Найдрібніші бульбашки повітря в імерсії можуть значно понизити контрастність зображення.

Для правильного освітлення необхідно застосовувати предметні стекла завтовшки не більше 1,2 мм.

При дослідженні малоконтрастних об'єктів може бути застосоване фазо-контрастне облаштування КФ-4.

Для роботи по методу фазового контрасту в револьвер мікроскопа треба укрутити фазові об'єктиви, в окулярні трубки насадки АУ-26 вставити окуляри, встановити одне зі збільшень насадки і замість конденсора ОИ-14 встановити фазо-контрастний конденсор (револьвер конденсора при цьому має бути

встановлений на "0"). Помістити препарат на столик мікроскопа і сфокусувати мікроскоп на препарат. Налаштування освітлення робиться так само, як і при роботі з апланатичним конденсором ОИ-14. Після цього слід повернути револьвер конденсора і включити потрібну кільцеву діафрагму; при цьому у вікні кожуха конденсора повинна з'явитися цифра, що відповідає збільшенню включеного об'єктиву. Включивши в хід променів насадки оптичну систему з гравіюванням "ФК", можна бачити фазове кільце об'єктиву і світле кільце діафрагми. Обертанням центрувальних гвинтів конденсора поєднати світле кільце діафрагми з темним кільцем фазового об'єктиву. Після цього встановити на насадці одне зі збільшень і приступити до спостереження препарату.

Налаштування мікроскопа для роботи при змішаному освітленні.
Для роботи при змішаному освітленні, тобто при освітленні препарату одночасно світлом, що проходить і віддзеркаленим світлом, необхідно включити в хід променів світлоподільну пластинку. В цьому випадку 50% світла спрямовується в систему для світла, що проходить, і 50% - в систему для віддзеркаленого світла. Налаштування кожної з цих систем вказане вище.

При змішаному освітленні досліджуваних об'єктів найкращий ефект дають наступні дві комбінації:

- світле поле у світлі, що проходить, і темне поле у віддзеркаленому світлі;
- темне поле у світлі, що проходить, і світле поле у віддзеркаленому світлі.

Змішане освітлення забезпечує чітке зображення контуру і внутрішньої будови препарату у світлі, що проходить; при такому способі освітлення при роботі у віддзеркаленому світлі одночасно добре видно зовнішня структура препарату (дрібні ворсинки, виступи, грані тощо).

Спосіб освітлення вибирається самим дослідником залежно від характеру об'єкту. При фотографуванні напівпрозорих і непрозорих об'єктів освітлення рекомендується налаштовувати так, як вказано вище.

2.4.2 Особливості проведення досліджень з використанням методу поляризаційно-інтерференційної мікроскопії

Точне регулювання поляризаційно-інтерференційного мікроскопа є необхідною умовою для досягнення правильного зображення і отримання точних результатів виміру, рис.2.29.

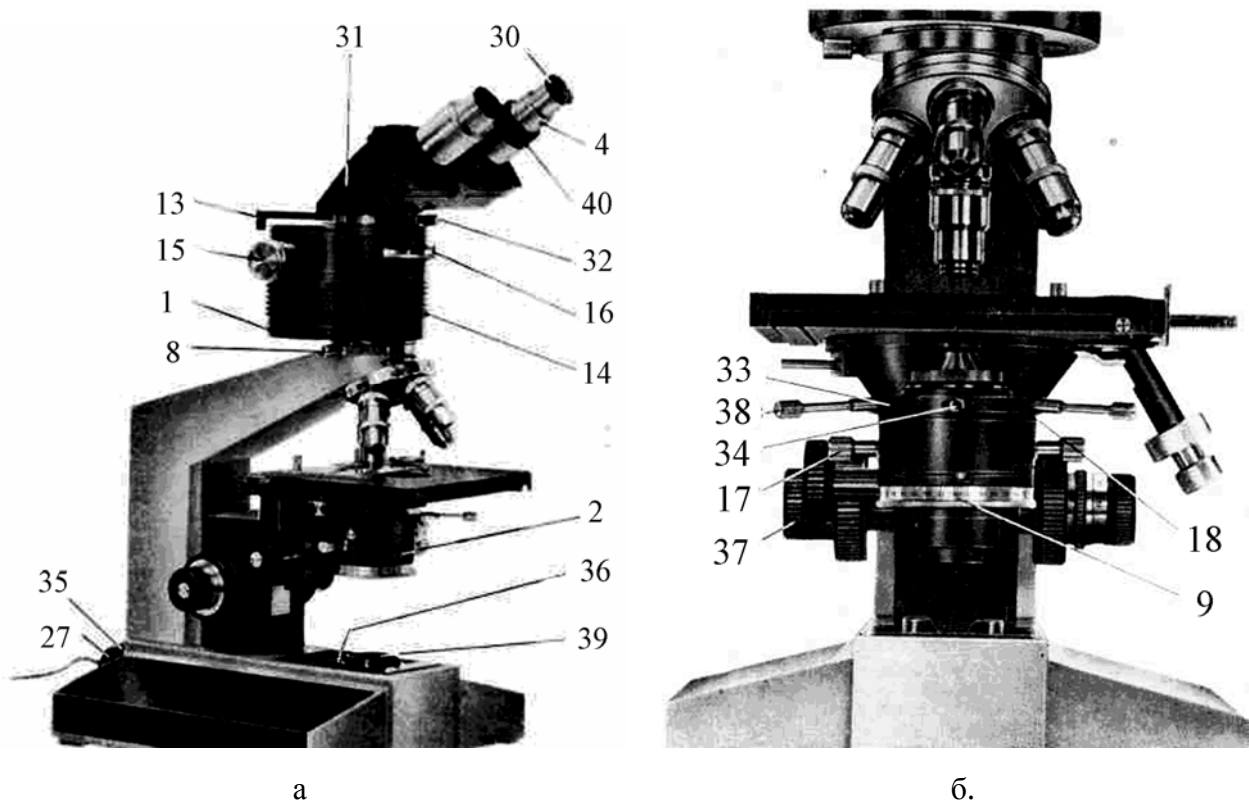


Рис.2.29. Загальний вигляд (а) та вид нижньої частини (б) поляризаційно-інтерференційного мікроскопу BIOLAR PI зі вставленим конденсором і щілинною діафрагмою:

1 - інтерференційна голівка, 2 - конденсор зі щілиною, 4 - допоміжний мікроскоп, 8 - затискний гвинт, 9 – поляризатор, 13 - важіль перемикавання призми, 14 - накатане кільце для пересування призми в напрямі паралельному до оптичної осі, 15 - паз мікрометричного гвинта для пересування призми в напрямі вертикальному до оптичної осі, 16 - аналізатор в оправі, 17 - паз для регулювання ширини щілини, 18 - затінювачі для обмеження довжини щілини, 27 - патрон лампи, 30 - окуляр допоміжного мікроскопа, 31 - бінокулярна насадка, 32 - затискний гвинт окулярний насадки, 33 - утримувач підйомника конденсора, 34 - затискний гвинт конденсора, 35 - освітлювач, 36 - паз польової діафрагми, 37 - паз переміщення конденсора, 38 - регулювальні гвинти конденсора, 39 - гніздо світлофільтру, 40 - діоптричне кільце тубусної насадки

Першою маніпуляцією є з'єднання інтерференційної голівки зі штативом мікроскопа за допомогою затиску (поз.8). Аналізатор (поз.16) спрямувати у бік спостерігача. Штифт, що виглядає з нижньої плити інтерференційної голівки, повинен потрапити в приготовану для нього канавку в оправі затиску, роблячи таким чином поворот інтерференційної голівки неможливим. Наступною операцією є розташування окулярної насадки (поз.31) в гнізді інтерференційної голівки та її фіксація затискним гвинтом (поз.32).

Конденсор зі щілинною діафрагмою (поз.2) поміщають в гнізді утримувача конденсора (поз.33) (рис.2.29, б) так, щоб кулькова клямка, що знаходиться в нижній частині щілинного механізму, була обернена у напрямі штатива мікроскопа. Конденсор фіксується в утримувачі за допомогою затискного гвинта (поз.34).

Конденсор з компенсаторами застосовується тільки разом з диференціальною призмою (№1) і служить тільки для якісних досліджень, з великою апертурою і великою кількістю світла.

Для кількісних досліджень і вимірів слід застосовувати, виключно конденсор з щілинною діафрагмою, тому що конденсор з компенсаторами завдяки великій апертурі вводить в результати вимірів так звану "апертурну похибку".

Застосування поляризаційно-інтерференційних об'єктивів.

Диференціальний метод однорідного кольору. Мікроскоп слід встановити відповідно до правил, приведених вище, з включеною, залежно від потреб, двозаломлюючою призмою №1 або №3. Потім, замість звичайного об'єктиву вкрутити об'єктив з двозаломлюючою призмою і встановити його (повертаючи оправу) так, щоб його інтерференційні смуги, спостережувані за допомогою допоміжного мікроскопа, були спрямовані паралельно інтерференційним смугам призми, що знаходиться в інтерференційній голівці. В цьому випадку конфігурації інтерференційних смуг від однієї та другої двозаломлюючої призми накладаються одна на іншу, в результаті з'являється нова система інтерференційних смуг, вужчих і більш згущених. Потім слід прикрити щілину

конденсора так, щоб вона з вищезгаданої результуючої системи "вирізувала" пурпурний колір першого порядку інтерференції. В цьому випадку поле зору має бути однорідне пурпурне. Якщо цього не відбувається, то слід трохи підняти або опустити призму в інтерференційній голівці за допомогою повернення накатаного кільця (поз.14).

Об'єктив має бути встановлений так, щоб було різко видимим зображення препарату. Потім, повертаючи оправу об'єктиву (з двозаломлюючою призмою, що знаходиться в ній) на 180° або 45° , набуваємо інших значень роздвоєння зображення.

У разі, якщо після виконання цієї операції, поле зору стає неоднорідним, слід довести його до первинного однорідного стану, повертаючи накатане кільце 14 в одному або іншому напрямі.

Метод смуг. Мікроскоп встановити згідно з правилами описаним вище, замість звичайного об'єктиву укрутити об'єктив з двозаломлюючою призмою. Оправу об'єктиву повертати так, щоб в полі зору з'явилися максимально чіткі і контрастні інтерференційні смуги, при цьому регулюють відповідно ширину щілини.

Оцінка величини коефіцієнта заломлення середовища. Припустимо, що досліджуваний об'єкт В (рис.2.30) з невідомим коефіцієнтом заломлення n знаходиться в імерсійному середовищі з

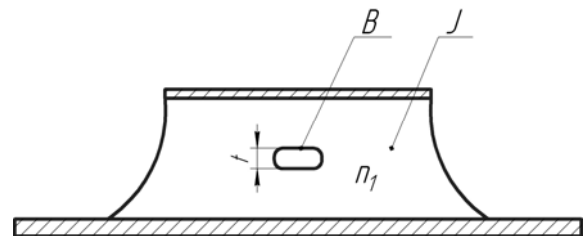


Рис.2.30. Схема експерименту для оцінювання коефіцієнта заломлення

відомим коефіцієнтом заломлення n_1 . Для визначення коефіцієнту заломлення n , необхідно спочатку встановити, чи є він більшим або меншим, ніж коефіцієнт заломлення n_1 імерсійного доквілля J. У фазово-контрастному мікроскопі це завдання вирішується вміть; навпаки, у разі інтерференційного мікроскопа відповідь не є негайною і вимагає деякого аналізу зміни інтерференційного забарвлення або напряму відхилення інтерференційних смуг. Такий аналіз найзручніше робити в однорідному темному кольорі або за допомогою темної смуги нульового порядку інтерференції.

Диференціальний метод. Відмінною рисою цього методу є те, що в зображенні об'єкту з товщиною, що змінюється, майже завжди з'являється таке місце (чи декілька місць), в якому забарвлення має колір та інтенсивність забарвлення фону (рис.2.31).

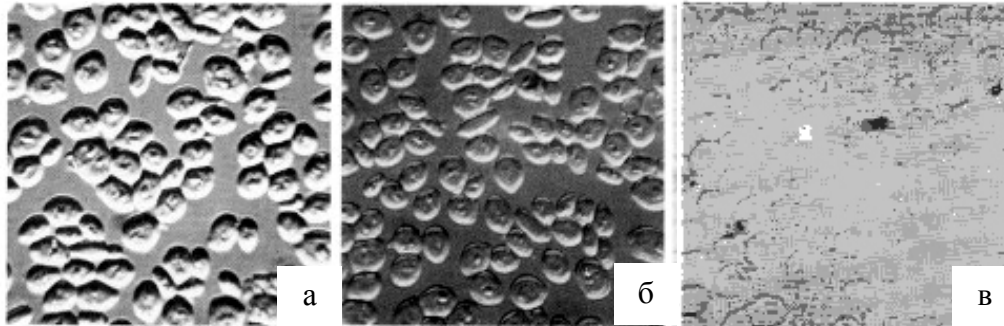


Рис.2.31. Зображення клітин дріжджів у водяному середовищі:

- а) в однорідному сіро-зеленому кольорі;
- б) в однорідному чутливому кольорі I порядку інтерференції (імерсійний об'єктив $\times 100$);
- в) в звичайному мікроскопі у світлому полі (інвертоване зображення)

Особливо чітко видно це при установці двозаломлюючої призми на забарвлення фону поля зору мікроскопа. При переміщенні двозаломлюючої призми в поперечному напрямі темний колір в зображенні об'єкту теж переміщатиметься. Напрямок переміщення цього кольору відповідає або не відповідає напрямку пересування призми, що залежить від того, чи є коефіцієнт заломлення n досліджуваного об'єкта меншим або більшим, ніж показник заломлення n_1 докільця. У разі, якщо напрям переміщення темного кольору в зображенні досліджуваного об'єкту відповідає напрямку пересування двозаломлюючої призми (встановленою спочатку на темний фон поля зору), то коефіцієнт заломлення n цього об'єкту більший, ніж коефіцієнт заломлення n_1 докільця. Навпаки, якщо напрям переміщення темного кольору в зображенні назад напрямку пересування двозаломлюючої призми, то коефіцієнт заломлення n досліджуваного об'єкту менше коефіцієнта заломлення n_1 докільця.

Метод однорідного кольору з великим роздвоєнням зображення. При цьому методі, в якості відмінної риси для оцінки величини коефіцієнта заломлення досліджуваного об'єкту краще за все прийняти послідовність

затемнення роздвоєних зображень при пересуванні двозаломлюючої призми в поперечному напрямі. Якщо при цьому послідовність затемнення зображень темним кольором нульового порядку інтерференції відповідає напрямку пересування двозаломлюючої призми, то коефіцієнт заломлення n досліджуваного об'єкту більший за коефіцієнта заломлення n_1 довкілля - і навпаки, якщо послідовність затемнення зображень цим кольором зворотна напрямку пересування призми, то коефіцієнт заломлення n менший n_1 .

Метод інтерференційних смуг. Переміщаючи двозаломлюючу призму, спостерігаємо, з якого боку темної смуги нульового порядку інтерференції виходить затемнення одного або іншого зображення досліджуваного об'єкту. Якщо при цьому ліве зображення затемняється з правого боку цієї смуги, а праве зображення з лівою, то коефіцієнт заломлення n досліджуваного об'єкту більше коефіцієнта заломлення n_1 довкілля, і навпаки, якщо ліве зображення затемнюється з лівого боку нульової темної смуги, а праве зображення з правого боку цієї смуги, то коефіцієнт заломлення n менше n_1 .

2.4.3 Дослідження мікроструктури матеріалів методом металографічного аналізу

Вивчення мікроструктури дозволяє виявити побудову металів і сплавів з великого числа зерен (кристалів), їх форму, розміри і взаємне розташування. Також можна виявити частки неметалічних включень, різні фази в металі, мікрodefekти (раковини, дрібні тріщини) і defekти кристалічної будови (наприклад дислокації). По мікроструктурі можна судити про характер і якість термічної обробки, зварювання, литва тощо. Вивчення мікроструктури роблять на мікрошліфах. Мікрошліф - це спеціально підготовлений зразок металу або сплаву.

Виготовлення металографічних шліфів складається з вирізування зразка, шліфовки і поліровки. Найбільш зручним вважається мікрошліф з площею поперечного перерізу приблизно 1 см^2 і заввишки 10-15 мм. Проте на практиці часто виготовляють шліфи інших розмірів (рис.2.32).

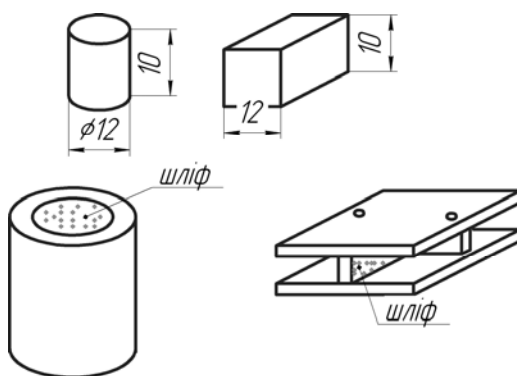


Рис.2.32. Металографічні шліфи:

- а - нормальні розміри шліфів;
- б - шліф, залитий легкоплавким сплавом;
- в - шліф, затиснутий в струбцину

Приготований мікрошліф досліджують під оптичним мікроскопом при невеликому збільшенні з метою визначення якості його виготовлення, наявності і розподілу неметалічних (графіту, сульфідів, оксидів та інших) включень.

Для дослідження мікроструктури шліф піддають травленню. В результаті різної інтенсивності розчинення створюється рельєф поверхні шліфа.

Приклади рекомендованих реактивів для виявлення структури різних металів і сплавів наведені в табл.2.1.

Табл.2.1. Травники та режими для виявлення мікроструктури деяких металів та сплавів

Склад травника	Спосіб травлення	Область застосування
Ніталь: 1-5 мл - азотна кислота, 100 мл - етиловий (метиловий) спирт	Хімічне травлення – кілька секунд – 1-2 хвилини	Для травлення залізовуглецевих сплавів (сталей та чавунів)
5 г – хлорне залізо, 10 мл – соляна кислота, 85 мл – вода	Хімічне травлення на протязі 3-10 с	Для виявлення мікроструктури мідних сплавів
5-20% розчин їдкого натру у воді або в метиловому спирті	Хімічне травлення	Для виявлення мікроструктури алюмінію та його сплавів

Для виявлення мікроструктури застосовуються спеціально підібрані кислоти і луги різної концентрації, розчини солей. На поверхні шліфа відбувається розчинення одних фаз, окислення і фарбування інших. Хімічне травлення здійснюється шляхом занурення зразка в реактив або протирання зразка за допомогою тампона. Тривалість травлення найчастіше встановлюється дослідним шляхом. У більшості випадків ознакою травлення є потьмяніння поверхні, що настає зазвичай через декілька секунд. Після травлення шліф швидко промивають водою і сушать фільтрувальним папером.

Незважаючи на досить тривалу історію свого розвитку (більше 300 років) оптична мікроскопія на сьогодні залишається найпоширенішим і самим затребуваним методом вимірювання в метрологічних, біологічних, клінічних дослідженнях, точному приладобудуванню, машинобудуванню, тощо.

При цьому перспективним бачиться вдосконалення умов спостереження і вимірювання цим методом за рахунок застосування в ньому можливостей телеспостереження за допомогою систем зв'язаних з комп'ютерною технікою. Це значно полегшує працю оператора, знижується його стомлюваність, можливість появи промахів і грубих помилок у вимірюваннях, підвищується продуктивність праці, що завжди важливо при наукових дослідженнях і виробничому контролі.

Застосування таких систем телеспостереження замість традиційних оптичних мікроскопів має ряд істотних переваг, наприклад, при досить високій загальній освітленості виробничого приміщення. При цьому стомлюваність оператора при спостереженні і вимірюваннях значно нижча через відсутність акомодатії зору, шляхом підбору оптимальної яскравості та контрасту зображення – за рахунок спеціальної обробки відеосигналу (фільтрація постійної складової, корекція чіткості, вибір оптимальної амплітудно-частотної характеристики підсилювачів тощо). Це особливо важливо при спостереженні таких малоконтрастних об'єктів, як, наприклад, інтегральні мікросхеми і складання на їх основі, біологічні клітини та їх органели і тому подібне. Крім того, полегшуються загальні умови спостереження (дистанція, положення голови і тіла, групове спостереження і т.д.).

Також слід зазначити, що за допомогою спеціалізованої системи телеспостереження оптичного мікроскопа можна робити візуальні спостереження та вимірювання як у видимому, так і в інфрачервоному, ультрафіолетовому діапазонах спектру.

Розділ 3 МЕТОДОЛОГІЯ ТА ТЕХНІЧНІ ЗАСОБИ

ЕЛЕКТРОННОЇ МІКРОСКОПІЇ

3.1 Принципи роботи та області застосування електронних мікроскопів

Електронна мікроскопія, сукупність електронно-зондових методів дослідження мікроструктури твердих тіл, їх локального складу і мікрополів (електричних, магнітних тощо) за допомогою електронних мікроскопів (ЕМ) - приладів, в яких для отримання збільшених зображень використовують електронний пучок. Електронна мікроскопія включає також методики підготовки об'єктів, що вивчаються, обробки і аналізу результуючої інформації. Розрізняють два головні напрями електронної мікроскопії: трансмісійну (що працює на просвітлення) і растрову (скануючу), які ґрунтуються на використанні відповідних типів ЕМ. Вони дають якісно різну інформацію про об'єкт дослідження і часто застосовуються спільно. Відомі також віддзеркалююча, емісійна, оже-електронна, лоренцова й інші види електронної мікроскопії, що реалізуються, як правило, за допомогою приставок до трансмісійних і растрових ЕМ.

Нині розрізняють електронну мікроскопію (ПЕМ), що працює на просвітлення і растрову електронну мікроскопію (РЕМ). Дані для порівняння РЕМ, ПЕМ і світлової мікроскопії наведені в табл.3.1.

Табл.3.1. Порівняльні характеристики світлових і електронних мікроскопів

Методи мікроскопії	Роздільна здатність, нм	Діаметр зони, що досліджується, нм	Збільшення, М, крат
Світлова	200	10^5	10^3
Растрова електронна	3	10^3	10^5
Електронна, що працює на просвітлення	0,2	2	10^6

Електронний промінь – направлений пучок прискорених електронів, який використовується для просвітлення зразків або збудження в них вторинних

випромінювань (наприклад, рентгенівського). Прискорююча напруга – напруга між електродами електронної гармати, що визначає кінетичну енергію електронного променя. Роздільна здатність - найменша відстань між двома елементами мікроструктури, які видно на зображенні окремо (залежить від характеристик ЕМ, режиму роботи і властивостей зразків). Світлопольне зображення - збільшене зображення мікроструктури, сформоване електронами, що пройшли через об'єкт з малими енергетичними втратами (структура зображається на екрані електронно-променевої трубки темними лініями і плямами на світлому фоні). Темнопольне зображення формується розсіяними електронами (основний пучок електронів при цьому відхиляють або екранують) і використовується при вивченні сильнорозсіюючих об'єктів (наприклад, кристалів); в порівнянні зі світлопольним виглядає як негативне.

Хроматична аберація – зниження швидкості електронів після просвічування об'єкту, що призводить до погіршення роздільної здатності; посилюється зі збільшенням товщини об'єкту і зменшенням прискорюючої напруги. Контрастування (хімічне і фізичне) - обробка досліджуваних зразків для підвищення загального контрасту зображення та/чи виявлення окремих елементів їх структури. Відтінення – фізичне контрастування мікрочасток, макромолекул, вірусів, що полягає в тому, що на зразок у вакуумній установці напильюється тонка плівка металу. При цьому "тіні" (ненапилені ділянки) промальовували контури часток і дозволяють вимірювати їх висоту. Негативне контрастування - обробка мікрочасток або макромолекул на плівці-підкладці розчинами з'єднань важких металів (U та інших), внаслідок чого частки будуть видні як світлі плями на темному фоні (на відміну від позитивного контрастування, що робить темними самі частки). Ультрамикро́том (ультратом) - прилад для отримання ультратонких (10-100 нм) зрізів об'єктів за допомогою скляних або алмазних ножів. Реплі́ка - тонка, прозора для електронів плівка з полімерного матеріалу або аморфного вуглецю, що повторює мікрорельєф масивного об'єкта або його сколу. Сканування - послідовне опромінення поверхні, що вивчається, вузьким електронним променем – зондом

за допомогою розгортки (у трансмісійних приладах усе поле зору опромінюється одномоментно). Розгортка - періодичне відхилення електронного променя по осях X і Y з метою формування електронного растру. Растр - система ліній сканування на поверхні зразка і на екрані.

Растрова (скануюча) мікроскопія. У растрових електронних мікроскопах (РЕМ; рис.3.1) електронний промінь, що фокусується магнітними лінзами в тонкий (1-10 нм) зонд, який сканує поверхню зразка, формуючи на ній растр з декількох тисяч паралельних ліній.

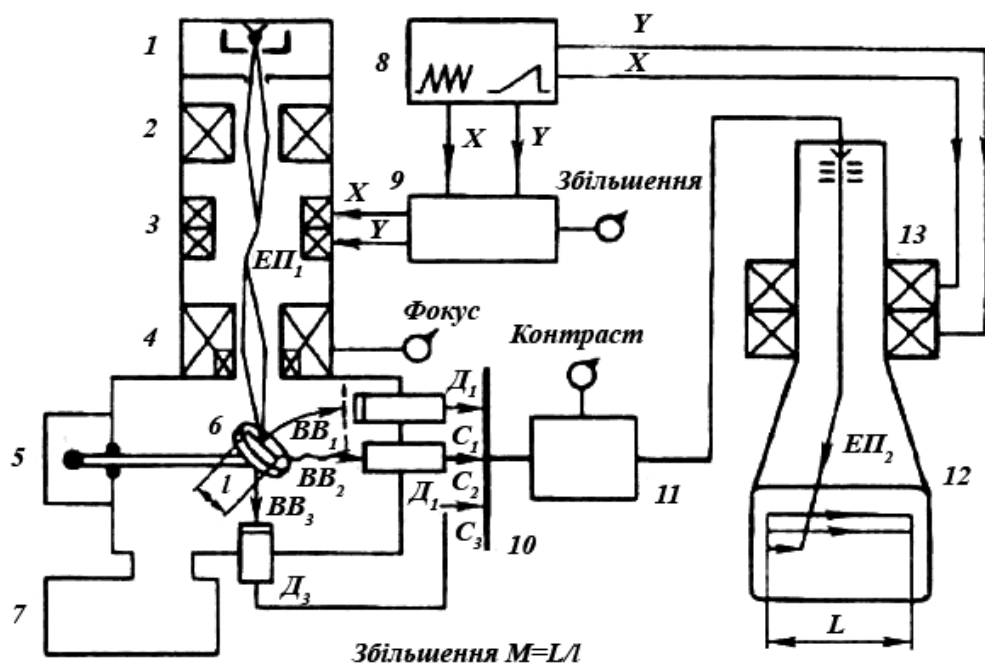


Рис.3.1. Схема будови растрового електронного мікроскопа:

- 1 - електронна гармата; 2 - конденсор; 3 - система, що відхиляє;
- 4 - кінцева лінза з коректором астигматизму; 5 - об'єктний столик; 6 - зразок;
- 7 - вакуумна система; 8 - генератор розгортки; 9 - блок управління збільшенням;
- 10 - селектор сигналів (для вибору реєстрованого вторинного випромінювання);
- 11 - відеопідсилювач; 12,13 - ЕПТ та її система відхилення;
- ВВ1- ВВ3 - потоки вторинних випромінювань; С1 - С3 - електричні сигнали;
- Д1-Д3 - детектори; ЕП1, ЕП2 - електронні промені; X, Y - напрями сканування (рядкова і кадрова розгортки)

Вторинні випромінювання, що виникають при електронному бомбардуванні поверхні (вторинна емісія електронів, оже-електронна емісія та інші) реєструються різними детекторами і перетворюються у відеосигнали, що

модулюють електронний промінь в електронно-променевої трубі (ЕПТ). Розгортки променів в колоні РЕМ та в ЕПТ синхронні, тому на екрані ЕПТ з'являється зображення, що є картиною розподілу інтенсивності одного з вторинних випромінювань по сканованій площі об'єкту. Збільшення РЕМ визначається як $M = L/l$, де L та l - довжини ліній сканування на екрані та на поверхні зразка.

Вибір реєстрованого вторинного випромінювання обумовлений завданням дослідження. Основний режим роботи РЕМ - реєстрація вторинних електронів (ВЕ). Оскільки інтенсивність емісії ВЕ сильно залежить від кута падіння електронного променя на поверхню, отримуване зображення дуже близька до звичайного макроскопічного зображення рельєфу об'єкту, що освітлюється з усіх боків розсіяним світлом; інакше кажучи, формується топографічний контраст. Емісія ВЕ відрізняється найбільшою інтенсивністю в порівнянні з іншими вторинними випромінюваннями.

При дослідженні неоднорідних за складом поверхонь на топографічне зображення ВЕ накладається додатковий розподіл яскравості, який залежить від середнього атомного номера Z речовини зразка на кожній мікроділянці (так званий композиційний, або Z -контраст), яка проявляється сильніше, якщо реєструвати не вторинні, а пружнорозсіяні електрони. Цей режим застосовують при дослідженні шліфів металевих сплавів мінералів, композиційних матеріалів й інших об'єктів, коли топографічний контраст відсутній і треба встановити композиційну неоднорідність поверхні.

Тонкоплівкові зразки (до 1 мкм) просвічуються електронним променем наскрізь і електрони, які пройшли, реєструються детектором, розташованим під об'єктом. Зображення, що отримуються в цьому режимі, іноді більше інформативні, ніж звичайні ТЕМ-зображення, оскільки вільні від хроматичної аберації.

У технічних дослідженнях використовується також реєстрація поглинених електронів у поєднанні з прикладенням робочої напруги до транзистора, що вивчається, або інтегральної схеми. Це дозволяє отримувати

зображення, що відповідає розподілу електричних потенціалів, і таким чином виявляти мікродефекти в елементах схеми. При цьому можна переривати первинний електронний промінь з високою частотою і візуалізувати проходження за схемою високочастотних сигналів.

За допомогою відповідних детекторних систем і спектрометрів в РЕМ можна реєструвати електромагнітні випромінювання: катодолюмінесценцію, гальмівне і характеристичні рентгенівські випромінювання, а також оже-електрони. Отримувані при цьому зображення і спектри дають кількісну інформацію про локальний елементний склад поверхневих шарів зразка і широко застосовуються в матеріалознавстві.

Для вивчення структури поверхні за допомогою РЕМ до зразка пред'являється ряд вимог. Передусім, його поверхня має бути електропровідною, щоб виключити перешкоди за рахунок накопичення поверхневого заряду при скануванні. Крім того, треба всемірно підвищувати відношення сигнал/шум, яке разом з параметрами оптичної системи визначає роздільна здатність. Тому перед дослідженням на діелектричні поверхні шляхом вакуумного випару або іонного розпилювання наносять тонку (15-20 нм) однорідну плівку металу з високим коефіцієнтом вторинної електронної емісії (Au, Au-Pd, Pt-Pd). Біологічні об'єкти, що містять, як правило, велику кількість води, перед нанесенням покриття необхідно зафіксувати спеціальною хімічною обробкою і висушити, зберігши природний мікрорельєф поверхні (сушка в критичній точці з використанням зріджених CO₂ і N₂O, хладонів або вакуумнокріогеними методами).

Роздільна здатність РЕМ визначається чинниками, залежними як від конструкції приладу, так і від природи досліджуваного об'єкту. Якщо зразок електро- і теплопровідний, однорідний по складу і не має приповерхневої пористості, в РЕМ з вольфрамовими електродами досягається роздільна здатність 5-7 нм, в РЕМ з електронними гарматами на польовій емісії 1,0-1,5 нм.

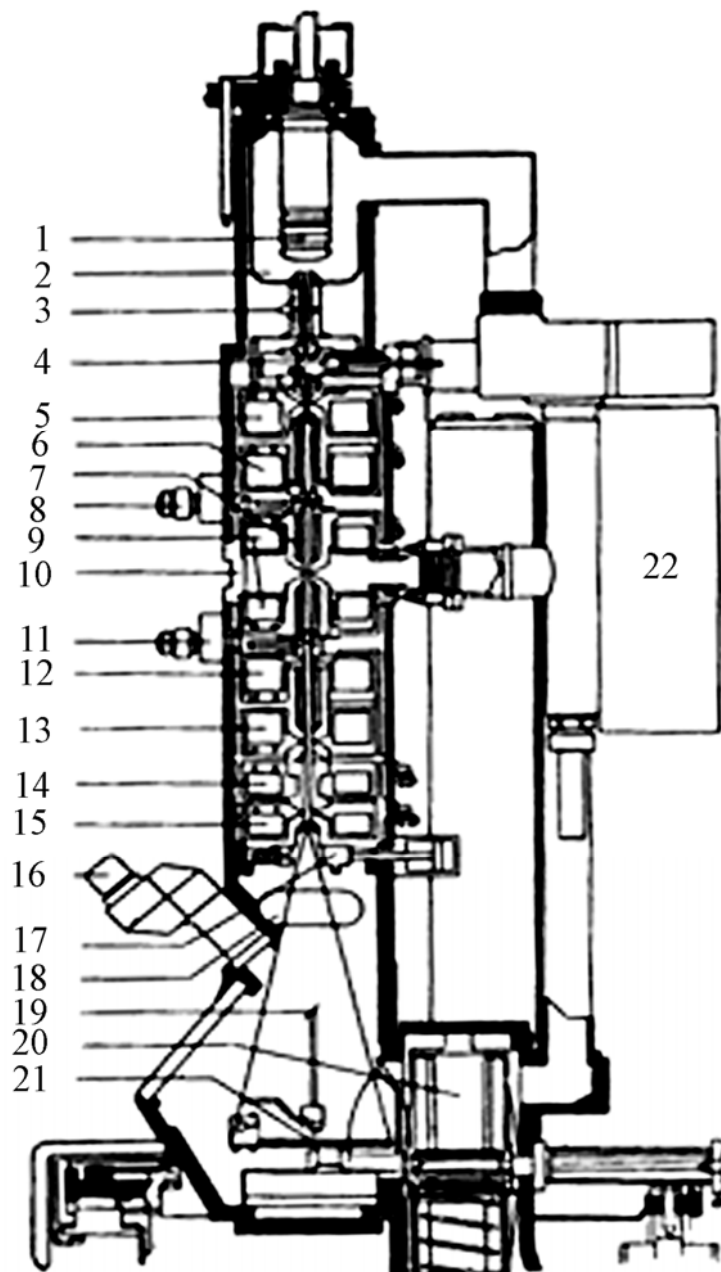


Рис.3.2. Розріз (основні вузли) електронного мікроскопа, який працює на просвітлення:

- 1 - електронна гармата; 2 - анод; 3 - котушка для юстирування гармати;
 4 - клапан гармати; 5 - перша конденсорна лінза; 6 - друга конденсорна лінза; 7 - котушка для нахилу пучка; 8 - конденсор другої діафрагми; 9 - об'єктивна лінза; 10 - блок зразка;
 11 - дифракційна діафрагма; 12 - дифракційна лінза; 13 - проміжна лінза; 14 - перша проєкційна лінза; 15 - друга проєкційна лінза; 16 - бінокляр $\times 12$; 17 - вакуумний блок колони;
 18 - камера для 35-міліметрової котушкової плівки; 19 - екран для фокусування;
 20 - камера для пластинок; 21 - головний екран; 22 - іонний сорбційний насос

Принцип його побудови [49] загалом аналогічний принципу мікроскопа оптичного: він містить освітлювальну (електронна гармата), фокусуючу (лінзи) і реєструючу (екран) системи. Проте він сильно відрізняється в деталях.

Наприклад, світло безперешкодно поширюється в повітрі, тоді як електрони легко розсіюються при взаємодії з будь-якою речовиною і, отже, безперешкодно можуть переміщатися тільки у вакуумі. Іншими словами, мікроскоп поміщають у вакуумну камеру.

Радіаційне ушкодження. Оскільки електрони є іонізуючим випромінюванням, зразок в ЕМ постійно піддається його дії. Отже, зразки завжди піддаються радіаційному ушкодженню. Типова доза випромінювання, що поглинається тонким зразком за час реєстрації мікрофотографії в ЕМ, приблизно відповідає енергії, якої було б досить для повного випару холодної води із ставка глибиною 4 м з площею поверхні 1 га. Щоб зменшити радіаційне ушкодження зразка, необхідно використати різні методи його підготовки: фарбування, заливку, заморожування. Крім того, можна реєструвати зображення при дозах електронів, які на 2-3 порядки менші, ніж за стандартною методикою, а потім покращувати його методами обробки зображень.

Перспективні напрями розвитку. До них відносяться: підвищення роздільної здатності ТЕМ і РЕМ; вдосконалення способів підготовки зразків; розробка методів отримання якісно нової інформації і підвищення чутливості методів аналізу за допомогою спектрометричних систем; розробка методів комп'ютерної обробки отриманих зображень з метою виявлення кількісної інформації, що міститься в них, про структуру об'єкту; автоматизація і комп'ютеризація ТЕМ, РЕМ і сполученої з ними аналітичної апаратури.

Підвищення роздільної здатності мікроскопів досягається головним чином вдосконаленням електронної оптики і застосуванням нових видів електронних гармат. Заміна традиційних вольфрамових термокатодов на орієнтир, катоди з LaB_6 дозволила підвищити електронну яскравість гармат в 5-7 разів, а перехід до гармат на польовій емісії (автоемісії) з холодними катодами з монокристалічного W - в 50-100 разів, що дало можливість зменшити діаметр електронного зонду і довести роздільну здатність РЕМ до 1 нм, істотно понизивши при цьому променеве навантаження на зразок.

Розвиток способів підготовки зразків найактивніше відбувається в області

електронно-мікроскопічного дослідження структури полімерних матеріалів і вологомістких об'єктів і пов'язаний переважно з розробкою кріогенних методів (надшвидке заморожування в струмені хладону, притиск до металевого блоку, що охолоджується рідким He, низькотемпературне заміщення води органічними розчинниками, кріоультратомія, кріомікроскопія тощо). Ці методи дозволяють уникнути порушень структури і локального складу зразків, спостережуваних при хімічній фіксації і нанесенні електропровідних покриттів.

Така ж мета досягається і при використанні низьковакуумного растрового електронного мікроскопа (НВРЕМ), що дозволяє можливість досліджувати поверхню сильно зволжених і навіть живих об'єктів без попередньої хімічної або кріогенної фіксації. У НВРЕМ об'єктна камера відокремлена від колони РЕМ діафрагмою малого діаметру, що пропускає скануючий електронний промінь, але перешкоджає проході молекул газів у високовакуумну частину колони. Електрони, що випускаються поверхнею ВЕ збираються спеціальним кільцевим детектором, що охоплює об'єкт. Використання НВРЕМ значно розширює дослідницькі можливості біологів, ґрунтознавців і матеріалознавців.

Потужний прорив в трансмісійній електронній мікроскопії був зроблений в 1980-х рр., коли вдалося створити ТЕМ з комп'ютерним аналізатором елементного складу на базі спектрометра енергетичних витрат. Метод спектрометрії енергетичних витрат електронів (EELS - Electron Energy Loss Spectrometry) був відомий давно і застосовувався для мікроаналізу в трансмісійно-скануючому режимі ТЕМ. Проте установка спектрометричної системи з двох магнітних призм і електростатичного дзеркала між двома проміжними лінзами (а не під екраном і фотокамерою) дала можливість гнучко регулювати контраст ТЕМ-зображення, отримувати безабераційні зображення товстих (до 1 мкм) зрізів, а головне, отримати елементно-селективні зображення в діапазоні елементів від В до U з точністю близько 0,5 нм і чутливістю виявлення до $(1-2) \cdot 10^{-20}$ г елементу (що відповідає, наприклад, 150 атомам Са), що створює значні переваги методу перед традиційними методами рентгеноспектрального мікроаналізу при вивченні зрізів і плівок.

3.2 Структурні схеми електронних мікроскопів

3.2.1 Растрові електронні мікроскопи

Растровий електронний мікроскоп (РЕМ, англ. Scanning Electron Microscope, SEM) - прилад, заснований на принципі взаємодії електронного пучка з речовиною, призначений для отримання зображення поверхні об'єкту з високим просторовим дозволом (декілька нанометрів), а також про склад, будову і деякі інші властивості приповерхневих шарів.

Принцип роботи РЕМ полягає в скануванні поверхні зразка сфокусованим електронним пучком і аналізі відбитих від поверхні часток та рентгенівського випромінювання, що виникає в результаті взаємодії електронів з речовиною. Аналіз часток дозволяє отримувати інформацію про рельєф поверхні, про фазову відмінність і кристалічну структуру приповерхневих шарів. Аналіз рентгенівського випромінювання, що виникає в процесі взаємодії пучка електронів із зразком дає можливість якісно і кількісно охарактеризувати хімічний склад приповерхневих шарів.

Сучасний РЕМ дозволяє працювати в широкому діапазоні збільшень приблизно від $\times 10$ (тобто еквівалентно збільшенню сильної ручної лінзи) до $\times 1000000$, що приблизно в 500 разів перевищує межу збільшення кращих оптичних мікроскопів.

Основною перевагою РЕМ є висока інформативність, обумовлена тим, що будь – яке із виникаючих випромінювань може реєструватись відповідними приладами, які перетворюють випромінювання в електричні сигнали.

Основні типи сигналів, які генеруються в процесі роботи РЕМ:

- сигнал детектора вторинних електронів (ВЕ або режим рельєфу);
- відбитих електронів (режим фазового контрасту);
- електрони, що пройшли через зразок, у разі встановленої STEM-приставки (використовується для дослідження органічних об'єктів);
- дифракції відбитих електронів (ДВЕ);
- витрати струму на зразку (ПЕ або детектор поглинених електронів);
- струм, що пройшов через зразок (СЕ або детектор електронів, що пройшли);

- характеристичне рентгенівське випромінювання РСМА або рентгеноспектральний мікроаналіз);
- ХДА або хвиледисперсний аналіз;
- світловий сигнал (КЛ або катодолюмінесценція).

Детектори вторинних електронів - перший і традиційно встановлюваний на усі РЕМ тип детекторів. У цьому режимі роздільна здатність РЕМ максимальна. Роздільна здатність детекторів вторинних електронів в сучасних приладах вже достатній для спостереження субнанометрових об'єктів [50]. Із-за дуже вузького електронного променя РЕМ мають дуже велику глибину різкості (0,6-0,8 мм), що на два порядки вище, ніж у оптичного мікроскопа і дозволяє отримувати чіткі мікрофотографії з характерним тривимірним ефектом для об'єктів із складним рельєфом.

Відбиті електрони - це електрони пучка, відбиті від зразка пружним розсіюванням. Відбиті електрони часто використовуються в аналітичному РЕМ спільно з аналізом характеристичних спектрів рентгенівського випромінювання. Оскільки інтенсивність сигналу відбитих електронів безпосередньо пов'язана з середнім атомним номером (Z) засвічуваної області зразка, зображення відбитих електронів несуть в собі інформацію про розподіл різних елементів в зразку. Наприклад, режим відбитих електронів дозволяє виявити колоїдні золоті імунні мітки діаметром 5-10 нм, які дуже важко або навіть неможливо виявити у біологічних об'єктах в режимі вторинних електронів. Мікрофотографія поверхні аншліфа метал-оксидної системи демонструє можливості режиму відбитих електронів РЕМ.

Характеристичне рентгенівське випромінювання генерується у разі, коли електронний промінь вибиває електрони з внутрішніх оболонок елементів зразка, примушуючи електрон з більш високого енергетичного рівня перейти на нижній рівень енергії з одночасним випусканням кванта рентгенівського випромінювання. Детектування спектру характеристичного рентгенівського випромінювання дозволяє ідентифікувати склад і виміряти кількість елементів в зразку.

Конструктивно РЕМ від ПЕМ відрізняється наявністю системи для електронного променя, датчиків відбитих і вторинних електронів, датчиків інших вторинних сигналів з блоком формування відеосигналу та електронним відеоблоком для спостереження і фотографування зображення (рис.3.3).

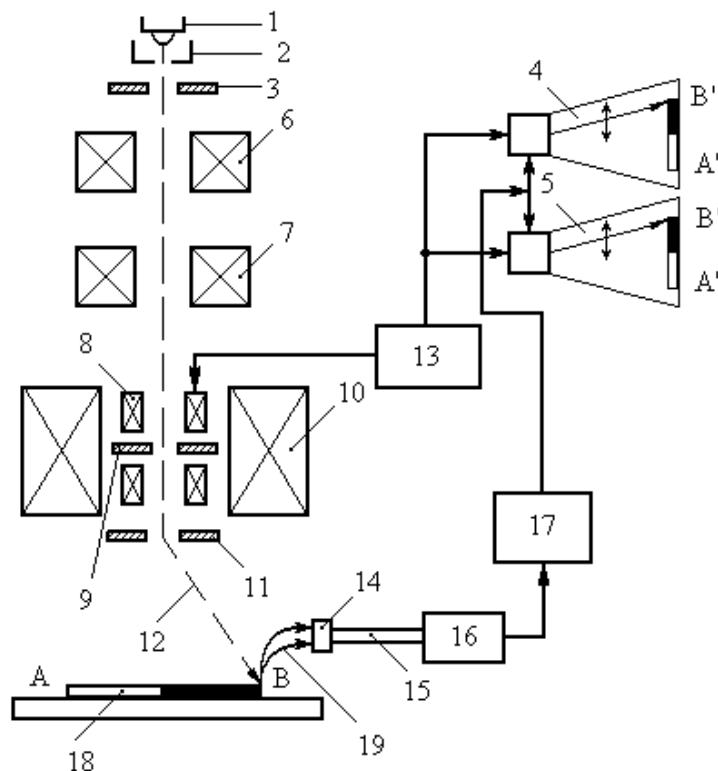


Рис.3.3. Схема растрового електронного мікроскопу:

- 1 - термоемісійний катод; 2 - електрод, що управляє; 3 - анод,
- 4 - ЕПТ для спостереження; 5 - ЕПТ для фотографування; 6,7 - перша і друга конденсорна лінзи; 8 - котушки, що відхиляють; 9 - стигматор; 10 - об'єктивна лінза;
- 11 - об'єктивна діафрагма; 12 - електронний пучок; 13 - генератор розгортки електронного променя мікроскопа та ЕПТ відеоблоку; 14 - сцинтилятор; 15 - світловод;
- 16 – фотоелектричний помножувач; 17 - відеопідсилювач; 18 - досліджуваний зразок;
- 19 - реєстрований сигнал (оптичний, рентгенівський або електронний)

Роздільна здатність електронних мікроскопів – це найменша відстань між двома деталями об'єкту, роздільно зображеними на сканогамі, вона визначається видом сигналу і в першу чергу діаметром електронного зонду і складає 30-200 Å. Тому необхідно узгоджувати з поверхнею зразка дуже сильно зменшене електронно-оптичне зображення самого тонкого місця пучка – кросовера. Зазвичай пучок в кросовері має діаметр 0,1 мм, а оптимальний

розмір його зображення на поверхні зразка 10^{-6} мм, тобто зменшення повинно досягати ста тисяч разів. Таке зменшення здійснюється спеціальною системою електронних лінз і регулюється “яскравістю” електронного пучка, тобто його густиною струму (струмами лінз). Мати дуже “яскравий” пучок особливо важливо в тих випадках, коли для отримання зображення використовуються вторинні електрони. Наприклад, при струмі первинних електронів близько 10^{-6} А, струм вторинних електронів має порядок 10^{-12} А. Для посилення таких слабких сигналів вторинні електрони спочатку направляються на кристал – сцинцилятор, який відповідає за прихід кожного електрону спалахом світла. Світло надходить на фотопомножувач і після нього вже підсилюється електронною схемою (рис.3.4).

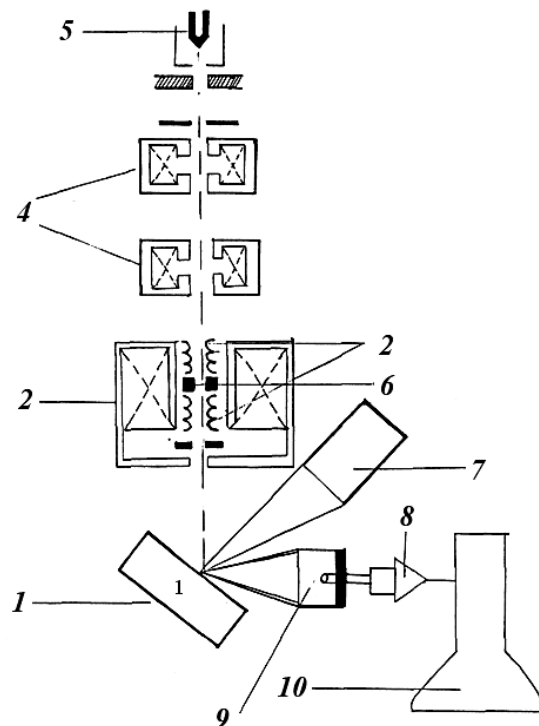


Рис.3.4. Схема електронного мікроскопу РЕМ-100у:

- 1 – зразок; 2, 4 електромангнітні лінзи; 3 – котушка відхиляюча; 5 – катод; 6 – стигматор;
- 7 – детектор рентгенівського випромінювання; 8 – підсилювач фотопомножувача;
- 9 – детектор вторинних електронів; 10 – електронно-променева трубка

Характер взаємодії поверхні з електронним зондом залежить від її рельєфу в місці попадання променя і від атомного номеру елементів, що входять в склад досліджуваної поверхні об'єкту [51], рис.3.5.

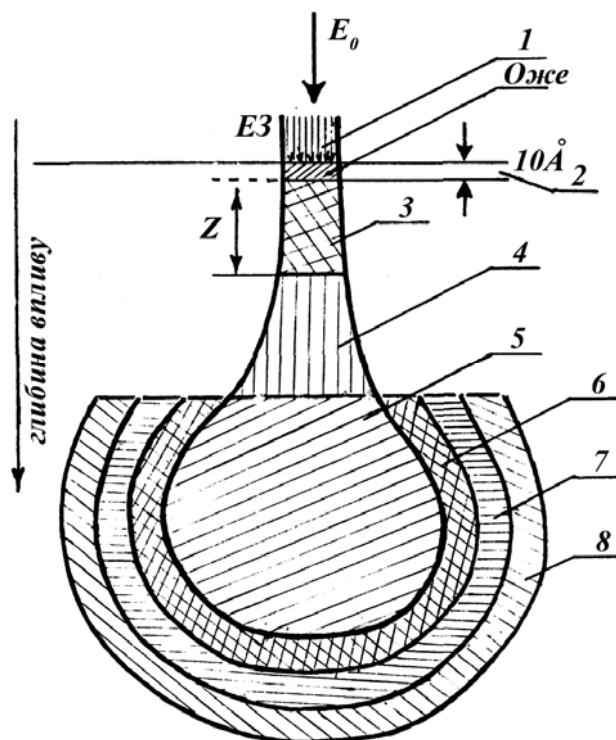


Рис.3.5. Схема взаємодії електронів первинного пучка з матеріалом об'єкта із середніми і малими атомними номерами (до $Z=30$):

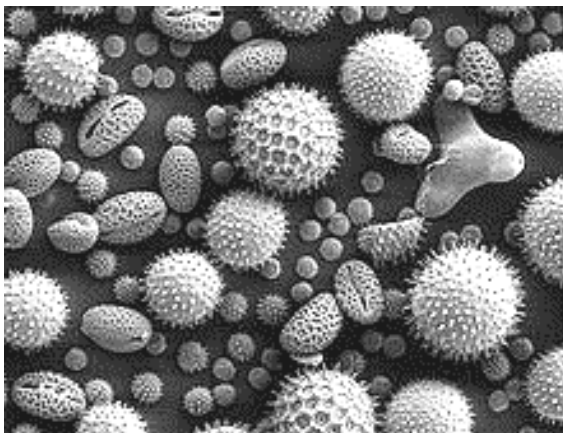
Z – глибина виникнення вторинних електронів, що залежить від атомного номера елемента; 1 – первинний пучок електронів; 2 – оже – електрони; 3 – вторинні електрони (5-50 нм); 4 – відбиті електрони; 5 – первинне характеристичне рентгенівське випромінювання; 6,7,8 – гальмівне, флуоресцентне, відбите рентгенівське випромінювання (зворотно розсіяне)

Так, діаметр області рентгенівського збудження є функцією E_0 (прискорююча напруга), а конфігурація – функцією Z (атомного номеру). Для об'єктів з низьким і середнім Z проникання і розсіювання електронів проходить на великій глибині, тому об'єм повного розсіювання і дифузії електронів має форму краплі. У випадку високих Z (>30) розсіювання електронів проходить в поверхневих шарах і при цьому збільшується число відбитих електронів, а конфігурація об'єму повного розсіювання і дифузії наближається до напівсферичної.

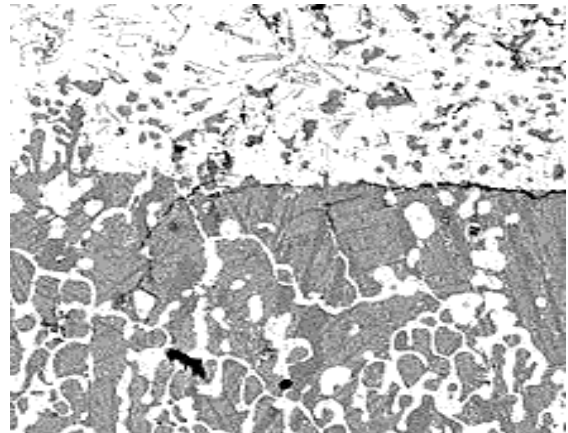
Робота з Y – модуляцією. При Y – модуляції пучок на екрані ЕПТ (електронно-променевої трубки) відхиляється у вертикальному положенні (Y) від нульового положення на величину, пропорційну інтенсивності сигналу.

Таким чином, зображення будується із ряду ліній, намальованих Y – модуляцією. Y – модуляція доцільна для знаходження малих рівнів контрасту, тріщин, різноманітних нерівностей, зламів. Сканування вздовж строки можна використати для відображення малих змін сигналу, які можна легко виявити в режимі Y – модуляції, але які було б важко розрізнити у звичайному режимі отримання зображення [52].

В РЕМ необхідно застосовувати випромінюючу систему, що формує на зразку пляму дуже малого розміру і що дозволяє переміщати його по усій поверхні зразка. Внаслідок того, що діаметр пучка електронів підтримується в межах декількох мікрометрів на досить великій відстані від поверхні зразка, глибина різкості велика, що дуже важливо при дослідженні рельєфних поверхонь мікрооб'єктів (рис.3.6, а). Ця особливість РЕМ, якою повністю позбавлені світлові електронні мікроскопи, що працюють на просвітлення, забезпечує РЕМ велике практичне значення і при невеликих збільшеннях (рис.3.6, б).



а.



б.

Рис.3.6. Мікрофотографія пилку (а) (режим вторинних електронів РЕМ) та інтерфейсу між оксидною (темні поля) і металевою (світлі поля) складовими (б) (режим віддзеркалених електронів РЕМ)

На відміну від ПЕМ растрова електронна мікроскопія дозволяє дефектоскопувати зразки практично будь-яких розмірів по товщині. В її основі лежать фізичні явища, що спостерігаються при бомбардуванні поверхні твердого тіла пучком електронів з енергією до декількох десятків

кілоелектронвольт, розгортаними в двовимірний растр на поверхні досліджуваного зразка. До таких явищ відносяться: емісія вторинних електронів; рентгенівське випромінювання; оптичне випромінювання (катодолюмінесценція); утворення відбитих електронів (рис.3.7); наведення струмів в об'єкті дефектоскопування (рис.3.8, а); поглинання електронів (рис.3.8, б); електрони, що пройшли крізь зразок (рис.3.8, в); утворення об'ємного заряду; утворення термохвилі при модуляції електронного пучка по амплітуді. Реєстрація і подальше перетворення сигналів, викликаних вторинними ефектами, дозволяє отримати різноманітні за інформативним змістом "електронні" зображення об'єкту.

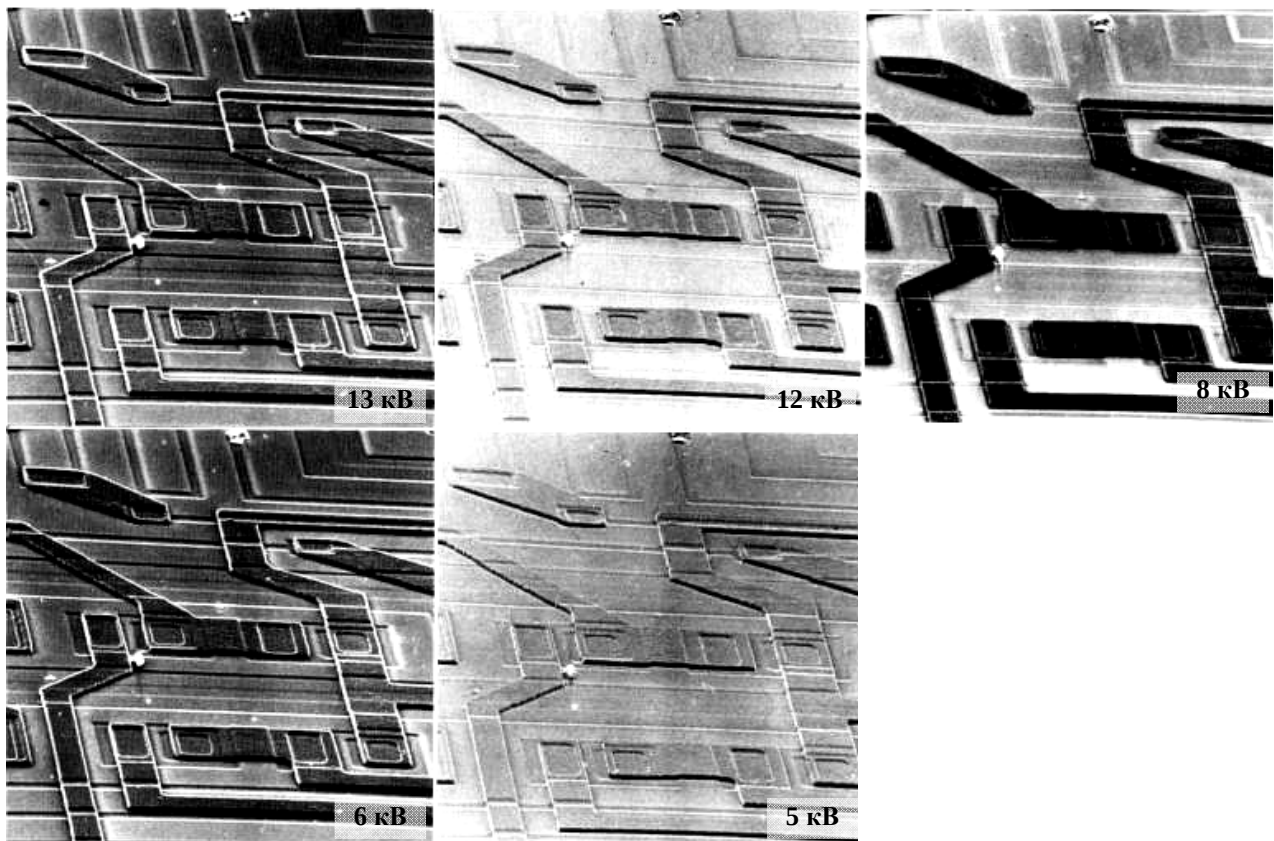


Рис.3.7. Контроль дефектів виготовлення інтегральних схем по електронних зображеннях, отриманих в режимі контролю відбитих електронів при різній прискорюючій напрузі та збільшенні в 250 разів

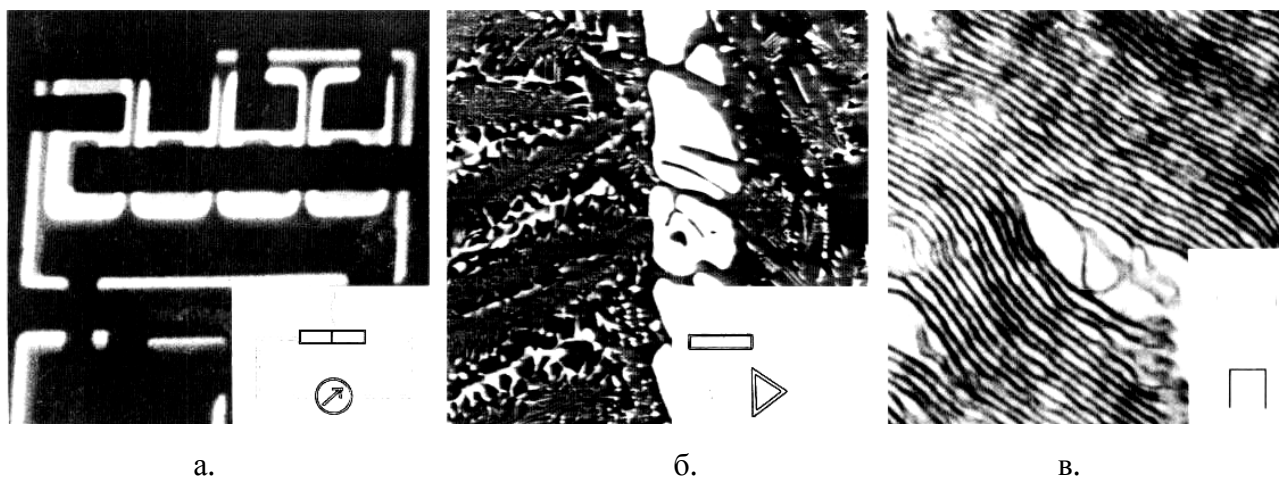


Рис.3.8. Електронні зображення, отримані в режимах контролю наведених струмів в кристалі інтегральної схеми (а), поглинених електронів (наскрізного опору) в плівці сплаву чотирьох металів Ti-Fe-Ni-Ag (б), електронів, що пройшли крізь тонкий шар каучуку (в)

Принцип роботи. Просторова роздільна здатність скануючого електронного мікроскопу залежить від поперечного розміру електронного пучка, який, у свою чергу залежить від електронно-оптичної системи, що фокусує пучок. Роздільна здатність також обмежена розміром області взаємодії електронного зонду із зразком. Розмір електронного зонду і розмір області взаємодії зонду із зразком набагато більше відстані між атомами мішені. Таким чином, роздільна здатність скануючого електронного мікроскопа не достатня для відображення атомних площин і навіть атомів, на відміну від сучасних електронних мікроскопів, які працюють на просвітлення. Проте, растровий електронний мікроскоп має ряд переваг перед мікроскопом, що працює на просвітлення. Це - візуалізація порівняно великої області зразка, дослідження масивних об'єктів (а не тільки тонких плівок), набір аналітичних методів, що дозволяють вимірювати склад і властивості об'єкту, що вивчається.

Залежно від конкретного приладу і параметрів експерименту, можна отримати роздільну здатність від десятків до одиниць нанометрів. На 2009 рік досягнуто на мікроскопі Hitachi S-5500, який склав 0,4 нм (при напрузі 30 кВ).

Як правило, найкраща роздільна здатність може бути отримана при використанні вторинних електронів, найгірша – в характеристичному рентгенівському випромінюванні. Останнє пов'язане з великим розміром

області збудження випромінювання, що у декілька разів перевищує розмір електронного зонду. При використанні режиму низького вакууму роздільна здатність дещо погіршується.

В РЕМ тонкий електронний зонд (електронний пучок) спрямовується на аналізований зразок. В результаті взаємодії між електронним зондом і зразком виникають низькоенергетичні вторинні електрони, які відбираються детектором вторинних електронів. Кожен акт зіткнення супроводжується появою електричного сигналу на виході детектора. Інтенсивність електричного сигналу залежить як від природи зразка (у меншій мірі), так і від топографії (більшою мірою) зразка в області взаємодії. Таким чином, скануючи електронним пучком поверхню об'єкту можна отримати карту рельєфу проаналізованої зони.

Тонкий електронний зонд генерується електронною гарматою, яка грає роль джерела електронів, скороченого електронними лінзами, які грають ту ж роль по відношенню до електронного пучка, як фотонні лінзи в оптичному мікроскопі до світлового потоку. Котушки, розташовані згідно з двома взаємноперпендикулярними напрямками (x , y), перпендикулярними напрямку пучка (z) і контрольовані синхронізованими струмами, дозволяють піддати зонд скануванню подібно до сканування електронного пучка в електронно-променевої трубці телевізора. Електронні лінзи (зазвичай сферичні магнітні) і котушки, що відхиляють, утворюють систему, що називається електронною колоною.

У сучасних РЕМ зображення реєструється виключно в цифровій формі, але перші РЕМ з'явилися на початку 1960 років задовго до поширення цифрової техніки і тому зображення формувалося способом синхронізації розгортки електронного пучка в кінескопі з електронним пучком в РЕМ і регулювання інтенсивності трубки вторинним сигналом. Зображення зразка тоді з'являлося на екрані кінескопа, що фосфоресціював, і могло бути зареєстроване на фотоплівці.

Основа скануючого електронного мікроскопа - електронна гармата і

електронна колона, функція якої полягає у формуванні гострозфокусованого електронного зонду середніх енергій (10-50 кеВ) на поверхні зразка. Залежно від механізму реєстрації сигналу розрізняють декілька режимів роботи скануючого електронного мікроскопа: режим вторинних електронів, режим відбитих електронів, режим катодолюмінесценції та інші. РЕМ оснащуються детекторами, що дозволяють відібрати і проаналізувати випромінювання, яке виникло в процесі взаємодії електронного зонду із зразком [53], рис.3.9. Розроблені методики дозволяють досліджувати не лише властивості поверхні зразка, але і візуалізувати інформацію про властивості підповерхневих структур.

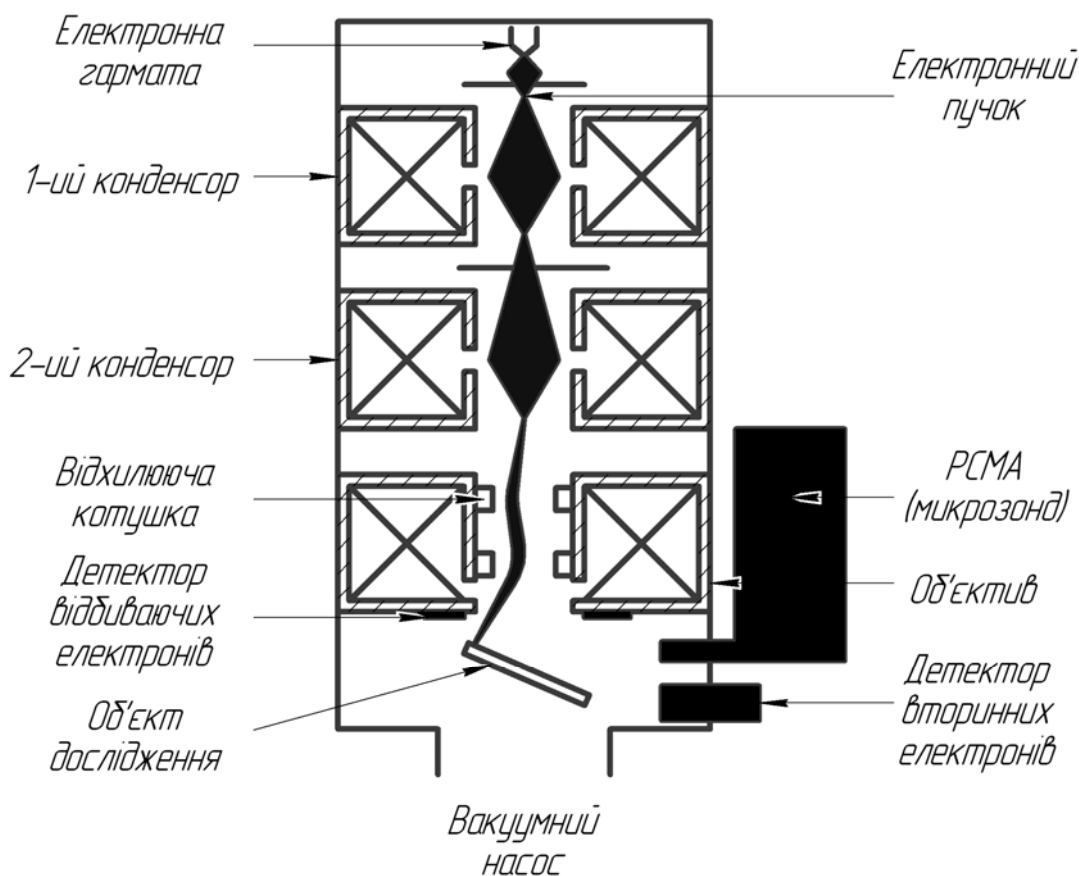


Рис.3.9. Схема РЕМ, оснащеного детектором рентгенівських променів - "РСМА"

Взаємодія електронів з речовиною. У класичному мікроскопі видиме світло реагує із зразком і відбиті фотони аналізуються детектором або оком людини. У електронній мікроскопії пучок світла замінений пучком електронів, що взаємодіє з поверхнею зразка і відбиті фотони замінені цілим спектром

часток і випромінювань: вторинні електрони, зворотно-відбиті електрони, Оже-електрони, рентгенівське випромінювання, катодолумінесценція тощо. Ці частки і випромінювання є носіями інформації різного типу про речовину, з якої створений зразок.

Вторинні електрони. В результаті взаємодії з атомами зразка електрони первинного пучка можуть передати частину своєї енергії електронам із зони провідності, тобто слабо пов'язаним з атомами. В результаті такої взаємодії може статися відрив електронів та іонізація атомів. Такі електрони називаються вторинними. Ці електрони зазвичай мають невелику енергію (близько 50 eV). Будь-який електрон первинного пучка має енергію, достатню для появи декількох вторинних електронів.

Оскільки енергія вторинних електронів невелика, їх вихід можливий тільки з приповерхневих шарів матеріалу (менше 10 нм). Завдяки невеликій кінетичній енергії, ці електрони легко відхиляються невеликою різницею потенціалів. Це робить можливим істотно підвищити ефективність детекторів (зібрати максимально можливу їх кількість) і отримати високоякісні зображення з хорошим відношенням сигнал/шум і дозволом близько 4 нм при діаметрі пучка 3 нм.

Якщо після бомбардування зразка електронним пучком виміряти енергетичний розподіл усіх емітованих з нього електронів в діапазоні енергій від 0 до E_0 (E_0 - енергія первинних бомбардуючих поверхню досліджуваного зразка електронів), то вийде крива, подібна до зображеної на рис.3.10, високоенергетична частина розподілу якої (область I) має широкий максимум і

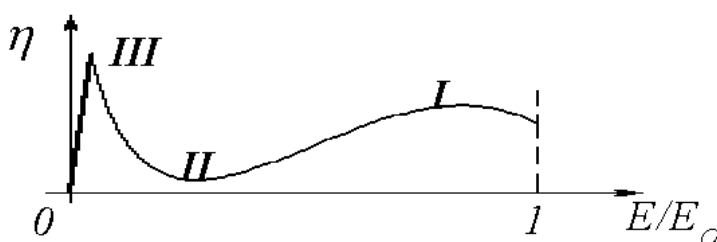


Рис.3.10. Енергетичний розподіл електронів, емітованих з досліджуваного зразка після його бомбардування первинним електронним пучком

відповідає відбитим електронам, менша частина яких має низькі енергії (область II). Збільшення числа емітованих електронів, які утворюють область III, відбувається за рахунок процесу вторинної електронної емісії.

В процесі непружного розсіяння пучка електронів, при взаємодії його з досліджуваним зразком може виникати рентгенівське випромінювання. Це відбувається за рахунок двох різних процесів:

- гальмування пучка електронів в кулонівському полі атома, що призводить до виникнення безперервного спектру електромагнітного випромінювання з енергією від нуля до енергії електрона (у цей діапазон входить і енергія рентгенівських квантів), що падає;
- взаємодії електрона пучка з електронами внутрішніх оболонок, характеристичного рентгенівського випромінювання (енергія рентгенівського кванта, що випускається, характеризується різницею енергій між чітко певними електронними рівнями), що призводить до його виникнення.

Коли деякі матеріали, такі як діелектрики і напівпровідники, піддаються електронному бомбардуванню, то виникає довгохвильове електромагнітне випромінювання в ультрафіолетовій і видимій частині спектру. Це випромінювання, відоме як катодолюмінесценція.

Для аналізу робочого стану активних і пасивних елементів інтегральних схем представляє інтерес режим наведених струмів. При скануванні електронним пучком поверхні кристала інтегральних схем, підключеного до джерела живлення, частина поглинених в кристалі електронів перетворюється на вільні носії заряду і генерують електричні сигнали, що виявляються в ланцюзі живлення. Ці сигнали мають максимальне своє значення при перетині електронним пучком областей потенційних бар'єрів на кристалі (р-п переходів), що дозволяє їх візуалізувати на екрані відеомонітора.

Режими роботи. Зазвичай для отримання інформації про структуру поверхні використовуються вторинні та/або відбиті (зворотнорозсіяні) електрони. Контраст у вторинних електронах найсильніше залежить від рельєфу поверхні, тоді як відбиті електрони несуть інформацію про розподіл електронної щільності (області, збагачені елементом з більшим атомним номером виглядають яскравіше). Тому зворотнорозсіяні електрони, які генеруються одночасно з вторинними, окрім інформації про морфологію

поверхні містять додаткову інформацію і про склад зразка. Опромінення зразка пучком електронів призводить не лише до утворення вторинних і відбитих електронів, а також викликає випускання характеристичного рентгенівського випромінювання. Аналіз цього випромінювання дозволяє визначити елементний склад мікрооб'єму зразка (роздільна здатність не краще 1 мкм).

Підготовка об'єктів. Порошкові матеріали наносяться малою кількістю, як правило, на вуглецевий скоч, що проводить. Масивні (не порошкові) зразки фіксуються або на той же скоч, або на срібний або вуглецевий клей.

Якщо зразки непровідні, то на них напилюється тонкий шар, що проводить. Це може бути будь-яка речовина, що проводить, проте, найчастіше використовують вуглець і золото. Перший, як правило, має малий розмір напилюваних часток, і, як наслідок, дозволяє отримувати мікрофотографії з великим збільшенням без власної візуалізації. Іноді, у разі напилення золотом, бувають помітні нанесені частки. Проте при напиленні золотом виходять світліші зображення, в порівнянні з вуглецем, що пов'язано з енергією виходу електрона. Якщо неможливе напилення плівки на зразок, то можливе зняття зарядки із зразка на атмосферу (зазвичай азот), що вводиться в камеру. Для отримання чіткіших зображень в сучасних мікроскопах можливе локальне підведення газу.

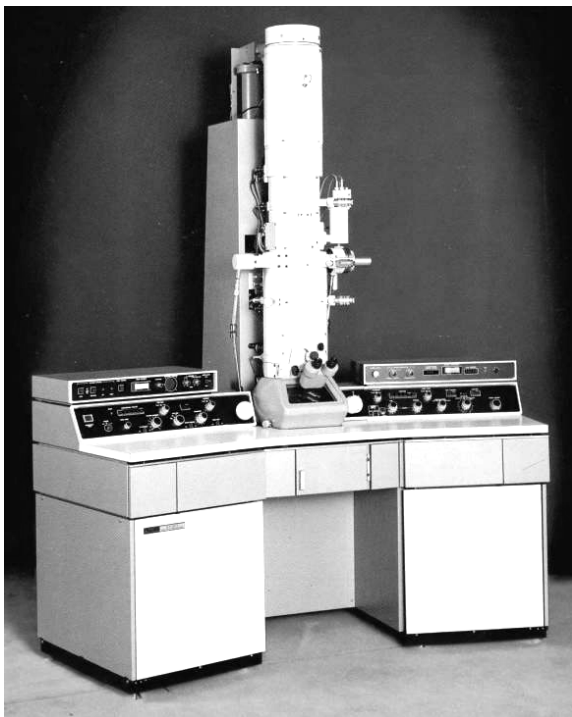
Застосування. Растрові мікроскопи застосовуються як дослідницький інструмент в матеріалознавстві. Зіставлення зображень, отриманих в різних сигналах, дозволяють робити висновок про морфологію і склад поверхні. Растровий електронний мікроскоп практично єдиний прилад, який може дати зображення поверхні сучасної мікросхеми або проміжної стадії процесу фотолітографії.

Основні світові виробники скануючих електронних мікроскопів: Carl Zeiss NTS GmbH (Німеччина), FEI Company (США - злилася з Philips Electron Optics), FOCUS GmbH (Німеччина), Hitachi (Японія), JEOL (Японія, Japan Electron Optics Laboratory), Tescan (Чехія), KYKY (Китай).

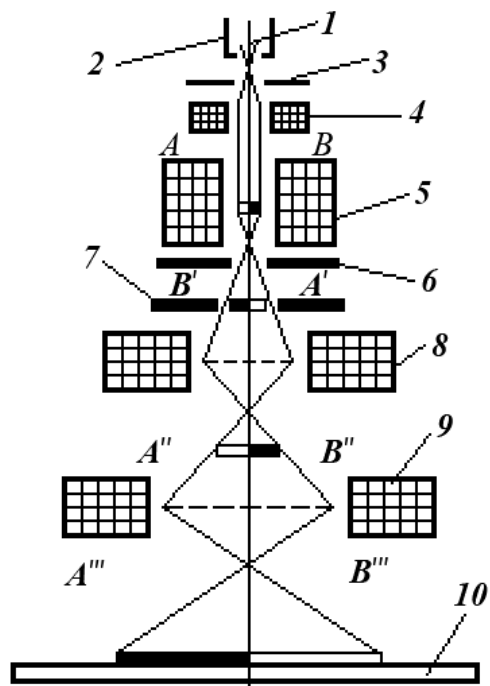
3.2.2 Електронні мікроскопи, що працюють на просвітлення

Електронний мікроскоп, що працює на просвітлення (ПЕМ) є вакуумною камерою, виготовленою у вигляді вертикально розташованої колони (рис.3.11, а). ПЕМ є фактичним аналогом світлового мікроскопа. Його схема показана на рис.3.11, б. Досліджуваний зразок розташовується в області об'єктивної лінзи 5. Проекційна і проміжна лінзи виконують функцію окуляра. Зображення формується на флуоресціюючому екрані.

Уздовж центральної осі цієї колони зверху вниз усередині колони розташовані електронний прожектор, певний набір електричних котушок з дротом - електричних магнітів, що виконують роль електромагнітних лінз для пучка електронів, що проходить уздовж центральної осі колони до її основи, і флуоресціюючого екрану, поверхню якого бомбардують пучки електронів.



а.



б.

Рис.3.11. Зовнішній вигляд електронного мікроскопу JEM-200CX, що працює на просвітлення (а) та його принципова схема (б):

- 1 - катод, 2 - електрод, що управляє, 3 - анод, 4 - конденсорна лінза,
- 5 - об'єктивна лінза, 6 - апертурна діафрагма, 7 - селекторна діафрагма,
- 8 - проміжна лінза, 9 - проекційна лінза, 10 - екран

Об'єкт АВ розташовують зазвичай на мікросітці. Проходячи через об'єкт,

електрони розсіюються на деякий тілесний кут, який обмежується апертурною діафрагмою об'єктної лінзи. Зображення об'єкту, що формується об'єктною лінзою ($A'B'$) збільшується проміжною ($A''B''$) і проєкційною ($A'''B'''$) лінзами. Контраст зображення обумовлюється поглинанням (амплітудний контраст) і розсіянням (фазовий контраст) електронів в об'єкті (рис.3.12).

У ПЕМ об'єкт дослідження повинен пропускати пучок електронів. Первинне завдання дослідника - забезпечення двох умов: малої товщини зразка і виборчої взаємодії електронів з різними деталями зразка. Мікроскоп забезпечується камерою, в об'ємі якої створюється необхідний вакуум (10^{-5} - 10^{-6} Па). Прискорююча напруга, що прикладається між катодом і анодом, знаходиться в межах 20-200 кВ, що забезпечує режим роботи "на просвіт". У РЕМ ця напруга значно менша (до 20 кВ).

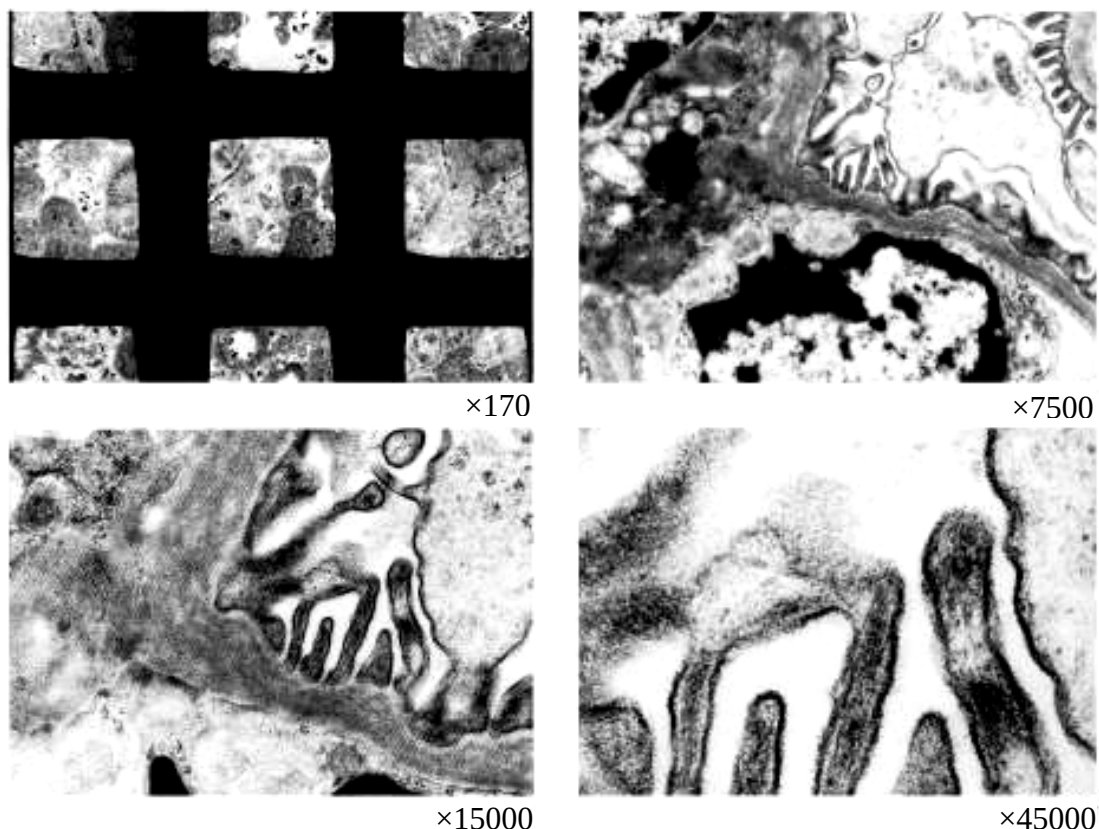


Рис.3.12. Електронні зображення біологічної тканини, отримані при різному збільшенні.

На першому зображенні зі збільшенням $\times 170$ видно графітову мікросітку, на якій розташовують досліджуваний об'єкт

Дуже ефективно застосування ПЕМ для аналізу мікроструктури

матеріалів, встановлення в ній порушень, контролю правильності заповнення вузлів кристалічної ґратки, наявності порожнеч, дислокацій тощо, рис.3.13.

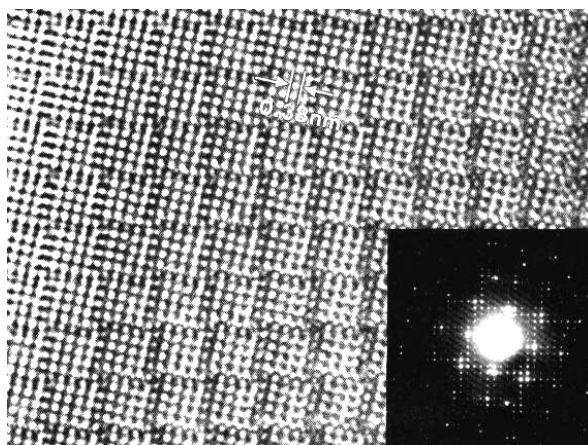


Рис.3.13. Двовимірне електронне зображення кристала Nb, отримане при 200 кеВ прискорюючої напруги і збільшенні в 6 млн. разів.

Чорні точки відповідають позиціям атомів Nb, білі - каналам міжатомного простору

Розглянемо детальніше вузли мікроскопу. Система з нитки накаливання і прискорюючих електродів носить назву електронної гармати. По суті, гармата нагадує тріодну лампу. Потік електронів випускається розжареним вольфрамовим катодом, збирається в пучок і прискорюється в полі двох електродів. Перший - електрод, що управляє, або так званий "циліндр Венельта", оточує катод і на нього подається напруга зміщення, невеликий негативний відносно катода потенціал в декілька сотень вольт. Завдяки наявності такого потенціалу на "циліндрі Венельта" фокусується електронний пучок, що виходить з гармати. Другий електрод - анод, пластинка з отвором в центрі, через який електронний пучок потрапляє в колону мікроскопа. Між катодом і анодом прикладена прискорююча напруга до 100 кВ. Як правило, є можливість ступінчастої зміни напруги від 1 до 100 кВ.

Завдання гармати - створення стабільного потоку електронів при малій випускаючій області катода. Чим менша площа джерела електронів, тим простіше отримати їх тонкий паралельний пучок. Для цього застосовують V-подібні або спеціально гостро заточені катоди.

Далі, в колоні мікроскопу розміщені лінзи. Більшість сучасних електронних мікроскопів мають від чотирьох до шести лінз. Електронний пучок, що виходить з гармати, спрямовується через пару конденсорних лінз на об'єкт. Конденсорна лінза дозволяє в широких межах змінювати умови освітлення об'єкту. Зазвичай конденсорні лінзи є електромагнітними котушками, в яких струмопровідні обмотки оточені (за винятком вузького каналу діаметром близько 2-4 см) сердечником з м'якого заліза (рис.3.14) [54].

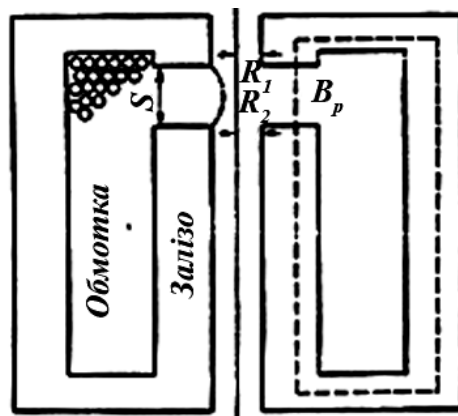


Рис.3.14. Спрощена схема магнітної електронної лінзи

При зміні струму, що протікає через котушки, змінюється фокусна відстань лінзи, внаслідок цього пучок розширюється або звужується, збільшується або зменшується площа об'єкту, що освітлюється електронами.

Позначені геометричні розміри полюсного наконечника; штриховою лінією показаний контур, що фігурує в законі Ампера. Штриховою лінією показана так само лінія магнітного потоку, яка якісно визначає фокусуючу дію лінзи. B_p - напруженість поля в проміжку далеко від оптичної осі. На практиці обмотки лінзи мають водяне охолодження, а полюсний наконечник знімний.

Щоб отримати велике збільшення, необхідно опромінювати об'єкт потоком великої щільності. Конденсор (лінза) зазвичай освітлює ту частину площі об'єкту, що цікавить при даному збільшенні. Це може привести до перегрівання зразка і забруднення його продуктами розкладання масляної пари. Температуру об'єкту можна понизити, зменшуючи приблизно до 1 мкм опромінювану область за допомогою другої конденсорної лінзи, яка фокусує зображення, що утворюється першою конденсорною лінзою. При цьому збільшується потік електронів через досліджувану площу зразка, підвищується яскравість зображення, зразок менше забруднюється.

Зразок поміщають в спеціальний об'єктотримач на тонкій металевій сітці діаметром 2-3 мм.

У цій вдалій промисловій конструкції діаметр отвору верхнього полюсного наконечника $2R_1=9$ мм, діаметр отвору нижнього полюсного наконечника $2R_2=3$ мм і міжполюсний проміжок $S=5$ мм (R_1 , R_2 і S визначені на рис.3.14).

У колоні мікроскопа за допомогою вакуумної системи відкачування створюється відносно низький тиск, приблизно 10^{-5} мм рт.ст. На це йде досить багато часу. Щоб прискорити підготовку приладу до роботи, до камери об'єктів приєднується спеціальний пристрій для швидкої зміни об'єкту. У мікроскоп при цьому потрапляє лише дуже невелика кількість повітря, яка віддаляється вакуумними насосами. Зміна зразка зазвичай займає 5 хв.

Зображення. При взаємодії електронного пучка із зразком електрони, що проходять поблизу атомів речовини об'єкту, відхиляються в напрямі, визначуваному його властивостями. Цим головним чином і обумовлений видимий контраст зображення. Крім того, електрони можуть ще зазнати непружне розсіяння, пов'язане зі зміною їх енергії і напрямку, пройти через об'єкт без взаємодії або бути поглиненими об'єктом. При поглинанні електронів речовиною виникає світлове або рентгенівське випромінювання або виділяється тепло. Якщо зразок досить тонкий, то доля розсіяних електронів невелика. Конструкції сучасних мікроскопів дозволяють використати для формування зображення усі ефекти, що виникають при взаємодії електронного

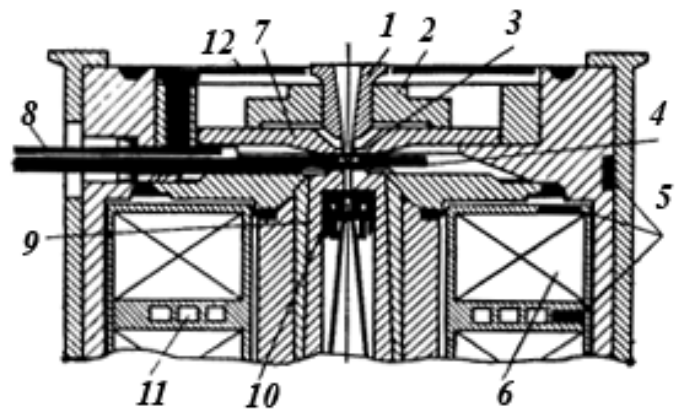


Рис.3.15. Конфігурація полюсного наконечника високороздільного об'єктиву електронного мікроскопа Siemens-102 [4]: 1 – об'єктотримач, 2 - столик зразка, 3 - зразок, 4 - об'єктивна діафрагма, 5 - термістори, 6 - обмотка лінзи, 7 - верхній полюсний наконечник, 8 - охолоджуваний стержень, 9 - нижній полюсний наконечник, 10 - стигматор, 11 - канали системи охолодження, 12 - охолоджувана діафрагма

променя з об'єктом.

Електрони, що пройшли через об'єкт, потрапляють в об'єктивну лінзу, призначену для отримання і збільшеного зображення, рис.3.16.

Об'єктивна лінза - одна з найбільш важливих частин мікроскопа, "відповідальна" за роздільну здатність приладу. Ця пов'язано з тим, що

електрони входять під порівняно великим кутом нахилу до осі і внаслідок цього навіть незначна аберація істотно погіршує зображення об'єкту.

Остаточне збільшене електронне зображення перетвориться у видиме за допомогою люмінесцентного екрану, який світиться під дією електронного бомбардування. Це зображення, зазвичай слабкоконтрастне, як правило, розглядають через бінокулярний світловий мікроскоп. При тій же яскравості такий мікроскоп зі збільшенням 10 може створювати на сітківці ока зображення, в 10 разів більше, ніж при спостереженні неозброєним оком. Іноді для підвищення яскравості слабого зображення застосовується люмінофорний екран з електронно-оптичним перетворювачем. В цьому випадку остаточне зображення може бути виведене на звичайний телевізійний екран, що дозволяє записати його на відеострічку. Відеозапис застосовується для реєстрації зображень, що змінюються в часі, наприклад, у зв'язку з протіканням хімічної реакції. Найчастіше остаточне зображення реєструється на фотоплівці або фотопластині.

Електронні лінзи, як магнітні, так і електростатичні, недосконалі. Вони мають ті ж дефекти, що і скляні лінзи оптичного мікроскопа - хроматична, сферична аберація і астигматизм. Хроматична аберація виникає із-за непостійності фокусної відстані при фокусуванні електронів з різними

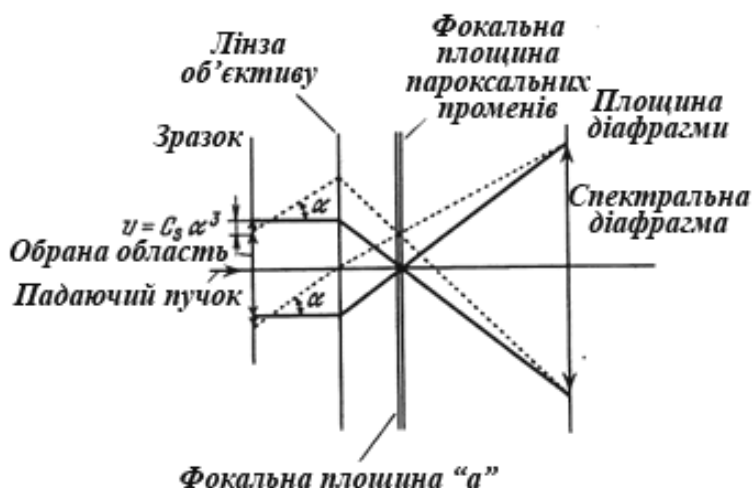


Рис.3.16. Утворення першого проміжного зображення об'єктивною лінзою і ефект аберації [5]

швидкостями. Ці спотворення зменшують, стабілізуючи струм електронного променя і струм в лінзах.

Сферична аберація обумовлена тим, що периферійні і внутрішні зони лінзи формують зображення на різних фокусних відстанях. Намотування котушки магніта, сердечника електромагніту і канал в котушці, через який проходять електрони, не можна виконати ідеально. Асиметрія магнітного поля лінзи призводить до значного викривлення траєкторії руху електронів.

Робота в режимах мікроскопії і дифракції. Затінені області відмічають хід еквівалентних пучків в обох режимах [51], рис.3.17. Якщо магнітне поле несиметричне, то лінза спотворює зображення (астигматизм). Те ж саме можна віднести і до електростатичних лінз. Процес виготовлення електродів і їх центрування мають бути у високому ступені точні, бо від цього залежить якість лінз.

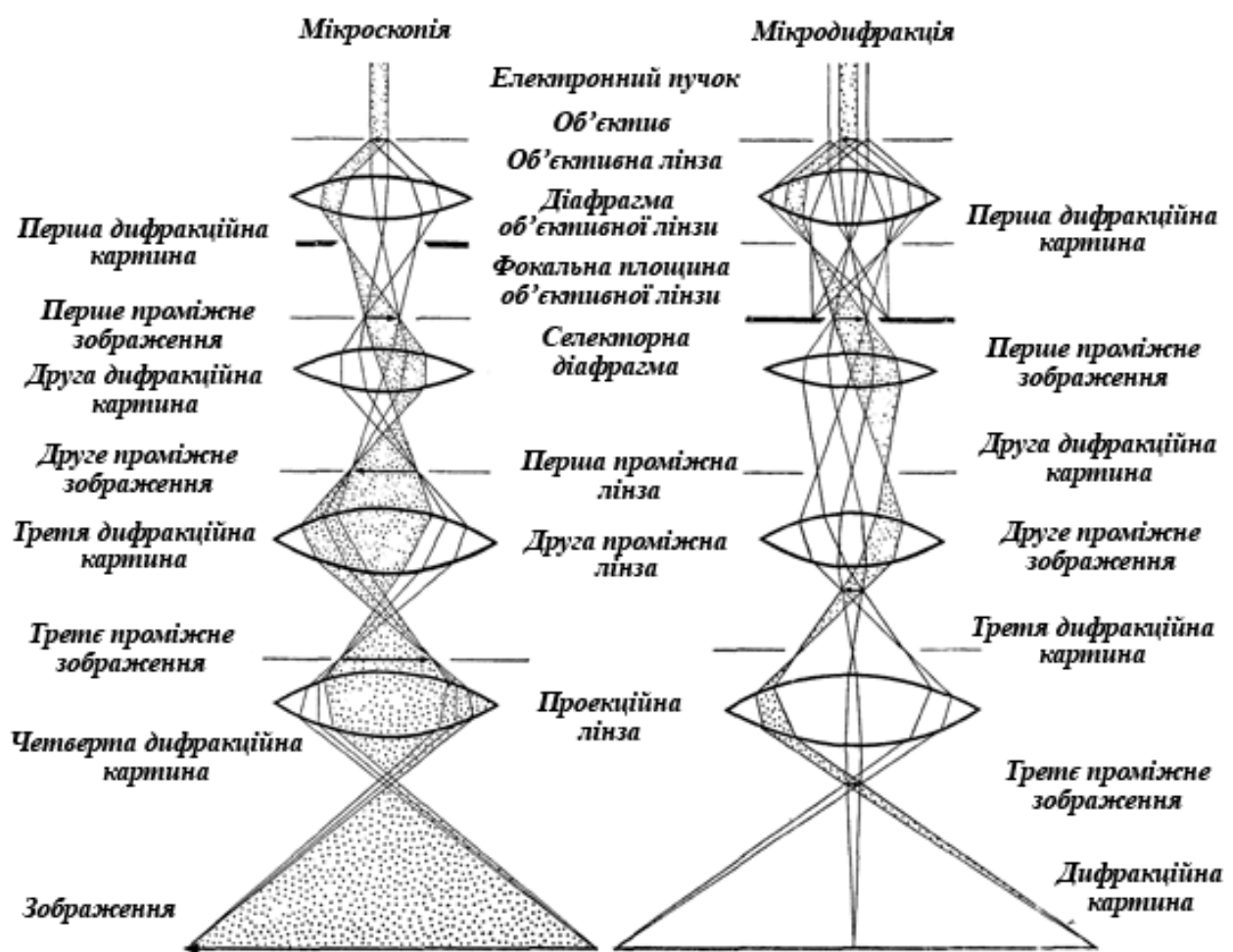


Рис.3.17. Хід променів в електронному мікроскопі, що працює на просвітлення

У більшості сучасних електронних мікроскопів порушення симетрії магнітних і електричних полів усувають за допомогою стигматорів. У канали електромагнітних лінз поміщають невеликі електромагнітні котушки, змінюючи струм, що протікає через них, вони виправляють поле. Електростатичні лінзи доповнюють електродами: підбираючи потенціал, вдається компенсувати асиметрію основного електростатичного поля. Стигматори дуже тонко регулюють поля, дозволяють досягти високої симетрії.

У об'єктиві є ще два важливі пристрої - апертурна діафрагма і котушки, що відхиляють. Якщо у формуванні кінцевого зображення беруть участь відхилені (дифраговані) промені, то якість зображення буде поганою внаслідок сферичної аберації лінзи. У об'єктивну лінзу вводять апертурну діафрагму з діаметром отвору 40-50 мкм, яка затримує промені, дифраговані під кутом більше $0,5^\circ$. Промені, відхилені на невеликий кут, створюють світлопольне зображення. Якщо апертурною діафрагмою заблокувати промінь, що проходить, то зображення формується дифрагованим променем. Воно в цьому випадку виходить в темному полі. Проте метод темного поля дає менш якісне зображення, чим світлопольне, оскільки зображення формується променями, що перетинаються під кутом до осі мікроскопа, сферична аберація і астигматизм проявляються більшою мірою. Котушки, що відхиляють, служать для зміни нахилу електронного променя. Для отримання остаточного зображення треба збільшити перше збільшення зображення об'єкту. Для цієї мети застосовується проекційна лінза. Загальне збільшення електронного мікроскопа повинне змінюватися в широких межах, що відповідає збільшенню лупи (10, 20), при якому можна досліджувати не лише частину об'єкту, але й побачити увесь об'єкт, до максимального збільшення, що дозволяє якнайповніше використати високу роздільну здатність електронного мікроскопа (зазвичай до $\times 200000$). Тут вже недостатньо двоступінчатої системи (об'єктив, проекційна лінза). Сучасні електронні мікроскопи, розраховані на граничну роздільну здатність, повинні мати принаймні три збільшуючі лінзи - об'єктив, проміжну і проекційну лінзи. Така система гарантує зміну збільшення

в широкому діапазоні (від $\times 10$ до $\times 200000$). Зміна збільшення здійснюється регулюванням струму проміжної лінзи.

Ще один чинник, який сприяє отриманню більшого збільшення - зміна оптичної сили лінзи. Щоб збільшити оптичну силу лінзи, в циліндричний канал електромагнітної котушки вставляють спеціальні так звані "полюсні наконечники". Вони виготовляються з м'якого заліза або сплавів з великою магнітною проникністю і дозволяють сконцентрувати магнітне поле в невеликому об'ємі. У деяких моделях мікроскопів передбачена можливість зміни полюсних наконечників, таким чином домагаються додаткового збільшення зображення об'єкту.

На кінцевому екрані дослідник бачить збільшене зображення об'єкту. Різні ділянки об'єкту по-різному розсіюють електрони, що падають на них. Після об'єктивної лінзи (як вже вказувалося вище) фокусуватимуться тільки електрони, які при проходженні об'єкту відхиляються на малі кути. Ці ж електрони фокусуються проміжною і проєкційною лінзами на екрані для кінцевого зображення. На екрані відповідні деталі об'єкту будуть світлі. У тому випадку, коли електрони при проходженні ділянок об'єкту відхиляються на великі кути, вони затримуються апертурною діафрагмою, розташованою в об'єктивній лінзі, і відповідні ділянки зображення будуть на екрані темними.

Зображення стає видимим на флуоресцентному екрані (що світиться під дією електронів, які падають на нього). Фотографують його або на фотопластину, або на фотоплівку, які розташовані на декілька сантиметрів нижче екрану. Хоча пластинка поміщається нижче екрану, завдяки тому що електронні лінзи мають досить велику глибину різкості і фокусу, чіткість зображення об'єкту на фотопластині не погіршується. Зміна пластинки - через герметичний люк. Іноді застосовують фотомагазини (від 12 до 24 пластинок), які встановлюють також через шлюзові камери, що дозволяє уникнути розгерметизації усього мікроскопа.

Електронні пучки мають властивості, аналогічні властивостям світлових пучків. Зокрема, кожен електрон характеризується певною довжиною хвилі.

Роздільна здатність електронного мікроскопа визначається ефективною довжиною хвилі електронів. Довжина хвилі залежить від швидкості електронів, а отже, від прискорюючої напруги; чим більша прискорююча напруга, тим більша швидкість електронів і тим менше довжина хвилі, тобто вища роздільна здатність. Така значна перевага електронного мікроскопа в роздільній здатності пояснюється тим, що довжина хвилі електронів набагато менша довжини хвилі світла. Але оскільки електронні лінзи не так добре фокусують, як оптичні (числова апертура хорошої електронної лінзи складає усього лише 0,09, тоді як для хорошого оптичного об'єктиву ця величина досягає 0,95), роздільна здатність електронного мікроскопа дорівнює 50-100 довжинам хвиль електронів. Навіть з такими слабкими лінзами в електронному мікроскопі можна отримати межу дозволу близько 0,17 нм, що дозволяє розрізняти окремі атоми в кристалах. Для досягнення дозволу такого порядку потрібне дуже ретельне налаштування приладу; зокрема, потрібно високостабільні джерела живлення, а сам прилад (який може бути заввишки близько 2,5 м і мати масу в декілька тонн) і його додаткове устаткування вимагають монтажу, що виключає вібрацію.

Для досягнення дозволу по точках краще чим 0,5 нм необхідно підтримувати прилад у відмінному стані і, крім того, використати мікроскоп, який спеціально призначений для робіт, пов'язаних з отриманням високого розділення. Нестабільність струму об'єктивної лінзи і вібрації об'єктного столика слід звести до мінімуму. Дослідник має бути упевнений, що в полюсному наконечнику об'єктиву відсутні залишки об'єктів, що залишилися від попередніх досліджень. Діафрагми мають бути чистими. Мікроскоп слід встановлювати в місці, задовільному з точки зору вібрацій, сторонніх магнітних полів, вологості, температури і пилу. Постійна сферичної аберації має бути менше 2 мм. Проте найважливішими чинниками при роботі з високим розділенням є стабільність електричних параметрів і надійність мікроскопа. Швидкість забруднення об'єкту має бути менше, ніж 0,1 нм/хв, і це особливо важливо для роботи з високим розділенням в темному полі.

Температурний дрейф має бути мінімальним. Для того, щоб звести до мінімуму забруднення і максимально збільшити стабільність високої напруги, потрібний вакуум причому його слід вимірювати у кінці лінії відкачування. Внутрішність мікроскопа, особливо об'єм камери електронної гармати, мають бути скрупульозно чистими.

Сучасні електронні мікроскопи обладналися рядом пристосувань. Дуже важлива приставка для зміни нахилу зразка під час спостереження (гоніометричний пристрій). Оскільки контраст зображення виходить головним чином за рахунок дифракції електронів, то навіть малі нахили зразка можуть істотно впливати на нього. Гоніометричний пристрій має дві взаємно перпендикулярні осі нахилу, що лежать в площині зразка, і пристосовані для його обертання на 360°. При нахилі пристрій забезпечує незмінність положення об'єкту відносно осі мікроскопа. Гоніометричний пристрій також потрібний при отриманні стереознімків для вивчення рельєфу поверхні зламу кристалічних зразків, рельєфу кісткових тканин, біологічних молекул тощо.

Стереоскопічна пара отримується зйомкою в електронному мікроскопі одного і того ж місця об'єкту в двох положеннях, коли він повернений на невеликі кути до осі об'єктиву (зазвичай $\pm 5^\circ$).

Цікава інформація про зміну структури об'єктів може бути отримана при безперервному спостереженні за нагрівом об'єкту. За допомогою приставки вдається вивчити поверхневе окислення, процес розупорядкування, фазові перетворення у багатокомпонентних сплавах, термічні перетворення деяких біологічних препаратів, провести повний цикл термічної обробки (відпал, загартування, відпустку), причому з контрольованими високими швидкостями нагріву і охолодження. Спочатку були розроблені пристрої, які герметично приєднувалися до камери об'єктів. Спеціальним механізмом об'єкт витягався з колони, підлягав термооброблюванню, а потім знову поміщався в камеру об'єктів. Перевага методу - відсутність забруднення колони і можливість тривалої термообробки.

У сучасних електронних мікроскопах є пристрої для нагрівання об'єкту

безпосередньо в колоні. Частина об'єктотримача оточена мікропічкою. Нагрів вольфрамової спіралі мікропічей здійснюється постійним струмом від невеликого джерела. Температура об'єкту змінюється при зміні струму нагрівача і визначається по градууювальній кривій. У пристрої зберігається високе розділення при нагріві аж до 1100°C - порядку $30 \text{ \AA}$.

Останнім часом розроблені пристрої, що дозволяють нагрівати об'єкт електронним пучком самого мікроскопа. Об'єкт розташовується на тонкому вольфрамовому диску. Диск нагрівається розфокусованим електронним променем, невелика частина якого проходить через отвір в диску і створює зображення об'єкту. Температуру диска можна змінювати в широких межах, змінюючи його товщину і діаметр електронного променя.

За допомогою приставки для розтягування об'єкту можна досліджувати рух дефектів в металах, процес зародження і розвитку тріщини в об'єкті. Створені декілька типів подібних пристроїв. У одних використано механічне вантаження переміщенням захоплень, в яких кріпиться об'єкт, або пересуванням нажимного стержня, в інших - нагрів біметалічних пластин. Зразок приклеюється або кріпиться захопленнями до біметалічних пластин, які розходяться в сторони, коли їх нагрівають. Пристрій дозволяє деформувати зразок на 20% і створювати зусилля 80 г.

Найважливішою приставкою електронного мікроскопа можна вважати мікродифракційний пристрій для електронографічних досліджень якої-небудь певної ділянки об'єкту, що представляє особливий інтерес. Причому мікродифракційну картину на сучасних мікроскопах отримують без переробки приладу. Дифракційна картина складається з серії або кілець чи плям. Якщо в об'єкті багато площин орієнтовані сприятливим для дифракції чином, то зображення складається з сфокусованих плям. Якщо електронний промінь потрапляє відразу на декілька зерен безладно орієнтованого полікристала, дифракція створюється численними площинами, утворюється картина з дифракційних кілець. По місцю розташування кілець або плям можна встановити структуру речовини (наприклад, нітрид або карбід), його хімічний

склад, орієнтацію кристалографічних площин і відстань між ними.

Джерела електронів. Зазвичай використовуються чотири типи джерел електронів: вольфрамові V-образні катоди, вольфрамові точкові (острійні) катоди, джерела з гексабориду лантану і автоелектронні джерела. Далі коротко розглядаються переваги кожного виду джерела електронів для електронної мікроскопії, що працює на просвітлення високого розділення і їх характеристики. До джерел електронів, використовуваних в електронній мікроскопії високого розділення, пред'являються наступні основні вимоги:

- висока яскравість (щільність струму на одиницю тілесного кута). Виконання цієї вимоги істотне для експериментів при отриманні зображень високого розділення з фазовим контрастом, коли необхідно поєднувати малу апертуру освітлення з достатньою величиною щільності струму, що дає можливість точно фокусувати зображення при великому збільшенні;
- висока ефективність використання електронів (відношення яскравості до повної величини струму первинного пучка електронів), яка досягається за рахунок малого розміру джерела. Зменшення освітлюваної області зразка знижує його нагрівання і тепловий дрейф в процесі експозиції;
- великий час життя при наявному вакуумі;
- стабільна емісія при тривалій (до хвилини) експозиції, характерній в мікроскопії високого розділення.

Система освітлення. Система має дві конденсорні лінзи C1 (сильна лінза) і C2 (слабка лінза), F – катод, W - циліндр Вепельта, S - уявне джерело електронів, S' і S'' - його зображення, CA2 - друга конденсорна діафрагма. Відстані U_1 , U_2 , V_1 , V_2 є електронно-оптичними параметрами, тоді як відстані D1, D2, D3 легко вимірюються в колоні мікроскопу [55], рис.3.18.

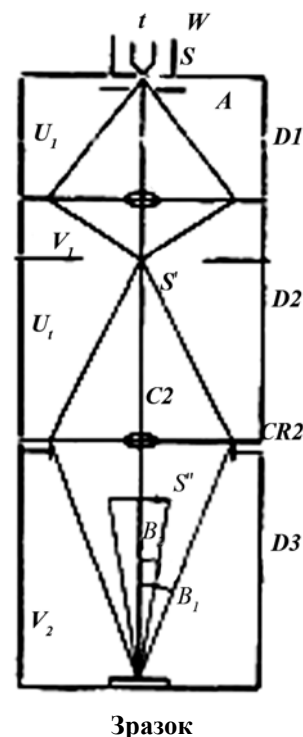


Рис.3.18. Освітлювальна система сучасного електронного мікроскопа

Ідеальною системою освітлення для звичайного мікроскопа високого розділення, що просвічує, була б система, що дозволяє операторові незалежно контролювати розмір освітлюваної області зразка, інтенсивність освітлення і когерентність пучка. Такі можливості досягаються тільки при роботі з автоелектронним джерелом. Проте, для більшості лабораторій використання вольфрамового точкового катода є найкращим компромісом, прийнятним як за вартістю, так і за робочими характеристиками. Нині розглядається також можливість використання джерел з гексаборида лантану. Перспективним є також катод, що нагрівається променем лазера, яскравість якого, як повідомляється, в 3000 разів перевершує яскравість V-образного катода при ефективному діаметрі джерела близько 10 нм. Ці катоди працюють при помірному вакуумі (10^{-4} Тор).

На рис.3.18 представлені дві конденсорні лінзи, що входять в систему освітлення електронного мікроскопа. Зазвичай можна здійснити незалежну зміну фокусної відстані цих лінз (C1 і C2). Збудження першої конденсорної лінзи змінюють за допомогою регулювальної ручки, що називається іноді "розмір плями". Зазвичай вибирається таке збудження, при якому площини S, S' і поверхня зразка є зв'язаними, тобто щоб сфокусоване зображення джерела формувалося на зразку (сфокусоване освітлення).

Для V-образного катода розмір джерела приблизно дорівнює 30 мкм. Для запобігання небажаному нагріву і радіаційному ушкодженню зразка на ній треба сформувати зменшене зображення джерела. Робоча відстань D3 також має бути досить великою, щоб була можливість переміщення об'єктотримача при зміні зразка. При використанні однієї конденсорної лінзи важко задовольнити цим суперечливим вимогам - мале збільшення при великій відстані D3 - оскільки для цього необхідно, щоб відстань D1 була надмірно великою. Тому зазвичай використовується сильна перша конденсорна лінза C1, що служить для зменшення зображення джерела в 5-100 разів, а друга слабка лінза C2, що йде за першою, зі збільшенням близько $\times 3$ забезпечує велику робочу відстань.

3.2.3 Інші типи електронних мікроскопів

Трансмісійна мікроскопія реалізується за допомогою трансмісійних (що працюють на просвітлення) електронних мікроскопів (ТЕМ; рис.3.19), в яких тонкоплівковий об'єкт просвічується пучком прискорених електронів з енергією 50-200 кеВ.

Електрони, відхилені атомами об'єкту на малі кути і що пройшли крізь нього з невеликими енергетичними втратами, потрапляють в систему магнітних лінз, які формують на люмінесцентному екрані (і на фотоплівці) світлопольне зображення внутрішньої структури. При цьому вдається досягти дозволу близько 0,1 нм, що відповідає збільшенню до 1,5 млн. разів. Розсіяні електрони затримуються діафрагмами, від діаметру яких залежить контраст зображення. При вивченні сильнорозсіюючих об'єктів більше інформативні темнопольні зображення.

Інформативність ТЕМ-зображень багато в чому визначаються характеристиками об'єкту і способом його підготовки. При дослідженні тонких плівок і зрізів полімерних матеріалів і біологічних тканин контраст зростає пропорційно їх товщині, але одночасно знижується роздільна здатність. Тому застосовують дуже тонкі (не більше 0,01 мкм) плівки і зрізи, підвищуючи їх контраст обробкою з'єднаннями важких металів (Os, U, Pb та інші), які вибірково взаємодіють з компонентами

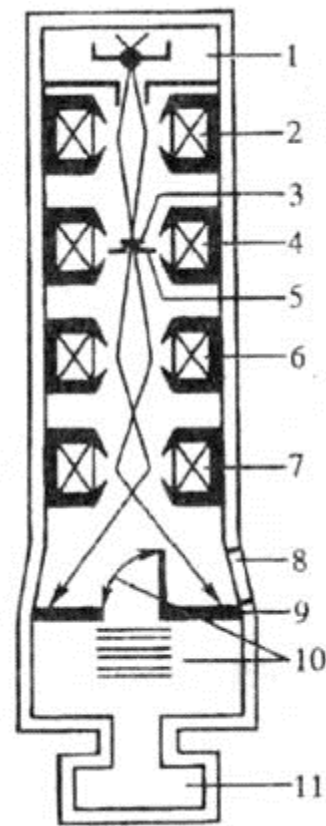


Рис.3.19. Схема облаштування трансмісійного електронного мікроскопа:
1 - електронна гармата;
2 – конденсор; 3 - зразок;
4, 5 - об'єктив та його діафрагма;
6, 7 - проміжна і проекційна лінзи;
8 - оглядове вікно; 9 – люмінесцентний екран; 10 - фотокамера із затвором; 11 - вакуумна система

мікроструктури (хімічне контрастування). Ультратонкі зрізи полімерних матеріалів (10-100 нм) отримують за допомогою ультрамікротомів, а пористі і волокнисті матеріали заздалегідь просочують і заливають в епоксидні компаунди. Метали досліджують у вигляді отримуваної хімічним або іонним травленням ультратонкої фольги. Для вивчення форми і розмірів мікрочасток (мікрокристали, аерозолі, віруси, макромолекули) їх наносять у вигляді суспензій або аерозолів на плівки-підкладки з формвара (полівінілформаль) або аморфного вуглецю, які є проникними для електронного променя і контрастують методом відтінення або негативного контрастування.

Для аналізу металевої фольги, а також товстих (1-3 мкм) зрізів інших матеріалів використовують високо- і надвисоковольтні ТЕМ з прискорюючою напругою відповідно 200-300 та 1000-3000 кВ. Це дозволяє понизити енергетичні витрати електронів при просвічуванні зразків і отримати чіткі зображення, вільні від хроматичної аберації.

Структура гелів, суспензій, емульсій і біологічних тканин з великим вмістом води може бути досліджена методами кріореплікації: зразки піддають надшвидкому заморожуванню і поміщають у вакуумну установку, де робиться розколювання об'єкту і осадження на поверхню свіжого сколювання плівки аморфного вуглецю і відтіняючого металу. Отримана репліка, що повторює мікрорельєф поверхні сколювання, аналізується в ТЕМ. Розроблені також методи, що дозволяють робити ультратонкі зрізи заморожених об'єктів і переносити їх, не розморозжуючи, в ТЕМ на кріостолік, що зберігає температуру об'єкту в ході спостереження на рівні - 150 °С (кріоультратомія та кріомікроскопія).

Принцип дії іонних мікроскопів. Методи зондування поверхні випромінюваннями все ж не дають можливості своїми очима побачити її найменші ділянки. Для того, щоб зрозуміти, що ж відбувається на поверхні, дослідникам потрібна карта точного розташування атомів і їх електронних оболонок. Спостерігати окремі атоми на поверхні дозволяють іонні мікроскопи. Це пов'язано з тим, що довжина хвилі іона, що рухається в електричному полі,

має бути значно менше, чим довжина хвилі електрона, що підтверджується формулою Луї де Бройля: $\lambda = h/mv$, адже маса іона набагато більша маси спокою електрона.

Нині (початок бурхливого розвитку наноелектронних технологій) практично випробувані і постійно модернізуються декілька типів іонних мікроскопів, серед яких можна виділити польовий іонізаційний мікроскоп, растровий тунельний мікроскоп і атомний силовий мікроскоп. Нижче коротко розглянемо перших два види іонних мікроскопів.

Польовий іонізаційний мікроскоп (ПІМ). Основою приладу служить дуже тонка і гостра металева голка, що є досліджуваним зразком, а також люмінесцентний екран, розташований навпроти (рис.3.20).

Простір між голкою і екраном заповнюється інертним газом (гелієм, аргонем) при тиску 10^{-1} Па. Якщо між кінчиком голки і екраном прикласти напругу, причому голка повинна служити анодом, то навколо неї можна створити надзвичайно сильне електричне поле – близько 500 МВ/см^2 . Коли електрично нейтральний атом внаслідок дифузії підходить до атомів вістря, електричне поле іонізує його. Цей іон під дією електричного поля спрямовується до тієї точки екрану, яка однозначно відповідає позиції атома досліджуваного зразка, поблизу якого сталася іонізація. Зображення голки на флуоресцуючому екрані характеризується дуже великим збільшенням - виразно видно атоми кристалічної ґратки. Оскільки іони - це важкі частки, то

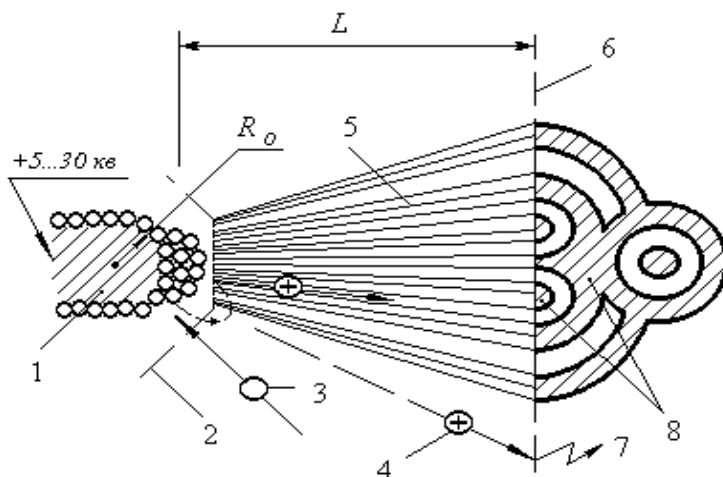


Рис.3.20. Схема формування зображення в польовому іонізаційному мікроскопі: 1 - зразок досліджуваного матеріалу (вістря голки); 2 - зона іонізації; 3 - атом "зображуючого" газу; 4 - іон; 5 - потік іонів, що розходить; 6 - заземлений флуоресцентний екран; 7 - спалах на екрані; 8 - зображення (сукупність спалахів)

довжина їх хвиль дуже мала, внаслідок чого виключаються дифракційні ефекти, що знижують роздільну здатність отримуваних зображень.

При цьому максимальна роздільна здатність мікроскопа визначається величиною менше 0,2 нм. Проте не усі зразки можна вивчати за допомогою іонного мікроскопа. Зразок має бути насаджений на тонкий кінчик голки шириною декілька ангстремів і бути стійким до величезних електричних полів, які можуть привести до розриву хімічних зв'язків, що утримують атоми на поверхні. Найважливіші з технологічної точки зору напівпровідникові матеріали можна вивчати лише при полях з щільністю близько 350 МВ/см.

Растровий тунельний мікроскоп (РТМ). Принцип роботи РТМ порівняно простий. Скануюча металева голка, закріплена в трьохкоординатному приводі PX, PY, PZ , розташована перпендикулярно досліджуваній поверхні (рис.3.21).

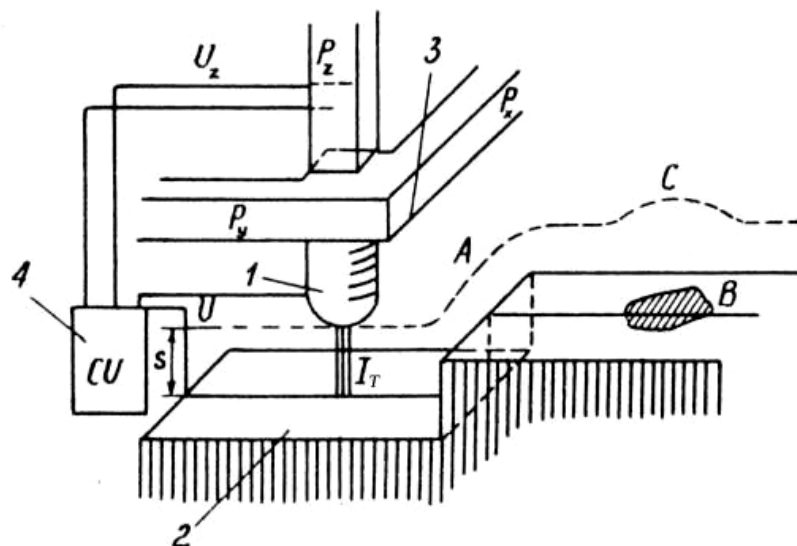


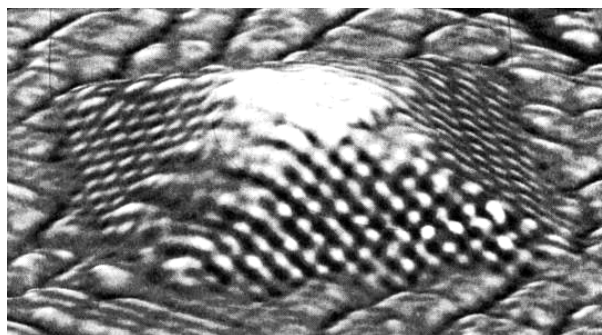
Рис.3.21. Принцип роботи скануючого тунельного мікроскопа: 1 - голка; 2 - досліджувана поверхня; 3 - трьохкоординатний п'єзопривід; 4 - система зворотного зв'язку

За допомогою п'єзоприводу голка підводиться до поверхні зразка до виникнення тунельного струму I_T , який визначається величиною проміжку s між голкою і поверхнею, Φ - величина потенційного бар'єру в проміжку, вимірювана в електронвольтах; U - напруга, прикладена між голкою і зразком у вольтах; s - проміжок між поверхнею і голкою в ангстремах.

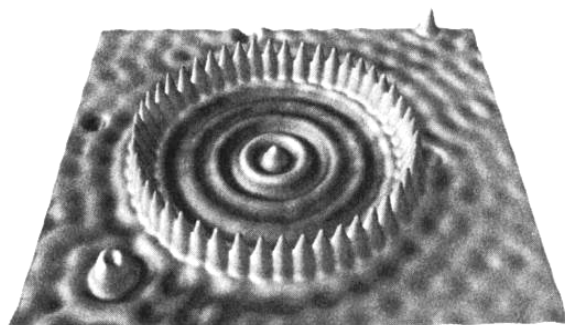
При постійній напрузі U на проміжку голка переміщається уздовж поверхні, причому за допомогою системи зворотного зв'язку, що впливає на

п'єзоелемент PZ, тунельний струм I_T підтримують постійним. Якщо величина бар'єру Φ постійна уздовж досліджуваної поверхні (матеріал поверхні однорідний), то величина тунельного струму змінюватиметься пропорційно величині проміжку між голкою і поверхнею і графік зміни цього струму описуватиме профіль рельєфу поверхні. Набір таких профілів дасть безпосередню інформацію про топографію поверхні.

На рис.3.22 представлені приклади зображень окремих груп атомів, побудованих з допомогою РТМ.



а.



б.

Рис.3.22 РТМ-зображення германієвої "піраміда" на кремнії шириною 10 нм (а) та "квантової загороди" - 48 атомів Fe по колу діаметром 14,6 нм з електронами (хвильовий рельєф), що рухаються усередині, на мідній пластині (б)

Високовольтна мікроскопія. Нині промисловість випускає високовольтні варіанти мікроскопів з прискорюючою напругою від 300 до 400 кВ. Такі мікроскопи мають більш високу проникаючу здатність, ніж у низьковольтних приладів, причому майже не поступаються в цьому відношенні мікроскопам з напругою 1 млн. вольт, які будувалися у минулому. Сучасні високовольтні мікроскопи досить компактні і можуть бути встановлені в звичайному лабораторному приміщенні. Їх підвищена проникаюча здатність виявляється дуже цінною властивістю при дослідженні дефектів в товстих кристалах, особливо таких, з яких неможливо зробити тонкі зразки. У біології їх висока проникаюча здатність дає можливість досліджувати цілі клітини, не розрізаючи їх. Крім того, за допомогою таких мікроскопів можна отримувати об'ємні зображення товстих об'єктів.

3.3 Технічні характеристики та розрахунки основних параметрів електронних мікроскопів

Роздільна здатність мікроскопа - це мінімальна відстань між найближчими точками, при якій їх ще можна спостерігати окремо. З теорії оптичної мікроскопії виходить, що роздільна здатність виражається як

$$d = \lambda / N_A,$$

де N_A - числова апертура лінз об'єктиву, λ - довжина хвилі випромінювання, в якому формується зображення в мікроскопі.

Для світлового мікроскопа $\lambda = 400...750$ нм, а значення N_A для кращих об'єктивів не перевищує 1,5. Це говорить про те, що навіть в самих кращих світлових мікроскопах не можна спостерігати деталі об'єкту менше ніж 200 нм.

Глибина різкості – ця відстань уздовж оптичної осі, на якій розфокусування (тобто неточність установки об'єктиву по відношенню до об'єкту і його зображення) не впливає на роздільну здатність:

$$D = d / \sin \alpha,$$

де 2α - кут розбіжності променів, що утворюють зображення предмета.

Збільшення будь-якого мікроскопа дорівнює відношенню розміру, що дозволяється неозброєним оком (0,2 мм) до розміру найменшої деталі зображення, що дозволяється мікроскопом. Для світлового мікроскопа:

$$M = 0,2 / 2 \cdot 10^{-4} = 1000.$$

Збільшення роздільної здатності мікроскопа шляхом зменшення довжини хвилі привело до позитивного результату. Мікроскопи, що використовують УФ- промені, дозволяють збільшити роздільну здатність приблизно в два рази. Перехід до мікроскопії, що використовує рентгенівські промені, дозволяє різко збільшити роздільну здатність. Проте відсутність оптичних лінз для рентгенівського діапазону створює ряд труднощів в реалізації цієї ідеї. Такі принципові труднощі були здолані після того, як в 1923 р. Луї де Бройлем була висунена гіпотеза, згідно якої будь-якій частці з масою m , що рухається із швидкістю v , відповідає хвиля з довжиною

$$\lambda = h / mv,$$

де h - постійна Планка, що дорівнює $6,67 \cdot 10^{-34}$ Дж·с.

Швидкість електрона можна виразити через прискорюючу напругу:

$$E = eU = mv^2 / 2; \quad v = (2eU / m)^{1/2}; \quad \lambda = h / (2meU)^{1/2}$$

Наближені розрахунки показують, що хвиля, що відповідає електрону, прискореному полем в 150 В, дорівнює 0,1 нм, що на 3 порядки менше довжини хвилі видимого світла. Оскільки електрону відповідає така коротка хвиля, це наводить на думку про можливість створення мікроскопа, працюючого з електронними пучками. Роль оптичної системи можуть виконувати відповідним чином підібрані електричні і магнітні поля, сформовані електромагнітними лінзами.

Основні характеристики електронних мікроскопів наведені в табл.3.2.

Табл.3.2. Характеристики сучасних електронних мікроскопів

Характеристика	Діапазон значень
1	2
Роздільна здатність в режимі високого вакууму	3,0 нм (30 кВ), 8,0 нм (3 кВ), 15,0 нм (1 кВ)
Роздільна здатність в режимі низького вакууму	4,0 нм (30 кВ)
Збільшення	$\times 8 - \times 300\,000$ (при 11 кВ або вище)
	$\times 5 - \times 300\,000$ (при 10 кВ або нижче)
Передвстановлене збільшення	П'ятикрокове, таке, що настроюється
Набір меню користувача, що управляють	Оптика, столик зразка, режим зображення, тиск LV, стандартний набір
Режим зображення	У вторинних електронах, склад, топографія, темне поле
Прискорююча напруга	0,5-30 кВ
Катод	LaB ₆ що юстирується в заводських умовах
Електронна гармата	Автоматизована, з ручною корекцією
Конденсор	Зум-конденсор
Об'єктив	Надконічний об'єктив
Апертура об'єктиву	3-х стадійна, з тонким налаштуванням по XY
Пам'ять стигматора	Вбудована

Продовж. табл.3.2.

1	2
Електричне зрушення зображення	± 50 мкм, (WD=10 мм)
Автоматичні функції	Фокус, яскравість, контраст, стигматор
Столик для зразків	Евцентричний, нахил від -10° до $+90^\circ$
Привід столика	Опціонально (2-х, 3-х та 5-ти осьовий)
Навігація	Два зображення
Заміна зразків	Висовуванням збоку
Максимальний розмір зразка	150 мм у діаметрі
Реперні зображення	Два
Псевдофарбування	Вбудоване
Кількість зображень, що виводяться	Два зображення, чотири зображення
Цифрове збільшення	Вбудоване
Подвійне збільшення	Вбудоване
Вакуум система	Повністю автоматизована
Перемикання вакуум систем	Через функції меню, менше 1 хвилини
Низький тиск	Від 1 до 270 Па

3.4 Комп'ютерний аналіз зображень електронної мікроскопії

Для того, щоб отримувати кількісну інформацію по об'єктах зображення за допомогою аналізатора, необхідною умовою є їх виділення відносно фону або сторонніх елементів. Виділення, розпізнавання об'єктів зображення - найбільш критичний етап обробки зображення, що є запорукою виконання аналізатором свого завдання.

Стандартні методи виділення об'єктів включають: виділення по яскравості, виділення за кольором, виділення за текстурними ознаками, ручне виділення.

Найбільш простим і таким, що часто використовується методом виділення об'єктів є виділення за яскравісними характеристиками, рис.3.23. При використанні цього методу виділення об'єктів або фаз робиться вибір усіх точок зображення, що потрапляють в певний інтервал яскравості. Такий відбір

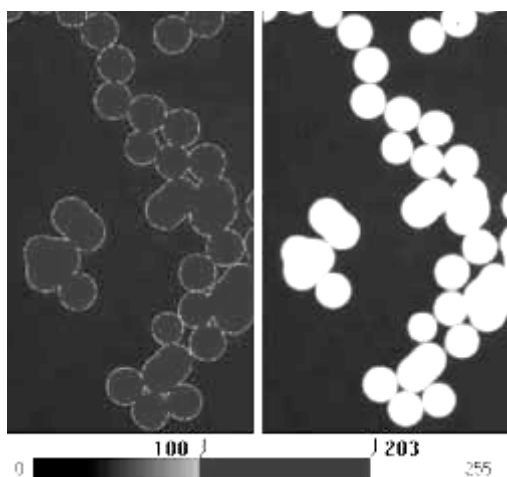


Рис.3.23. Функція виділення за яскравісними характеристиками об'єктів спостереження електронної мікроскопії

об'єктів, які потім вимірюватимуться.

Виділення об'єктів за кольором робиться з використанням кольорних моделей, які за характером своєму є складнішим, ніж просте виділення по яскравості, але дозволяють добитися кращих результатів в тих випадках, коли об'єкти з однаковими яскравісними характеристиками відрізняються за кольором. У сучасних аналізаторах зображень виділення об'єктів зображення за кольором реалізується з використанням методу навчання, коли користувач системи вказує ділянки зображення, які необхідно виділяти. Навчена таким чином система на наступному зображенні автоматично виділятиме об'єкти, що відповідають за кольором вказаним ділянкам.

Виділення по текстурних особливостях найбільш близьке по суті тим механізмам дискримінації об'єктів, які використовує людський мозок при їх розпізнаванні. Цей принцип полягає в упізнанні об'єкту або фази не по яскравості або кольорним характеристикам, а за зовнішніми ознаками або текстурними особливостями. Це відноситься до таких ситуацій, коли необхідно виділити шар (ділянку) з орієнтованою структурою усередині однорідної структури, яка не відрізняється від шару ні по яскравості, ні за кольором, але відрізняється виключно на вигляд. Цей спосіб виділення найбільш складний

здійснюється по гістограмі яскравості для цього зображення. Оцифроване зображення є набором точок, яскравість яких (для восьми бітових зображень) лежить в інтервалі від 0 (абсолютно чорний колір) до 255 (абсолютно білий). Гістограма яскравості зображення показує відсотковий вміст точок певної яскравості. Виділення об'єктів по яскравості зазвичай робиться методом установки порогових значень яскравості і усі точки зображення, що лежать в межах цих значень, будуть виділені на зображенні як маски

для реалізації, і далеко не усі існуючі нині аналізатори зображень здатні вирішувати задачу виділення за текстурними ознаками.

І, нарешті, ручне виділення об'єктів або фаз використовується в тих випадках, коли їх не вдається виділити жодним з описаних способів. При ручному виділенні основною дійовою особою стає користувач системи, який вказує їй, що вважати об'єктом, а що - ні.

3.5 Методики електронної мікроскопії

Методики електронної мікроскопії націлені на отримання гранично тонкого зразка і забезпечення максимального контрасту між ним і підкладкою, яка потрібна йому в якості опори. Основна методика розрахована на зразки завтовшки 2-200 нм, підтримувані тонкими пластмасовими або вуглецевими плівками, які кладуться на сітку з розміром осередку близько 0,05 мм. (Відповідний зразок, яким би способом він не був отриманий, обробляється так, щоб збільшити інтенсивність розсіяння електронів на досліджуваному об'єкті.) Якщо контраст досить великий, то око спостерігача може без напруги розрізнити деталі, що знаходяться на відстані 0,1-0,2 мм один від одного. Отже, для того, щоб на зображенні, що створюється електронним мікроскопом, були помітні деталі, розділені на зразку відстанню в 1 нм, потрібне повне збільшення близько 100-200 тис. разів. Кращі з мікроскопів можуть створити на фотопластині зображення зразка з таким збільшенням, але при цьому зображується занадто мала ділянка. Зазвичай роблять мікрознімок з меншим збільшенням, а потім збільшують його фотографічно. Фотопластина дозволяє на довжині 10 см близько 10000 ліній. Якщо кожна лінія відповідає на зразку деякій структурі протяжністю 0,5 нм, то для реєстрації такої структури потрібне збільшення не менше 20000, тоді як при допомозі ПЕМ, може бути дозволені близько 1000 ліній.

Небіологічні матеріали. Головною метою електронної мікроскопії високого розділення на сьогодні є візуалізація деталей ультраструктури недосконалих кристалічних матеріалів. Нині не існує інших методів, здатних

давати таку інформацію на атомному рівні дозволу або на рівні роздільної здатності елементарного осередку. Детальне розуміння структури дефектів кристалів визначає прогрес як в кристалохімії, так і в області дослідження міцності матеріалів. Використовуючи електронний пучок для управління швидкістю протікання хімічної реакції в кристалах, можна також майже на атомному рівні вивчати рух дефектів при фазових переходах. Електронна мікроскопія високого розділення знаходить також широке застосування для дослідження мікроструктури дуже маленьких кристалів, від яких не можна отримати картину рентгенівської дифракції. Останніми роками цей метод широко застосовується для дослідження мінералів і керамічних матеріалів.

Дослідження мінералів методом реплік почалися декілька десятків років тому. Безпосередньо методом електронної мікроскопії, що працює на просвітлення, першими були вивчені слюда і глинисті мінерали. Серед перших мінералогів, які використали електронну мікроскопію у своїх дослідженнях, можна назвати Рібе, Мак-Конела і Фліта [56]. Великий вплив на розвиток електронної мікроскопії стосовно мінералогії зробили роботи Мак-Ларена і Фейкі (з 1965 р.) і Ніссена (з 1967 р.); програма їх досліджень була цілком присвячена електронно-мікроскопічному дослідженню мінералів. У 1970 р. роботи по дослідженню місячних матеріалів методами ТЕМ сприяли виникненню незвичайного буму в електронній мікроскопії мінералів, в який разом з мінералогами були залучені матеріалознавці та фізики. Отримані ними впродовж п'яти років результати, що зробили колосальний вплив на сучасну мінералогію, показали, що електронна мікроскопія є дуже потужним інструментом в руках ученого. До теперішнього часу нові дані внесли вагомий внесок в розшифровку будови польових шпатів і піроксенів, і майже в кожній групі мінералів дослідження за допомогою електронної мікроскопії розкривають ряд несподіваних властивостей.

Електронна мікроскопія застосовувалася також для визначення віку земних, місячних і метеоритних порід. При цьому було використано ту обставину, що під час радіоактивного розпаду ядра вивільняються частки,

проникаючі в навколишній матеріал з високою швидкістю і що залишають видимий "слід" в кристалі. Такі треки можна побачити за допомогою електронного мікроскопа, використовуючи його в режимах сканування або на просвіт. Щільність треків розпаду навколо радіоактивного включення пропорційна віку кристала, а їх довжина є функцією енергії частки. Довгі треки, що вказують на високу енергію часток, були виявлені навколо включень витлокита в місячній породі; Хатчеон і Прайс приписали цей надзвичайно довгий трек розпаду елементу ^{244}Po , який із-за короткого періоду напіврозпаду до теперішнього часу зник, але ще міг існувати 4 млрд. років назад. Треки в матеріалі, узятому з поверхні місяця або з метеоритів (рис.3.24) [57], дають інформацію про еволюцію космічної радіації і дозволяють зробити висновки про вік і склад Всесвіту.

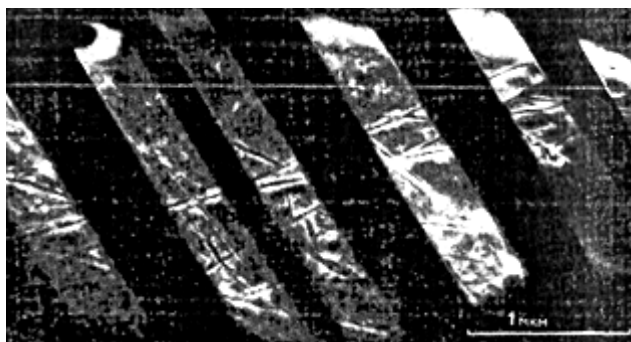


Рис.3.24. Темнопольна ТЕМ-картина зерна піроксена з метеорита Пезіано

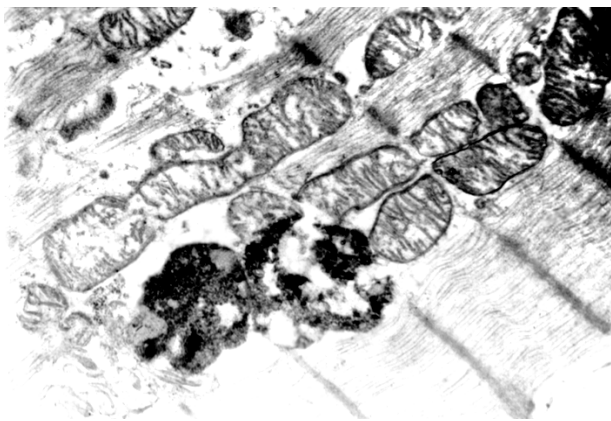
Висока щільність треків викликана наявністю енергетично важких ядер (головним чином Fe) в сонячному спаласі перед утворенням метеорита. Примітна таблична структура, обумовлена розпадом твердих розчинів.

ПЕМ застосовується в дослідженнях матеріалів для вивчення тонких кристалів і меж між різними матеріалами. Щоб отримати зображення межі розділу з великим дозволом, зразок заливають пластмасою, роблять зріз зразка, перпендикулярний межі, а потім утоньшують його так, щоб межа була видна на загостреній кромці. Кристалічна ґратка сильно розсіює електрони в певних напрямках, даючи дифракційну картину. Зображення кристалічного зразка значною мірою визначається цією картиною; контраст сильно залежить від орієнтації, товщини і досконалості кристалічної ґратки. Зміни контрасту на зображенні дозволяють вивчати кристалічну ґратку і її недосконалість в масштабі атомних розмірів. Отримувана при цьому інформація доповнює ту, яку дає рентгенографічний аналіз об'ємних зразків, оскільки ЕМ дає можливість

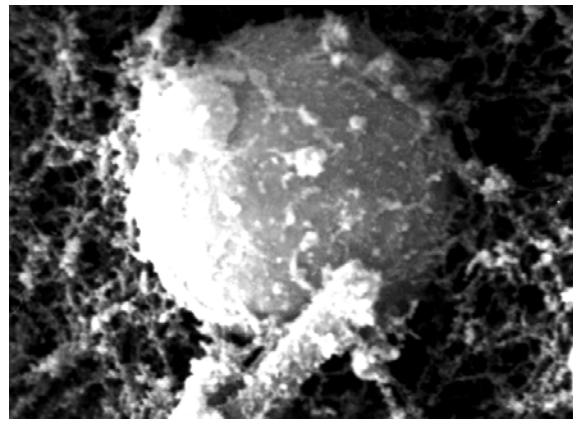
безпосередньо бачити в усіх деталях дислокації, дефекти упаковки і межі зерен. Крім того, в ЕМ можна знімати електронोगрами і спостерігати картини дифракції від виділених ділянок зразка. Якщо діафрагму об'єктиву настроїти так, щоб через неї проходили тільки один дифрагований і нерозсіяний центральний пучки, то можна отримувати зображення певної системи кристалічних площин, яка дає цей дифрагований пучок. Сучасні прилади розрізняють періоди ґрат величиною 0,1 нм. Досліджувати кристали можна також методом темнопольного зображення, при якому перекривають центральний пучок, так що зображення формується одним або декількома дифрагованими пучками. Усі ці методи дали важливу інформацію про структуру дуже багатьох матеріалів і істотно прояснили фізику кристалів і їх властивості. Наприклад, аналіз ПЕМ-зображень кристалічної ґратки тонких малорозмірних квазікристалів у поєднанні з аналізом їх електронोगрам дозволив в 1985 році відкрити матеріали з симетрією п'ятого порядку.

Біологічні препарати. Електронна мікроскопія широко застосовується у біологічних і медичних дослідженнях. Розроблені методики фіксації, заливки і отримання тонких зрізів тканин для дослідження в ПЕМ. Ці методики дають можливість досліджувати організацію клітин на макромолекулярному рівні. Електронна мікроскопія виявила компоненти клітини і деталі будови мембран, мітохондрій, ендоплазматичної мережі, рибосом і безлічі інших органел, що входять до складу клітини. Зразок спочатку фіксують глутаральдегідом або іншими фіксувальними речовинами, а потім зневоднюють і заливають пластмасою. Методи кріофіксації (фіксації при дуже низьких - кріогенних температурах) дозволяють зберегти структуру і склад без використання хімічних фіксувальних речовин. Крім того, кріогенні методи дозволяють отримувати зображення заморожених біологічних зразків без їх обезводнення. За допомогою ультрамікротомів з лезами з полірованого алмазу або сколеного скла можна робити зрізи тканин завтовшки 30-40 нм. Змонтовані препарати можуть бути забарвлені з'єднаннями важких металів (свинцю, осмію, золота, вольфраму, урану) для посилення контрасту окремих компонентів або структур.

Біологічні дослідження були поширені на мікроорганізми, особливо на віруси, які не дозволяються світловими мікроскопами. ПЕМ дозволила виявити, наприклад, структури бактеріофагів і розташування субодиноць у білкових оболонках вірусів. Крім того, методами позитивного і негативного фарбування вдалося виявити структуру з субодиноцями у ряді інших важливих біологічних мікроструктур. Методи посилення контрасту нуклеїнових кислот дозволили спостерігати одно- та двохнитні ДНК. Ці довгі лінійні молекули розпластують в шар основного білку і накладають на тонку плівку. Потім на зразок вакуумним напиленням наносять дуже тонкий шар важкого металу. Цей шар важкого металу "відтіняє" зразок, завдяки чому останній при спостереженні в ЕМ виглядає як би освітленим з того боку, з яким напилювався метал. Якщо ж обертати зразок під час напилення, то метал накопичується навколо часток з усіх боків рівномірно, рис.3.25.



а.



б.

Рис.3.25. Електронограма кардіоміоциту, отримана при ТЕМ (а, виразно видно субклітинні структури; $\times 22000$) та лейкоциту і бактерії, що фагоцитується ним, отримана при РЕМ (б, $\times 20000$)

3.5.1 Методика растрової електронної мікроскопії для дослідження структури поверхні композиційних матеріалів

В даній методиці були поставлені наступні основні задачі:

- вдосконалити методику РЕМ, розроблену раніше в лабораторії РСА і ЕМІ і використану при виконанні досліджень [58] по дисперсним порошкам метал – оксидних, отриманих методом електроерозійного диспергування;

- підтвердити доцільність застосування програмного забезпечення (IBM) по обробці результатів МРСА (мікрорентгеноспектрального аналізу) оптичних стеклов після ЕПО з, врахуванням поправок на атомний номер визначаючого елемента і флюоресценцію.

У хіміків – технологів і порошківців об'єктами дослідження є, наприклад, боридні композиції, евтектичні сплави та інші тугоплавкі карбіди і нітриди. Електронно-мікроскопічні дослідження дозволяють вивчати морфологію їх поверхні, виявляти різні включення, домішки, аномалії в процесі використання їх для модифікування покриттів та інше.

Розробники будівельних, електротехнічних матеріалів і кераміки за допомогою РЕМ можуть вивчати механізми твердіння цементу, вплив форм і розмірів мікрочастинок на якість будівельних матеріалів і виробів, механізми деформації і руйнування матеріалів.

Дана методика призначена, в основному, для дослідження об'єктів композиційних матеріалів і покриттів на основі тугоплавких сполук. Безумовно, для комплексного дослідження об'єктів необхідно застосування РЕМ з лазерною мас – спектрометрією і рентгеноструктурним аналізом.

Основною характеристикою мікроскопу є його дозволяюча здатність – здатність розрізняти деталі об'єкту, що знаходяться на мінімальних відстанях один від одного.

Методи вивчення фазового складу різних домішок і включень в полікристалічних плівках оснований на мікродифракції електронів. Метод дифракції ((МЕГ) мікроелектронограми) знайшов в електронній мікроскопії широке застосування на основі використання просвітлювальної мікроскопії. Коротко розглянуті приклади вивчення фазових включень в тугоплавких матеріалах по дифракційним картинкам ділянок діаметром 1 мкм і менше.

Призначення методики РЕМ і МРСА. Задачі, що вирішує РЕМ.
Для вирішення багатьох інженерно – технологічних задач, особливо з матеріалознавства, необхідно досліджувати і правильно пояснити явища, що

проходять на мікронному і субмікронному рівнях. У зв'язку з необхідністю поліпшення властивостей розроблених нових матеріалів, необхідні різносторонні відомості про зв'язок складу матеріалу і тонкої структури з технологічними властивостями, які можуть бути отримані лише із застосуванням нових методів аналізу і дослідження.

Растровий електронний мікроскоп РЕМ – 100у з рентгенівським мікроаналізатором дозволяє на такому рівні спостерігати і вивчати структуру поверхні неоднорідних органічних і неорганічних матеріалів, досліджувати мікрорельєф, розподіл хімічного складу по об'єкту. Об'єктами дослідження можуть бути метали, неметали (порошки, скло, солі) композиційні матеріали, мінерали, мікросхеми, біологічні зрізи [51].

За допомогою електронної мікроскопії можна отримати інформацію про структуру сплавів без приготування мікрошліфа, про зміну фазового складу сплавів в процесі деформації або інших впливів. Інформативність метода РЕМ набагато збільшується при одночасному проведенні локального хімічного аналізу за допомогою приставок рентгенівського спектрографа хвильової або енергетичної дисперсії.

Дана методика растрової або скануючої електронної мікроскопії (РЕМ і МРСА) є одною із сучасних методик фізико – хімічного аналізу, що застосовується в таких областях, як матеріалознавство, фізика твердого тіла, високоефективні процеси обробки, мікроелектроніка, порошкова металургія і хімічна технологія.

Основними задачами, що вирішуються за допомогою РЕМ, є наступні:

1. Вивчення структури гетерофазних матеріалів, властивості яких в більшості визначаються розмірами, розподілення і природою дуже дисперсних надлишкових фаз різного складу;
2. Вивчення структури поверхні руйнування (метод електронної фрактографії) із встановлення характеру руйнування і впливу різних фаз, в тому числі неметалічних включень на зароджуванні тріщини;
3. Вивчення дефектності поверхні, що виникає в процесі виготовлення

матеріалу, і з метою встановлення причин і їх усунення;

4. Дослідження структури проміжних шарів між композиціями, а також між основою (підложкою) і покриттям;

5. Дослідження процесів деформації, рекристалізації, зв'язку структури матриці з дисперсними фазами в дисперсно – зміцнених матеріалах;

6. Створення нових каталізаторів із заданими властивостями поверхні (топографія і розміри пор носія і підложки), нових адсорбентів для очистки промислових викидів.

7. Вимірювання лінійних розмірів елементів мікроструктур в мікроелектронному виробництві.

Використання даної методики дозволить частково вирішити перераховані задачі при умові правильного препарування (підготовки) об'єктів дослідження та інтерпретації зображень.

Вимоги до об'єктів і підготовка їх поверхні для дослідження методом РЕМ. Одна із найбільших переваг растрової електронної мікроскопії полягає у можливості досліджувати поверхню зразків в режимі вторинних електронів без попередньої підготовки (металічні об'єкти). Товщина зразків практично не має значення і визначається розмірами столика – об'єктотримача ($h=6$ мм). Об'єкт можна розміщувати під будь – яким кутом до електричного пучка. Для металічних і металокерамічних масивних об'єктів для отримання картини топографічного контрасту єдина необхідна підготовка зразка полягає в детальному обезжирюванні його. Методи очистки поверхні порошків – конгломератів полягає у промивці розчинниками (спиртом, бензином) і обезжирюванні при ультразвуковій очистці, поверхні мінералів – механічній очистці, хімічному травленні. Ці методи слід використовувати так, щоб нанести найменше пошкодження поверхні зразка.

У випадку дослідження непровідних матеріалів, наприклад, силікатів, оксидів, або неметалічних включень в металічному зразку, електрони можуть збиратися на їх поверхні із – за відсутності стікання зарядів і накопичення їх призводить до створення області просторового заряду і засвічування плівки при

фотографуванні. В такому випадку застосовуються додаткове напилювання на ВУП – 5 тонкої плівки (товщиною 10 – 20 мкм) металу.

При дослідженні в режимі МРСА необхідно мати дійсно плоску поверхню зразків у всіх випадках крокового сканування електронного зонду для отримання достовірних результатів по концентраційному розподіленню елементів. У випадку нахильної і нерівної поверхні зразка виникає викривлене зображення.

При дослідженні частинок і волокон в композиційних матеріалах слід використовувати розроблену раніше методику підготовки і препарування для ультрадисперсних частинок [59]. Частинки конгломератів попередньо диспергуються в розчині за допомогою ультразвукового диспергатора УЗДН – А при режимах, вказаних в табл.3.3.

Табл.3.3. Режими очистки об'єктів на УЗДН – А

Об'єкт	Рідина	Частота і час	Чутливість	
			Ітенс.	Синхр.
Порошок шламу Fe - Fe _x O _y	CCl ₄	2	5	3
Порошок Pb - Pb _x O _y	бутиловий спирт	3	6	3
Порошок WC – W ₂ C	етиловий спирт	4	4	3
Окатиші залізорудні P40	CCl ₄	5	2	4
Зразок WC - MNM _x	етиловий спирт	5	4	3

При дослідженні порошків на металічний столик – підложку наноситься шар аквадаги (вуглецевої пасти) або звичайного лаку, на який через 2 – 3 сек. наносять кісточкою порошок. Якщо наносити порошок надто рано, він почне занурюватись в лак і змішуватись, утворюючи “рідке покриття” на частинках, які стають непридатними для дослідження. Надлишкові частинки здуваються зі столика гумовою грушею. У випадку використання звичайного лаку, щоб виключити ефект зарядки в РЕМ, частинки разом зі столиком напилюються тонким шаром вуглецю або металу (Cu, Ag, Al, Cr).

При дослідженні порошків і атестація розмірів їх частинок більш точно, рекомендується таким же способом наносити їх на мікросітку з відомим періодом ґратки (наприклад, 25 мкм).

В табл.3.4 і 3.5 наведені дані розмірів по області сканування в залежності від збільшення мікроскопу і розмір елементу зображення в залежності від збільшення.

Табл.3.4. Скануюча область в залежності від збільшення РЕМ

Збільшення	Область сканування на зразку
10х	1 см ²
100х	1 мм ²
1000х	100 мкм ²
10000х	10 мкм ²
100000х	1мкм ²

Табл.3.5. Розмір елемента зображення в залежності від збільшення

Збільшення	Розмір елемента зображення, мкм
10х	10
100х	1
1000х	0,1 (1000 Å)
10000х	0,01 (100 Å)
100000х	0,001 (0,001 Å)

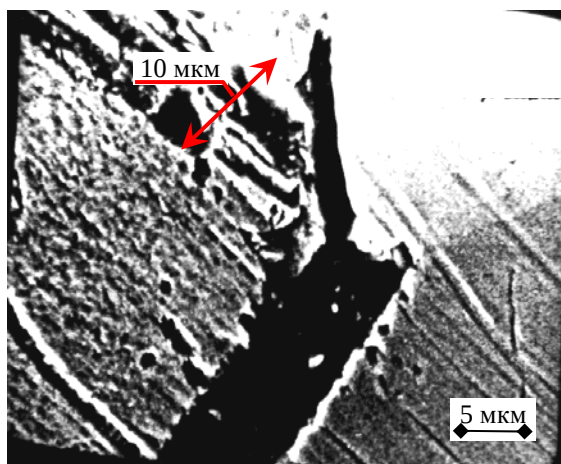
Приклади дослідження поверхні об'єктів композиційних матеріалів у вторинних електронах (вихідні порошки і плазмові покриття). На рис.3.26–3.28 представлені результати дослідження в режимі “вторинних електронів” поверхні порошків Ni – Al і самофлюсуючого сплаву ПГСП – 3, а також флюс покриттів на підложках сталь 08Кп і сталь 45 відповідно.

Інтерпретація результатів дослідження порошків і покриттів проводиться в залежності від задач. З отриманих знімків можна визначити розмір частинок, їх морфологію, розподілення по розмірах, характер взаємодії фаз на поверхні,

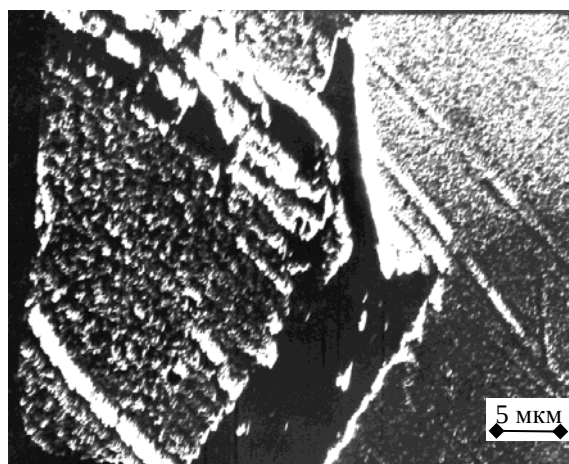
наявність дефектів і пор, тобто якість покриття.

Вивчення мікрорельєфу з отриманих сканограм у вторинних електронах поверхні дозволяє атестувати якість покриття.

По знімках (рис.3.26 а, б) поверхні основи (Fe – Армко) і електролітичного покриття Ni – Cr, отриманого з наступним спеціальним високошвидкісним охолодженням на кафедрі фізики ЧДТУ, виявлений дифузійний шар товщиною до 10 мкм (рис.3.26 а) і перехідні шари Fe – Ni та Cr – Fe (1,5 – 2 мкм), які забезпечують адгезійну міцність формуючого покриття. Видимі борозни на поверхні вказують на погану якість металографічного шліфу, що добре виявляються на РЕМ – 100 завдяки достатньої глибини різкості.



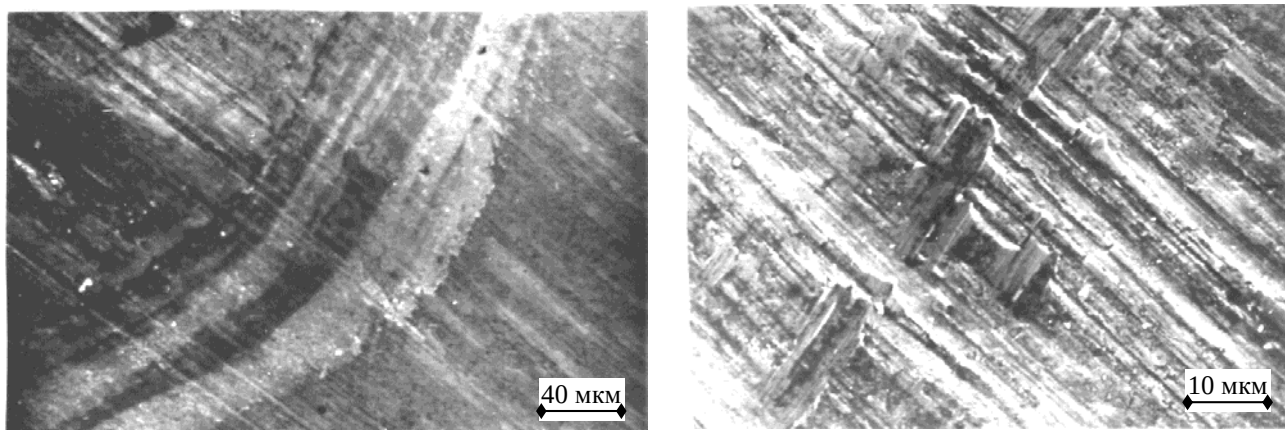
а.



б.

Рис.3.26. Електронно – мікроскопічні знімки поверхні дифузійних шарів Fe – Ni – Cr: а – топографія, $\times 1650$; б – Y – модуляція, $\times 1650$.

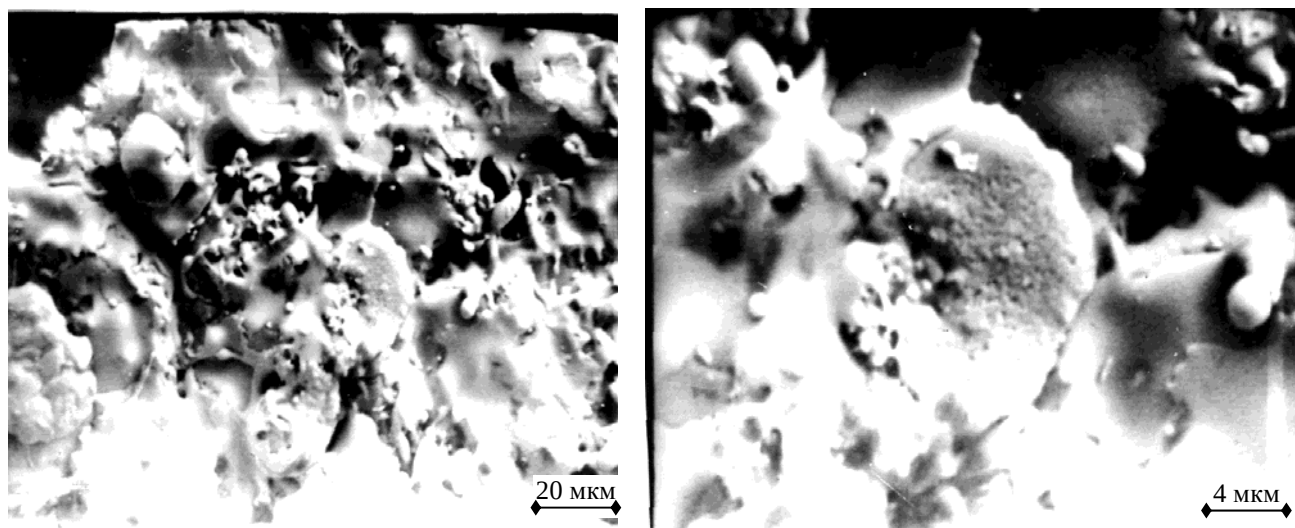
На рис.3.27–3.28 представлені приклади дослідження структури і морфології покриттів в залежності від технологічних умов нанесення цих покриттів.



а.

б.

Рис.3.27. Електронно – мікроскопічні знімки поверхні з Ni – Al покриттям на сталі 08 Кп (РЕМ – 100у): а) $\times 120$; б) $\times 500$



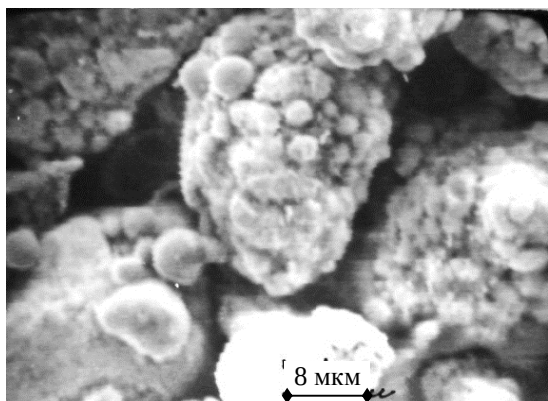
а.

б.

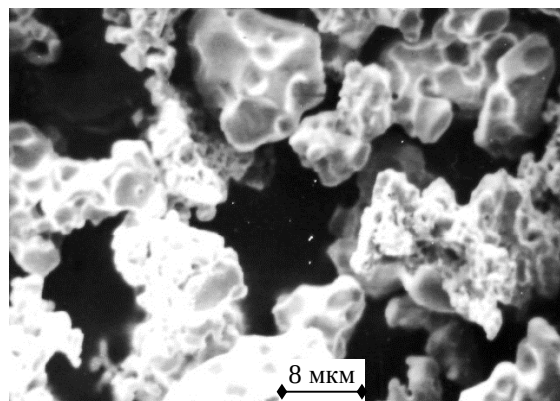
Рис.3.28. Електронно – мікроскопічні знімки поверхні покриття із порошку ПГСР: а – покриття, $\times 200$, РЕМ – 100у; б – покриття, $\times 1000$.

По зображеннях термореагуючих порошків (рис.3.29 а, б, в) Ni – Al можна сказати, що ці частинки неправильної форми, розмір їх складає 20 – 50 мкм і на їх поверхні прикріплені більш менші частинки Ni – Al розміром 1,5 – 2 мкм.

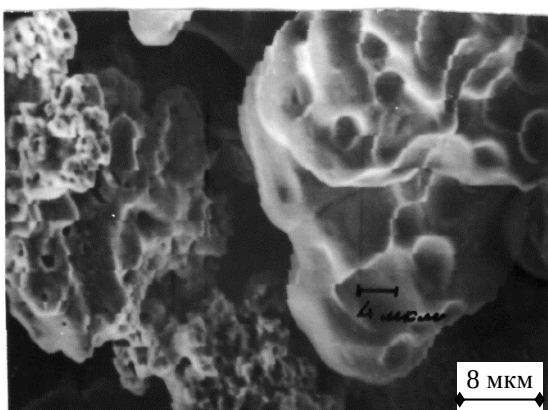
По зображеннях порошків самофлюсуючого сплаву ПГСР – 3 (рис.3.29 г, д, е) можна судити про сферичну форму частинок з пористою структурою поверхні. Розмір пор $< 0,5$ мкм. Розмір сфер – 40 мкм і менше.



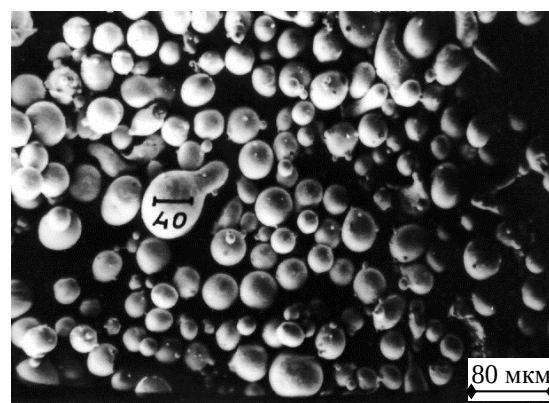
а



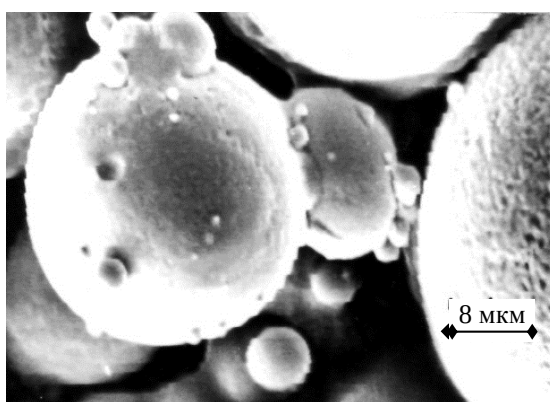
б



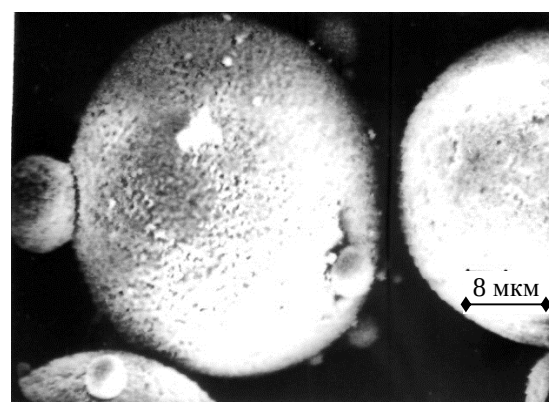
в



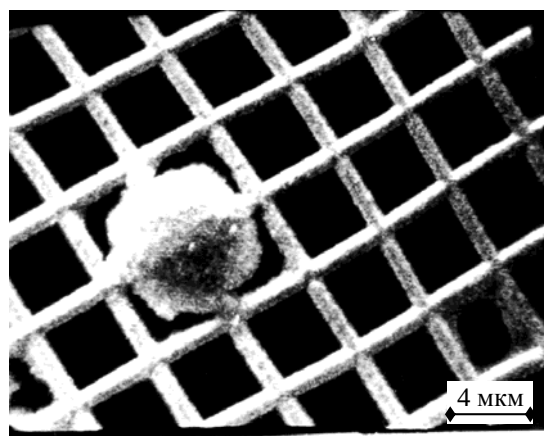
г



д



е



ж

Рис.3.29. Електронно-мікроскопічні знімки поверхні вихідних порошків, що використовуються для отримання плазмових покриттів: а, б, в – порошок ПН85Ю15 (Ni-Al), РЭМ-100у, $\times 1000$, 500, 1000; г, д, е - порошок ПГСР-3 (сплав Ni, Cr, Si, B, Fe), РЭМ-100у, $\times 100$, 1000, 1000; ж - порошок Fe-Fe_xO_y, на сітці. $\times 2000$.

3.5.2 Методика визначення кристалографічних параметрів структури композиційних матеріалів за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії

При розробці нових високоефективних методик аналізу складу композиційних матеріалів (КМ) та покриттів на основі тугоплавких сполук, а саме мас – спектрометричного та електронно-мікроскопічного аналізу, одним із важливих методів, крім ЕМАЛ і РЕМ, є метод ТЕМ (трансмісійний) або ПЕМ (просвічування) електронної мікроскопії, що дозволяє досліджувати тонку структуру перехідних зон і шарів. Крім теоретичних методик [60] для аналізу КМ в літературі відомості практично відсутні. Відома методика дослідження дислокаційної структури кольорових металів і сплавів [61] та різноманітні дані публікацій в журналах порошкової металургії.

В даній роботі при електронно-мікроскопічних дослідженнях субструктури використовується аналіз картин мікродифракції (КМД), що виникають при взаємодії пучка електронів з кристалічною структурою об'єкту. По – скільки у формуванні КМД приймає участь мікрооб'єм речовини об'єкта (один або декілька кристалів з однаковим орієнтуванням), то у випадку полікристалічного зразку вона є точковою картиною дифракції від монокристалу [62].

Для того, щоб орієнтуватися в даних кристалографії, необхідно знати деякі терміни, що використовуються в ній, такі, наприклад, як позначення кристалографічних площин $(h\ k\ l)$ та сукупність еквівалентних площин $\{h\ k\ l\}$, напрямлення прямої $[h\ k\ l]$, що йде від початку координат до точки з координатами U, V, W , набору еквівалентних напрямлень, що утворюють сімейство $\langle u\ v\ w \rangle$. За допомогою кристалографічних понять і методу електронної дифракції можна описати як симетрію кристалу, так і розміщення атомів у вузлах кристалічної ґратки.

Дифракційна електронна мікроскопія, як метод вивчення структур, представляє собою досить складний комплекс різних конкретних експериментальних прикладів отримання, розрахунку і тлумачення

електронних мікрофотографій і мікродифракційних картин, дозволяє проводити:

- пряму ідентифікацію фаз, зокрема, окремих структурних складових, мікрровключень і т.п.;
- визначення орієнтаційних співвідношень кристалів одною або різними фазами;
- аналіз напрямлень і величин зміщень в решітці, викликаних тими або іншими структурними або зовнішніми причинами;
- проведені оцінки розорієнтування зерен, блоків, ідентифікації двійників, дефектів, дефектів упаковки і т.п.;

Методика ТЕМ апробована на прикладі розшифровки тест – об'єкта Al показала, що отримана електронограма відповідає кристалічній структурі (кубічній) чистого алюмінію.

На основі дослідження екстракційних реплік AlN – покриття можна зробити висновок про відповідність отриманих кристалографічних характеристик гексагональної ґратки монокристу алюмінію без викривлення параметрів ґратки.

Електронограми від зразків з різною кристалічною будовою.
Електронограма являється своєрідним відображенням структури досліджуваного зразка. Якщо зразок є монокристалом, тобто має впорядковане розміщення атомів, то отримана від нього електронограма буде складатися із простої комбінації яскравих плям (рис.3.30 а, б). Розміщення плям на електронограмі від монокристу залежить від орієнтації атомної ґратки кристу в електронному мікроскопі.

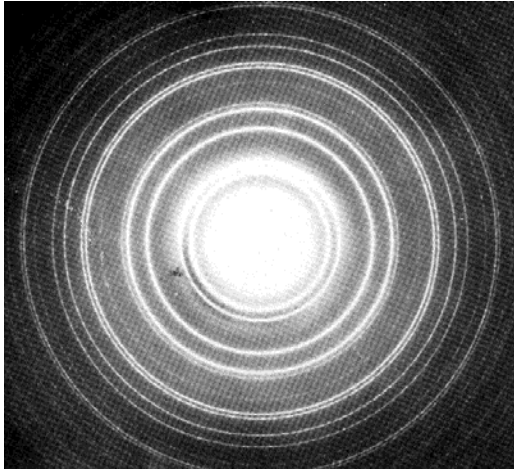


а) прямокутне розміщення атомів

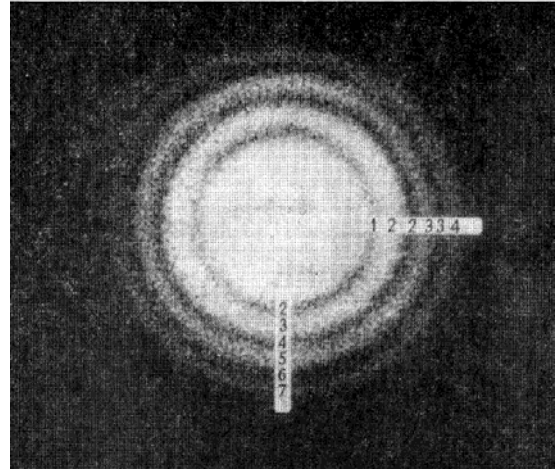
б) кубічне розміщення атомів

Рис.3.30. Електронограми: (а) від монокристу і (б) від полікристалічного зразка

Електронограма, отримана від полікристалічного зразка, складається із ряду концентраційних кілець (рис.3.31, а). Такого типу електронограма представляє собою безліч електронограм від монокристалів, повернутих на невеликий кут один відносно одного.



а.



б.

Рис.3.31. Електронограма від полікристалічного зразка (а) та кристалоорієнтованого (б)

Зразок може складатися із великого числа дискретних областей, так званих зерен, що мають періодичну будову. Якщо зерна в зразку розміщені не зовсім безладно, а мають тенденцію орієнтуватися вздовж якого – не будь напрямлення з невеликими відхиленнями від нього, то говорять, що такий зразок володіє переважаною орієнтацією або структурою. Електронограми від таких зразків складаються із концентраційних кілець. Але деякі частини цих кілець доволі яскравіше інших, що свідчить про переваги кількості зерен з переважаною орієнтацією (рис.3.31, б).

Точкові електронограми і зворотна ґратка. Для розуміння контрастів електронно-мікроскопічного зображення кристалічних об'єктів необхідно знання основних закономірностей дифракції електронів на кристалічній решітці. Вияснення цих закономірностей суттєво полегшується при використанні уявлень про зворотну ґратку, що витікає із аналізу так званих точкових електронограм.

Розглянемо рис.3.32. Внаслідок малої довжини хвилі λ і, внаслідок, малого кута Θ можна рахувати, що $2 \sin \Theta \approx 2\Theta = R/L$. Заміна $2 \sin \Theta$ у формулі

$2d \sin \Theta = n\lambda$, де: d – відстань між атомними площинами; Θ – кут ковзання електронного пучка по відношенню до даної системи атомних площин; $n\lambda$ – добуток, що відповідає цілому числу довжини електронної хвилі на R/L приводить до рівняння: $d_{hkl}R = n\lambda L$.

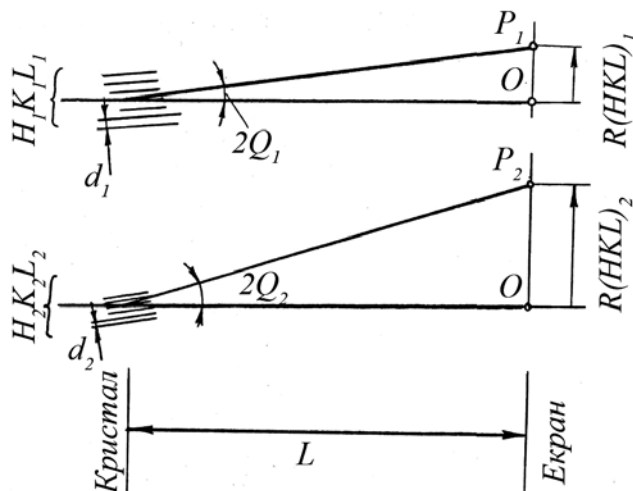


Рис.3.32. Зв'язок між положеннями рефлексів на електронограмі і сімейства площин

Із рис.3.32 і рівняння видно простий зв'язок між розміщенням рефлексів на електронограмі і атомними площинами кристалу; рефлекс P розміщений від центральної плями на відстані, пропорційній зворотній величині міжплощинної відстані в кристалі (d_{hkl}). Якщо прийняти відрізок OP за вектор R , то його напрямлення співпадає з напрямленням нормалі до відбиваючих площин (n). Таким чином, знаючи кристалічну структуру, тобто положення в просторі відбиваючих площин і міжплощинних відстаней, можна уявити вид дифракційної картини як своєрідну ґратку (зворотну ґратку). Ця ґратка будується як система точок, радіуси – вектори яких паралельні нормалям до площин в кристалі і зворотно пропорційні міжплощинним відстаням:

Періоди такої ґратки для випадку ортогональних кристалів зв'язані простими співвідношеннями з періодами кристалічної ґратки:

$$|\bar{a}^*| = \frac{1}{a}; |\bar{b}^*| = \frac{1}{b}; |\bar{c}^*| = \frac{1}{c}$$

На рис.3.33 жирними лініями виділені елементарні комірки кристалу (зліва) і зворотної ґратки (справа). Сімейства площин (100), (200), (110), (210) в

кристалі відповідають радіуси – вектори $\vec{r}^*_{100}$, $\vec{r}^*_{200}$, $\vec{r}^*_{300}$ тощо.

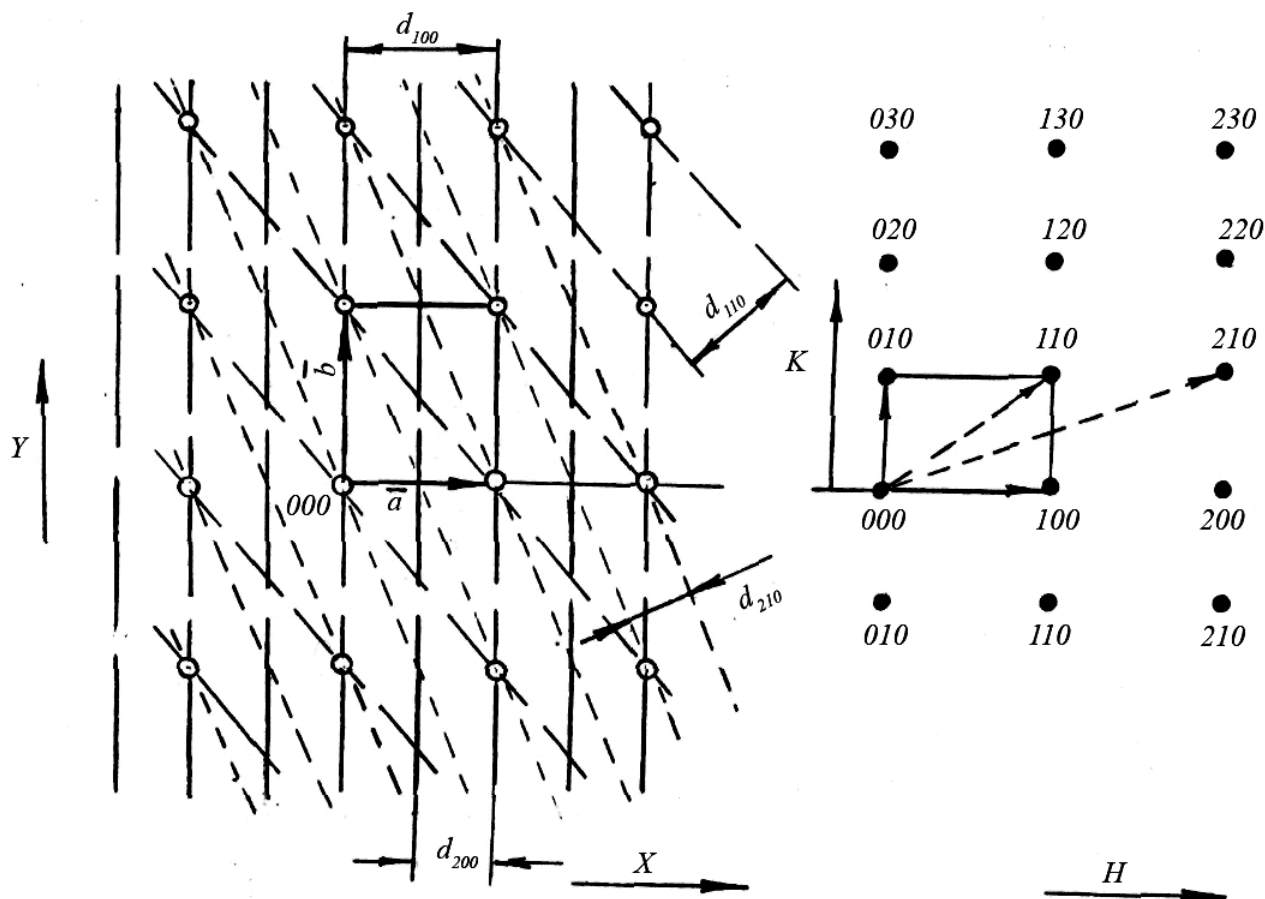


Рис.3.33. Схема кристалічної ґратки (зліва) і зв'язаної з нею зворотної ґратки (справа)

Аналіз електронограми. Електронограма містить два основних види інформації:

- просторове розміщення, тобто відстань R між центральною плямою і дифракційними плямами і кільцями і кутом ϕ між лініями, що сполучають центральну пляму з іншими плямами;
- інтенсивність дифракційних максимумів по відношенню до інтенсивності центральної плями.

Крім того, в електронограмах можуть бути і інші елементи тонкої структури, але величина відстаней R і кутів ϕ , являється джерелом швидкої і легкої інтерпретаційної інформації.

Індукування простої електронограми від відомого зразка. Перш за все дифракційні плями або кільця повинні бути індуковані, тобто їм повинно бути прописані індекси Міллера площин ґратки, що відповідають за їх виникнення.

Так як електронограми від полікристалічного зразка представляють собою суперпозицію електронограм від всіх монокристалів зразка, процедура індукування зводиться до індукування електронограми від монокристалу.

Спочатку необхідно визначити їх міжплощинну відстань d . Вимірювання по черзі відстані між центральною плямою і всіма іншими дифракційними плямами електронограмами. При розгляді

електронограми рис.3.34 видно, що дифракційні плями А, С, Е, G розміщені на однаковій відстані від центру, також як і В, D, F, Н. Таким чином необхідно виміряти тільки відстань R_1 і R_2 . Знаючи прискорюючу напругу в мікроскопі (наприклад 75 кВ) по таблицях залежності

величини λ від прискорюючої напруги знаходимо λ ($\lambda = 0,004$ нм). По відомим λ і дифракційної довжини L ($L = 800$ нм) визначаються міжплощинні відстані:

$$d_1 = \frac{\lambda L}{R_1} = 0,25 \text{ нм}; d_2 = \frac{\lambda L}{R_2} = 0,177 \text{ нм}$$

Використовуючи формулу для визначення міжплощинних відстаней кристалографічної системи (в залежності від системи) і знаючи параметри кристалографічної ґратки, можна визначити величину $(h^2 + k^2 + l^2)$. В нашому випадку (кубічної ґратки):

$$h_1^2 + k_1^2 + l_1^2 = \frac{a^2}{d_1^2} = 1$$

$$h_2^2 + k_2^2 + l_2^2 = \frac{a^2}{d_2^2} = 2$$

Потім визначаємо множину чисел, до яких можуть належати значення h, k, l :

$h_1 k_1 l_1 - \{100\}$, тобто (100), (010) або (001)

$h_2 k_2 l_2 - \{110\}$, тобто (110), (101) або (011)

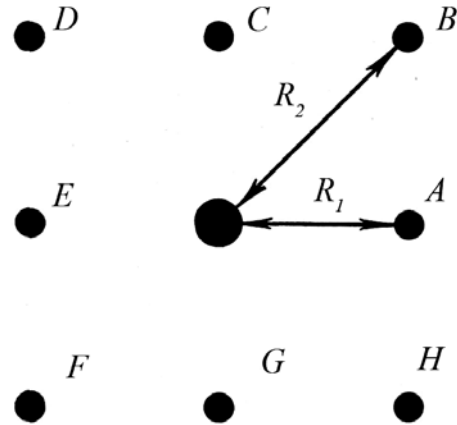


Рис.3.34 Схематична електронограма від монокристалічного зразка кубічної структури з параметром ґратки, $a = 0,25$ нм.

Потім індекси Міллера приписуються дифракційним плямам електроннограм. Центральній плямі приписуються індекси (000), плямі А абсолютно довільні із трьох можливих значень ($h_1 k_1 l_1$), наприклад, (100), плямі В одне із трьох значень ($h_2 k_2 l_2$). Враховуючи, що індекси всіх плям повинні представляти собою результат векторного складання окремих індексів, приписуємо іншим дифракційним плямам відповідні індекси.

Слід пам'ятати два правила:

а) якщо при переміщенні вздовж прямої, що сполучає плями електроннограм від одного до другого один із індексів h , k або l змінився, то подібна зміна цього ж індексу повинна мати місце і при подальшому переміщенні в цьому напрямленні до наступної плями;

б) якщо дифракційні плями розміщені на одній прямій з центральною плямою, з різних сторін і на однаковій відстані, то індекси одної плями можна отримати, помножив індекси другої на 1.

Користуючись цими правилами і векторними складенням (наприклад, $(010) + (100) = (110)$) дуже просто проідентифікувати всю картину, після того як проідентифіковані перші дві плями електроннограм.

Після ідентифікування слід перевірити правильність кутів між деякими плямами електроннограм. В залежності від системи по таблицям вибираємо значення $\cos \Phi$ в нашому випадку (для кубічної структури):

$$\cos \Phi = \frac{h_1 h_2 + k_1 k_2 + l_1 l_2}{\sqrt{[(h_1^2 + k_1^2 + l_1^2)(h_2^2 + k_2^2 + l_2^2)]}}$$

Наприклад, $\Phi_{(100)(010)} = 90^\circ$, що відповідає дійсності.

$$\cos \Phi_{(100)(110)} = \frac{1}{\sqrt{2}}; \Phi = 45^\circ, \text{ що також вірно.}$$

Визначення вісі зони електроннограм. У випадку простої електроннограм, розглянутої нами раніше, індекс 1 був рівний нулю для всіх дифракційних плям. Якщо $l = 0$, то всі площини паралельні вісі Z , тобто дифракційні плями на цій електроннограмі обумовлені тільки площинами, паралельними вісі Z (рис.3.35). Якщо розглянути кожен із площин окремо і припустити, що

електронний пучок розсіюється обома сторонами кожної площини, стає зрозумілим походження кожної дифракційної плями. Центральна пляма утворюється тими ж електронами, які пройшли через кристал, не потерпівши розсіювання. Значить, зразок

орієнтований так, що електронний пучок проходить вздовж вісі Z, тобто перпендикулярно до площини (001). Як наслідок, твердження того, що вісь зони електронограми є вісь [001], де квадратні дужки означають особливе напрямлення в кристалі, визначають орієнтацію зразка.

Можна привести і математичне визначення вісі зони $[u \ v \ w]$, користуючись виразами:

$$u = k_1 l_2 - k_2 l_1, \quad v = l_1 h_2 - l_2 h_1, \quad w = h_1 k_2 - h_2 k_1$$

де: $h_1 k_1 l_1$ і $h_2 k_2 l_2$ – індекси двох різних дифракційних плям електронограми,

крім центральної плями або двох дифракційних плям, розміщених з одної сторони від центрального.

Спосіб математичного визначення вісі зон простий і полягає в наступному: в строчку записуються індекси якої – не будь дифракційної плями два рази. Під ним індекси іншої дифракційної плями. Перший і останній стовпці викреслюються:

$$\begin{array}{ccc|ccc} h_1 & k_1 & l_1 & h_1 & k_1 & l_1 \\ h_2 & k_2 & l_2 & h_2 & k_2 & l_2 \end{array}$$

Потім, переміщуючись зліва на право, складаємо діагональні добутки і кожний наступний добуток віднімаємо із попереднього:

$$k_1 l_2 - k_2 l_1, \quad l_1 h_2 - l_2 h_1, \quad h_1 k_2 - h_2 k_1$$

Приклад. Розглянемо електронограму на рис.3.35. Кожній плямі

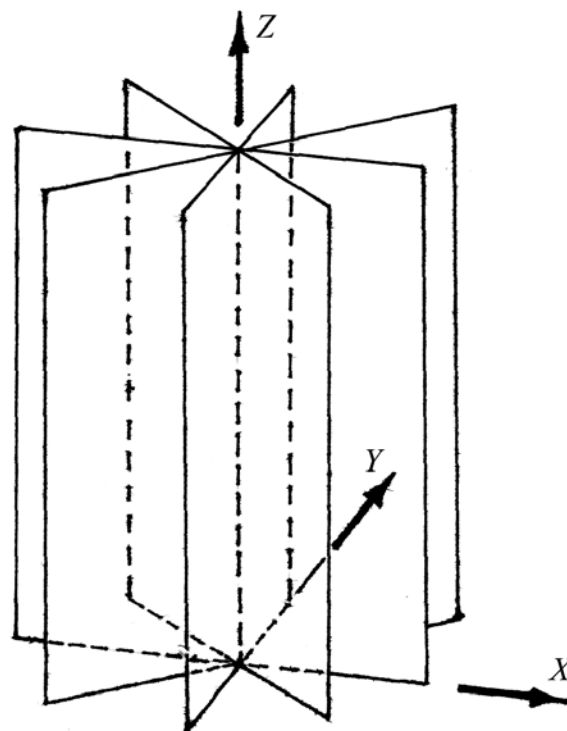


Рис.3.35. Площини, розміщені в кристалічній решітці паралельно вісі Z.

дописуємо індекси. Для плям $(0\bar{1}0)$ і $(1\bar{1}0)$

$$\begin{array}{c|ccc} 0 & \bar{1} & 0 & 0 & \bar{1} & 0 \\ 1 & \bar{1} & 0 & 1 & \bar{1} & 0 \end{array} \Rightarrow (0-0), (0-0), (0-1)$$

Вісі зони визначаються індексами $[\bar{0}01]$.

Ідентифікація електронограм від невідомого зразка. Для полегшення процедури ідентифікації зазвичай необхідно мати декілька електронограм з різними осями зон. Симетрія електронограм може вказувати на визначену структуру зразка, наприклад:

а) точкові гексагональні (60°) розміщення дифракційних плям, достовірно вказують на те, що зразок має або гексагональну або кубічну структуру;

б) квадратне (90°) розміщення дифракційних плям, достовірно отримується від зразку з кубічною, тетрагональною або ромбічною структурою;

в) якщо серед великого числа електронограм, отриманих від одної і тієї ж області зразка не мають картин з високою симетрією, того, що віссю зони електронограми є вісь $[001]$, де квадратні дужки означають особливі напрямлення в кристалі, визначають орієнтацію зразка.

Можна привести і математичне визначення вісі зони $[u\ v\ w]$, користуючись виразами: $u = k_1l_2 - k_2l_1$, $v = l_1h_2 - l_2h_1$, $w = h_1k_2 - h_2k_1$, де $h_1k_1l_1$ і $h_2k_2l_2$ – індекси двох різних дифракційних плям електронограми, крім центральної плями або двох дифракційних плям, розміщених з однієї сторони від центральної.

На конкретну структуру може також вказувати існування численних залежностей між значеннями величин d , отриманих із різних електронограм. Методика полягає в тому, щоб, використовуючи різні електронограми, визначити всі значення міжплощинних відстаней d , з врахуванням різних змін постійної приладу, які можуть мати місце при нахилі зразка, і скласти таблицю значень λL в порядку зростання. Потім встановлюють, існує в цьому списку значення $1/d^2$ який-небудь загальний множник або явна числова послідовність.

Кубічні структури. По формулі для визначення міжплощинних відстаней:

$$\frac{1}{d^2} = \frac{h^2 + k^2 + l^2}{a^2} = \frac{N}{a^2}$$

$$\text{де: } N = (h^2 + k^2 + l^2)$$

а) для гранецентрованої кубічної ґратки h, k, l повинні бути або всі парні або не парні. Таким чином, дана числова послідовність дозволяє передбачити в невідомій структурі з існуючим набором $1/d^2$ гранецентровану кубічну ґратку;

б) у випадку об'ємноцентрованої кубічної ґратки $(h + k + l)$ повинна бути парною. Як наслідок, і $(h^2 + k^2 + l^2) = N$ парне.

Табл.3.6. Можливі величини $(h^2 + k^2 + l^2)$

$h^2+k^2+l^2=N$	{h, k, l}	$h^2+k^2+l^2=N$	{h, k, l}	$h^2+k^2+l^2=N$	{h, k, l}
1.	100	10	310	19	331
2.	110	11	311	20	420
3.	111	12	222	21	421
4.	200	13	320	22	332
5.	210	14	321	23	-
6.	211	15	-	24	422
7.	-	16	400	25	500
8.	220	17	410	26	510
9.	221 або 300	18	411 або 330	27	511 або 333

Таким чином, числовою послідовністю, характерною для об'ємноцентрованої кубічної ґратки, являється послідовність парних чисел.

Тетрагональна структура. Для визначення міжплощинних відстаней тетрагональної структури використовується формула:

$$\frac{1}{d^2} = \frac{h^2 + k^2}{a^2} + \frac{l^2}{c^2} = \frac{M}{a^2} + \frac{l^2}{c^2}$$

де $M = (h^2 + k^2)$ може приймати значення 1,2,4,5,8,9,10,13,16,17,18,20..

Для більшості членів цієї послідовності характерним являється відношення 2:1. Таким чином, якщо серед таблиці значень переважає це відношення, то ймовірно структура являється тетрагональною. Міжплощинні відстані, для яких відношення величин $1/d^2$ рівні 2:1, відповідає рефлексам

$\{h \ k \ 0\}$. Ці величини міжплощинних відстаней використовується для визначення h , k , a . Міжплощинні відстані, для яких відношення $1/d^2$ не рівне 2:1, відповідає рефлексам $\{h \ k \ l\}$ і служить для визначення l і c .

Гексагональна структура. Для визначення міжплощинних відстаней гексагональної структури застосовується формула:

$$\frac{1}{d^2} = \frac{4}{3} \left(\frac{h^2 + hk + k^2}{a^2} \right) + \frac{l^2}{c^2} = \frac{4}{3} P / a^2 + \frac{l^2}{c^2}$$

де $P = (h^2 + hk + k^2)$ може приймати значення 1,3,4,7,9,12,13,19,21...

Для членів цієї послідовності домінуючим відношенням являється 3:1, тобто якщо для таблиці значень $1/d^2$ це відношення являється переважаючим, структура, напевне, буде гексагональною і вище приведене рівняння може бути використано для розрахунків $\{h \ k \ l\}$, a і c . Як і раніше, міжплощинні відстані і переважаючим відношенням величин $1/d^2$ рівним 3:1, відповідає рефлексам $\{h \ k \ 0\}$ і можуть бути використані для визначення h , k , a . Інші міжплощинні відстані відповідають рефлексам $\{h \ k \ l\}$ і використовується для визначення l і c .

В тому випадку, якщо симетрія структури не так яскраво виражена, аналіз вимірюваних міжплощинних відстаней з ціллю визначення структури зразка проводиться або узагальнюється методом розшифровки, запропонованим БрНПО порошкової металургії [60], або за допомогою покажчика Американської організації матеріалів ASTM [63].

Вимоги до ідентифікації кільцевих мікроелектронограм від напівкристалічних ділянок. Якщо немає сумнівів в тому, що кільця на електронограмі належать множині кристалів від одної фази, тобто немає точкових або других побічних рефлексів, то для ідентифікації фази і електронограми потрібно:

- вирахувати міжплощинні відстані d_i із наближеного співвідношення $d_i = \lambda L / r_i$.
- знайти серед імовірних фаз таку, в решітці якої дотримується знайдена послідовність d_i .

Розшифровка електронограм на прикладі дослідження зразків композиційних матеріалів. Для розшифровки електронограм використовуються

матеріали і прилади: електронний мікроскоп ЕМ – 200, напилювальна установка ВУП – 5, тест – об’єкт Al' – плівка (електрохімічне осадження), тест – об’єкт Al'' – осадження на ВУП – 5, AlN – порошок ТУ 6 – 09 – П0 – 75 (Донецький завод хімреактивів), репліка з екстракцією, наплавляючий матеріал сплав (WC(WC₂)) з монельметалом (ТУ 4842 – 118 – 71).

Режими дослідження: прискорююча напруга – 150 кВ, струм об’єктивної лінзи – 2,1 А, струм пучка – 25 мА, апертурна діафрагма – введена, проекційна і проміжна лінза – виключені, довжина хвилі електрону – 0,0031 нм.

Визначення постійної приладу. На рис.3.36 приведена електронограма тест – об’єкта Al', отримана на ЕМ – 200. Для визначення міжплощинних відстаней використовуємо формулу:
 $d = C/R_i$, де C – постійна приладу.

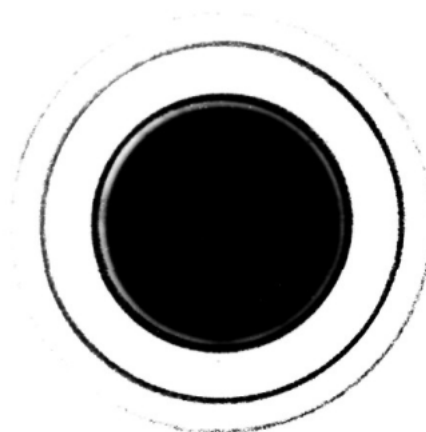


Рис.3.36. Електронограма від тест – об’єкта Al' – плівка, (електрохімічне осадження), $C_{\text{ср}} = 28,97$ (інвертоване зображення)

По тест – об’єкту (алюміній) вираховуємо C . Для цього знаходимо добуток: $dR_i = C$, де d – знайдена по таблиці міжплощинна відстань для алюмінію, R_i – радіуси кілець дифракції електронів на електронограмі.

Табл.3.7. Кристалографічні характеристики

№	d_{hkl}	R_i	$C = dR_i$
1.	2,33	13,8	32,15
2.	2,02	15,3	30,9
3.	1,43	16,8	25,02
4.	1,219	23,6	28,8

Розшифровка електронограми об’єкту на основі Al''. Вимірюємо R_i для електронограми об’єкта Al'', осадженого на ВУП – 5 (рис.3.37).

$$d_1 = \frac{\tilde{n}}{R_1} = \frac{28,97}{14,3} = 2,026;$$

$$d_2 = \frac{c}{R_2} = \frac{28,97}{20,8} = 1,392;$$

$$d_3 = \frac{c}{R_3} = \frac{28,93}{28,6} = 1,012; \quad d_4 = \frac{c}{R_4} = \frac{28,97}{35,5} = 0,816$$

Табл.3.8. Кристалографічні характеристики (Al")

(мм)	розраховане	табличне	
14,3	2,026	2,02	211
20,8	1,392	1,43	220
28,6	1,012	1,01	400
35,5	0,816	0,826	430

По таблицям ASTM знаходимо схожий набір міжплощинних відстаней ($d_{\text{табл.}}$), визначаємо, якому елементу вони відповідають. В нашому випадку це – Al". Для визначення $h k l$ по таблиці кристалічних структур визначаємо кристалічну структуру (Al" – кубічна) і виписуємо період ґратки $a = 4,0496$.

Використовуючи формулу для визначення міжплощинних відстаней кристалографічної системи (в нашому випадку – кубічної) визначаємо величину $(h^2 + k^2 + l^2)$:

$$(h^2 + k^2 + l^2) = \frac{a^2}{d^2};$$

$$(h_1^2 + k_1^2 + l_1^2) = \frac{(4,0496)^2}{(2,026)^2} = 3$$

$$(h_2^2 + k_2^2 + l_2^2) = \frac{(4,0496)^2}{(1,392)^2} = 8$$

$$(h_3^2 + k_3^2 + l_3^2) = \frac{(4,0496)^2}{(1,012)^2} = 16$$

$$(h_4^2 + k_4^2 + l_4^2) = \frac{(4,0496)^2}{(0,816)^2} = 25$$

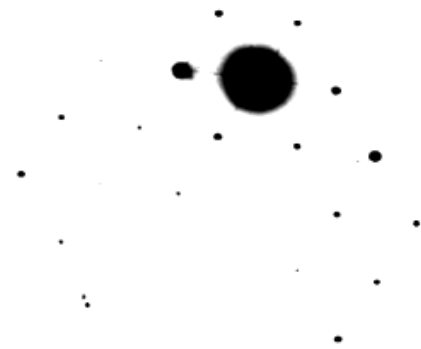


Рис.3.37. Оптичні дифрактограми від електронних зображень AlN (інвертоване зображення)

Визначаємо множину чисел, до якого можуть належати значення $h\ k\ l$:

$$h_1\ k_1\ l_1 - \{2, 1, 1\}, \text{ тобто } (211), (121), (112)$$

$$h_2\ k_2\ l_2 - \{2, 2, 0\}, \text{ тобто } (220), (202), (022)$$

$$h_3\ k_3\ l_3 - \{4, 0, 0\}, \text{ тобто } (400), (040), (004)$$

$$h_4\ k_4\ l_4 - \{4, 3, 0\}, \text{ тобто } (430), (043), (304), (403)$$

і заносимо в таблицю довільний із отриманих наборів.

Розшифровка електронограми (припустимо AlN). Розшифровку проводимо по даній методиці. Припускається, що досліджувався об'єкт на основі AlN. Постійна приладу: $C = 23,12$.

Табл.3.9. Кристалографічні характеристики

R_i	$d_{\text{розрах.}}$	$d_{\text{табл.}}$	$h\ k\ l$
8,4	2,688	2,694	010
13,5	1,713	1,714	110
19,6	1,1795	1,189	013

$$d = \frac{\tilde{n}}{R_2} = \frac{23,12}{13,5} = 1,713;$$

$$d = \frac{\tilde{n}}{R_3} = \frac{23,12}{19,6} = 1,1795$$

По таблиці ASTM [63] знаходимо AlN і перевіряємо наявність розрахованих міжплощинних відстаней $d_{\text{розрах.}}$. Такі значення в таблиці присутні. Визначаємо індекси Міллера для гексагональної структури. Періоди гратки AlN: $a = 3,110$, $C = 4,975$.

Тепер вибираємо ті міжплощинні відстані, для яких переважає відношення величини $1/d^2$ рівне 3:1. В нашому випадку це d_1 і d_2 .

$$1/d_1^2 = 0,1384; 1/d_2^2 = 0,34078; 1/d_1^2 : 1/d_2^2 = 3:1$$

Ці міжплощинні відстані відповідають рефлексам $\{h\ k\ l\}$, тобто $l = 0$.

Значить, рівняння $\frac{1}{d^2} = \frac{4}{3} \cdot \frac{h^2 + hk + k^2}{a^2} + \frac{l^2}{c^2}$ прийме вид $\frac{1}{d^2} = \frac{4}{3} \cdot \frac{h^2 + hk + k^2}{a^2}$

Із даного рівняння визначаємо h і k .

$$\frac{1}{d_1^2} = \frac{1}{(2,688)^2} = \frac{4}{3} \cdot \frac{(h_1^2 + h_1k_1 + k_1^2)}{(3,11)^2} \Rightarrow h_1^2 + h_1k_1 + k_1^2 = \frac{3 \cdot (3,11)^2}{4 \cdot (2,688)^2} \approx 1$$

$$h_1^2 + h_1k_1 + k_1^2 = 1 \Rightarrow h_1k_1l_1 - \{0,1,0\}$$

Як наслідок: $(h_1 \ k_1 \ l_1) = (010) \ (100)$

$$\frac{1}{d_2^2} = \frac{1}{(1,713)^2} = \frac{4}{3} \cdot \frac{(h_2^2 + h_2 k_2 + k_2^2)}{(3,11)^2} \Rightarrow h_2^2 + h_2 k_2 + k_2^2 = \frac{3 \cdot (3,11)^2}{4 \cdot (1,713)^2} \approx 3$$

$$h_2^2 + h_2 k_2 + k_2^2 = 3 \Rightarrow h_2^2 k_2 l_2 = \{1,1,0\}$$

$$(h_2 k_2 l_2) = (110)$$

Інші міжплощинні відстані відповідають рефлексам $\{h \ k \ l\}$ і використовуються для визначення l :

$$\frac{1}{d_3^2} = \frac{1}{(1,1795)^2} = \frac{4}{3} \cdot \frac{1}{(3,11)^2} + \frac{l^2}{(4,975)^2} \Rightarrow l^2 = 14,3 \Rightarrow l = 3$$

Індекси Міллера для d_3 будуть (013) .

Вдосконалення електронної мікроскопії з метою збільшення об'єму отримуваної інформації, що проводилося упродовж багатьох років, продовжиться і надалі, а поліпшення параметрів приладів, і, передусім підвищення роздільної здатності, залишається головним завданням перед інженерами-розробниками техніки електронної мікроскопії.

Розроблені апаратно-програмні комплекси вже зараз дозволяють запам'ятовувати зображення, коригувати їх контраст; розширювати діапазон яскравості шляхом введення умовних кольорів; усувати шуми; підкреслювати межі мікроділянок, виділяти деталі мікроструктури в заданому діапазоні розмірів і оптичної щільності; проводити статистичну обробку зображень і будувати гістограми розподілу мікрочасток по розмірах, формі і орієнтації; реконструювати об'ємні зображення структури композиційних матеріалів й інших об'єктів по мікрофотографіях серійних зрізів; реконструювати об'ємні зображення мікрорельєфу та будувати профілограми перерізів; розраховувати локальні мікроконцентрації елементів за елементно-селективними зображеннями і спектрами; визначати параметри кристалічних решіток за електронограмами тощо. Вбудовані в ТЕМ та РЕМ процесори дозволяють гнучко управляти мікроскопами, значно знижують електронно-променеве ушкодження зразків, підвищують достовірність і відтворюваність результатів аналізу мікроструктури, чим істотно полегшують працю дослідників.

Розділ 4 МЕТОДОЛОГІЯ РЕНТГЕНІВСЬКОЇ МІКРОСКОПІЇ

4.1 Поняття рентгенівського мікроскопу та його види

Рентгенівський мікроскоп – пристрій для дослідження дуже малих об'єктів, розміри яких порівнянні з довжиною рентгенівської хвилі. Принцип його дії полягає у використанні електромагнітного випромінювання з довжиною хвилі від 0,01 до 1 нанометра.

Рентгенівські мікроскопи по роздільній здатності знаходяться між електронними та оптичними мікроскопами. Теоретична роздільна здатність рентгенівського мікроскопа досягає 2-20 нанометрів, що на два порядки більше роздільної здатності оптичного мікроскопа (до 20 мікрометрів). Нині існують рентгенівські мікроскопи з роздільною здатністю близько 5 нм [64].

Розробка рентгенівських мікроскопів зв'язана з рядом серйозних труднощів. Рентгенівські промені практично неможливо фокусувати звичайними лінзами. Річ у тому, що показник заломлення рентгенівських променів в різних прозорих для них середовищах приблизно однаковий і дуже мало відрізняється від одиниці (відхилення показника заломлення від одиниці складають приблизно 10^{-4} - 10^{-5}). Для порівняння, показник заломлення видимого світла у воді при 20 °C приблизно дорівнює 1,33. Рентгенівські промені також не відхиляються електричними і магнітним полям, що не дозволяє використовувати для їх фокусування електричні або магнітні лінзи. Проте, в сучасній рентгенівській оптиці останнім часом з'явилися і вже знайшли велике застосування лінзи, які діють на основі ефекту зворотного променезаломлення (основана на відмінності коефіцієнтів заломлення в конденсованій речовині по відношенню до повітря). Функцію лінзи виконує лінзоподібна порожнина усередині матеріалу, що дістали назву лінзи Снігірьова [65].

Рентгенівські промені безпосередньо не сприймаються людським оком. По цьому для спостереження і фіксації результатів доводиться застосовувати технічні засоби (фототехніку або електронно-оптичні перетворювачі).

Види рентгенівських мікроскопів. Існують два типи рентгенівських мікроскопів - віддзеркалюючі і проекційні. У віддзеркалюючих мікроскопах використовується явище заломлення рентгенівських променів при ковзаючому падінні. Проекційні мікроскопи використовують високу проникаючу здатність рентгенівських променів. У них об'єкт, що вивчається, поміщається перед джерелом випромінювання де просвічується рентгенівськими променями. Завдяки тому, що коефіцієнт поглинання рентгенівських променів залежить від розмірів атомів, через які вони проходять, такий метод дозволяє отримувати інформацію не лише про структуру, але і про хімічний склад об'єкту, що вивчається.

Проекційні рентгенівські мікроскопи є камерою, в протилежних кінцях якої розташовуються джерело випромінювання і реєструвальний пристрій. Для отримання чіткого зображення необхідно, щоб кутова апертура джерела була якомога меншою.

Збільшення (М) оді рентгенівської проекційної мікроскопії визначається відношенням відстаней від джерела рентгенівського випромінювання до детектора (b) до відстані від джерела до об'єкту (a):

$$M = b / a.$$

У мікроскопах такого типу до недавнього часу не використовувалися додаткові оптичні прилади. Основним способом отримати максимальне збільшення є розміщення об'єкту на мінімально можливій відстані від джерела рентгенівського випромінювання. Для цього фокус трубки розташовується безпосередньо на вікні рентгенівської трубки або на вершині голки анода, поміщеної поблизу вікна трубки. Останнім часом ведуться розробки мікроскопів, використовуючи зонні пластинки Френеля для фокусування зображення. Такі мікроскопи мають роздільну здатність до 30 нанометрів.

У *віддзеркалюючих мікроскопах* використовуються прийоми, що дозволяють добитися максимального збільшення, завдяки чому лінійна роздільна здатність проекційних рентгенівських мікроскопів досягає 0,1-0,5 мкм. В якості лінз в них використовується система дзеркал. Зображення,

що створюються віддзеркалюючими рентгенівськими мікроскопами навіть при точному виконанні профілю їх дзеркал спотворюються різними абераціями оптичних систем, наприклад, комами.

Для фокусування рентгенівського випромінювання застосовуються також зігнуті монокристали. Але при цьому на якість зображення позначаються структурна недосконалість монокристалів, а також кінцева величина брегівських кутів дифракції.

Віддзеркалюючі рентгенівські мікроскопи не отримали широкого поширення із-за технічних складнощів їх виготовлення і експлуатації.

Сфера застосування. Проекційні мікроскопи отримали широке застосування в різних сферах науки, включаючи медицину, мінералогію, металознавство.

За допомогою рентгенівського проекційного мікроскопа можна: оцінити якість тонких покриттів, отримати мікрорентгенографії біологічних і ботанічних зрізів завтовшки до 200 мкм, аналізувати суміші порошків легких і важких металів, при вивченні внутрішньої будови об'єктів, непрозорих для світлових променів і електронів.

Важливою перевагою рентгенівських мікроскопів є те, що за їх допомоги можна спостерігати непрепаровані живі клітини.

Оскільки усі сучасні рентгенівські мікроскопи побудовані за схемами та принципами електронних мікроскопів, які доповнюються блоками для проведення рентгеноспектрального мікроаналізу, в даному розділі не будемо зупинятися на будові та принципі дії цих мікроскопів, а розглянемо лише особливості мікроскопічних досліджень з використанням методик рентгенівської мікроскопії.

Рентгеноспектральний мікроаналіз (РСМА) з електронним зондом (електронний мікрозондовий аналіз) є методом хімічного аналізу невеликої області твердотілого зразка, в якій сфокусованим пучком електронів збуджується рентгенівське випромінювання. Термін «електронно-зондовий мікроаналіз», або ЕЗМА, є синонімом до РСМА. Рентгенівський спектр містить

характеристичні лінії елементів, що присутні в зразку, тому якісний аналіз легко проводиться ідентифікацією ліній по довжинах хвиль (чи по енергіях фотонів). Порівняння інтенсивності ліній зразка з інтенсивністю тих же ліній в стандарті (чистий елемент або з'єднання відомого складу) дозволяє кількісно визначити вміст елементів. Точність визначення досягає 1% (відносна доля), а границя визначення досягає десятків ppt (0,00п%, масова доля, 1 ppt = $10^{-4}\%$). За нормальних умов просторова роздільна здатність обмежена приблизно 1 мкм із-за розсіяння електронів в зразку. Просторовий розподіл окремих елементів може бути записаний у вигляді лінійних профілів або двовимірних «карт», які зазвичай представляються у вигляді «неправдивої» колірної шкали для відображення вмісту елементів.

4.2. Характеристичні рентгенівські спектри мікроскопів

Бомбардування твердого тіла електронами призводить до збудження рентгенівського випромінювання за допомогою двох незалежних механізмів. Гладкий «безперервний» спектр утворюється взаємодією електронів з атомними ядрами, тоді як «характеристичний» спектр містить лінії, які виникають в результаті електронних переходів між енергетичними рівнями, індивідуальними для кожного елементу.

Характеристичне рентгенівське випромінювання є результатом електронних переходів на внутрішніх рівнях атома між сусідніми електронними орбітами, енергії яких визначаються головним квантовим числом n . Внутрішні орбіти у вигляді замкнутих оболонок називаються К ($n = 1$), L ($n = 2$), М ($n = 3$) і т.д. в порядку видалення від ядра і зниження енергії (рис.4.1). Окрім атомів елементів з низькими атомними номерами, ці оболонки у

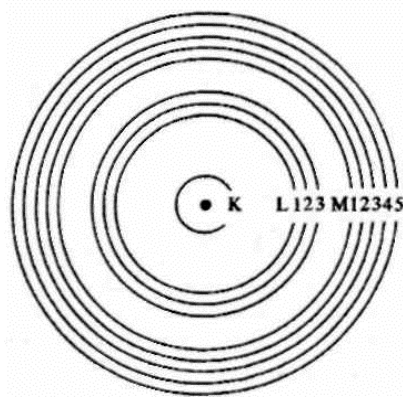


Рис.4.1. Схематична діаграма внутрішніх атомних електронних оболонок; характеристичне рентгенівське випромінювання утворюється при переходах між цими оболонками

нормальному стані повністю заповнені і атом має форму, коли «ядро» оточене зовнішніми електронами. Число електронів в оболонках визначається іншими квантовими числами, що відносяться до кутових моментів: К-оболонка містить максимум 2, L оболонка - 8, М оболонка - 18 електронів і т.д. L, М і більш високі оболонки розщеплюються на підоболонки з різними квантовими конфігураціями, внаслідок чого вони мають злегка різні енергії. L оболонка містить 3 підоболонки (L_1 , L_2 і L_3), М оболонка — 5 підоболонок. Зі збільшенням атомного номера відповідні орбіти заповнюються послідовно: ті, які розташовуються ближче до ядра (з найвищими енергіями зв'язку), заповнюються в першу чергу.

Безперервний рентгенівський спектр. Коли прискорений електрон проходить через сильне електричне поле поблизу атомного ядра, він може вчинити квантовий стрибок в нижчий енергетичний стан; при цьому випускається рентгенівський фотон з енергією від 0 до первинної енергії електрона.

Головною особливістю результуючого безперервного рентгенівського спектру є те, що він обмежує реєстрацію характеристичних ліній елементів при низькому вмісті.

Інтенсивність I безперервного спектру може бути представлена наступним виразом (закон Крамерса) :

$$I = \text{const} \cdot Z \cdot \frac{E_0 - E}{E},$$

де E - енергія рентгенівського фотона, Z - атомний номер (середній атомний номер у разі зразка складного складу). Згідно вищенаведеному виразу, форма спектру (інтенсивність залежно від енергії) має одну і ту ж форму для усіх елементів, тоді як інтенсивність його пропорційна Z . Вона падає до нуля на «границі Дуана-Ханта», коли енергія рентгенівського кванта дорівнює E_q і швидко зростає з падінням енергії. У спостережуваних спектрах інтенсивність різко спадає при дуже низьких енергіях, тому що відбувається сильне поглинання у вікні детектора і самому зразку (рис.4.2).

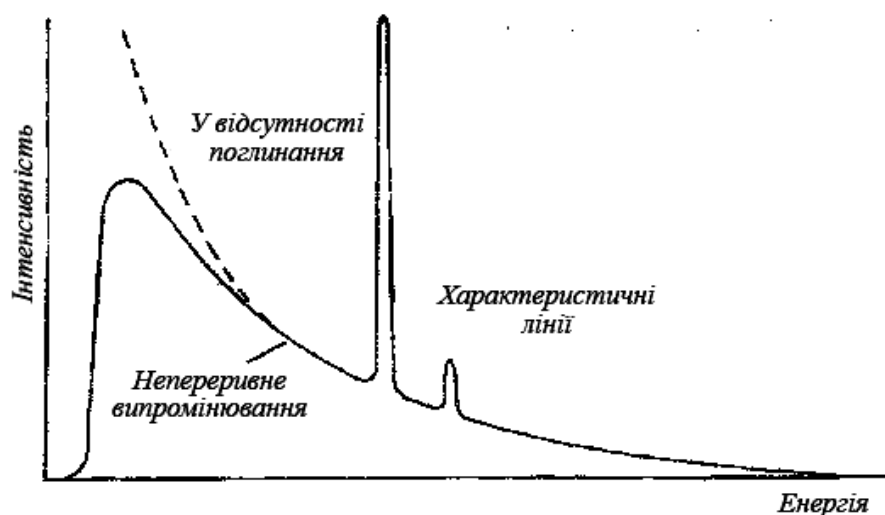


Рис.4.2. Рентгенівський спектр, побудований залежно від енергії фотона, що показує характеристичні лінії на тлі безперервного рентгенівського спектру, збудженого падаючими електронами з урахуванням непружних взаємодій з ядрами атомів

Необхідною умовою для генерації характеристичного рентгенівського фотона є видалення внутрішнього електрона, що залишає атом в іонізованому стані. Для збудження характеристичної рентгенівської лінії енергія електрона, що падає, E_0 , повинна перевищувати «критичну енергію збудження» (E_c), необхідну для іонізації відповідної оболонки елементу, яка пропорційна приблизно Z^2 . Вірогідність іонізації може виражатися як «переріз іонізації» (Q), яка мала поблизу E_c і зростає до максимуму приблизно при 2 еВ, а потім повільно знижується (рис.4.3).

З цього виходить, що E_q повинна значно перевищувати 1 еВ, щоб інтенсивність емісії характеристичного рентгенівського випромінювання була досить високою.

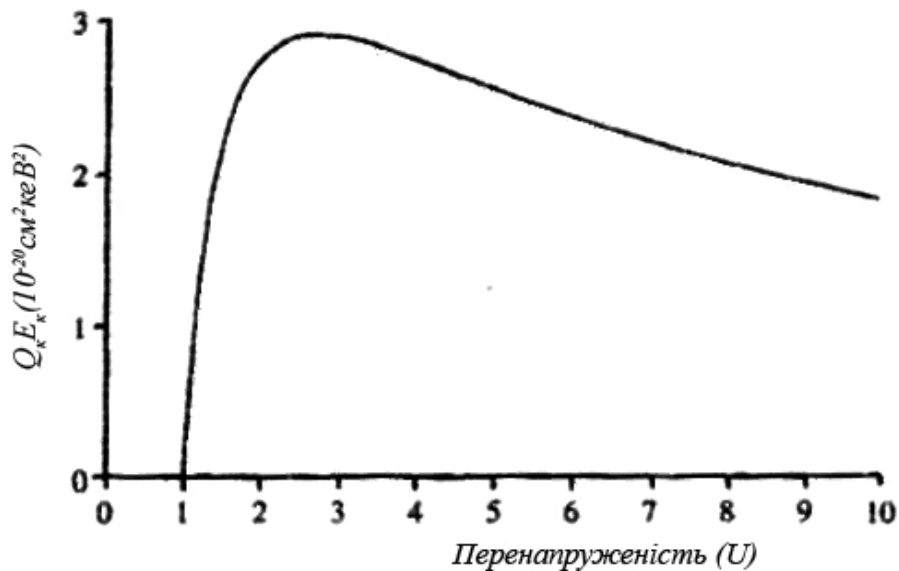


Рис.4.3. Переріз іонізації оболонки атома (Q_K), що залежить від перенапруження $U = E_q/E_K$, де E_q енергія електрона, що падає; Q_K представляє вірогідність видалення К-електрона, яка є необхідною умовою для емісії рентгенівської К-лінії

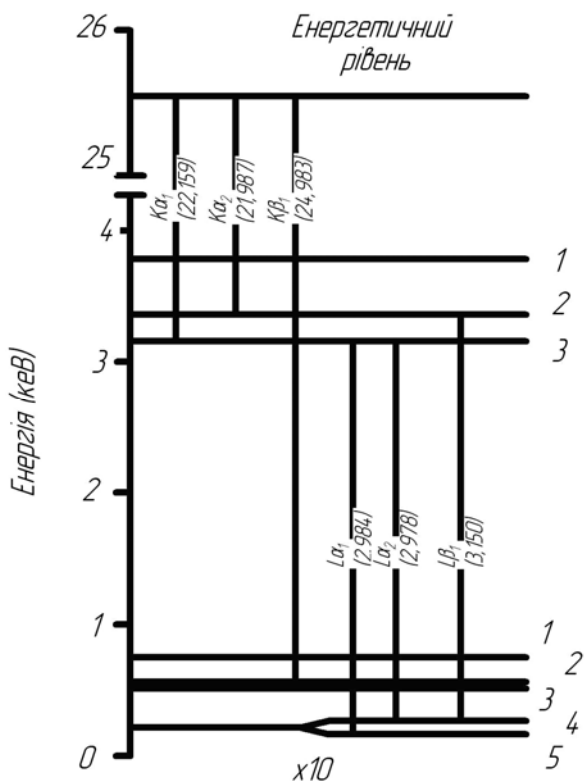


Рис.4.4. Діаграма енергетичних рівнів для срібла ($Z = 47$). Енергії характеристичних рентгенівських ліній (дані в кєВ) дорівнюють різниці енергії між рівнями, що беруть участь в переходах

Енергії відповідних рівнів можуть бути представлені діаграмою, такою, як на рис.4.4; енергія рентгенівського фотона дорівнює різниці між енергіями первинного і кінцевого рівнів дозволених переходів. Можуть відбуватися тільки ті переходи, які дозволені квантовою теорією: найбільш значимі з них показані на рис.4.4.

Лінії, позначені К, L, і так далі, згідно з їх оболонками містять первинні вакансії. Усередині цієї оболонки лінії групуються за інтенсивністю, найбільш інтенсивні позначаються α , наступна (по мірі зменшення) група β , а усередині

кожної групи лінії нумеруються по мірі зменшення інтенсивності (приблизно). Типовий спектр представлений на рис.4.5 (слід зазначити, що а, b, d часто використовуються замість α , β та γ на екрані монітора комп'ютера і при друці).

Для елементів з атомними номерами вище 30 використовуються $L\alpha$ лінії (чи $M\alpha$ лінії для найважчих елементів). Інші, слабкіші лінії, рідко використовуються для аналізу, проте у разі дуже сильних накладенні ліній,

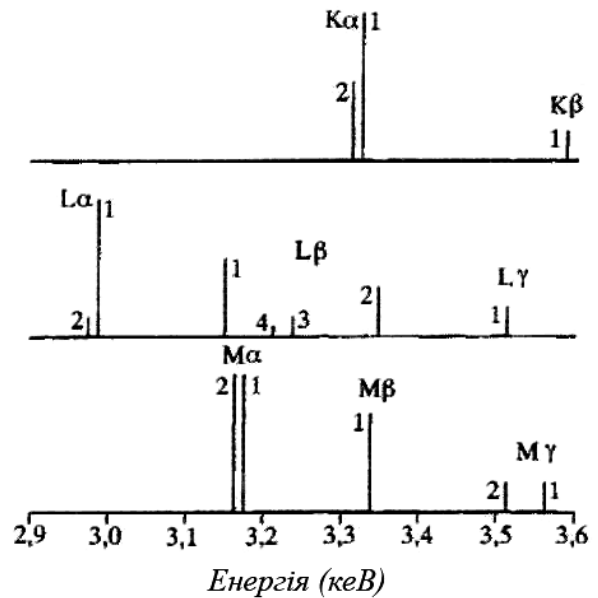


Рис.4.5. Типові приклади характеристичних рентгенівських спектрів (показані тільки основні лінії) : а) K – спектр калію ($Z = 19$); б) L – спектр срібла ($Z = 47$); с) M – спектр урану ($Z = 92$).

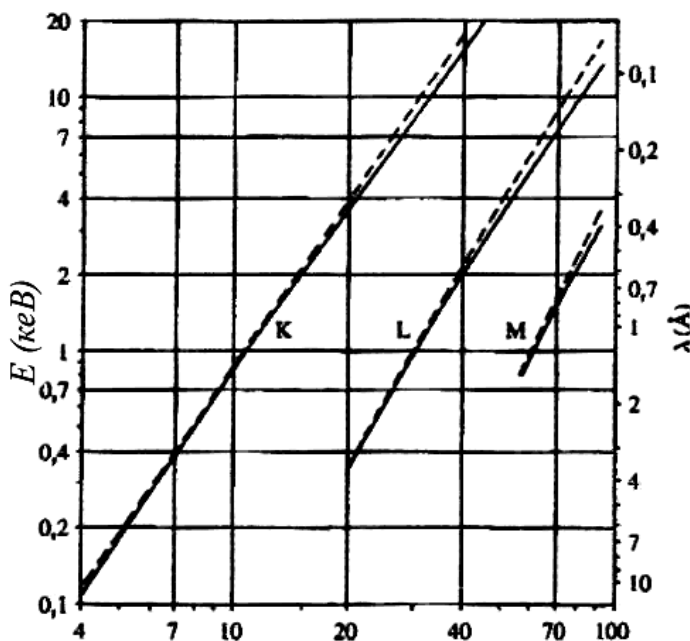


Рис.4.6. Енергії (E) і довжини хвилі (λ) $K\alpha$, $L\alpha$, $M\alpha$ ліній (суцільні лінії) і енергії їх збудження (пунктирні лінії) залежно від атомного номера (Z)

що заважають, ними не можна нехтувати. Відносні інтенсивності цих ліній залежать від числа електронів, що займають цей енергетичний рівень, і є досить постійними.

Енергія цього рівня змінюється майже прямо пропорційно квадрату атомного номера випромінюючого елементу (закон Мозлі). Залежність енергій і довжин хвиль $K\alpha$, $L\alpha$, $M\alpha$ рентгенівських ліній від Z представлені на рис.4.6.

Для аналізу найчастіше використовуються лінії з енергіями до 10 кеВ.

Здебільшого, відносні інтенсивності і відстані між відповідними рентгенівськими лініями близькі для різних елементів, без урахування зміщення, як функції атомного номера. Проте відбувається істотна зміна форми спектру і взаємного положення ліній в L і M-спектрах елементів з номерами нижче приблизно 26 і 65, відповідно, із-за неповного заповнення відповідних оболонок. Як наслідок, число ліній зменшується, а відносна інтенсивність ліній також знижується (лінія $M\alpha$ повністю зникає).

Поглинання в тонких шарах визначається виразом: $I = I_0 \cdot e^{-\mu \cdot \rho \cdot x}$, де I_0 — інтенсивність первинного випромінювання, I — інтенсивність після поглинання, μ — масовий коефіцієнт послаблення ($\text{см}^2 \cdot \text{г}^{-1}$), ρ — щільність ($\text{г} \cdot \text{см}^{-3}$), x — довжина шляху (см). Значення μ змінюються в широкому діапазоні, маючи значення нижче 100 для рентгенівських ліній високих енергій і поглиначів з низькими атомними номерами і понад 10 TeV для рентгенівських променів низьких енергій і поглиначів з високими атомними номерами. У останньому випадку поглинаючий шар може мати товщину менше 1 мкм.

Переважаючим механізмом поглинання рентгенівського випромінювання є випускання електрона з внутрішньої оболонки. На графіці залежності від

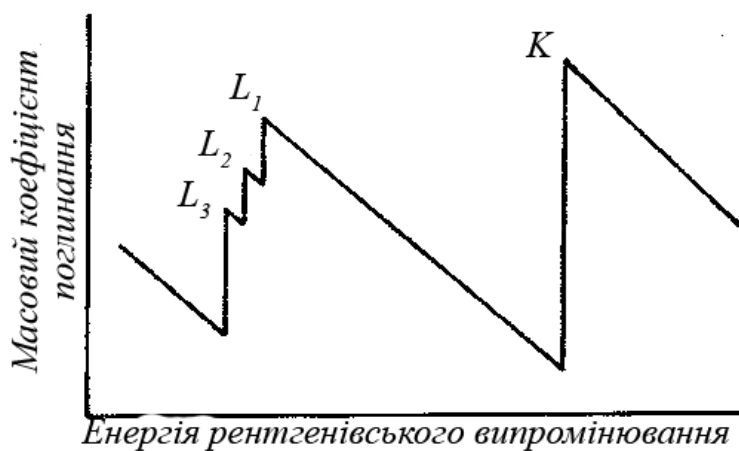


Рис.4.7. Схематичне представлення зміни масового коефіцієнта поглинання як функції енергії

енергії рентгенівського випромінювання переривання на кривій («краї поглинання») мають місце при енергіях, що відповідають критичним енергіям збудження різних оболонок поглинаючого елементу (рис.4.7). Нижче такого краю енергії рентгенівського

випромінювання недостатня, щоб іонізувати відповідну оболонку.

Оже-ефект і вихід флуоресценції. Збудження знімається, коли атом з іонізованою внутрішньою оболонкою повертається в нормальний стан за рахунок переходу електрона із зовнішнього рівня; замість рентгенівського фотона може бути випущений інший зовнішній електрон з енергією рентгенівського фотона («Оже-ефект»). Головне значення його полягає у впливі на інтенсивність рентгенівського випромінювання, але на цьому явищі оснований «Оже-аналіз». Вихід флуоресценції (для К-оболонки) є вірогідністю переходу атома зі збудженого стану з випроміненням рентгенівського фотона, а не Оже-електрона. Зі збільшенням атомного номера (Z) ця величина швидко зростає (рис.4.8), що компенсує падіння перерізу іонізації (Q_K) з ростом Z , як вже відмічалось раніше. Виходи флуоресценції інших оболонок поводяться аналогічно.

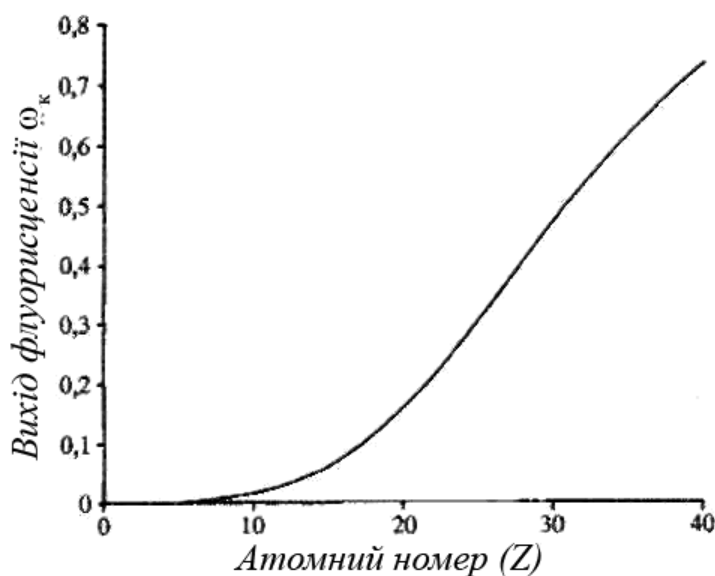


Рис.4.8. Залежність виходу флуоресценції від атомного номера для К-оболонки, який є вірогідністю зняття іонізації характеристичною рентгенівською емісією

4.3 Особливості мікроскопічних досліджень з використанням методик рентгенівської мікроскопії

4.3.1 Кількісний аналіз з використанням кристал-дифракційних спектрометрів

Електронний мікрозонд — це спеціалізований прилад для кількісного аналізу, при якому зазвичай використовуються хвиледисперсні (ХД) спектрометри. РЕМ, обладнаний ХД спектрометром менш придатний для цієї мети. Ширше поширені РЕМ, що мають тільки ХД спектрометр, який може використовуватися для кількісного аналізу з деякими обмеженнями.

При використанні ХД спектрометрів обираються відповідні кристали для кожної лінії і підбираються параметри амплітудного аналізатора імпульсів. Виміряні інтенсивності мають бути виправлені з урахуванням мертвого часу. Струм зонду повинен обиратися так, щоб не перевищити швидкості обліку $5 \cdot 10^4$ імпл/с, що може привести до зниження амплітуди вихідного імпульсу і надмірно великої поправки на мертвий час. При визначенні кількостей елементів вимагається використати найвищий струм; надмірній швидкості рахунку на стандартах можна уникнути, використовуючи менший струм і пропорційно перераховуючи інтенсивність.

Спектрометр може бути точно налаштований на пік на стандартному зразку за допомогою процедури «пошук піку». Як правило, її не треба повторювати у разі виконання серії вимірів, якщо тільки вони не тривають багато годин. Площина поверхні зразка завжди має бути точно установлена, щоб забезпечити підтримку постійною величини брегівського кута; при використанні вертикальних спектрометрів це може бути виконано за допомогою підстроювання висоти зразка, отримуючи різке зображення в оптичному мікроскопі. Растрові електронні мікроскопи зазвичай не обладналися таким мікроскопом, але на них встановлюються похилі ХД спектрометри, що дещо знижує вплив неточної установки зразка по вертикалі.

Дуже важливо, щоб струм пучка не змінювався в процесі вимірів інтенсивності на зразку і стандарті. Дрейф струму не істотний в приладі із стабілізацією струму зонду, але в цілях додаткової гарантії струм повинен контролюватися перед кожним виміром, а інтенсивність рентгенівського випромінювання нормуватися. За відсутності циліндра Фарадея дрейф може бути виявлений шляхом порівняння результатів вторинних вимірів інтенсивності на стандарті.

Інтенсивність рентгенівського випромінювання сильно залежить від енергії пучка електронів, що падає, E_q , яка визначається прискорюючою напругою електронів. Ефективне значення E_q може зменшуватися в результаті заряду поверхні у разі непровідного зразка з недостатнім напиленням, що приведе до падіння інтенсивності і, як наслідок, поганого результату аналізу. Цей ефект спостерігається в непереривчастому рентгенівському спектрі як найнижче значення на верхньої границі Дуана-Ханта. Заряд поверхні також може діагностуватися по нестабільності зображень у вторинних електронах або зниженню і нестабільності показань вимірів поглиненого струму. Щоб кількісний аналіз був правильним, такі ефекти мають бути усунені повторним напиленням або використанням фарби, що проводить, щоб забезпечити високий контакт між зразком і утримувачем зразка.

Зазвичай вважається, що положення піку одне і те ж на зразку і стандарті. Можуть відбуватися невеликі зрушення піку, пов'язані з впливом хімічного зв'язку, але це зміщення можна виключити, вибравши стандарт відповідного складу (наприклад, Al_2O_3 для Al в силікатах переважніше чистого металу). Вплив хімічного зв'язку ще більше видно на «легких» елементах з атомним номером нижче 10, які вимагають спеціальних процедур вимірів. Невеликі зрушення піку, пов'язані з впливом хімічного зв'язку або іншими причинами (наприклад, зміною висоти зразка), можуть бути враховані та скоректовані при реєстрації інтенсивності в двох позиціях, по одній з кожного боку піку або при проходженні через пік в декількох рівновіддалених точках.

Облік накладень ліній, що заважають. Іноді окрім фонової корекції потрібно виправлення інтенсивності піку або фону (чи одночасно того й іншого) з урахуванням «накладення лінії», що заважає. Необхідні чинники накладення можуть бути визначені заздалегідь: якщо неправдивий вміст в зразку А для елементу Х, що отримується на чистому стандарті С, то накладення, що заважає, в «невідомому» зразку можна визначити, помноживши вміст С на $A/100$ і віднімаючи отриманий результат із вмісту Х. Накладення, що заважає, може бути по знаку і негативним, і позитивним, залежно від того, на інтенсивність піку або фону відбувається накладення.

Кількісний аналіз з використанням енерго-дисперсійних спектрометрів.

Хоча ХД спектрометри для кількісного аналізу використовуються ширше, нижче обговорюються переваги енерго-дисперсійного (ЕД) спектрометра. Більшість РЕМ обладнані саме цим типом спектрометра. Особливості ті ж, що описані вище, але існують і значні відмінності.

Облік фону в ЕД аналізі. Фон в ЕД має важливіше значення, ніж у ХД аналізі, оскільки відношення пік/фон істотно гірший. Фон може вимірюватися підсумовуванням імпульсів не в одному, а в декількох каналах у вільній від піків ділянці. Замість лінійної інтерполяції фоновому сигналу (яка менше застосовна в ЕД спектрі, чим у ХД спектрі із-за ширшого діапазону) краще наближення для безперервного спектру дає вираз Крамерса, в якому додаткові чинники враховують поглинання в зразку, вікні детектора тощо. Це добре помітно при апроксимації фону, представленого на рис.4.9.

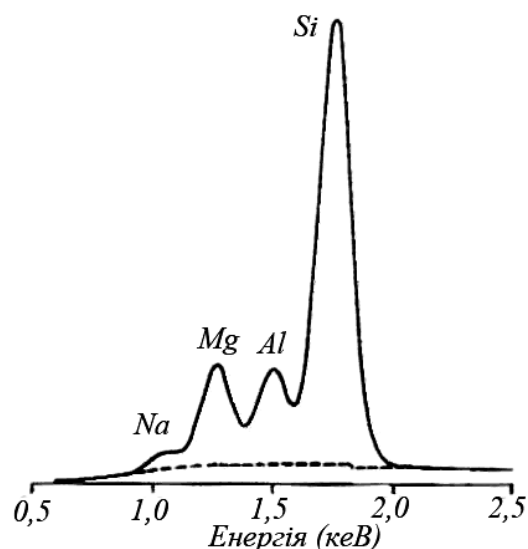


Рис.4.9. Виділення фону моделюванням безперервного спектру (пунктирна крива): інтенсивність під піками, отримана інтерполяцією від ділянок спектру без піків з використанням виразу для безперервного спектру

Альтернативно, фон може бути видалений фільтруванням, що використовує «топ-хет» фільтр зі значенням +1 в центральній зоні та -1 в «крилах». Фільтр послідовно крокує від каналу до каналу по усьому спектру і розраховує сумарний продукт фільтрації і утримування каналів. На виході функції, там, де немає піків, виходить нуль, таким чином, фон віддаляється. Така процедура особливо корисна для випадків аналізу дрібних часток або неполірованих зразків, коли моделювання безперервного спектру ускладнене.

Інтенсивності вимірюваних піків в ЕД аналізі. При вимірі інтенсивності ЕД піків треба використати як можна більше число каналів з метою досягнення максимальним статистичної точності. Простим шляхом досягнення такої мети є виділення енергетичного «вікна» і підсумовування імпульсів, які містяться в кожному каналі. Оптимальна ширина вікна приблизно дорівнює напівширині піку (ПШПВ), якщо використати ширше вікно, зменшуватиметься відношення пік/фон і підвищується вірогідність накладень піків, що заважають. Альтернативою такому прийому є застосування функції Гауса для кожного піку і визначення його площі інтегруванням. Накладення враховується автоматично підбором підсумкової кращої моделі для усього спектру. Замість цього для цілей підгонки (моделювання) можна використати експериментальні спектри, отримані від стандартів. Для кожного елементу має бути змодельована частина спектру, що містить не лише а лінію, але і інші, що належать до цього ж рівня. Якщо використовується «топ-хет» фільтр для видалення фону, моделювання можна провести, використовуючи спектри і зразка і стандартів.

Зіставлення даних мікроаналізу з хвильовою і енергетичною дисперсією. Точність кількісного ЕД аналізу порівнянна з ХД аналізом, принаймні, при вмісті вище 1% за умови, що використовувалися стандарти, а не «безстандартні» процедури. Проте границя виявлення гірша (зазвичай близько 0,1%). При цьому випадки накладання ліній зустрічаються частіше через меншу роздільну здатність, хоча методи обробки спектрів, описані вище, справляються з розділенням таких накладень. Для багатьох застосувань (таких як визначення вмісту основних елементів композиційних матеріалів) кількісний

ЕД аналіз цілком задовільний і навіть має деякі переваги, включаючи простішу установку зразка і порівняно низькі струми пучка, що зводить до мінімуму руйнування таких фаз, як карбонати, польові шпати, скло, інше.

Ідеальним інструментом для обох видів аналізу є електронний мікросонд, який має ряд переваг перед РЕМ, включаючи регулювання струму пучка, вбудований оптичний мікроскоп і автоматизований столик переміщення зразка. Для ХД аналізу існують також значні переваги у вигляді декількох спектрометрів. Іноді краще комбінувати ці два методи — ЕД для основних елементів та ХД для елементів-домішок. Вимоги до чутливості ЕД при цьому знижуються, так що для ХД аналізу може використовуватися досить високий струм пучка.

Облік матричних ефектів. Облік матричних ефектів застосовується для корекції невиправленого вмісту і набуття «правильних» значень вмісту елементів, що визначаються. Поправки можуть виражатися у вигляді трьох незалежних чинників з аббревіатурою «ZAF». Оскільки усі ці чинники залежать від хімічного складу зразка, який невідомий до тих пір, поки не проведений розрахунок корекції матричних ефектів, тому використовується метод ітерацій. ZAF-фактори також потрібні для стандартів і розраховуються по їх відомому хімічному складу.

Поправка на атомний номер. Ефективність, з якою збуджується характеристичне рентгенівське випромінювання, залежить від середнього атомного номера зразка і пов'язано з двома явищами — глибиною проникнення електронів і зворотним розсіянням електронів. Глибина проникнення електронів, що падають, визначається «гальмівною здатністю» зразка, яка зменшується зі збільшенням Z . Інтенсивність генерації рентгенівського випромінювання (на одиницю змісту) залежить від маси зразка, в яку проникли електрони, і також зростатиме з ростом Z . Корекція на втрату інтенсивності рентгенівського випромінювання за рахунок зворотного розсіяння електронів пов'язана з коефіцієнтом зворотного розсіяння електронів (доля електронів, що вийшли із зразка, до числа електронів пучка), який швидко збільшується з

ростом Z . У сумарній (комбінованій) поправці на «атомний номер» ці два ефекти працюють на протигагу один одному, але з деякою перевагою на користь зворотного розсіяння електронів. Тому, коли зразок має середній атомний номер вище, ніж стандарт, поправочний чинник повинен підвищувати вміст, отриманий в нульовому наближенні (і навпаки).

Поправка на поглинання. Перш ніж вийти із зразка, рентгенівське випромінювання проходить деякий відрізок шляху в зразку. Сумарне поглинання залежить від параметру X який визначається як $\mu \cos \psi$, де μ є масовим коефіцієнтом поглинання рентгенівського випромінювання в зразку, а ψ — кут виходу випромінювання (рис.4.10).

Функція розподілу по глибині визначається як інтенсивність, генерована в тонкому шарі на глибині z по відношенню до такого ж ізольованого шару такої ж товщини і має форму, показану на рис.4.10.

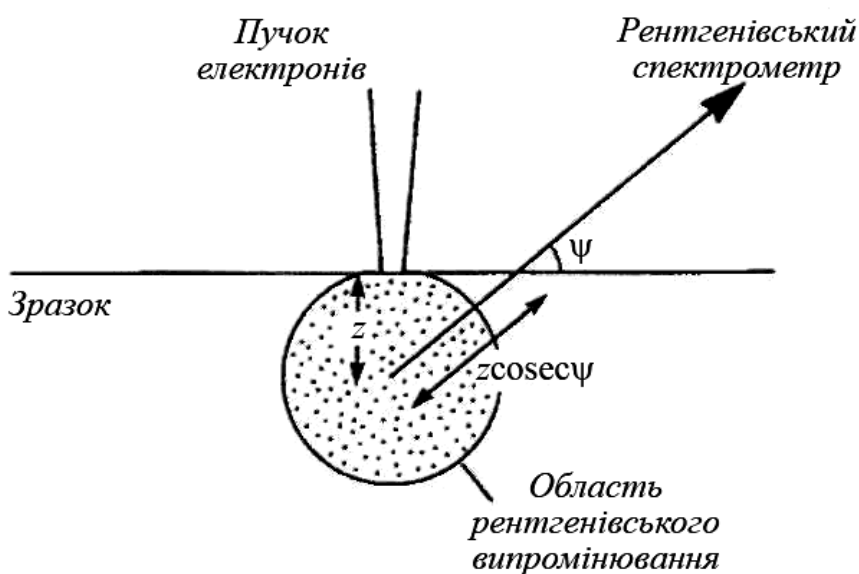


Рис.4.10. Рентгенівське випромінювання, утворене на глибині z , перед виходом проходить відстань $z \cos \psi$ (ψ — кут виходу рентгенівського випромінювання)

У методі класичної ZAF корекції така функція представляється простим і не дуже строгим виразом, яке дає задовільні результати, у випадку якщо значення чинника поглинання не нижче 0,5. Альтернативна процедура корекції основана на відносно складних, але ближчих до реального виду функцій, відомих фахівцям, як методи «фі-ро-зет». Існують деякі методи корекції, які

дають подібні, але (неідентичні) результати. Пакет програмного забезпечення 'CITZAF' (Armstrong, 1995) пропонує широкий діапазон можливостей, деякі з яких можуть в окремих випадках давати результати краще за інші.

Масові коефіцієнти поглинання мають з ростом довжини хвилі тенденцію до збільшення. У силікатах поправки для Na, Mg і Al дуже значні. Важкі елементи теж сильно поглинають. Близькість країв поглинання в окремих випадках робить істотний вплив на величину корекції.

Поправка на характеристичну флуоресценцію. Характеристичне рентгенівське випромінювання цього елемента може збуджуватися іншими рентгенівськими променями, якщо їх енергія перевищує енергію краю поглинання (збудження) цього елемента. Флуоресценція збуджується характеристичними лініями інших елементів, які задовольняють енергетичному критерію (рис.4.11). Наприклад, Fe K α -лінія (6,40 кеВ) збуджує Cr (критична енергія збудження 5,99 кеВ), але Cr K α -лінія (5,41 кеВ) не збуджує Fe (критична енергія збудження 7,11 кеВ). Тому в першому випадку поправку на флуоресценцію потрібно, а в другому — ні. Для більшості зразків поправка на характеристичну флуоресценцію абсолютно невелика.

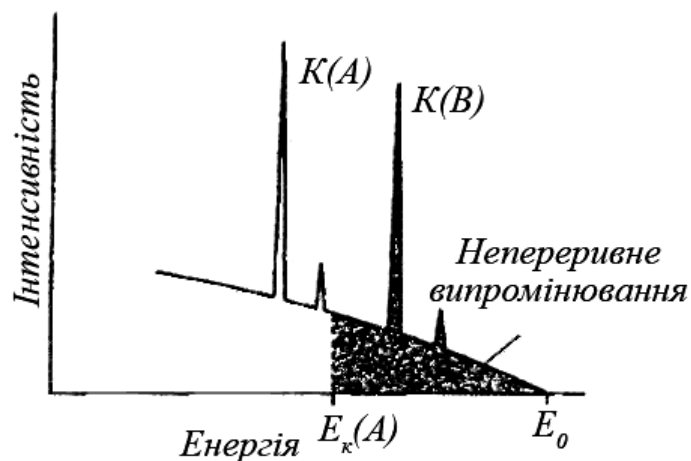


Рис.4.11. Збудження флуоресценції: рентгенівське випромінювання збуджується випромінюванням тієї частини спектру, енергія якого вища, ніж енергія збудження елементу А, тому і безперервний спектр, і характеристичне випромінювання елементу В можуть збуджувати флуоресценцію

Хоча флуоресценція, що збуджується частиною безперервного спектру, з енергією вище за енергію критичного збудження завжди має місце, вона не так інтенсивна, як характеристична і рідко перевищує 5%. Більше того, оскільки вона має місце і в зразку і стандарті, то вона повинна мати тенденцію до взаємного скорочення. В принципі, цю корекцію слід застосовувати, але у більшості програм нею нехтують.

Флуоресценція на границях зерен. Об'єм, в якому збуджується флуоресценція, значно більше того, в якому рентгенівське випромінювання генерується первинним пучком електронів, оскільки рентгенівське випромінювання має набагато більшу проникаючу здатність (в порівнянні з електронами). У поправці на флуоресценцію передбачається, що цей об'єм такий же, як первинний, тобто зразок гомогенний в усьому діапазоні вимірів. Якщо це не так, результат кількісного аналізу може бути помилковим.

Найгірша ситуація виникає, коли в аналізованому об'ємі, що збуджується електронним пучком, елемент відсутній, але в нього потрапляє рентгенівська флуоресценція з сусіднього об'єму, що містить велику кількість цього елементу. На рис.4.12 Ті в ільменіті збуджується Fe з гематиту, даючи перевищення вмісту Ті більше 1%, коли пучок знаходиться поблизу границі, і знижуючи експоненціально цей вміст при видаленні від границі.

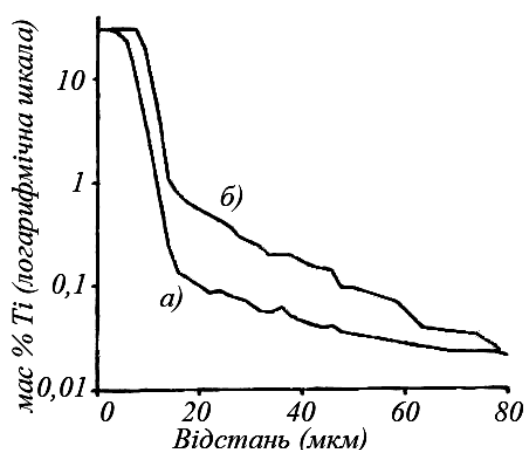


Рис.4.12. Флуоресценція на границі зерна: уявний зміст Ті як функція відстані пучка від вертикальної границі між ільменітом та: а) склою, за наявності флуоресценції, що збуджується тільки безперервним спектром; б) гематітом і Fe K-випромінюванням (прискорююча напруга 20 кВ; кут відбору рентгенівського випромінювання 75°)

Альфа коефіцієнти. Розрахунок чинників матричної корекції можна значно спростити, допускаючи, що поправочний чинник представляє вплив, який цей елемент робить на інтенсивність рентгеновського випромінювання інших елементів зразка. Підсумовування робиться по усіх елементах аналізованого зразка. Визначення альфа-коефіцієнтів може робитися для різних умов, але зараз більшість аналітиків віддають перевагу методам фундаментальних параметрів, оснований на фізичних моделях, таких, як описані вище.

Точність обліку матричних ефектів. Якщо використовуються стандарти близькі за складом аналізованому зразку, величина матричної корекції невелика, і невизначеність її можна нехтувати. Проте на практиці ця умова часто не спостерігається із-за труднощів у пошуках відповідних стандартів, а в деяких випадках величина матричної корекції може бути дуже велика. Невизначеності в поправці на поглинання (зазвичай найбільші) можуть бути мінімізовані вибором невисокої прискорюючої напруги.

Матрична корекція чутлива до енергії електронів, що падають, (E_0) визначається прискорюючою напругою, і його значення, використовуване в розрахунках, має бути точним, бажано з похибкою не більше $\pm 0,1$ кеВ. Простий шлях уточнення його дійсного значення — це перевірка границі Дуана-Ханта у безперервному рентгеновському спектрі.

За умови, що сильне поглинання виключається, похибки, зумовлені матричними ефектами, зазвичай менше $\pm 2\%$. У деяких РЕМ для рентгеноспектрального аналізу зразки мають бути розташовані похило: навіть при відповідним чином модифікованій корекції існує значна невизначеність в отриманих результатах, на відміну від нормального падіння пучка. Похибки можуть бути більші для екстремальних складів, особливо, коли до складу входять дуже важкі або легкі елементи. Можуть з'являтися систематичні похибки, наприклад, при визначенні Ag в золоті.

Програми розрахунку. Для розрахунку поправочних чинників треба знати передбачуваний склад, для якого невиправлений вміст може використовуватися

як перше наближення. Маючи необхідні значення, достатньо розрахувати поправочні коефіцієнти, підставити їх значення і розрахований вміст в наступний крок розрахунку. Коли попередні значення значимо не відрізнятимуться від подальших значень, ітераційний процес припиняється.

Невизначувані елементи. Широко відомо, що не усі елементи, присутні в зразку, включаються в аналіз, найбільш очевидний приклад — кисень в силікатах (для прямого визначення кисню вимагається багато часу, сам процес виміру досить незручний і у більшості випадків не вартий затрачених на нього зусиль). Оскільки процес розрахунку поправок вимагає знання повного складу зразка, потрібне введення деяких «додаткових елементів». Вміст кисню можна визначати або по «стехіометрії», або «по різниці», віднімаючи суму усіх інших елементів зі 100%. У першому випадку вміст кисню розраховується по валентностях катіонів інших елементів. Проте у разі використання валентностей можуть виникати проблеми, пов'язані з елементами, що мають різні валентності, наприклад, Fe. У таких випадках використовуються різні прийоми, як і у разі наявності в зразку великої кількості води.

Більшість загальновідомих програм не мають можливості додаткового введення більш ніж одного невизначуваного елемента. Для карбонатів в цьому випадку при розрахунку «по різниці» заміна C на O має незначний вплив на кінцевий результат. Дуже близькі результати виходять при використанні підходу, коли пропонується використати 4 атоми кисню на кожен двохвалентний атом металу, допускаючи валентність 8, отримуючи при цьому для карбонату MO_4 замість MCO_3 . Впливом H у фазах нехтують.

Обробка результатів. Результати кількісного електронно-мікрозондового аналізу представляються в першу чергу у вигляді масового змісту елементів (масова доля у відсотках). Вміст неаналізованих елементів, таких як O, виходить розрахунком, який описувався вище. Для силікатів та інших результат (вміст) зазвичай виражається в оксидах як масова доля у відсотках. Залізо зазвичай представляється як FeO, хоча в деяких мінералах (егірін,

андрадит, епідот, скаполіт, серпентин і содаліт) — як Be_2O_3 , а в деяких випадках — в обох формах. У разі сульфідів потрібно тільки елементний вміст.

Для багатьох мінералів сума оксидів має бути 100% (у більшості випадків сума допускається між 99% і 101%). Низька сума може бути викликана дрейфом струму, поганим калібруванням спектрометра тощо, але може бути і з інших причин, таким як наявність води або елемента, не включеного в аналіз. Нормалізація до 100% недопустима із-за можливого маскування таких промахів.

Іншою причиною низьких сум може бути припущення, що Fe двовалентне, тоді як деяка його доля або усе воно в дійсності в тривалентному стані: наприклад, при аналізі магнетиту виходить 93,1% FeO, якщо нехтує наявність в нім Fe^{3+} . Завищена сума може з'явитися, коли аніонні елементи, такі як F або Cl, заміщають кисень.

Валентний стан. Відношення $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ може бути розраховане з даних РСМА шляхом розподілу атомів кисню, визначеного по різниці, між моновалентними катіонами і розділенням тих іонів, що залишилися між Fe^{2+} і Fe^{3+} , проте точність результатів при цьому недостатня для геотермобарометрії. В принципі, можна отримати точніші результати, вимірюючи зміст кисню, але точність вимірів таких легких елементів обмежена.

Рентгенівські спектри не дуже пов'язані з хімічним станом. Проте S-Ка лінія показує відносно велику відмінність у зв'язку з валентним станом, який можна використати для розділення сульфідів і сульфатів. L спектри Fe також показують значні ефекти, пов'язані з валентними станами, але вони насилу інтерпретуються із-за самопоглинання і впливу сусідніх атомів. Універсальних методів мікрозондового визначення валентності Fe доки не з'явилося, хоча емпіричні визначення для окремих мінералів можливі.

Представлення результатів. Дані кількісного РСМА можуть представлятися у формі таблиць вмісту (у масових долях, відсотках), особливо оксиди. Нормальною практикою вважається включення колонки з сумами

компонентів, яка показує якість аналізу (у разі безводних фаз) або присутність води. Число значущих цифр після коми не має бути великим, даючи спотворене уявлення про точність.

Представлення великого числа аналізів в табличній формі не лише непрактично, але також неефективно і знижує їх значущість. У деяких випадках прийнято давати середні значення для серії аналізів з метою виявлення статистичних характеристик і розсіяння результатів. Проте часто прийнятніше використати графічні форми представлення, що дозволяють виявляти приховані співвідношення між окремими змінними (характеристиками), рис.4.13.

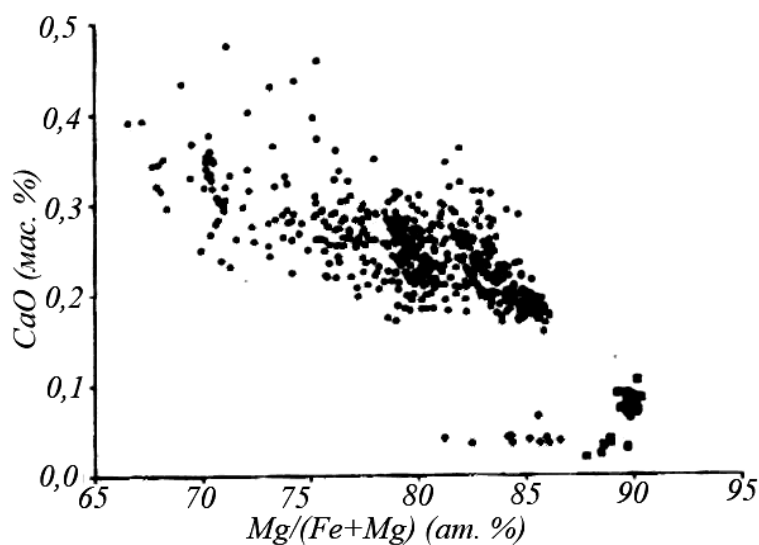


Рис.4.13. Електронні мікрозондові дані на прикладі мінералу - вулканічного олівіну

Ці змінні можуть використовуватися у вигляді відсоткового вмісту оксидів або молярної долі у відсотках (атомні відсотки), суми вмісту окремих елементів, що мають особливе значення в структурних формулах, молекулярних співвідношень кінцевих членів тощо.

Стандарти. В якості стандартних зразків при кількісному рентгеноспектральному мікроаналізі можуть використовуватися і чисті елементи, але у більшості випадків з ряду причин це неприйнятно. Деякі елементи, такі як С1, у вигляді твердого тіла за нормальних умов не існують, інші на повітрі окислюються або погано поліруються. Також використання чистого елемента може іноді призводити до дуже високих

матричних поправок. Більше того, при аналізі з ХД дисперсією положення піку аналітичної лінії на чистому елементі може відрізнитися від його положення в хімічній сполуці із-за впливу хімічного зв'язку, що може привести до значних погрешностей.

Альтернативою стандартам з чистих елементів є синтетичні з'єднання і природні мінерали, хоча перші - переважно чистіші. Гомогенність потрібно на мікронному рівні. Також потрібно високу стійкість до окислення або гідратації і висока стабільність в умовах вакууму.

Складні мінерали повинні вважатися, швидше, як «зразки порівняння», а не стандарти, використовувані безпосередньо для калібрувальних цілей, оскільки вміст окремих елементів в них може бути відносно низькими. Їх аналізують РСМА з використанням стандартів, описаних вище, для перевірки відповідності вмісту, що визначаються елементним утримуванням їх в цьому типі речовини. Хімічний аналіз вимагає достатньої кількості адекватного матеріалу, причому він мають бути гомогенними, і в пробі мають бути відсутніми включення сторонніх мінеральних фаз.

Синтетичне скло корисне, коли природні мінерали практично недоступні, але можуть виготовлятися тільки у визначеному діапазоні складів. Також вони можуть проявляти нестабільність під дією електронного бомбардування, що особливо містять луги; по-цьому при калібрувальних вимірах потрібне розфокусування пучка і низькі струми. Декілька стандартних стекол було виготовлено Національним інститутом стандартів і технологій США.

Для кількісного ЕД аналізу потрібно профілі, що включають усі рентгенівські лінії цього елемента (для моделювання рентгенівського спектру), і відносно широкий енергетичний діапазон, вільний від піків інших елементів, тоді як для ХД аналізу треба тільки, щоб не було накладень, що заважають, ні на піку, ні на позиціях виміри фону, що виконуються набагато простіше. Іноді небажані піки з ЕД спектру стандарту можна видалити командою «strip» (прибрати лінію), у разі використання неідеального стандарту, якщо чистий елемент недоступний. В цьому випадку ефективна висота піку підбирається на

основі аналізу іншого зразка порівняння з великим числом ліній в спектрі і тому не підходить для прямого використання.

Нестандартний аналіз. У «нестандартному аналізі» інтенсивності ліній чистого елементу розраховуються з теоретичних або емпіричних даних, що містяться в програмному математичному забезпеченні, а не вимірюються. Така пропозиція пропонується у більшості ЕД системах. Її точність важко оцінити, але безперечно вона не так гарна, як використання «справжніх» стандартів.

Нестандартний ХД аналіз є проблемним через труднощі в оцінці ефективності спектрометра. Проте існує процедура використання ефективності напівемпіричних даних для перетворення інтенсивності піків, записаних при скануванні по довжинах хвиль, в зразковий вміст.

4.3.2 Мікрорентгеноспектральний аналіз якісного і напівкількісного складу порошків легких та важких металів

Суть методу. Властивості різних матеріалів, в тому числі металічних залежать не тільки від структури, але й від однорідності складу. Для проведення хімічного аналізу на елементи від бору до урану в мікрооб'єктах (3-10 мкм) різних об'єктів, як металічних, так і не металічних, застосовуються приставки для рентгеноспектрального аналізу і кристали. Основний принцип кількісного рентгеноспектрального аналізу полягає в тому, що потік електронів, що створений електронною пушкою і маючи визначену довжину хвилі, взаємодіє з мікрооб'єктами по поверхні об'єкту, викликає характеристичне рентгенівське випромінювання. Його довжина властива тільки одному окремому елементу, що входить в склад того чи іншого локальної ділянки об'єкту. Вимірюючи інтенсивність характеристичного випромінювання і порівнюючи її з інтенсивністю випромінювання від еталону, що містить відому кількість цього ж елемента, можна розрахувати його концентрацію у досліджуваному об'єкті.

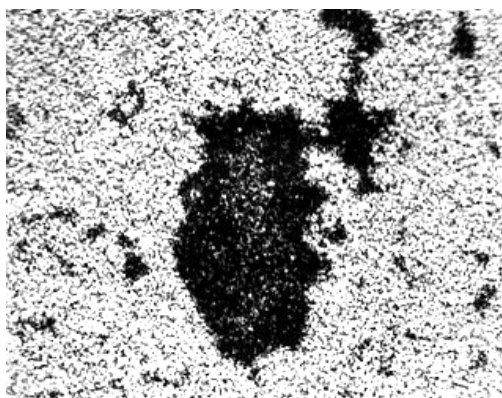
Конструктивно в систему рентгеноспектрального аналізу входять

складові частини:

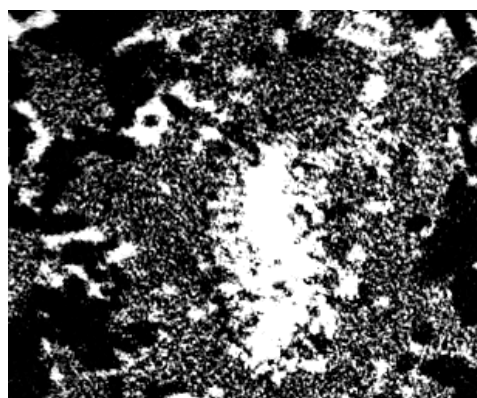
- нахильний рентгенівський спектрометр;
- передпідсилювач, встановлений на рентгенівському спектрометрі;
- система реєстрації рентгенівського випромінювання;
- балон з газовою сумішшю (90% Ar і 10% CH_4);
- спектрометр оснащений кристалами – аналізаторами КАП, ПЕТ, РАП, стеаратом свинцю.

Досліджуваний об'єкт, кристалотримач і рентгенівський лічильник спектрометра розміщені на крузі фокусування (круг Роуланда) радіусом 160 мм. Рентгенівський лічильник являє собою проточний пропорційний лічильник двохкамерного типу. Конструктивно система реєстрації рентгенівського випромінювання складається із шафи реєстрації і блоку реєстрації типу БР – 1. Система реєстрації рентгенівського випромінювання забезпечує:

- первинну обробку і реєстрацію (світловий індикатор БР – 1) імпульсної інформації, що надходить з приймача рентгенівського випромінювання через попередній підсилювач;
- високовольтне живлення рентгенівського випромінювання (рентгенівський лічильник);
- запис інтенсивності спектральних ліній на діаграмі самописця КСП-4;
- вимірювання струму електронного зонду на об'єкті, за допомогою осцилографа С2 – 68.



а.



б.

Рис. 4.14. Характеристичне рентгенівське зображення:

а) розподілення Ni на сталі 45; б) розподілення Mo, Cr, Ti на сталі 45

Види інформації, що отримується за допомогою МРСА. За допомогою МРСА може бути отримана інформація про кількісне і якісне розподілення елементів. Кількісна інформація міститься перш за все в растрових зображеннях, по яким можна судити про те, в якій області менше а в якій більше визначаючого елементу (скупчення білих або сірих ділянок, рис.4.14,а,б). Найбільш надійна інформація про кількісне розподілення елементів може бути отримане при кроковому скануванні зразка з вимірюванням інтенсивності аналітичних ліній в кожній точці. Ці інтенсивності порівнюються з інтенсивністю на відповідних стандартних зразках, потім після необхідних розрахунків визначається концентрація елементів в кожній точці.

4.3.3 Рентгеноспектральний аналіз легких елементів

В даному випадку «легкими» елементами вважаються елементи з атомними номерами нижче 10. З них Н і Не не генерують характеристичного рентгенівського випромінювання, а Li- та K-лінія не потрапляє в доступний для кристалів діапазон довжин хвиль; так що елементи, що відносяться до таких (і їх атомні номери), це Be(4), B(5), C(6), N(7), O(8) і F(9). Аналіз легких елементів вимагає підходів, що деяким чином відрізняються від описаних в попередньому розділі для «звичайних» ($Z > 10$) елементів.

K-пік поза сумнівом знаходиться в робочому діапазоні кристала, але O-K α близька до верхньої границі, а у деяких приладів виходить за цю границю. Стеарат свинцю ($2d = 100 \text{ \AA}$) перекриває атомні номери від 5(B) до 8(O), але він витісняється псевдокристаллами, які дають більш високу інтенсивність, але гірша роздільна здатність. Для реєстрації довгохвильового рентгенівського випромінювання повинні використовуватися проточні пропорційні лічильники з тонким вікном. У цій області можливі накладення ліній у високих порядках відображення, а також L- і M-ліній важких елементів, але вони невеликі. K-лінії легких елементів можуть реєструватися ЕД детектором з тонким вікном і досить добре дозволяються.

Забруднення вуглецем призводить до виникнення паразитного (неправдивого) піку С, викликаючи також додаткове поглинання низькоенергетичного рентгенівського випромінювання (особливо лінії О-Ка, яка має енергію трохи вище за енергію краю поглинання вуглецю), що виходить. Таким чином, при реєстрації випромінювання легких елементів постійно повинні застосовуватися заходи, спрямовані на недопущення забруднень. Крім того, зразок і утримувач зразка мають бути промиті перед їх установкою в камеру зразків. При аналізі непровідних зразків вплив вуглецевого напилення усувається використанням інших матеріалів (Al або Bi).

Вплив хімічного зв'язку. К-спектри легких елементів (збуджувані при переходах електронів між L- і K-оболонками) більше залежать від хімічного складу, чим спектри важчих елементів, оскільки L-оболонка не заповнена і на відповідні енергетичні рівні впливає хімічний зв'язок. У ХД аналізі може знадобитися установка спектрометра в різні положення на аналізованому зразку і стандарті. Більше того, можуть бути варіації розподілу інтенсивності за профілем піку, тоді прийнятніше вимірювати площу піку, а не інтенсивність.

Поправки на поглинання для легких елементів. Для легких елементів поправка на поглинання $f(x)$ може бути набагато меншою за одиницю, оскільки тільки невелика доля генерованого випромінювання виходить із зразка. Зниження прискорюючої напруги зменшує глибину проникнення електронів і поглинання, так що для легких елементів переважною є прискорююча напруга 10 кВ або нижче. Коли поправка на поглинання велика, форма функції розподілу і генерації рентгенівського випромінювання по глибині починає відігравати важливу роль і неадекватність класичної ZAF-моделі в поверхневому шарі стає істотною, тому повинна використовуватися модель «фі-ро-зет». Також важливо, щоб поверхня зразка була гладкою і плоскою.

Через недостатню кількість даних для довгохвильової області величини масових коефіцієнтів послаблення доки ще не зовсім зрозумілі, а інтерполяційні формули, використовувані для «нормальних» довжин хвиль, непридатні.

Застосування багатошарових псевдокристалів. О-К лінія має набагато більшу інтенсивність при вимірі на багатошаровому псевдокристалі, чим при використанні кристала ТАР, хоча в цьому випадку є більше накладень від сусідніх піків, таких як Fe-La і другий порядок Mg-K α . Інтенсивність О-К також набагато вища, що є перевагою при кількісному аналізі кисню. Азот дає відносно низьку інтенсивність, але може бути визначений в польових шпатах, що містять іони амонію. Одним з важливих застосувань багатошарових псевдокристалів є аналіз бору, для якого отримані високі інтенсивності. Тут має місце сильне накладення, яке необхідно враховувати.

Багатошарові псевдокристали найефективніше працюють на середніх береговських кутах: при низьких кутах висока інтенсивність фону, а при високих кутах низькі інтенсивності піків (без компенсації за рахунок поліпшення дозволу). Додаткова інтенсивність фону при низьких кутах викликає надмірним відображенням, яке особливе помітно для деяких елементів, включаючи В, Si та Zr, що мають лінії з такими довжинами хвиль. Для зниження такого фону можна використати амплітудний аналізатор імпульсів.

Аналіз при низькій напрузі. Як відзначалося вище, при аналізі легких елементів потрібно використовувати низьку прискорюючу напругу для мінімізації поправки на поглинання. Побічним ефектом цього є поліпшення просторового дозволу із-за зменшення області розсіяння електронів, причому діаметр пучка також зменшується. Втрату струму, яка відбувається при застосуванні звичайного вольфрамового джерела електронів, можна компенсувати заміною на джерело з польовою емісією.

Поліпшення дозволу можна отримати також і для важких елементів, використовуючи (для аналізу) відповідні рентгенівські лінії з низькою енергією збудження. Такий прийом відомий як рентгенівська емісійна спектроскопія низьких енергій (РЕСНЕ). При прискорюючій напрузі 5 кВ тільки для елементів з атомними номерами нижче 20 будуть доступними К-лінії, для елементів з великими атомними номерами повинні використовуватися L-лінії, а для елементів з атомними номерами вище 42 - вже М-лінії. При цьому

зменшується ефективність генерації рентгенівського випромінювання. При низьких енергіях мають помітну роль ефекти хімічного зв'язку, і точність кількісного аналізу погіршується в порівнянні із звичайними умовами.

Вибір умов для кількісного аналізу. Для кількісного аналізу прискорююча напруга має бути, принаймні, удвічі більше потенціалу збудження для того, щоб отримати відповідні інтенсивності: таким чином, 15 кВ — це мінімальне значення, якщо найважчим з представлених елементів є, наприклад, залізо. Інтенсивності піків і відношення пік/фон збільшуються з ростом прискорюючої напруги (крім випадків, коли має місце сильне поглинання того, що виходить із зразка рентгенівського випромінювання; в цьому випадку після певного значення прискорюючої напруги інтенсивність зменшується). Таким чином, застосовуючи високу напругу, при цьому струмі пучка і часу набору інтенсивності можуть бути поліпшені статистичні показники (чи отримані такі ж показники за коротший час), а також понижена границя виявлення. Ці переваги, проте, компенсуються збільшенням пробігу електронів в зразку, що призводить до погіршення просторового дозволу і зростання поправки на поглинання. Баланс між цими чинниками у більшості випадків веде до вибору прискорюючої напруги в діапазоні 15-25 кВ.

Високий струм пучка дає більш високі інтенсивності рентгенівського випромінювання, але інші чинники також повинні братися до уваги. Наприклад, зразки, схильні до руйнування при електронному бомбардуванні, можуть вимагати використання низького струму пучка. Іншим чинником є те, що мертвий час рахункової системи не повинно бути надмірно великим. Для ХД спектрометрів звичайним є струм в діапазоні 10-100 нА. Окрім аналізу слідів елементів, який вимагає більш високих струмів для ЕД спектрометрів притаманні струми близько декількох наноампер (за винятком випадку, коли перед детектором встановлюється діафрагма, що знижує число реєстрованих ним квантів).

Вибрати оптимальні значення усіх параметрів в багатокomпонентному ХД аналізі важко навіть досвідченому операторові. Комп'ютерна програма дозволяє змодельовати ХД спектри, полегшує вибір аналітичних ліній, кристалів, положень виміру фону і так далі і особливо корисна в складних випадках, таких як аналіз РЗЕ. Швидкість рахунку заздалегідь розраховується за допомогою моделі генерації рентгенівського випромінювання з використанням емпіричних даних ефективності спектрометрів, щоб вибраний час набору інтенсивності дозволив досягти користувачеві значень статистичних параметрів. У разі значних накладень, що заважають, використовуються інші аналітичні лінії (β замість α або L замість K). Така процедура повторюється для ряду різної прискорюючої напруги, оптимальна конфігурація визначається автоматично на підставі такого критерію, як мінімальний час аналізу. Дуже бажана деяка попередня інформація хоч би про зразковий склад зразка; якщо такої інформації ще немає, її можна отримати за допомогою швидкого «безстандартного» аналізу, оснований на повному скануванні усього діапазону довжин хвиль.

Гомогенність. Іноді корисно перевірити зразок на гомогенність (однорідність), визначивши розкид результатів аналізів у випадкових точках. Придатний робочий критерій оцінки гомогенності — розсіювання менше потрійного стандартного відхилення, визначуваного як корінь квадратний з числа імпульсів. При цьому передбачається, що інші випадкові похибки малі, що зазвичай вірно.

Границя виявлення. «Границя виявлення» елементу, його мінімальний вміст, який може бути виявлений по відповідному піку, виділеному (із заданою вірогідністю) із статистичних флуктуації фону. Робоче визначення полягає в тому, щоб висота піку дорівнювала трьом стандартним відхиленням імпульсів фону (вірогідність похибки реєстрації такої події менше 1%). Такий підхід ілюструється наступним прикладом: якщо виправлена інтенсивність (тобто з врахуванням інтенсивності фону), виміряна на чистому елементі, складає 10^4 імп/с, а відношення піку до фону складає 10^3 , то при часі обліку 10 с

границя виявлення, виражена в імпульсах, складе $3 \cdot (10^4 \cdot 10^{-3}) = 30$, відповідаючи вмісту $(30/10^5) \cdot 100\% = 0,03\%$, що, наприклад, є типовим значенням при ХД аналізі силікатів (в порівнянні з приблизно 0,1% для ЕД аналізу).

Використовуючи умови, вибрані спеціально для аналізу слідів елементів, можна поліпшити границю виявлення приблизно на порядок. Статистичні похибки можуть бути понижені при використанні високого струму пучка і збільшенні часу набору інтенсивності піку і фону (бажано чергуючи час набору піку і фону, щоб мінімізувати вплив дрейфу). Збільшення напруги підвищить інтенсивності піків і відношення пік/фон. Важливо також врахувати нахил і кривизну фону і накладення піків, щоб отримати надійні дані для слідів елементів. Оскільки оптимальні умови збудження для слідів і основних елементів різні, вимагається просто розділити процедури для кожного виду вимірів з різною прискорюючою напругою і струмами пучка.

Вплив покриття, що проводить. Електропровідне покриття використовується на непровідних зразках, впливаючи на інтенсивність рентгенівського випромінювання двояким чином: по-перше, електрони, що падають, витрачають енергію на проходження напиленого шару, знижуючи інтенсивність рентгенівського випромінювання, генерованого в зразку; по-друге, рентгенівське випромінювання послаблює, проходячи на виході через шар вуглецю. Відносна втрата інтенсивності може бути розрахована за допомогою наступного виразу, яке справедливе для тонких шарів завтовшки t :

$$\frac{\Delta I}{I} = \left[\frac{8,3 \cdot 10^5}{E_0^2 - E_c^2} + \mu \cos \psi \right] \cdot \rho \cdot t,$$

де E_0 — енергія електрона, що падає, кеВ; E_c — енергія збудження (краї поглинання) відповідного елементу, кеВ; μ — масовий коефіцієнт послаблення матеріалу напилення для відповідної довжини хвилі рентгенівського випромінювання; ψ — кут виходу рентгенівського випромінювання; ρ — щільність шару напилення.

Значення щільності при вуглецевому напиленні складає $2,0 \text{ г/см}^3$. Перший член у вищенаведеному виразі визначає витрати енергії електрона.

Для лінії Fe витрати інтенсивності завдяки цьому чиннику складають 0,6% ($E_0 = 20$ кеВ), але зростає до 2,2% при 12 кеВ. Другий член цієї формули враховує поглинання рентгенівського випромінювання. Вплив вуглецевого покриття на втрату інтенсивності піку невеликий і може бути мінімізований напиленням і стандартів, і зразків так, щоб товщина покриття була однаковою.

Руйнування зразка під дією зонду. Хоча в мікрозондовому аналізі використовуються в основному низькі струми, вони діють в малому об'ємі зразка, і їх вплив не завжди нехтує, в деяких випадках потрібно запобіжні заходи, як описано в наступному розділі.

Нагрів. Велика частина енергії пучка електронів перетвориться в тепло в точці взаємодії. Хоча розсіяна потужність пучка усього порядку декілька міліват, щільність енергії дуже висока. Тепловий ефект невеликий у разі металів з високою теплопровідністю, але у матеріалу з низькою теплопровідністю може значно зростати температура в точці взаємодії, яка може бути достатньою, щоб викликати руйнування зразка, таке як втрата діоксиду вуглецю карбонатами і води гідратованими мінералами. Втрата таких компонентів веде до зростання змісту інших елементів. При ХД аналізі, коли вимір інтенсивності ліній робиться послідовно, прогресуюче руйнування зразка веде до викривлення вимірної інтенсивності ліній, і, відповідно, співвідношення змісту елементів в зразку можуть виходити некоректними.

Нагрів може зменшуватися напиленням шару з гарного провідника (такого як алюміній, мідь або срібло) завтовшки дещо більше, ніж потрібно для забезпечення електропровідності (вибір елемента покриття залежить від наявності рентгенівських ліній, що заважають). Поправка на втрату інтенсивності може розраховуватися або визначатися емпірично з відношення вимірної інтенсивності піку на елементі з покриттям і без нього (рис.4.15).

Міграція лужних металів та інші артефакти. Добре відомим прикладом ефекту міграції іонів під впливом електростатичного поля, наведеного електронним пучком, є зниження інтенсивності Na-O α під час міграції іонів Na

з точки падіння пучка, яке відбувається в склі, польових шпатах і деяких інших фазах. Подібне явище, хоча і не в такому ступені, відзначається і для іонів K^+ . За деяких умов після початкового зменшення може спостерігатися збільшення вмісту лужних металів в порівнянні з дійсним значенням.

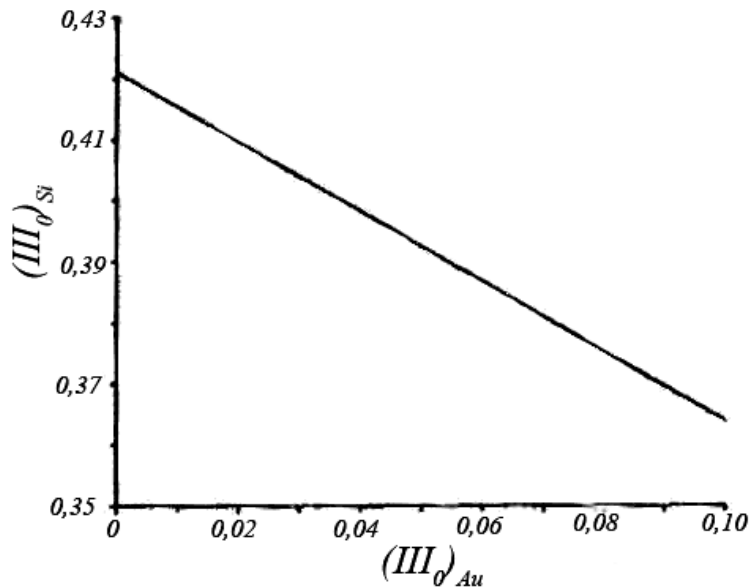


Рис.4.15. Відношення інтенсивності Si-O α вимірюваною на SiO₂, напиленому Au, до інтенсивності Si-O α від чистого кремнію (Si) залежно від відношення інтенсивності Au-Mg α , вимірюваної на SiO₂ (прискорююча напруга 10 кВ). Цей графік може використовуватися для корекції напилення Au

Превентивні міри включають зниження струму пучка або його розфокусування; останнє найефективніше (рис.4.15). Інші способи - це розгортка пучка в растр або постійне переміщення зразка під час аналізу. Також міграція лужних металів може бути пригнічена охолодженням рідким азотом, хоча більшість приладів не можна обладнати приставками для охолодження.

ХД аналіз в цьому випадку має значну перевагу перед ХД аналізом, коли та ж інтенсивність рентгенівського випромінювання досягає при набагато нижчих струмах. Підвищення прискорюючої напруги знижує швидкість міграції лугів.

Крайові ефекти. Результати кількісного аналізу поблизу границь між фазами залежать від розміру джерела рентгенівського випромінювання.

Вважаючи, що діаметр зонду невеликий (<1 мкм), розмір джерела (а відповідно, просторова роздільна здатність) визначається проникненням електронів і розсіянням їх в зразку. Ефективний просторова роздільна здатність при кількісному аналізі може визначатися як розмір області, усередині якої генерується 99% вимірюваного характеристичного випромінювання і він визначається пробігом електрона. Ефективний пробіг у даному контексті — ця відстань, яку проходить електрон до того, як його енергія стає нижче енергії збудження, E_c , нижче якої характеристичне рентгенівське випромінювання не збуджується. Діаметр d (у мікрометрах) джерела рентгенівського випромінювання можна оцінити з наступного виразу:

$$d = 0,22 \cdot \frac{E_0^{1,5} - E_c^{1,5}}{\rho},$$

де E_0 і E_c в кеВ, ρ — щільність зразка. Наприклад, у разі силікатів $\rho = 3$ г/см³, а при $E_0 = 15$ кеВ та $E_c = 4$ кеВ (для Са-К α), $d = 3,7$ мкм.

Кінцева величина просторового дозволу впливає на форму профілів елементів при дослідженні областей мікронного розміру, наприклад, в зональних мінералах і експериментальних профілях дифузії, використовуваних для визначення коефіцієнтів дифузії. Флуоресцентні ефекти на границях можуть бути значними і проявлятися на значних відстанях.

4.3.4. Особливі випадки кількісного аналізу в роботі рентгенівських мікроскопів

Кількісний електронно-зондовий мікроаналіз зазвичай виконується на зразках з плоскою, добре відполірованою поверхнею, з використанням сфокусованого електронного пучка, що падає перпендикулярно поверхні. Якщо ці умови не виконуються, точність результатів може бути незадовільною. Проте випадки аналізів в нестандартних умовах, описані в наступних розділах, представляють практичний інтерес, і можна зробити деякі кроки, щоб мінімізувати витрати точності.

Похилі зразки. В РЕМ зразок може бути нахилений, що змінює як кут відбору рентгенівського випромінювання, так і кут падіння електронів. Допускаючи, що форма залежності залишається такою ж, вплив нахилу можна скоректувати заміною в поправці на поглинання на

$$\frac{\cos T}{\sin T \cdot \cos A \cdot \cos E + \sin E \cdot \cos T}$$

де T — кут нахилу,
 A — азимутний кут, E — кут відхилення відповідно до того, як показано на рис.4.16 (на форму в дійсності впливає кут падіння електронів, але цим зазвичай нехтують, так само, як і впливом кута нахилу на поправку на зворотне розсіяння). Якщо поверхня

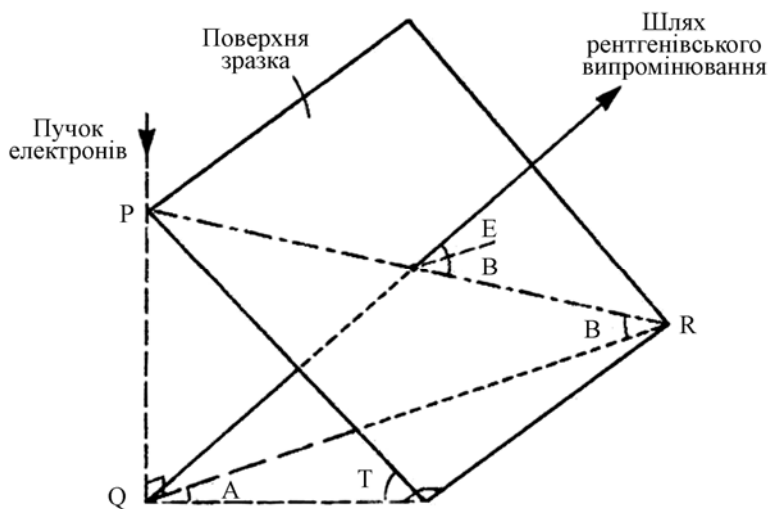


Рис.4.16. Геометрія поправки на поглинання для похилого зразка

зразка сильно рельєфна, кут нахилу буде невідомий. Процедура роботи в таких випадках, включає обертання зразка навколо своєї осі на 180° і повторні виміри в тій же точці. Відповідні результати можуть отримуватися при простому усереднюванні цих даних у разі, якщо кут нахилу не занадто великий.

Аналіз розфокусованим пучком. Найважливішою характеристикою РСМА є просторова роздільна здатність (зазвичай близько 1 мкм), але іноді вимагається використати розширений пучок (наприклад, визначити середній склад кристалізованого розплаву). Для цієї мети пучок може бути розширений за допомогою розфокусування об'єктивною лінзою або розгорнути в растр. Коли використано ХД спектрометр, розмір аналізованої площі обмежується менш ніж 100 мкм, щоб мінімізувати розфокусування спектрометра, яка по-різному впливає на різні елементи. Велику площу можна проаналізувати за допомогою ЕД спектрометра (швидкість обліку при цьому має бути обмежена,

щоб виключити відмінності в мертвому часі від площ різного складу під час сканування по площі зразка).

Зважена сума матричних ефектів в індивідуальних фазах на проаналізованій площі буде не тією ж самою у разі гомогенного зразка, оскільки поправочні коефіцієнти ZAF нелінійно залежать від зміни змісту. Тому результати, отримані із застосуванням матричної корекції до аналізів розфокусованим пучком, не будуть такі ж коректні, як при точковому аналізі однієї мінеральної фази.

Аналіз дрібних часток. Дрібні частки (діаметром менше 25 мкм) важко монтувати і полірувати. Проте їх можна аналізувати в неpolірованому стані, наприклад, встановивши на стійку РЕМ. Частки розміром порядку 1 мкм розміщуються на тонкій вуглецевій плівці, яка дає мінімальний рентгенівський фон. Дуже маленькі частки (менше 1 мкм в діаметрі) повинні аналізуватися на аналітичному електронному мікроскопі.

Звичайні процедури кількісного аналізу не дають точних результатів для часток, оскільки формули корекції матричних ефектів розроблені для зразків з ідеальною плоскополірованою поверхнею. Так само, якщо частка занадто мала, щоб зонд потрапляв на неї цілком, інтенсивність рентгенівського випромінювання зменшується в порівнянні з цілісним (гомогенним) стандартом (рис.4.17). Проблема витрат інтенсивності при генерації рентгенівського випромінювання може бути вирішена шляхом визначення відношення вмісту із відношенням інтенсивності ліній.

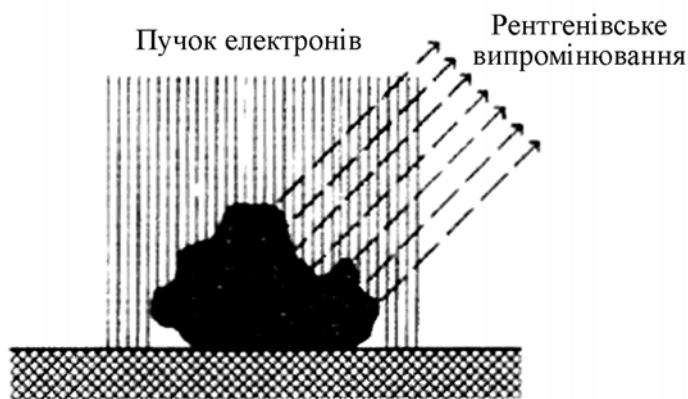


Рис.4.17. Аналіз часток: результати залежать від витрати інтенсивності рентгенівського випромінювання, оскільки деякі електрони пучка проходять крізь (коли її розмір менше діаметру пучка) і поглинання рентгенівських променів змінюється через неправильну форму

Точніші наближення використовуються в модифікованій моделі, що враховує геометрію часток. У методі Армстронга-Бусека (Armstrong, 1991) поправочні рівняння розраховуються для часток ідеальної геометричної форми, яка максимально наближена до реальної. Форма і розмір часток вибираються відповідно до зображення, отриманого на РЕМ або оптичному мікроскопі. Також може використовуватися моделювання генерації рентгенівського випромінювання методом Монте-Карло для часток різної форми.

Іншою можливістю є вимір відношення пік/фон і використання того факту, що геометрія частки буде однаково впливати і на безперервне, і на характеристичне випромінювання з однаковими енергіями. Вміст може розраховуватися за допомогою виміру відношення пік/фон на зразках і порівняння його із відношенням, виміряними на стандартах. У ЕД спектрах часто виникає необхідність видалення піків за допомогою «стріппінга» для визначення фону унаслідок відсутності відповідних областей без піків. Точність виміру відношення пік/фон визначається статистичною погрішністю відносно низької інтенсивності фону; зниження погрішності виміру фону вимагає підвищення часу виміру в порівнянні з часом виміру піку.

Аналіз нерівних і пористих зразків. На поглинання й інші поправки впливають нерівності поверхні (навіть нерівності розміром багато менше 1 мкм можуть робити значний вплив). Кутове положення поверхні також є важливим параметром і не повинно змінюватися більше, ніж на 1°. Тому слід при поліровці остерігатися завалів на краях зерен.

Пористість також впливає на результати кількісного аналізу. Якщо пори заповнені матеріалом, в якому монтувався зразок (наприклад, епоксидна смола), то частина електронів пучка, що падає, поглинатиметься в цьому середовищі, призводячи до зменшення генерації рентгенівського випромінювання і заниження результатів аналізу. Якщо пори будуть чистими, ефект буде менш помітний. Також забивання пір при поліровці може привести до абсолютно помилкових результатів (наприклад, появою Al із-за поліровки оксидом алюмінію).

Метод, оснований на відношенні піку до фону, може застосовуватися до необроблених і пористих зразків, дозволяючи отримати принаймні напівкількісні результати.

Аналіз тонкошарових зразків. Обмеження просторового дозволу, який визначається глибиною проникнення пучка і його розсіянням в товстому зразку, можна здолати, використовуючи тонкошарові зразки (близько 100 нм), крізь які пучок проходить з відносно невеликим розсіянням. Порода або мінерал готується так само, як і для електронної мікроскопії (зазвичай за допомогою іонного потоншення), що працює на просвітлення. Для аналізу таких зразків можуть бути використані і електронний мікрозонд, і растровий електронний мікроскоп з ЕД спектрометром, але краще застосовувати електронний мікроскоп (ПЕМ), що працює на просвітлення, або «аналітичний електронний мікроскоп» (АЕМ), на якому можна досягти просторової роздільної здатності приблизно 10 нм.

При аналізі таких зразків прийнятніше використати електронне джерело світла, яке компенсує низьку світлосилу джерела випромінювання високою ефективністю реєстрації. Для обробки спектрів тонких зразків використовуються звичайні методи. Проте при переході від інтенсивності до вмісту існують деякі особливості, оскільки є складна залежність інтенсивності лінії від товщини зразка. Звичайний підхід — це визначити співвідношення вмісту по відносній інтенсивності піків в спектрі. Для цього потрібна інформація про «чинник чутливості» (інтенсивність на одиницю вмісту) для кожного елементу. При обчисленні використовується ефективність генерації рентгенівського випромінювання, розрахована по первинним (фундаментальним) принципах, і ефективність реєстрації, яку також можна розрахувати, знаючи товщину вікна детектора. Як альтернатива можуть бути використані емпіричні калібрувальні криві, отримані за допомогою вимірів на зразках відомого складу. У разі тонких зразків можна нехтувати ефектами поглинання і флуоресценцією, проте практично поправку на поглинання потрібно при аналізі зразків, що містять такі елементи, як Na та Mg.

Флюїдні включення. Аналіз флюїдних включень можна проаналізувати сухий залишок після розкриття флюїдмістних каверн за допомогою розщеплювання і розколювання основного кристалу. Проте такі результати носять якісний або напівкількісний характер через неправильну форму зразка. Водні флюїди можуть аналізуватися *in situ*, якщо їх заморозити. Первинне заморожування має бути швидким, щоб мінімізувати сегрегацію кристалів льоду; зразки після цього повинні зберігатися замороженими, поки розколоті основні кристали напилуються і встановлюються на охолоджений столик приладу. При кількісному аналізі заморожених природних флюїдів користувалися стандартами, що складаються із заморожених розчинів з відомою кількістю хлоридів натрію, калію і кальцію. Струм пучка має бути низьким, щоб уберегти зразок від руйнування.

Аналіз при низькому вакуумі. Растровий електронний мікроскоп в «низьковакуумному» виконанні або «для дослідження довкілля», який придатний для дослідження зразків, що містять воду та/або ненапилені, може з певними обмовками бути використаний для кількісного аналізу. Тиск газу в камері зразків настільки низький, що значно впливає на реєстрацію рентгенівського випромінювання від зразка; крім того, можуть з'являтися додаткові піки (наприклад, О-Н від молекул води) із-за взаємодії електронів з атомами газу. Набагато важливіше розсіяння атомами газу, зухвале інтенсивне «гало», що виникає навколо електронного пучка, яке може збуджувати рентгенівське випромінювання в навколишніх об'єктах і погіршувати просторова роздільна здатність. Для мінімізації цього ефекту можуть застосовуватися різні заходи, включаючи підвищення прискорюючої напруги, використання в камері зразків газу з меншим атомним номером і мінімальну довжину шляху електронів в газовому середовищі.

І на закінчення згадаємо ще про один, абсолютно новий метод – протонну мікроскопію, або протонну радіографію. Цей термін, правда, відповідає методу в такому ж ступені, що і назва "мікроскопія" рентгеноструктурному аналізу. У основі лежить так званий ефект тіней. У одному з варіантів кристалічний

зразок "освітлюють" паралельним пучком протонів, висока енергія яких (сотні або навіть тисячі кеВ) дозволяє їм проникнути надзвичайно близько до ядер атомів, що становлять кристалічну решітку зразка. Розсіюючись на ядрах в різних напрямках, протони "продираються" через кристал, частково виходять з нього і засвічують розташовану з "освітлюваного" боку зразка фотопластину, де виходить специфічна сітка яскравих ліній з плямами різних розмірів. Ця картина нагадує картини дифракції електронів або рентгенівських променів на кристалах, проте, при протонографії відбувається не хвильова, а корпускулярна взаємодія протонів і ядер. Ця відмінність дає певну перевагу: підвищуючи енергію протонів, ми збільшуємо глибину їх проникнення в зразок, не погіршуючи при цьому (що важливо) здатність "бачити" атоми.

Фізика взаємодії протонів з ядрами дуже складна, і ми зупинятися на ній не будемо. Відмітимо лише можливості протонографії. По протонограмі можна визначити тип структури кристала, кристалографічну орієнтацію, кути між кристалографічними осями. Її вид надзвичайно чутливий до щонайменших спотворень (деформаціям) кристалічної решітки. Протонограма також реєструє точкові дефекти. Важливою перевагою протонографії є можливість пошарового аналізу мікроструктури кристалічних зразків без їх руйнування: підвищуючи енергію протонів, можна проникати все глибше і глибше.

Пошарове дослідження можна проводити, і не змінюючи енергії. Для цього перед фотопластиною поміщають металеву фольгу певної товщини. Протони, що вийшли з глибини зразка і втратили, таким чином, значну частину енергії, поглинатимуться фольгою, тоді як протони, розсіяні поблизу поверхні, пройдуть крізь фольгу і потраплять на пластинку. Послідовно змінюючи товщину фольги, можна отримати серію протонограм з різної глибини зразка і встановити, наприклад, розподіл по глибині яких-небудь дефектів.

Таким чином можна зробити висновок, що метод рентгенівської мікроскопії та його різновид – протонна мікроскопія є найбільш перспективними та універсальними серед методів дослідження, як поверхні різноманітних зразків, так і їхньої внутрішньої мікроструктури.

Розділ 5 МЕТОДОЛОГІЯ ТА ТЕХНІЧНІ ЗАСОБИ ЗОНДОВОЇ МІКРОСКОПІЇ

5.1 Принципи роботи та схематичні рішення зондових мікроскопів

Принцип роботи скануючого зондового мікроскопу. Скануюча зондова мікроскопія - один із потужних сучасних методів дослідження морфології і локальних властивостей поверхні твердого тіла з високим просторовим дозволом. Головна характеристика скануючої зондової мікроскопії – це наявність системи консолі з зондом і датчика руху. Саме за допомогою цієї системи проводиться сканування поверхонь зразків. Зонд, що має форму голки (з радіусом вістря до 1 нм), підводиться до поверхні за допомогою крокового двигуна до тих пір, поки поверхня і консоль не почнуть взаємодію, датчик зворотного зв'язку реагує на вигин консолі, припиняє підвід і починає сканувати поверхню. Це фіксується датчиком руху, і нерівності виводяться на екран комп'ютера у тривимірному зображенні. Процес сканування може відбуватися як в атмосфері або заздалегідь заданому газі, так і у вакуумі, і навіть крізь плівку рідини. Сканування поверхні може відбуватися двома способами, - сканування консоллю і сканування підкладкою. Якщо в першому випадку рух вздовж досліджуваної поверхні здійснює консоль, то в другому щодо нерухомої консолі рухається сама підкладка. Для збереження режиму сканування, консоль повинна знаходитися поблизу поверхні залежно від режиму сканування (режим постійної сили, або постійної висоти), для цього існує система, яка могла б зберігати такий режим під час процесу сканування. Тому в електронну схему мікроскопа вводять спеціальну систему зворотного зв'язку, яка пов'язана з системою відхилення консолі від початкового положення.

Система зворотного зв'язку. Як правило, система зворотного зв'язку – це датчики, що використовуються для того, щоб перемістити зонд щодо зразка. Розглянемо основні типи датчиків руху.

Оптичний датчик. Один з перших датчиків [66], який був використаний

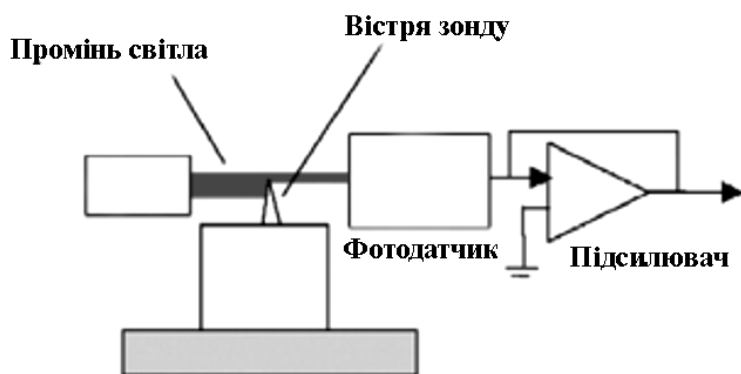


Рис.5.1. Схема зондового мікроскопу
з оптичним датчиком

в СЗМ, використовував джерело світла, рухливий зонд і фотодетектор (рис.5.1). Оскільки вістря зонда долало джерело світла, змінювалася кількість світла, що потрапляла на фотодетектор. Для всіх датчиків, основаних на проекції світла, потрібні підсилювачі з

великим коефіцієнтом підсилення. Основна перевага такого типу датчика – низька ціна.

До недоліків оптичного датчика можна віднести таке: датчик неможливо відкалібрувати; має велику похибку; дорогий ремонт; складна інтеграція в СЗМ з тривимірним зображенням; висока резонансна частота; джерело світла може викликати термодрейф. Через велику кількість недоліків такий тип датчика використовують дуже рідко.

П'єзоелектричні датчики. Найбільш поширений матеріал для п'єзоелектричних датчиків - аморфний PdBaTiO_3 . Кераміка може бути твердою і м'якою. Тверда кераміка має менший коефіцієнт розширення, але більш лінійна, м'яка кераміка - навпаки, більш нелінійна, і має більший коефіцієнт розширення. Також, п'єзоматеріали можуть бути поляризовані, але ці властивості можуть бути втрачені внаслідок нагрівання матеріалу вище його критичної температури, або надмірної напруги. П'єзоелектричні матеріали діють як конденсатори, і заряди збираються на їх поверхні. Ємність кераміки може бути більше 100 мФ. У п'єзокераміки є власна резонансна частота, яка залежить від розміру і форми кераміки. В значній мірі, частоти п'єзокераміки спотворюють показники СЗМ.

Як говорилося вище, п'єзокераміка може мати різні геометричні форми і вибір їх залежить від бажаних параметрів сканування. Наприклад, циліндр (рис.5.2) при прикладанні напруги стає більш довгим і вузьким, при цьому

зберігаючи об'єм. Ще одна конфігурація – дві біморфні тонкі плити п'єзоматеріалу, які поляризовані в різних напрямках. Коли прикладається напруга, кераміка розширюється параболічно.

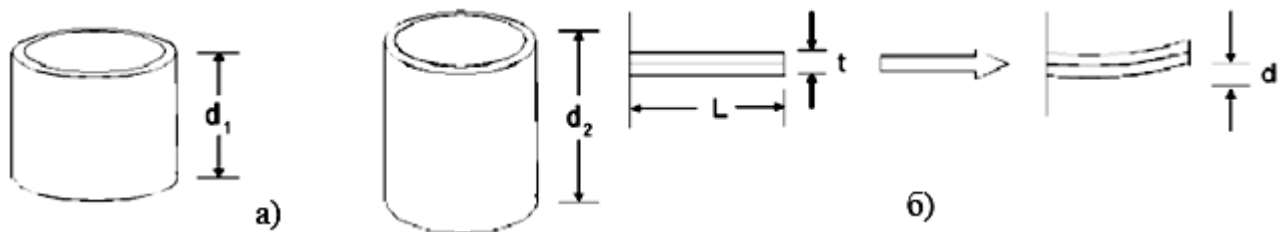


Рис.5.2. Розширення п'єзокераміки: а) циліндричної форми; б) тонкі біморфні плити

В ідеальному випадку п'єзокераміка повинна розширюватися і скорочуватися в прямій пропорції до прикладеної напруги. Однак у п'єзоелектричних матеріалів є два основних недоліки: гістерезис і повзучість. Гістерезис змушує кераміку зберігати форму. Повзучість відбувається, коли кераміка піддається раптового імпульсу, такому як ступінчаста функція напруги. Ці недоліки можна обійти, у зворотному випадку результат сканування буде невірним.

Індуктивні датчики. Індуктивні датчики руху набагато краще оптичних датчиків, але використовуються тільки в мікроскопах типу СТМ. Вони мають низьку резонансну частоту і піддаються калібруванню. Основний елемент індуктивного датчика - котушка (рис.5.3).

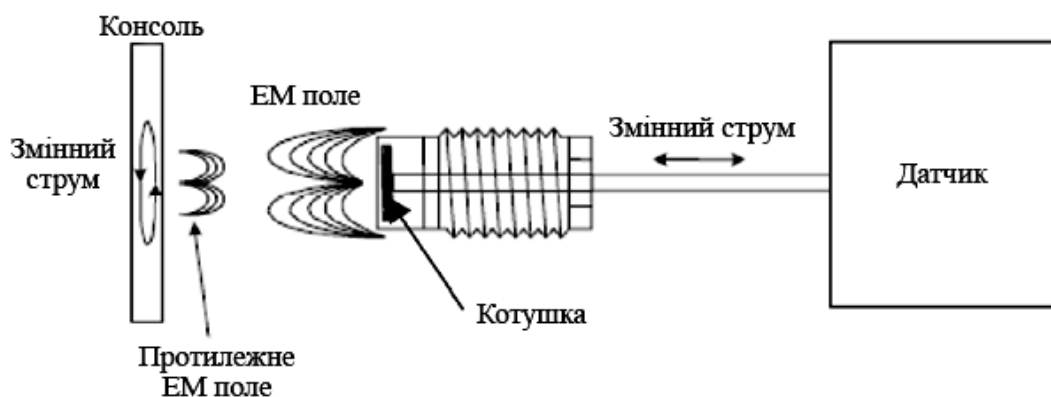
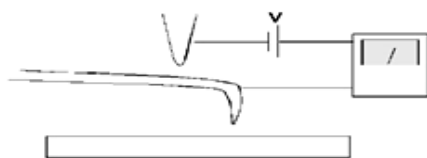


Рис.5.3. Схема індуктивного датчика зондового мікроскопу.

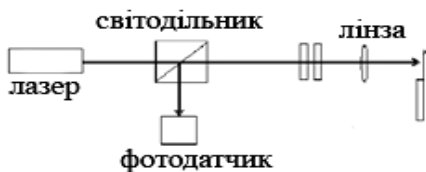
В індуктивних датчики руху, змінний струм, що тече в котушці, змушує поле однієї обмотки взаємодіяти з полем іншої обмотки. Внаслідок цього поле

пульсує, створюється пульсуюче електромагнітне поле, яке оточує котушку. Помістивши котушку на певну відстань від електропровідної консолі, індукується струм до потоку на поверхні і всередині консолі. Індукований струм створює вторинне магнітне поле, яке протидіє і скорочує інтенсивність початкового поля. Сила між датчиком і консоллю залежить від відстані між ними. Індуктивні датчики мають такі властивості: легко замінюються; можлива інтеграція в сканери тривимірного зображення; низька резонансна частота; калібрування проводиться тільки один раз; застосовується тільки для мікроскопів типу СТМ.

Датчики сили. Як відомо, датчик сили в АСМ повинен мати здатність вимірювати дуже маленькі сили. Існує безліч датчиків для роботи з СЗМ (рис.5.4).



Скануючий тунельний мікроскоп: В першому СТМ зонд вимірював коливання консолі. Цей процес був дуже трудоемним.



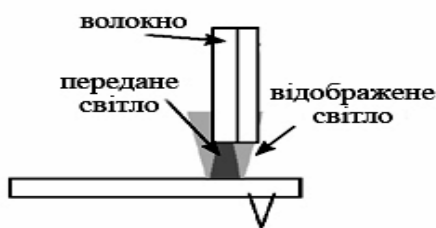
Інтерферометр: для можливе використання інтерферометра Майкельсона для вимірювання коливань консолі. Цей прилад дуже чутливий, але він не використовується через перешкоди.



Кварцовий генератор: п'єзоелектричний кристал, такий як кварц, може вимірювати силу між зондом і поверхнею. Якщо консоль розташована на пластині з кварцу, він буде відслідковувати вібрації, спричинені взаємодією зонда з поверхнею.



П'єзорезистивні консолі: консоль може мати п'єзорезистивний елемент, який змінює опір при згинанні консолі. Цей датчик ефективний, але важко виготовити в потрібній кількості.



Волоконний світловод: світло може бути пропущене вниз по оптичному волокну і відбите від консолі в інше оптичне волокно. Якщо волокно знаходиться достатньо близько до консолі, то кількість зібраного світла другим волокном буде залежить від положення консолі.

Рис.5.4. Основні види датчиків сили

Оптичний датчик. У 1988 році був представлений оптичний датчик сили, який і зараз широко використовується для вимірювання малих переміщень інструменту СЗМ. Принцип роботи оптичного датчика зображений на рис.5.5.

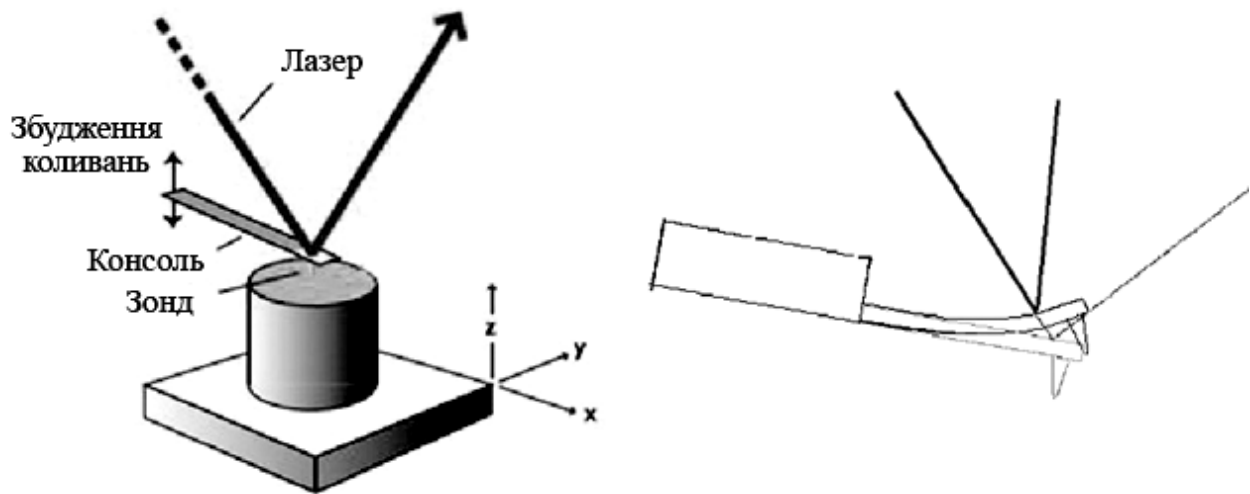


Рис.5.5. Оптичний датчик сили зондового мікроскопу

Промінь лазера відбивається від задньої стінки консолі (на задню стінку консолі попередньо наносять дзеркальний матеріал) і потрапляє на чотирьох-секційний фотодатчик. Зонд взаємодіє з поверхнею, консоль згинається і фотодатчик фіксує зміну положення консолі. У більшості випадків, консоль з поверхнею, що відбиває виготовляють методом електронної фотолітографії. Датчик вимагає калібрування після кожної заміни консолі. В ідеальному стані, кут відбиття повинен становити 90° , однак практично досягти це майже неможливо через взаємодію міжмолекулярних сил, тому кут може мати похибку $5\text{--}15^\circ$, що викликає артефакти.

Кристалічний датчик. Датчик сили СЗМ може бути виготовлений з кварцових кристалів. Такі датчики не вимагають калібрування, тому зручні в експлуатації. Найбільш поширені типи датчиків виготовляють із резонуючих кристалів, таких як камертон або поздовжній кварцовий резонансний генератор.

На рис.5.6 зображений датчик поздовжнього кварцового генератора. Вібруючий рух в цьому датчику діє горизонтально до поверхні і датчик контролює силу взаємодії між зондом і поверхнею.

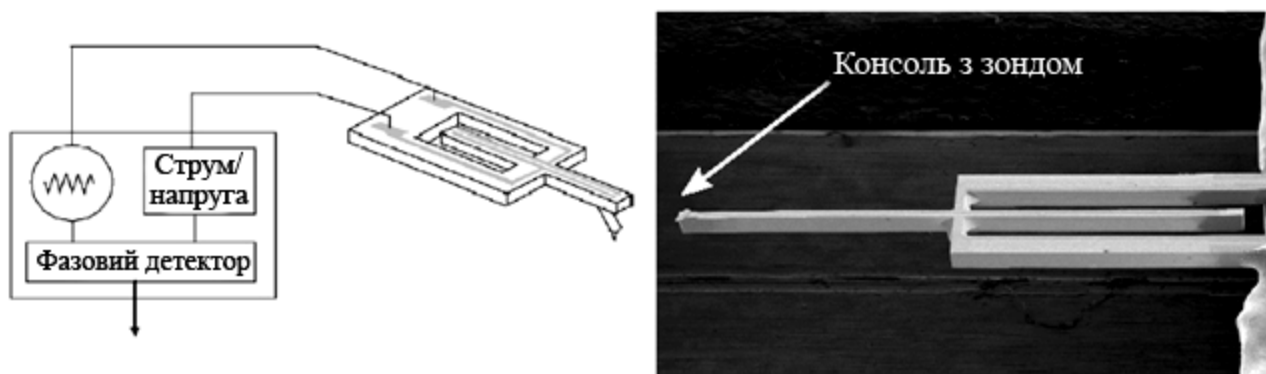


Рис.5.6. Кристалічний датчик зондового мікроскопу

Рух генератора становить менше 0,4 нм і сила, яку датчик може фіксувати менше 400 пН.

Отже, були розглянуті датчики сили і датчики руху і де вони застосовуються. Розглянемо тепер більш детально мікроскопи, які сили в них діють, режими сканування і вимірювальний інструмент.

5.1.1 Скануюча тунельна мікроскопія

Нині скануюча зондова мікроскопія (СЗМ) і пов'язані з нею фізичні і прикладні дослідження продовжують переживати період бурхливого розквіту. Число експериментальних і теоретичних робіт в цій області зростає настільки нестримно, що відбувається диференціація і відгалуження більше вузьких напрямів, устежити за розвитком яких стає важко навіть фахівцям, постійно працюючим в цій області. Це обумовлено винятковою різноманітністю явищ, що відбуваються в зоні вакуумного або атомного контакту зонду мікроскопа з поверхнею і характеризуються широким діапазоном просторово-часових масштабів, властивих цій системі: $100...10^{-8}$ см та $100...10^{-16}$ с. Найважливішим практичним стимулом прогресу СЗМ є швидко зростаючі потреби нанотехнології.

Методи СЗМ розширюють і органічно доповнюють арсенал експериментальних засобів, що застосовуються в швидко прогресуючій науці про властивості наночасток і наноструктур. У зв'язку з цим отримали потужний імпульс в розвитку і вийшли на передній край нові фізичні напрями, такі як

наномеханіка, наноелектродинаміка, нанооптика, нанотрибологія і ширше – нанофізика в цілому.

Для вивчення і глибокого розуміння явищ, що відбуваються в контактах зонду СЗМ з поверхнею, доводиться притягати мультидисциплінарний спектр експериментальних і теоретичних методів сучасної фізики, тому охопити усе різноманіття досягнень в цій області надзвичайно важко. В той же час, є гостра необхідність в побудові елементарної фізичної картини взаємодій зонду (голки) скануючого мікроскопа з поверхнею, доступний для розуміння фахівців різного профілю і що є введенням в цей предмет. Така мета дозволяє звузити круг обговорюваних тем і уникнути детального цитування пріоритетних робіт багатьох сотень дослідників.

Відмінними особливостями СЗМ є наявність в них: зонду, системи переміщення зонду відносно зразка в двох (X-Y) або трьох (X-Y-Z) координат, реєструвальної системи.

Реєструвальна система фіксує значення функції, яка залежить від відстані зонд-зразок. Зазвичай реєстроване значення, що обробляється системою негативного зворотного зв'язку, який управляє положенням зразка або зонду по одній з координат (Z). Як система зворотного зв'язку найчастіше використовується ПІД-регулятор.

Основними типами скануючих зондових мікроскопів: скануючий атомно-силовий мікроскоп, скануючий тунельний мікроскоп, ближньопольний оптичний мікроскоп.

Як відомо, до винаходу зондової мікроскопії проблемою при дослідженні рельєфу поверхні було правильна підготовка матеріалу до дослідження і використання тільки вакууму в якості середовища досліджень [67]. З появою зондової мікроскопії ця проблема зникла, оскільки матеріали не вимагають значної підготовки і мікроскоп має здатність досліджувати поверхню через рідку плівку, яка адсорбується на поверхні зразка, якщо дослідження проходить в зовнішньому середовищі.

Діелектричні поверхні також можна досліджувати методом СТМ, при

цьому заздалегідь треба нанести на поверхню плівку Ленгмюра-Блоджетта (плівка ЛБ). Ця плівка складається з одного або більше моношарів органічних речовин. Плівку отримують без значних економічних витрат (не вимагає вакууму і високих температур). Унікальність методу полягає в можливості пошарово збільшувати товщину плівки, яка формується на твердій поверхні, причому товщина кожного шару визначається розмірами молекули використовуваної органічної речовини і суворому контролю структурної досконалості отриманих плівок. Цей метод не зручний через те, що завдання застосування СТМ плівок доведеться вирішувати у кожному конкретному випадку окремо. Причому отримані результати можуть залежати не лише від властивостей матеріалу, але і від властивостей плівки. Тому діелектричні поверхні доцільніше досліджувати методом АСМ або СБОМ.

Принцип СТМ, простими словами, можна описати таким чином (рис.5.7).

Два провідних електрода, розділених деяким ізолятором (повітря або рідина) утворюють бар'єр для електронів всередині електродів. Якщо бар'єр досить тонкий, електрони можуть проходити через нього квантово-механічним способом, який називається тунелювання. В СТМ

бар'єр становить близько 1 нм. В СТМ зонд (з W або Pt-Ir сплаву) сканує поверхню зразка за допомогою п'єзoeлектричного пристрою на відстані від 0,5 до 1 нм. Як описано вище, бар'єр між зразком може виступати у вигляді газу, рідини або вакууму. Виділяють також низькотемпературні скануючі тунельні мікроскопи, що працюють в умовах криогенних температур.

Робота скануючого зондового мікроскопа ґрунтується на взаємодії поверхні зразка із зондом (кантилевер, голка або оптичний зонд). При малій відстані між

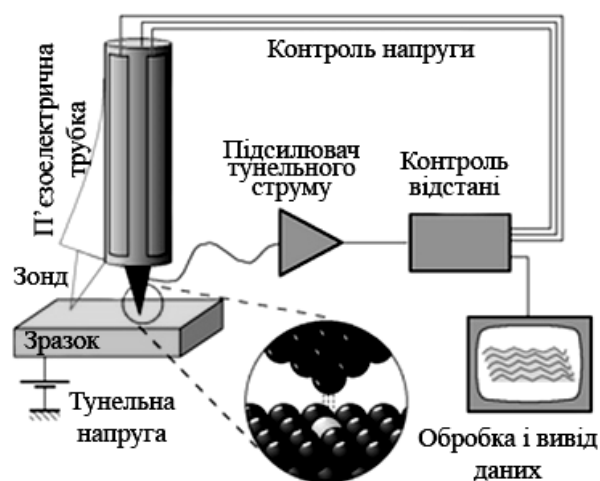


Рис.5.7. Схема роботи скануючого тунельного мікроскопа

поверхнею і зондом дію сил взаємодії (відштовхування, притягування й інших сил) і прояв різних ефектів (наприклад, тунелювання електронів) можна зафіксувати за допомогою сучасних засобів реєстрації. Для реєстрації використовують різні типи сенсорів, чутливість яких дозволяє зафіксувати малі за величиною збурення. Для отримання повноцінного растрового зображення використовують різні облаштування розгортки по осях X і Y (наприклад, п'єзотрубки, плоскопаралельні сканери).

Основні технічні складнощі при створенні скануючого зондового мікроскопа:

- кінець зонду повинен мати розміри порівнянні з досліджуваними об'єктами;
- забезпечення механічної (у тому числі теплової і вібраційної) стабільності на рівні краще $0,1\text{\AA}$;
- детектори повинні надійно фіксувати малі за величиною збурення реєстрованого параметра;
- створення прецизійної системи розгортки;
- забезпечення плавного зближення зонду з поверхнею.

Особливості роботи. Зараз, у більшості дослідницьких лабораторій скануюча зондова і електронна мікроскопія використовуються як доповнюючі один одного методи дослідження в силу фізичних і технічних особливостей.

Порівняно з растровим електронним мікроскопом (РЕМ) скануючий зондовий мікроскоп має ряд переваг. Так, на відміну від РЕМ, який дає псевдотривимірне зображення поверхні зразка, СЗМ дозволяє отримати істинно тривимірний рельєф поверхні. Крім того, в загальному випадку скануючий зондовий мікроскоп дозволяє отримувати зображення як поверхні, що є електропровідної, так і такої, що не проводить електричний струм. Тоді як, для вивчення об'єктів, що не проводять струм, за допомогою РЕМ необхідно металізувати поверхню. Для роботи з РЕМ потрібний вакуум, тоді як велика частина режимів СЗМ призначена для досліджень на повітрі, вакуумі та рідині. Завдяки цьому, за допомогою СЗМ можливо вивчати матеріали і біологічні об'єкти в нормальних для цих об'єктів умовах, наприклад, для вивчення

біомакромолекул та їх взаємодій, живих клітин. В принципі, СЗМ здатний дати більш високий дозвіл ніж РЕМ. Так, СЗМ в змозі забезпечити реальний атомний дозвіл в умовах надвисокого вакууму за відсутності вібрацій. Надвисоковакуумний СЗМ по дозволу можна порівняти з електронним мікроскопом, що працює на просвітлення.

До недоліку СЗМ при його порівнянні з РЕМ також слід віднести невеликий розмір поля сканування. РЕМ в змозі просканувати область поверхні розміром в декілька міліметрів в латеральній площині з перепадом висот в декілька міліметрів у вертикальній площині. У СЗМ максимальний перепад висот складає декілька мікрметрів (як правило, не більше 25 мкм), а максимальне поле сканування, у кращому випадку, близько 150×150 мкм. Інша проблема полягає в тому, що якість зображення визначається радіусом кривизни кінчика зонду, що при неправильному виборі зонду або його ушкодженні призводить до появи артефактів на отримуваному зображенні.

При цьому підготовка зразків для СЗМ займає менше часу, ніж для РЕМ.

Звичайний СЗМ не в змозі сканувати поверхню так швидко, як це робить РЕМ. Для отримання АСМ-зображення, як правило, вимагається декілька хвилин, тоді як РЕМ після відкачування здатний працювати практично в реальному масштабі часу, хоча і з відносно невисокою якістю. Для збільшення швидкодії АСМ було запропоноване декілька конструкцій [68], серед яких можна виділити зондовий мікроскоп, названий відео-АСМ. Відео-АСМ забезпечує отримання задовільної якості зображень поверхні з частотою телевізійної розгортки, що навіть швидше, ніж на звичайному РЕМ. Проте, застосування відеоАСМ обмежене. Оскільки, зазвичай працює тільки в контактному режимі і на зразках з відносно невеликим перепадом висот.

Окрім термодрейфа СЗМ-зображення можуть також бути спотворені гістерезисом п'єзокерамічного матеріалу сканера і перехресними паразитними зв'язками, діючими між X, Y, Z-елементами сканера. Для виправлення спотворень в реальному масштабі часу сучасні СЗМ використовують програмне забезпечення (наприклад, властивість-орієнтовне сканування) або сканери,

забезпечені замкнутими стежачими системами, до складу яких входять лінійні датчики положення. Сучасні СЗМ замість сканера у вигляді п'єзотрубки використовують X-, Y- та Z-елементи, механічно незв'язані один з одним, що дозволяє виключити частину паразитних зв'язків. Проте в деяких випадках, наприклад при поєднанні з електронним мікроскопом і ультрамікротомами конструктивно виправдано використання саме сканерів на п'єзотрубках.

Обробка отриманої інформації і відновлення отриманих зображень.

Як правило, зняте на скануючому зондовому мікроскопі зображення важко піддається розшифровці із-за властивих цьому методу спотворень. Практично завжди результати первинного сканування піддаються математичній обробці.

Для цього використовується програмне забезпечення, що безпосередньо поставляється разом із СЗМ, рис.5.8. Існує і програмне забезпечення поширюване по GNU ліцензії. Наприклад, Gwyddion [\[69\]](#).

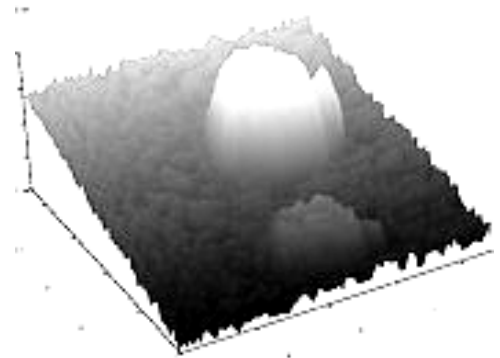


Рис.5.8. Приклад СЗМ-скану: спори аспергіла, вирощеного на чайній культурі на скляній

Режими роботи СЗМ.

Режим постійного струму (РПС)

передбачає підтримку в процесі сканування постійної величини тунельного струму за допомогою системи зворотного зв'язку. При цьому вертикальне зміщення сканера (сигнал зворотного зв'язку) відображає рельєф поверхні. Тунельний мікроскоп дозволяє отримувати справжню атомарну роздільну здатність навіть у звичайних атмосферних умовах. СЗМ може бути застосована для вивчення провідних поверхонь або тонких непровідних плівок і малорозмірних об'єктів на провідних поверхнях. Швидкість сканування в РПС обмежується використанням системи зворотного зв'язку.

Великі швидкості сканування можуть бути досягнуті при використанні *режиму постійної висоти (РПВ)*, однак РПС дозволяє досліджувати зразки з розвиненим рельєфом. При використанні режиму постійної висоти (РПВ) сканер СТМ переміщує зонд тільки в площині, так що зміни струму між вістрям

зонда і поверхнею зразка відображають рельєф поверхні. Оскільки в цьому методі немає необхідності відстежувати зондом відстань до поверхні зразка, швидкості сканування можуть бути вищими. Таким чином РПВ може бути застосований лише до зразків з дуже рівною поверхнею, оскільки неоднорідності поверхні будуть приводити до руйнації кінчика зонда. Для виключення цього на практиці все-таки використовується слабкий зворотний зв'язок, що підтримує деяку усереднену відстань зонд-поверхня. При використанні РПВ таким чином інформація про структуру поверхні виходить за допомогою струмових вимірювань, так що пряме вимірювання варіацій висоти неможливо.

Серед недоліків СЗМ можна згадати складність інтерпретації результатів вимірювань деяких поверхонь, оскільки СЗМ-зображення визначається не тільки рельєфом поверхні, але також і щільністю станів, величиною і знаком напруги зсуву, величиною струму. Наприклад, на поверхні високоорієнтованих піролітичного графіту (ВОПГ) можна бачити зазвичай тільки кожен другий атом. Це пов'язано зі специфікою розподілу щільності станів. Також, до недоліків слід віднести наступний чинник: поки вимірюваний в СЗМ струм, визначається процесами тунелювання через зазор зонд-поверхня зразка, його величина залежить не тільки від висоти бар'єру, але також і від щільності електронних станів. Відповідно одержувані в СЗМ зображення є не просто зображеннями рельєфу поверхні зразка, на ці зображення може сильно впливати розподіл густини електронних станів по поверхні зразка.

Режим помилки зворотного зв'язку (FB-error). Режим помилки зворотного зв'язку використовується для реєстрації дрібних об'єктів на неплоскій поверхні. У цьому випадку параметри СЗМ встановлюються таким чином, щоб він встигав відстежувати тільки великі пологі неоднорідності рельєфу, а зображення формується зміною тунельного струму на більш крутих неоднорідностях поверхні, які "повільний" СЗМ не встигає відстежувати. Таким чином, на СЗМ-зображенні видно ці відхилення струму. Такий режим можна розглядати як апаратне диференціювання рельєфу поверхні.

Описані режими використовуються в залежності від умов експерименту.

Принципи скануючої зондової мікроскопії. З рис.5.9 видно, що "помацати" поверхню можна тільки за допомогою маленького зондуючого елементу - "нанопальця", розмір якого близький до розміру досліджуваних об'єктів - атомів або великих поверхневих структурних деталей. Якщо розмір "нанопальця" збільшується, то доторкнутися можна тільки до ділянки поверхні, що включає багато атомів, тому, відповідно, дозвіл приладу зменшується і втрачає локальність.

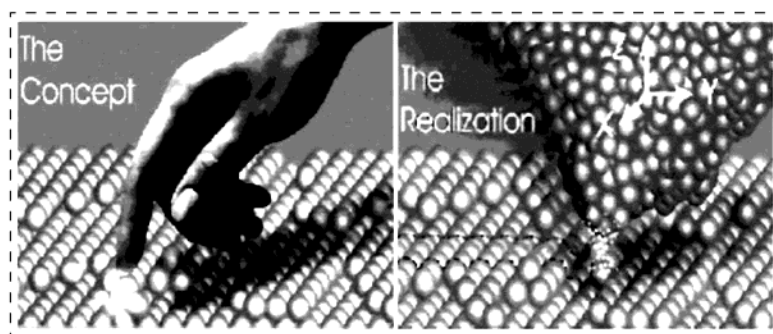


Рис.5.9. Концепція локального методу зондування поверхні [2]

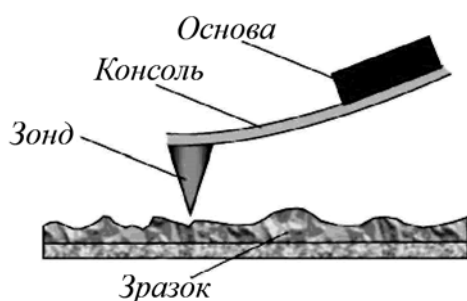


Рис.5.10. Схема контакту зонд-зразок в СЗМ [38]. Висота зонду (голки) перебільшена. Характерні масштаби: радіус закруглення зонду поблизу точки дотику з поверхнею 1...20 нм; висота зонду 1...10 мкм; довжина балки кантилевера 100 мкм, товщина і ширина 5 і 20 мкм відповідно. Висота апексу зонду над поверхністю 1...1000 нм, горизонтальні розміри області сканування 1...500 нм

Принципово важливою відмінністю методів СЗМ від інших, більше традиційних (наприклад, радіаційно-променевих), є різноманіття можливостей, що є в зоні контакту зонду, які зовсім не вичерпуються простим дослідженням рельєфу поверхні або виміром однієї виділеної властивості: зонд може реагувати на різні характеристики досліджуваного об'єкту, а також змінювати їх в потрібну сторону, причому відповідні зміни і їх контроль здійснюються одним і тим же приладом безпосередньо в ході експерименту.

На рис.5.10 показана загальна схема контакту зонду (голки) із зразком.

Істотно, що голка є частиною системи сканування - кантилевера (у англійській термінології - "cantilever"). По цьому при загальному аналізі властивостей системи кантилевер-зонд-поверхня необхідно враховувати декілька рівнів її складності і масштабною організації: балку кантилевера слід віднести до макро- або мезоскопічному рівню; основну (протяжну) частину зонду - до мікроскопічного, а його крайній край, звернений до досліджуваного об'єкту на поверхні - до наноскопічного, причому для атомів контактної зони (плями контакту) значну роль грає електронна структура. Очевидно, що зонд, мікро- і нановиступи поверхні можуть характеризуватися різним часом термодинамічної релаксації, тому в процесі зондування дана система є нестационарною і нерівноважною.

Конкретний режим сканування і управління положенням зонду у поверхні здійснюється за допомогою прецизійних п'єзоманіпуляторів [70], які управляються поданням відповідної напруги. Вхідні і вихідні сигнали мікроскопа задаються в електричній формі, тому виміри та їх обробка є характерними для електромеханічних систем. На рис.5.11 показана загальна функціональна схема зондового мікроскопа, що містить кантилевер з голкою, а також його основні системи: сканування, зворотного зв'язку, комп'ютерної обробки даних і управління.

Дія зонда на зразок залежить від значення прикладеної сили, електричного або теплового струму, інтенсивності та частоти зовнішнього випромінювання, а також від характеру проміжного середовища між зондом і поверхнею (вакуум, газ, рідина).

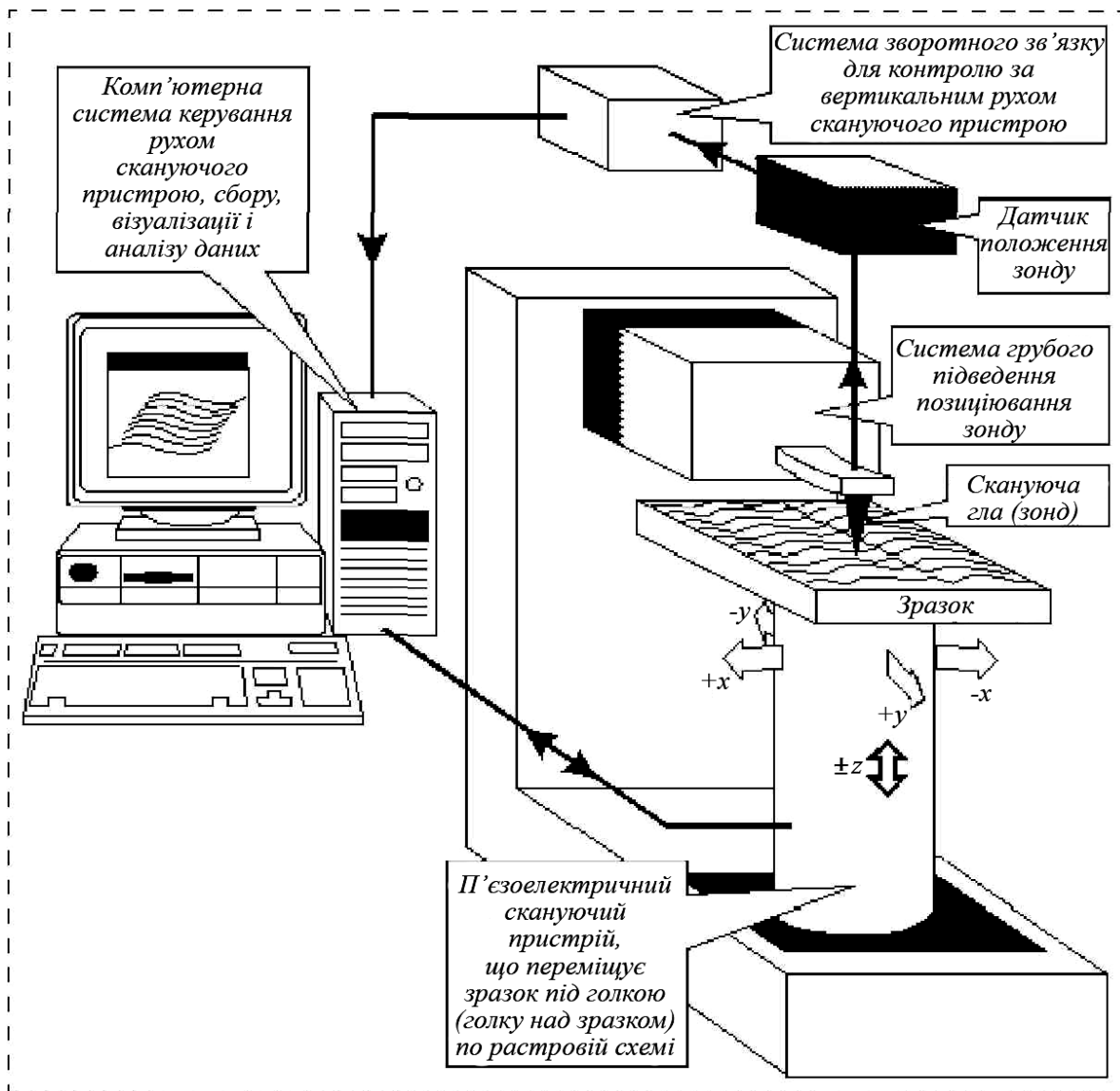


Рис.5.11. Узагальнена функціональна схема скануючого зондового мікроскопа [71]

При оптимально вибраному режимі сканування необхідно контролювати (за допомогою системи зворотного зв'язку мікроскопа) положення зонду відповідно до рельєфу поверхні, значенням сили, тунельного струму, інтенсивності світла тощо і яку-небудь іншу характеристику взаємодії з метою вивчення або зміни необхідної фізичної властивості або функції. Проте, якщо навіть контроль над положенням зонду забезпечений, можлива множинна реакція системи на різні дії. Наприклад, в режимах атомно-силової мікроскопії реакція (деформація) пружної балки кантилевера визначається сумарною дією усіх можливих сил, що виникають між зондом і зразком, характер яких, у свою чергу, може зумовлюватися додатковими фізичними чинниками. У режимах

тунельної мікроскопії тунельний струм між зондом і поверхнею залежить від енергії і щільності початкових і кінцевих станів електронів, їх імпульсу, типу симетрії хвильових функцій, висоти і ширини тунельних бар'єрів, температури тощо. Крім того, можливий вплив силової дії на значення тунельного струму - через зміни електронної структури, геометрії контактної зони і температури. Аналогічно, нагрів зонду в скануючому термічному мікроскопі (СТЕМ) і скануючому ближньопольному оптичному мікроскопі (СБОМ) впливає на атомну і електронну структуру контакту, силові взаємодії тощо. Чим менші розміри зонду і деталей поверхневого рельєфу, або чим вище значення необхідного дозволу, тим більше "делікатним" має бути процес вимірювань і тим суворіші вимоги, що пред'являються до параметрів системи.

Оскільки характер взаємодій між зондом і зразком є складним і залежить від режиму сканування, то термінологія, що використовується є сильно розгалуженою і, крім того, постійно змінюється і доповнюється, тому в даній монографії розглядатися не будуть. В той же час, для усіх типів СЗМ контакт зонд-поверхня має загальні риси, які, зокрема, стосуються характеристик силових взаємодій з якими в значній мірі визначається вибір робочого режиму СЗМ та умови сканування.

По-суті справи, зондові мікроскопи є єдиними багатофункціональними приладами для дослідження як топографії поверхні зразка, так і сукупності механічних, електронних, магнітних і оптичних властивостей поверхні з високим просторовим дозволом, оскільки фактично будь-які типи взаємодії тонкого вістря зонду із зразком можуть бути перетворені відповідними реєструвальними приладами і комп'ютерними програмами в зображення поверхні. Серед усього сімейства СЗМ можна виділити атомно-силовий мікроскоп (АСМ), за допомогою якого можливе спостереження окремих атомів і молекул і спрямовані маніпуляції з ними, магнітний (МСМ), ближньопольний оптичний мікроскоп (БОМ) тощо.

Нині скануюча зондова мікроскопія як метод вивчення і дії на поверхню впроваджена в практику наукових досліджень, використовується на

виробництві для вихідного контролю придатних виробів мікроелектроніки, а також в прикладних дослідженнях в хімії і біології. Комерційне виготовлення скануючих зондових мікроскопів і аксесуарів до них здійснює більше 20 фірм в США, Англії, Японії, Німеччині, Данії, Ізраїлі та Росії.

Для організації управління тунельним, атомно-силовим й іншими мікроскопами, а також для аналізу отримуваних результатів були створені діючі багатофункціональні аналітико-вимірювальні комплекси з цифровими системами управління.

5.1.2 Атомно-силова мікроскопія

Атомно-силова мікроскопія (АСМ) з'явилась як розвиток скануючої тунельної мікроскопії, але закладене в ній принципи дозволяють досліджувати поверхні різних матеріалів – провідників, напівпровідників, а також електричних ізоляторів [72-76]. Метод АСМ полягає в зондуванні поверхні зразка гострою голкою довжиною 1 – 2 мкм і діаметром не більше 10 нм, рис.5.12. Голка встановлюється на вільному кінці вимірювальної консолі.

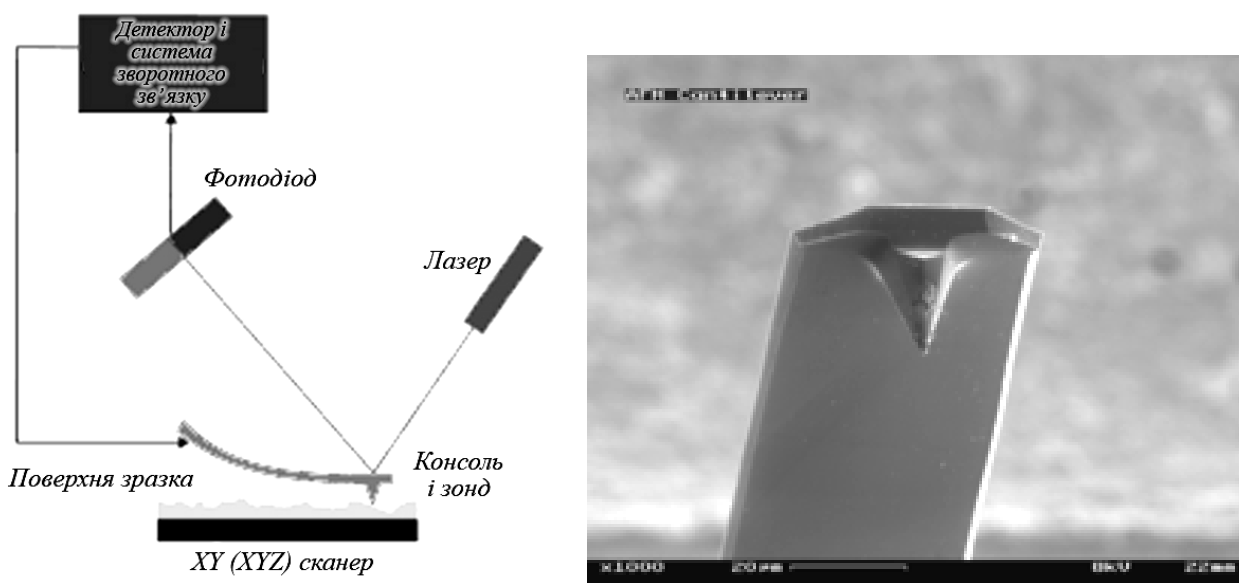


Рис.5.12. Схема роботи атомно-силового мікроскопа (а)
та зовнішній вигляд кантилеверу із зондом (б)

Основний принцип роботи АСМ полягає в дії сил зі сторони поверхні зразка на вістрі скануючої голки. Сила, яка часто асоціюється з АСМ -

це міжатомна сила притягання Ван–дер–Ваальса.

На рис.5.13 схематично представлена крива залежності міжатомної сили від відстані між вістрям голки і зразком.

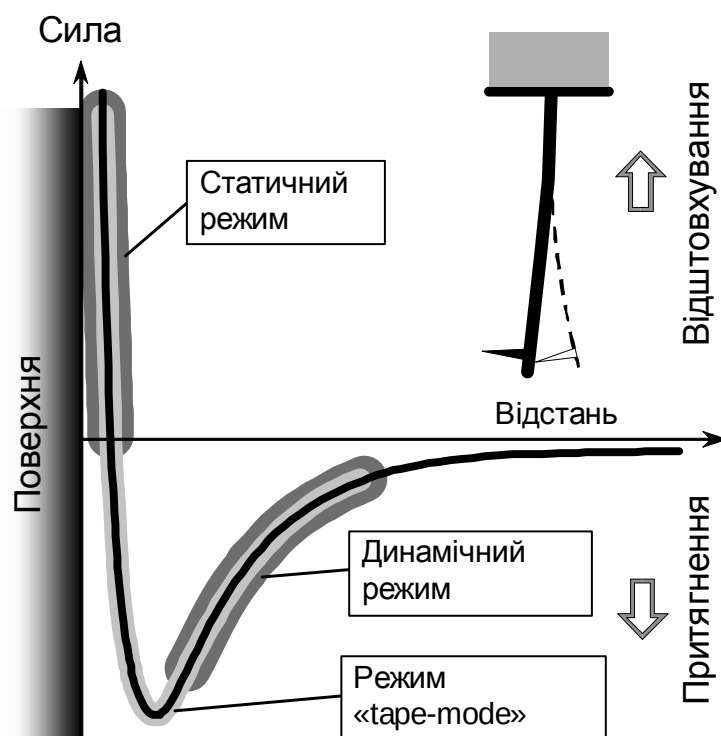


Рис.5.13. Залежність сили міжатомної взаємодії від відстані між вістрям і зразком

Права частина кривої характеризує ситуацію, коли атоми вістря і поверхні розділені великою відстанню. По мірі поступового зближення вони будуть спочатку слабо, а потім все сильніше притягуватися один до другого. Сила притягання буде збільшуватися до тих пір, поки атоми не будуть зближені настільки, що їх електронні хмари починають відштовхуватися під дією електростатичних сил. При поступовому зменшенні міжатомної відстані електростатичне відштовхування експоненційно послаблює силу притягання. Ці сили зрівнюються при відстані між атомами порядку двох ангстрем, що приблизно складає довжину хімічного зв'язку. Коли сумарна міжатомна сила стає додатною (відштовхуючою), то це означає, що атоми вступили в контакт.

Відносно контакту між вістрям скануючої голки і поверхнею досліджуваного зразка робота атомно-силового мікроскопу зазвичай проходить в одному із режимів, відповідно позначеним на рис.5.13 ділянкам кривої

міжатомної взаємодії. Це контактний (статичний) і безконтактний (динамічний) режими, поєднання яких дає режим «tape – mode» [77].

При контактному режимі (відомим також як режим відштовхування) вістря скануючої голки АСМ проходить в м'який «фізичний контакт» із зразком. Вимірювальна консоль, на вільному кінці якої розміщений зонд, зазвичай характеризується константою пружності, величина якої повинна бути менше ефективної константи пружності, яка враховує утримання атомів зразка разом.

Нахил кривої на графіку міжатомних сил в області відштовхування, або контакту, досить крутий (рис.5.13). Внаслідок цього відштовхуюча сила зрівнює практично любую силу, яка намагається зблизити атоми один з одним. Для АСМ це означає, що якщо вимірювальна консоль прижимає вістря голки до поверхні, то швидше зігнеться консоль, чим їй удасться приблизити вістря до атомів зразка, або деформується поверхня зразка.

Для контактного АСМ відштовхуюча міжатомна сила повинна бути зрівноважена іншими зусиллями. Це проходить завдяки наявності двох сил – капілярної та консольної.

Капілярна сила – це дія на вістря скануючої голки зі сторони тонкого шару вологи, зазвичай присутньої на поверхні, що знаходиться в звичайному середовищі. Капілярна сила виникає, коли адсорбована на поверхні волога починає взаємодіяти із вістрям (рис.5.14). Це викликає на вістрі сильну притягуючу дію (приблизно 10^{-8} Н), утримуючи його в контакті з поверхнею. Величина капілярної сили залежить від відстані між вістрям і зразком.

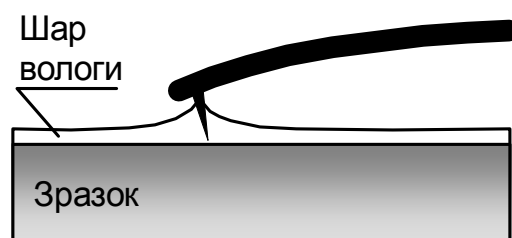


Рис.5.14. Схема виникнення капілярної сили

Дивлячись на те, що вістря знаходиться в контакті із зразком, капілярна сила повинна бути постійною, оскільки відстань між вістрям і зразком фактично не змінюється. Інша умова, яка дозволяє рахувати капілярну силу

постійною, це свідчення про достатню однорідність шару вологи.

Дія зі сторони самої вимірювальної консолі подібне зусиллю в зжатій пружині. Величина і знак (відштовхуюча або притягування) «консольної сили» залежить від відхилення консолі і її константи пружності. Сила, що прикладена вимірювальною консоллю контактного режиму АСМ, на відміну від капілярної являється змінною.

Загальне зусилля, яке прикладається зі сторони вістря скануючої голки до зразка, це сума капілярної і консольної сили. Величина сумарної сили варіюється від 10^{-8} Н (коли вимірювальна консоль відводиться від зразка з таким же зусиллям, як вода притягує вістря до його поверхні) до оптимального робочого діапазону в межах $10^{-7} \dots 10^{-6}$ Н.

В безконтактному режимі, також відомому як режим притягання, АСМ відслідковує сили Ван-дер-Ваальса між вістрям скануючої голки і зразком. Зазор між вістрям і зразком зазвичай складає 5-10 нм. На такій відстані електронні орбіталі атомів вістря скануючої голки починають синхронізувати з електронними орбіталями атомів зразка. В результаті виникає слабе притягання, тому що влюбий момент атоми вістря і зразка поляризуються в одному і тому ж напрямку. У вільному просторі ці атоми будуть зближуватися до тих пір, поки сильне електростатичне відштовхування, описане вище, не стане переважаючим.

Із рис.5.13 видно, що в області безконтактної роботи АСМ нахил кривої сил Ван-дер-Ваальса більш пологий, чим при контактній. Такий пологий нахил означає менше відхилення вимірювальної консолі при реакції на зміні величини зазору між вістрям і зразком. Крім того, в даному випадку необхідно використати більш жорстоку консоль, оскільки в протилежному випадку вістря скануючої голки «залипне» на поверхні зразка як тільки наблизиться до неї на достатньо малу відстань, коли почнуть працювати сили притягання. Але слід враховувати, що жорстка консоль у відповідь на малі сили відштовхування менше чим м'яка, і тому для безконтактного режиму АСМ повинна бути використана більш чутлива схема детектування.

В безконтактному режимі роботи АСМ сумарна сила між вістрям і зразком невелика – зазвичай $\sim 10^{-12}$ Н. Ця мала сила являється перевагою при дослідженні м'яких і пружних зразків. Є ще одна перевага, яка полягає в тому, що такі зразки, як, наприклад, кремнієві підложки не забруднюються при контакті з вістрям.

При дослідженні жорстких зразків зображення, отримані в контактному і безконтактному режимах, можуть виглядати однаково. Але якщо на поверхні жорсткого зразка лежить, наприклад,

декілька моношарів конденсованої вологи, то ці зображення можуть значно розрізнятися. АСМ, працюючий в контакті, буде проникати під шар рідини, відображаючи поверхню зразка, тоді як безконтактний АСМ буде давати зображення поверхні шару вологи (рис.5.15).

Відносно збудження вимушених коливань вимірювальної консолі АСМ розрізняють два режими – статичний і динамічний. Якщо коливання модулюються і вимірювальної консолі АСМ, то такий режим називають динамічним, в іншому випадку – статичному.

В статичному режимі сили взаємодії між вістрям голки і поверхнею зразка викликають відхилення вимірювальної консолі, згибаючи її до досягнення статичної рівноваги. В процесі сканування зразка (при рухові вістря над нерухомим зразком або зразка під нерухомим вістрям) АСМ детектує відхилення консолі, формуючи набір даних про топографію одним із двох

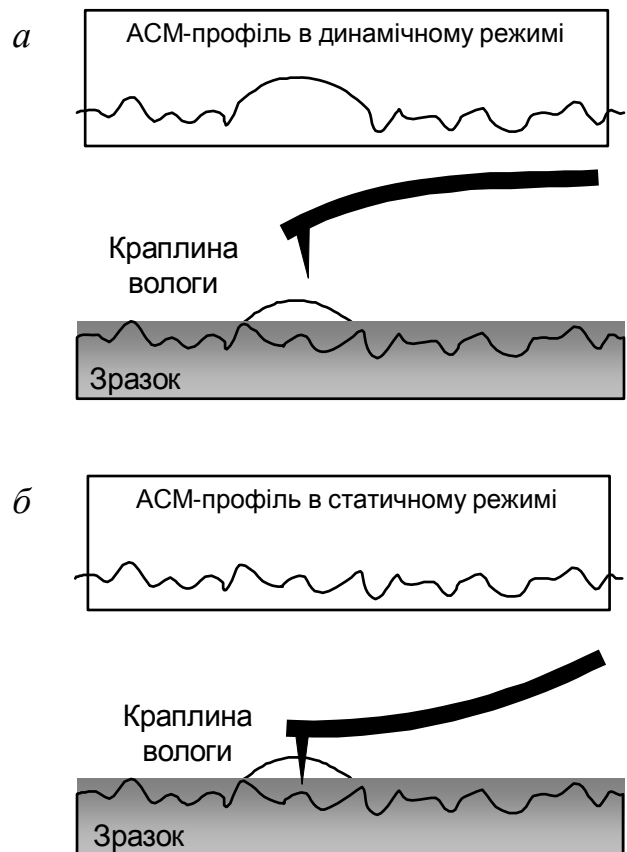


Рис.5.15. АСМ – профілі в а – динамічному та б – статичному режимі при наявності на поверхні вологи

методів. В першому, який називається режимом постійної висоти (або режим змінного відхилення), дані про зміну положення консолі у просторі можуть бути безпосередньо використані для формування зразка топографії.

В іншому режимі, який називають режимом постійної сили, відхилення вимірювальної консолі використовується як вхідний параметр для системи зворотного зв'язку, який підтримує величину цього відхилення постійної. В даному випадку скануючий пристрій рухається вгору і вниз по вісі z і відповідності з поточними умовами мікрорельєфу поверхні зразка, і на основі даних про ці переміщення формується зображення топографії. Режим постійної сили за – звичай найбільш подавляючий у більшості випадків: але швидкість сканування тут обмежена швидкістю реакції системи зворотного зв'язку, але загальна дія, що пред'являється на подібні вістря скануючої голки, добре контролюється. Зображення, отримані в режимі постійної сили, за – звичай легко інтерпретують як зразки топографії.

В динамічному режимі система АСМ модулює механічні коливання вимірювальної консолі на частоті, близькій до резонансної (типові значення знаходяться в діапазоні 30...300 кГц), з амплітудою в декілька нанометрів. Величина резонансної частоти залежить від зовнішньої прикладеної сили, і тому в процесі наближення вістря скануючої голки до поверхні зразка вона змінюється, така як при цьому змінюється і величина сили Ван-дер-Ваальса (рис.5.13). Відштовхуюча сила стабілізує пружну реакцію консолі і збільшує резонансну частоту, а при дії сили тяжіння спостерігається зворотна картина.

В процесі сканування зразка в динамічному режимі система зворотного зв'язку АСМ рухає скануючий пристрій вгору і вниз, зберігаючи або амплітуду, або резонансну частоту вимірювальної консолі постійною, що дозволяє підтримувати постійним і середню відстань між вістрями і зразком. Як і при роботі в статичному режимі постійної сили, дані про пошкодження скануючого пристрою використовується для візуалізації топографії. При такому методі вимірюється і візуалізується поверхня постійного градієнта сил. Чутливість схеми детектування в динамічному режимі забезпечує субангстремну

вертикальну різницю на зображеннях.

Для отримання зображень поверхні зразка можна використовувати не тільки дані про переміщення скануючого пристрою («запис по висоті»), а і про зміни в процесі сканування амплітуди або частоти коливань консолі. У випадку «запису по амплітуді» або «по частоті» виникає можливість візуалізувати розподілення механічних властивостей по поверхні зразка, що дає не менш цінну інформацію, чим дані про його топографію.

Якість результатів, які можна отримати в безконтактному режимі, в значній мірі залежить від використання якісної вимірювальної консолі і скануючої голки. Вимірювальна консоль для безконтактного режиму, як відмічалось, повинна бути значно жорсткіша, чим консоль для контактного АСМ, щоб в процесі коливань вона випадково не доторкнулась поверхні. Більш того, гостра гілка для безконтактного АСМ важливіша, чим для контактного: при роботі в такому режимі нахил кривої сил Ван-дер-Ваальса малий, тому з поверхнею зразка буде взаємодіяти більшість атомів вістря.

5.1.3 Ближньопольна оптична мікроскопія

Ще зовсім нещодавно вважалося, що межі можливостей оптики ставить фундаментальний релеєвський критерій дозволу оптичних приладів. Він полягає в тому, що мінімальний розмір помітного об'єкту дещо менше довжини хвилі використовуваного світла і принципово обмежений дифракцією випромінювання. Проте останнім часом з'явилася і викликає все більший інтерес можливість вивчення і формування оптичними методами різних структур нанометрових розмірів, які у багато разів менше довжини світлової хвилі. Така можливість виникла у зв'язку з розвитком ближньопольної оптики (БПО) - нового і надзвичайно перспективного напрямку фізичної і прикладної оптики. З фізичної точки зору вона оснований на присутності в далекій зоні випромінювання слідів взаємодії світла, що цілком ідентифікуються з мікрооб'єктом, що знаходиться в ближньому світловому полі, яке локалізоване на відстанях багато менших. У технічному сенсі БПО поєднує елементи

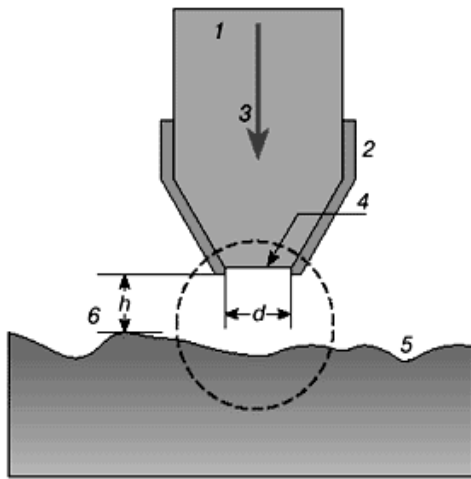


Рис.5.16. Схема волоконно-оптичного ближньопольного зонду: 1 – загострене оптичне волокно; 2 – металеве покриття; 3 – випромінювання, що проходить крізь зонд; 4 – вихідна апертюра зонду ($d \ll \lambda$); 5 – поверхня досліджуваного зразка; 6 – відстань між досліджуваною поверхнею та апертурою зонда ($h \ll \lambda$). Штрихами окреслена область ближньопольного контакту

звичайної оптики і скануючої зондової мікроскопії. Відмітним елементом ближньопольних приладів є оптичний зонд (рис.5.16), яким зазвичай є загострене оптичне волокно 1, зовнішня поверхня якого, за винятком вершини конуса, покрита непрозорим шаром металу 2.

Частина світлового потоку, що поширюється по волокну, проходить через вихідний переріз зонду як крізь діафрагму в металевому екрані і досягає зразка, розташованого у ближньому полі джерела. Якщо відстань z до поверхні зразка і радіус a діафрагми задовольняють умові, то розмір світлової плями на зразку

близькій до розміру діафрагми. При переміщенні зонду уздовж зразка можлива реалізація дозволу, не обмеженого дифракцією або наддозволу.

Подібна ідея була запропонована ще в 1928 році Сингхом (E.N. Syngh), вона набагато випередила технічні можливості свого часу і залишилася практично не поміченою. Її перше підтвердження було отримане Ешем (E.A. Ash) в дослідях з мікрохвилями в 1972 році. На початку 80-х років група дослідників з Цюрихської лабораторії фірми IBM на чолі з Дитером Полем (D.W. Pohl) проникла всередину дифракційної межі і продемонструвала дозвіл на приладі, що працює у видимому оптичному діапазоні і дістав назву ближнепольного скануючого оптичного мікроскопа (БСОМ). Трохи раніше в тій же лабораторії був створений перший скануючий тунельний мікроскоп, що приніс їй всесвітню популярність.

На відміну від тунельного і атомно-силового мікроскопів, що відразу

завоювали визнання, БСОМ деякий час залишався в тіні. Унікальні можливості БСОМ були переконливо продемонстровані лише на початку 90-х років, коли вдалося розв'язати дві важливі технічні проблеми: істотно підвищити енергетичну ефективність зондів і забезпечити надійний контроль відстані між вістрям і зразком. Останніми роками в десятках лабораторій успішно ведуться роботи по використанню БСОМ при рішенні широкого кола завдань фізики поверхні, біології, техніка запису і прочитування інформації та інше. З 1993 року в США ведеться промисловий випуск приладів БПО.

Історія СБОМ почалася з ідеї дуже малого отвору для джерела світла (менше, ніж $\lambda/2$). Як відомо, оптичні мікроскопи обмежені дифракційною межею. Але якщо в якості зонда взяти мініатюрну діафрагму з отвором у кілька нанометрів – апертуру [78], то відповідно до законів хвильової оптики, видиме світло (з довжиною хвилі кілька сотень нанометрів) проникає в такий маленький отвір на відстань, порівнянну з розмірами отвору (рис.5.17).

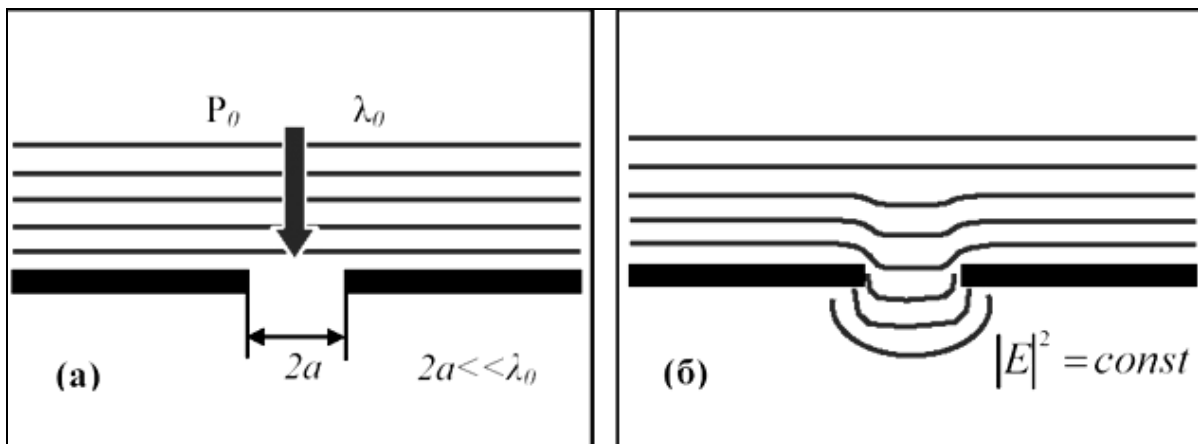


Рис.5.17. Проходження світла через апертуру

Якщо в межах цієї відстані, в так званому «ближньому полі», поставити зразок, розсіяне від нього світло буде реєструватися. Переміщуючи діафрагму в безпосередній близькості від зразка, отримаємо растрове зображення поверхні. Таким чином, ближньопольне зображення формується при скануванні досліджуваного зразка діафрагмою і субхвильовим отвором і реєструється у вигляді розподілу інтенсивності оптичного випромінювання в залежності від положення діафрагми. Контраст на БОМ зображеннях визначається процесами

відображення, заломлення, поглинання і розсіяння світла, які, у свою чергу, залежать від локальних оптичних властивостей зразка.

Конструкція БОМ включає такі компоненти: джерело світла, система зворотного зв'язку, скануючий зонд, датчик і п'єзоелектрична платформа. Джерело світла (звичайно - лазер) фокусується на оптичне волокно і проходить через поляризатор, світлодільник і пристрій зв'язку. Поляризатор і світлодільник служать для відділення розсіяного світла від зворотного відбитого світла. Унікальність ближньопольної оптичної мікроскопії в порівнянні з іншими скануючими методами полягає в тому, що зображення будується безпосередньо в оптичному діапазоні, в тому числі видимого світла і роздільна здатність багаторазово перевищує роздільну здатність традиційних оптичних систем. На сьогоднішній день БОМ має здатність давати тривимірні результати оптичного сканування і високу роздільну здатність сканування. Але і є деякі проблеми, пов'язані з використанням такого методу сканування:

1) Чим менше апертура, тим більш гарячий зонд. У гострих покритих алюмінієм зондах можна досягти температури плавлення зонда і пошкодити досліджуваний зразок.

2) Існує безліч технічних проблем, пов'язаних з виготовленням зондів, тому що для уникнення витоку світла потрібен зонд з товстим металевим покриттям, інакше світловий витік покритих металом зондів викликає артефакти і зменшує контраст, і ці ефекти можуть бути тільки частково згладжені методами модуляції.

3) Через високі температури і тупість зонду важко контролювати режим постійної висоти.

На практиці використовують кілька конструктивних схем БОМ. Основні конфігурації БОМ показані схематично на рис.5.18.

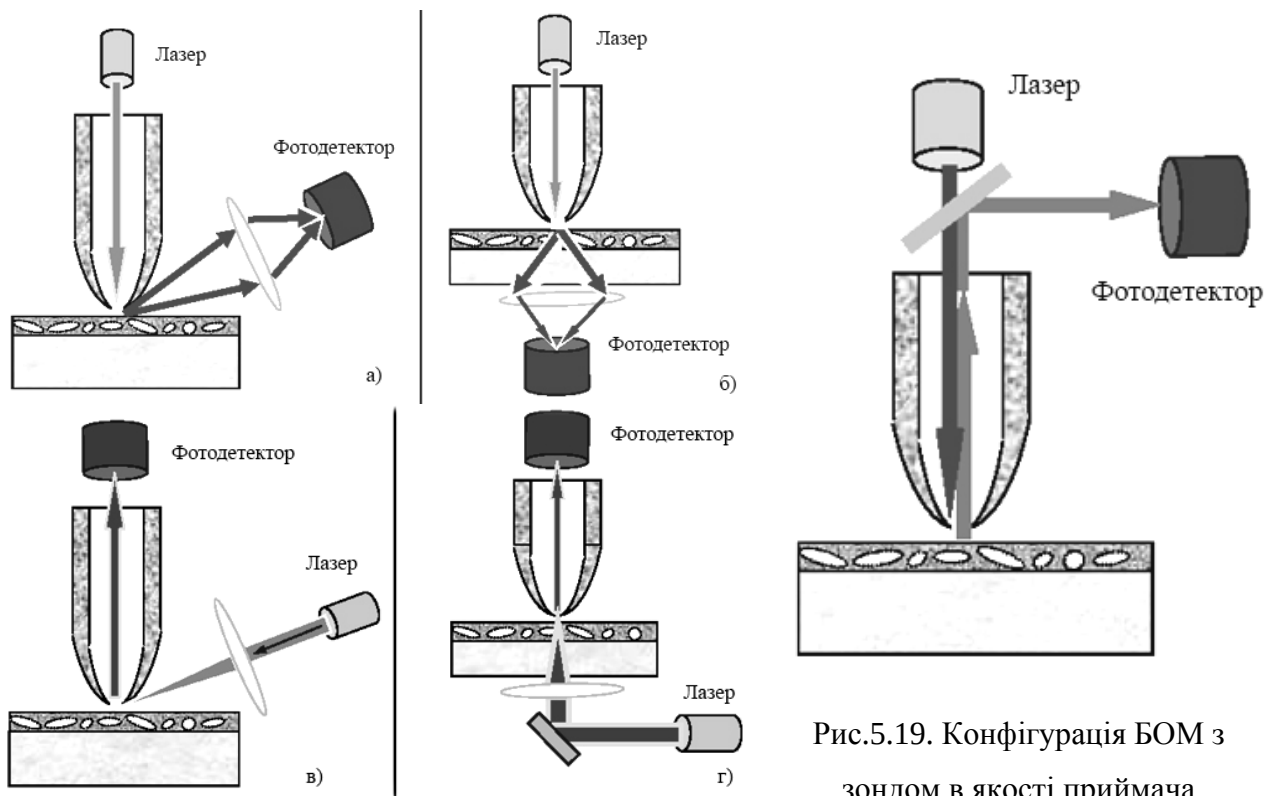


Рис.5.18. Конфігурації ближньопольного оптичного мікроскопу

Рис.5.19. Конфігурація БОМ з зондом в якості приймача і джерела світла

Найбільш часто використовується схема, в якій оптичне випромінювання лазера локалізується за допомогою волоконного зонда. Така схема дозволяє отримати максимальну потужність випромінювання в області субхвильового отвору і проводити дослідження зразків як на відображення (рис.5.18, а), так і на просвіт (рис.5.18, б). Для збільшення чутливості випромінювання, відбите від зразка або що пройшло крізь зразок, збирається на фотоприймачі за допомогою фокусуючого дзеркала або лінзи. Крім того, дана конфігурація БОМ широко використовується в експериментах з ближньопольною оптичною літографією.

У випадках, коли потрібно високий рівень оптичного накачування (як наприклад, при дослідженні локальних нелінійних властивостей зразка), реалізується схема, в якій потужне лазерне випромінювання направляється на досліджувану структуру, а прийом здійснюється за допомогою ближньопольного зонда (рис.5.18, в, г).

Цікава, але менш поширена схема, в якій збудження структури і прийом

ближньопольного випромінювання здійснюється через зонд мікроскопа (рис.5.19). Таке розміщення ближньопольного джерела з ближньопольним приймачем є вельми перспективним методом, що забезпечує дуже високу просторову роздільну здатність. В даній схемі випромінювання проходить двічі через субхвильовий отвір. Це призводить до того, що на фотоприймач приходить сигнал з низькою інтенсивністю, що потребує високочутливих методів його реєстрації.

Існують також безапертурні режими сканування [79], хоча вони менш популярні, ніж апертурні. Їх можна розділити на чотири групи.

Тунелювання фотона. Цей метод оснований на випромінюванні світла через зразок під кутом в діапазоні загальної кількості відображення гострим

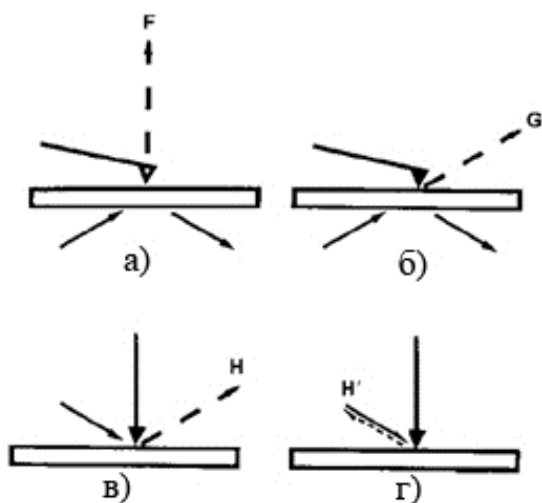


Рис.5.20. Схема безапертурного методу

прозорим, або непрозорим зондом на плоскій поверхні (рис.5.20, а, б). Але в такому методі відбувається інтерференція між полем зонда і фоновим полем, це може призвести до затемнення зображення. Крім того, топологія і показання заломлення локальних змін об'єднуються в оптичний сигнал, що призводить до артефактів, які важко виправити.

Другий метод використовує подвійну модуляцію (вертикальна вібрація зонда і латеральна зразка) з віддзеркаленням світла від інтерферометра назад до інтерферометра (рис.5.18, г).

Третій метод використовує ближньопольне розсіювання (рис.5.18, в). Відбувається фокусування лазерного пучка на вершині металевго зонда. Тут зонд виступає в ролі розсіючого пристрою, який знаходиться в коливальному режимі з метою посилення сигналу. Через розсіяння від освітлення зонда і зразка відбувається спотворення сигналу, уникнути цього можна шляхом демодуляції. Такий метод не підходить для застосування до

поверхонь з нерозвиненим рельєфом.

Четвертий безапертурний метод - оснований на освітлення та зворотному відбитті від гострого конічного волокна. Гострий зонд без покриття виступає в ролі випромінювача і детектора.

Нижче розглянута одна з простих схем ближнепольного мікроскопа, дано пояснення можливості отримати наддозвіл в оптиці виходячи з перших принципів, обговорюються деякі застосування БПО.

До теперішнього часу створені близько 20 типів БСОМ, що розрізняються особливостями оптичної схеми і функціональним призначенням зонду. Принцип дії апертурних БСОМ, що становлять переважачу більшість сучасних приладів, пояснює приведена на рис.5.21 блок-схема мікроскопа.

Промінь лазера (зазвичай гелій-неонового або аргонного) через елемент, що погоджує, потрапляє в загострене металізоване волокно і на виході звужується до розмірів діафрагми. Взаємне переміщення вістря і зразка в трьох вимірах x , y , z здійснюється за допомогою п'єзодвигунів. Фотони, що пройшли через зразок або віддзеркалені і розсіяні уловлюються одним з мікрооб'єктивів (2 або 1 відповідно, рис.5.21) і спрямовуються в реєструвальний прилад, зазвичай фотопомножувач.

Такий мікрооб'єктив, як правило, входить в схему звичайного оптичного мікроскопа, що дозволяє здійснити вибір досліджуваної ділянки і його прив'язку до ширшого поля. Приведена на рис.5.21 схема відноситься до приладів, працюючих в режимі освітлення (illumination mode). Широко поширені прилади, працюючі в режимі збору фотонів (collection mode), коли зонд переносить фотони від зразка, освітленого, наприклад, через мікрооб'єктив, до детектора. У комбінованому режимі (освітлення / збір) зонд виконує одночасно обидві функції.

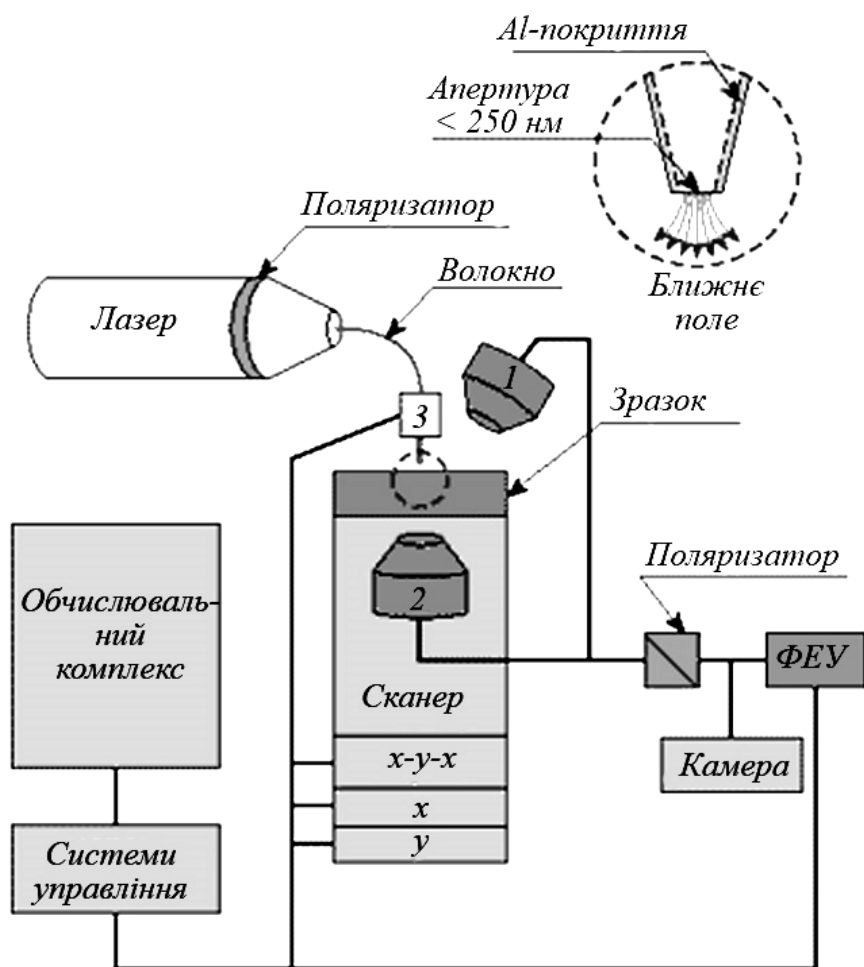


Рис.5.21. Блок-схема ближньопольового мікроскопу: 1 – мікроб'єктив, що працює у віддзеркаленому світлі; 2 – мікроб'єктив, що працює у світлі, яке проходить; 3 – п'єзодвигун для переміщення зонду. Штрихами окреслена область ближньопольового контакту

Щоб встановити вістря на потрібній висоті над зразком, в усіх скануючих зондових мікроскопах використовують залежність величини I реєстрованого сигналу від z . У більшості типів БСОМ залежність $I(z)$ неоднозначна, оскільки разом з ближньопольним сигналом I_1 реєструється сигнал I_2 , що також періодично змінюється з величиною z , який викликаний інтерференцією хвиль, що падають та перевіддзеркалюються в системі зонд-зразок. Це утрудняє або робить повністю неможливим надійний контроль z за величиною $I = I_1 + I_2$ при зближенні вістря із зразком. Кращим рішенням проблеми є введення у БСОМ допоміжних вузлів, що дозволяють їм здійснювати також функції скануючого тунельного або атомно-силового мікроскопів, в яких визначення z не викликає

істотних труднощів. У таких комбінованих приладах запис зображення здійснюється одночасно по двох каналах, один з яких відтворює рельєф поверхні, а інший - локальний розподіл показника заломлення в найтоншому приповерхневому шарі. Можливість розрізнення оптичного і топографічного контрастів істотно спрощує інтерпретацію зображення. Найбільше поширення отримав метод контролю z , оснований на зміні тангенціальної складової сили фізичної взаємодії вістря із зразком (shear force).

Роздільна здатність ближньопольних мікроскопів. Основною характеристикою БСОМ є просторовий дозвіл, який в сильному ступені залежить від умов освітлення або в загальнішому випадку - від спостереження зразка, структури його поверхні і мікрогеометрії зонду. Відомо, що функція імпульсного відгуку дифракційно-обмеженої оптичної системи описується розподілом Ері. Напівширина головного максимуму розподілу відповідає дозволу за Релеєм: $\Delta x = 0,61\lambda/\sin \varphi$, де φ - апертурний кут, на границі при $\varphi \rightarrow \pi/2$, $\Delta x \rightarrow \Delta x_{\min} = 0,61\lambda$. При проходженні світла через малу діафрагму із-за розсіювання і геометричних обмежень відбувається спотворення і розширення Δf , яке також описується розподілом Ері $\Delta f = 0,61/a$. В результаті при $a \rightarrow 0$ хвилеве поле безпосередньо за діафрагмою містить скільки завгодно великих просторових частот і як наслідок цього $\Delta x_{\min} \rightarrow 0$. У реальній ситуації із-за кінцевої проникності металевого екрану (покриття) мінімальний ефективний радіус діафрагми визначається глибиною проникнення світла в метал або скін-шар товщиною δ . З урахуванням цього очікуваний граничний дозвіл, наприклад, для зонду з алюмінієвим покриттям у видимому діапазоні спектру складає $\Delta x_{\min} \approx 2\delta \approx 13$ нм, що відповідає кращим експериментальним результатам. Відсутність фізичних обмежень розміру вершини зонду у безапертурних БСОМ дозволяє реалізувати в них дозвіл краще 1 нм.

5.1.4 Магнітно-силова мікроскопія

Магнітно-силовий мікроскоп (МСМ) [68, 80] був винайдений І.Мартіном і К.Вікрамасінгхом в 1987 р. для дослідження локальних магнітних

властивостей зразків. Цей прилад є атомно-силовим мікроскопом, у якого зонд покритий шаром феромагнітного матеріалу з питомою намагніченістю $M(r)$.

У загальному випадку опис взаємодії зонду МСМ з полем зразка $H(r)$ є досить складним завданням. В якості простої моделі розглянемо МСМ зонд у вигляді поодинокого магнітного диполя, що характеризується магнітним моментом M , рис.5.22.

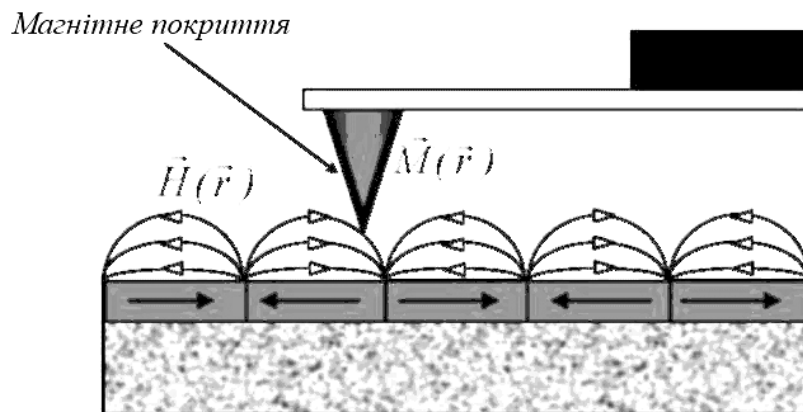


Рис.5.22. Зонд МСМ в магнітному полі зразка

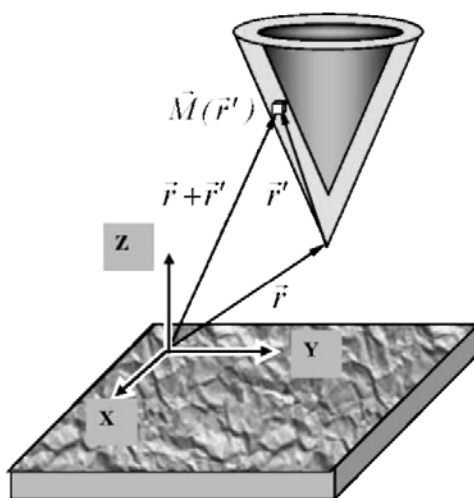


Рис.5.23. Взаємодія МСМ зонду з магнітним полем зразка

Потенційна енергія такої системи дорівнює: $w = -(\vec{m} \vec{H})$.

У полі H на магнітний диполь діє сила: $\vec{f} = -grad(w) = \vec{\nabla}(\vec{m} \vec{H})$ і момент сил, рівний $\vec{N} = [\vec{m} \vec{H}]$.

У однорідному магнітному полі сила $f = 0$, так що на диполь діє лише момент сил, який розгортає магнітний момент m уздовж поля. У неоднорідному полі диполь втягується в область з

більшою напруженістю H .

У загальному випадку магнітний момент зонду МСМ можна представити як суперпозицію диполів виду: $M(r)dV$, де M - питома намагніченість магнітного покриття, dV - елементарний об'єм.

Тоді повна енергія магнітної взаємодії зонду і зразка може бути представлена (рис.5.23) в наступному виді:

$$W_{i\ \dot{a}\dot{a}} = - \int_V \overline{M}(\vec{r}') \cdot \overline{H}(\vec{r} + \vec{r}') dV'$$

(інтеграція проводиться по магнітному шару зонду). Звідси сила взаємодії зонду з полем зразка дорівнює:

$$\vec{F} = -grad(W_{i\ \dot{a}\dot{a}}) = \int_V \vec{\nabla}(\overline{M} \overline{H}) dV'.$$

Відповідно Z-компонента сили:

$$F_z = - \frac{\partial W_{i\ \dot{a}\dot{a}}}{\partial z} = \int_V \left(M_x \frac{\partial H_x}{\partial z} + M_y \frac{\partial H_y}{\partial z} + M_z \frac{\partial H_z}{\partial z} \right) dV'$$

Для отримання МСМ-зображень зразків застосовуються квазістатичні і коливальні методики.

Квазістатичні методики МСМ. МСМ-зображення поверхні зразків, що мають слабо розвинений рельєф поверхні, отримують таким чином. Під час сканування зондовий датчик переміщається над зразком на деякій відстані $h = \text{const}$. При цьому величина вигину кантилевера, реєстрована оптичною системою, записується у вигляді МСМ зображення $F(x, y)$, що є розподілом сили магнітної взаємодії зонду із зразком.

Для МСМ досліджень магнітних зразків з сильно розвиненим рельєфом поверхні застосовується двопрхідна методика. У кожному рядку сканування робиться наступна процедура. На першому проході знімається АСМ зображення рельєфу в контактному або "напівконтактному" режимі. Потім зондовий датчик відводиться від поверхні на відстань z_0 , і здійснюється повторне сканування (рис.5.24). Відстань z_0 вибирається так, щоб сила Ван-дер-Ваальса була менше сили магнітної взаємодії.

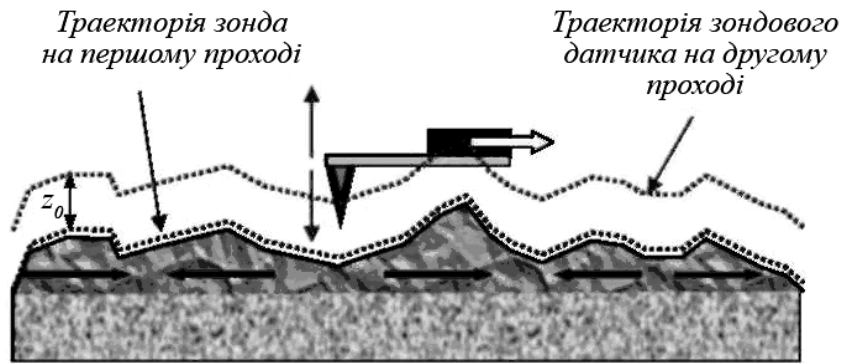


Рис.5.24. Двопрохідна методика отримання МСМ зображення

На другому проході датчик переміщається над поверхнею по траєкторії, що повторює рельєф зразка. Оскільки в цьому випадку локальна відстань між зондовим датчиком і поверхнею в кожній точці постійно, зміни вигину кантилевера в процесі сканування пов'язані з неоднорідністю магнітних сил, діючих на зонд з боку зразка. Таким чином, підсумковий МСМ кадр є двовимірною функцією $F(x, y)$, що характеризує розподіл сили магнітної взаємодії зонду із зразком:

$$F'_z = \frac{\partial F_z}{\partial z} = \int_V \vec{M}(\vec{r}') \frac{\partial^2}{\partial z^2} \vec{H}(\vec{r} + \vec{r}') dV'.$$

Для отримання МСМ зображення поверхні використовується двопрохідна методика. За допомогою п'єзовібратора збуджуються коливання кантилевера на частоті поблизу резонансу. На першому проході в "напівконтактному" режимі записується рельєф поверхні. На другому проході зондовий датчик рухається над зразком по траєкторії, що відповідає рельєфу, так, що відстань між ним і поверхнею в кожній точці дорівнює величині $z_0 = \text{const}$, визначуваною оператором. МСМ зображення формується за допомогою реєстрації змін амплітуди або фази коливань кантилевера.

Амплітуда і фаза коливань кантилевера можуть бути представлені (за умови, що варіації F_z уздовж поверхні невеликі) таким чином:

$$A(F'_z) = A(F'_{z0}) + A'_{F_z}(F'_z) \Big|_{F'_{z0}} \Delta F'_z,$$

$$\phi(F'_z) = \phi(F'_{z0}) + \phi'_{F_z}(F'_z) \Big|_{F'_{z0}} \Delta F'_z.$$

Тоді зміни амплітуди і зрушення фази коливань, пов'язані з варіаціями градієнта сили, будуть дорівнювати:

$$\Delta A = A(F'_z) - A(F'_{z0}) = A'_{F_z}(F'_z) \Big|_{F'_{z0}} \Delta F'_z,$$

$$\Delta \varphi = \varphi(F'_z) - \varphi(F'_{z0}) = \varphi'_{F_z}(F'_z) \Big|_{F'_{z0}} \Delta F'_z.$$

Застосування коливальних методик в магнітно-силовій мікроскопії дозволяє реалізувати велику (в порівнянні з квазістатичними методиками) чутливість і отримувати якісніші МСМ зображення зразків. Наявність градієнта сили призводить до зміни резонансної частоти, а отже, до зрушення АЧХ і ФЧХ системи зонд-зразок, рис.5.25.

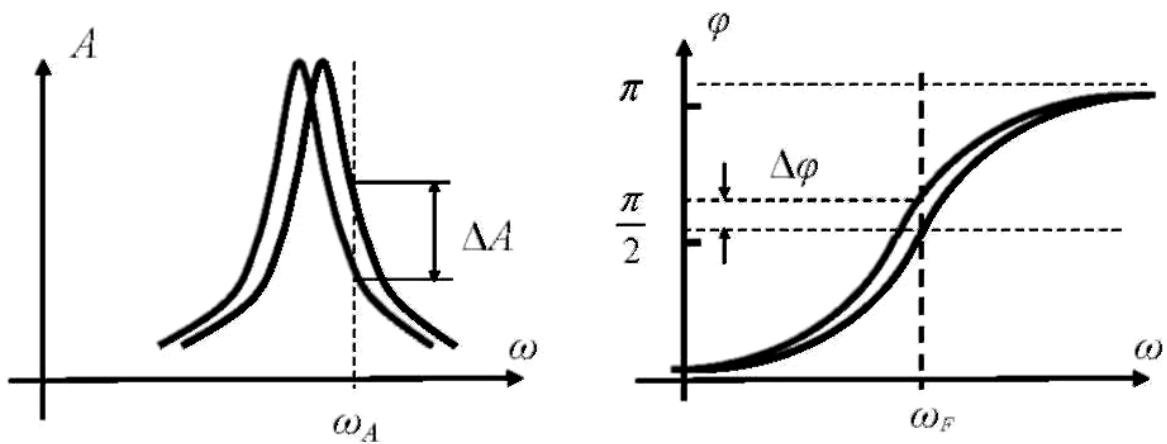


Рис.5.25. Зміна амплітуди і фази коливань при зміні градієнта сили

Ці зміни резонансних властивостей системи використовуються для отримання інформації про неоднорідний розподіл намагніченості на поверхні зразків. У разі магнітної взаємодії зонду з поверхнею зрушення резонансної частоти кантилевера, що коливається, визначатиметься похідній по координаті z від величини F_z .

Коефіцієнти перед $A_{F'z}$ визначають чутливість амплітудного і фазового методів виміру. Максимум чутливості досягається при певних частотах збудження кантилевера. Для амплітудних вимірів ця частота складає:

$$\omega_A = \omega_0 \sqrt{1 - \frac{F'_{z0}}{k}} \cdot \left(1 \pm \frac{1}{\sqrt{8Q}} \right),$$

при цьому

$$A'_{F_z}(\omega_A, F'_{z0}) = -\frac{8\sqrt{2}}{\sqrt{27}} \cdot \frac{Q^2}{k}.$$

Для фазових вимірів максимум чутливості досягається, коли частота збудження кантилевера співпадає з резонансною частотою системи зонд-зразок:

$$\omega_F = \omega_0 \sqrt{1 - \frac{F'_{z0}}{k}} \text{ при цьому } \phi'_{F_z}(\omega_F, F'_{z0}) = \frac{Q}{k}.$$

Як приклад, на рис.5.26 представлені МСМ зображення поверхні магнітного диска, отримані за допомогою різних методик.

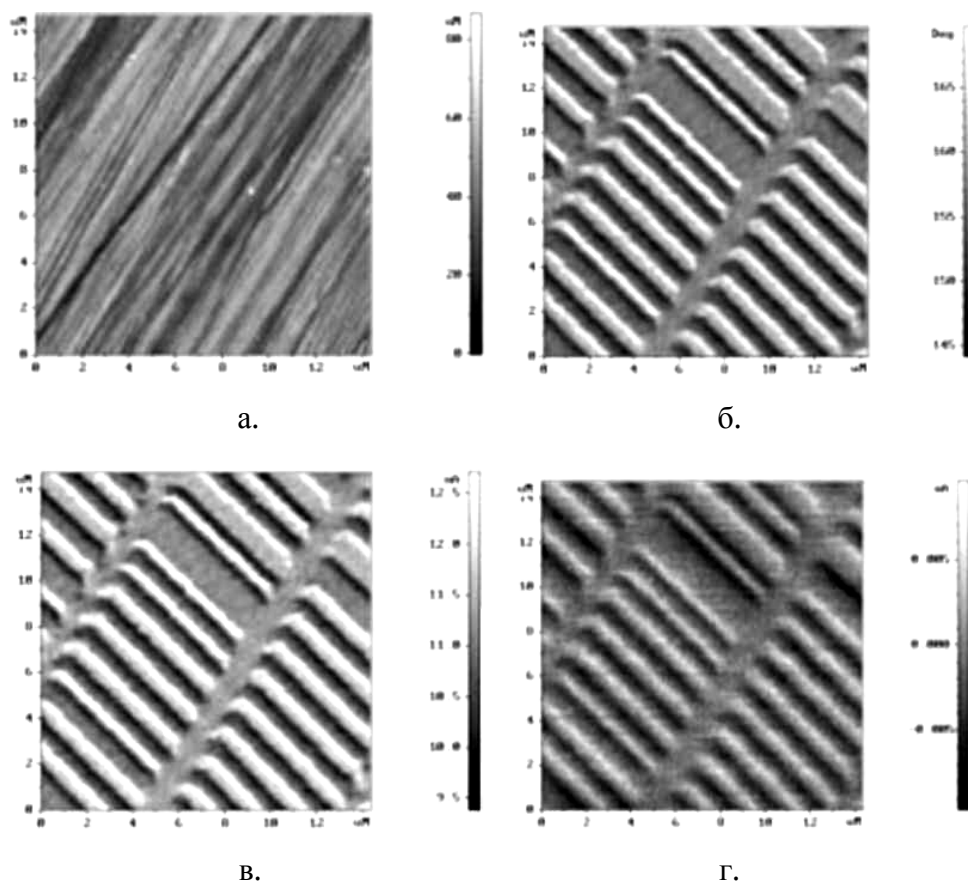


Рис.5.26. МСМ дослідження поверхні магнітного диска: а) АСМ зображення рельєфу поверхні; б) МСМ зображення фазового контрасту; в) МСМ зображення амплітудного контрасту; г) МСМ зображення розподілу сили взаємодії зонду з поверхнею

Контраст на МСМ-зображеннях пов'язаний, зрештою, з розподілом намагніченості в зразку. Особливості формування МСМ зображень магнітних структур можна проілюструвати за допомогою модельних розрахунків в

наближенні диполь-дипольної взаємодії. В цьому випадку магнітний зразок розбивається на елементарні об'єми, намагніченість яких описується магнітними диполями (рис.5.27). Зонд в простому випадку може бути представлений у вигляді окремого диполя. Тоді Z компонента градієнта сили запишеться таким чином:

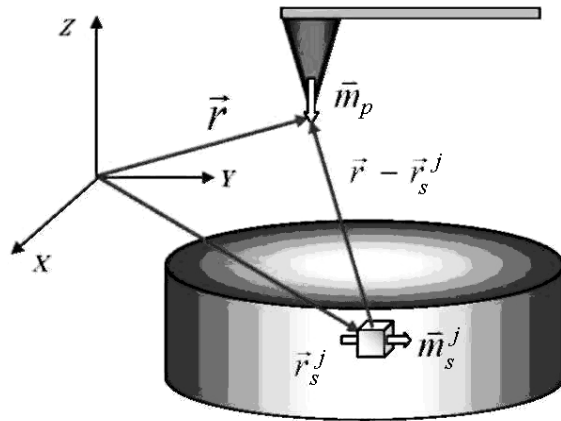


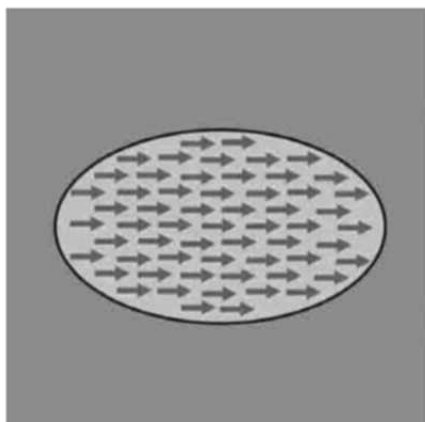
Рис.5.27. Взаємодія зонду із зразком в дипольному наближенні

$$\frac{\partial}{\partial z} F_z(\vec{r}) = \sum_j \left((\vec{m}_p \cdot \vec{\nabla}) \frac{\partial}{\partial z} H_z^j(\vec{r} - \vec{r}_s^j) \right)$$

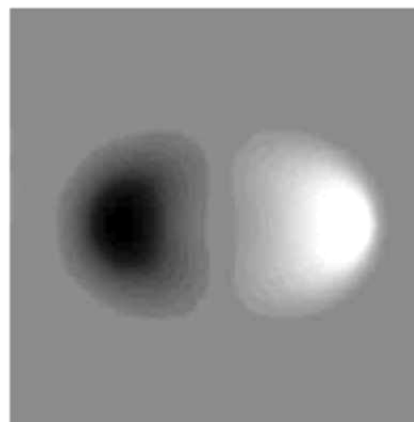
де магнітне поле j-того диполя зразка в точці кінчика зонду дорівнює [81]:

$$H_z^j(\vec{r} - \vec{r}_s^j) = \frac{3(z - z_s^j) \cdot (\vec{m}_s^j \cdot (\vec{r} - \vec{r}_s^j))}{|\vec{r} - \vec{r}_s^j|^5} - \frac{m_{sz}^j}{|\vec{r} - \vec{r}_s^j|^3}.$$

Переміщаючи зонд над магнітною структурою на деякій висоті і розраховуючи OF' в кожній точці зрушення фази можна змодельовати MCM зображення. На рис.5.28 як приклад представлені результати модельних розрахунків MCM зображення для однорідно намагніченої частки у вигляді еліптичного циліндра.



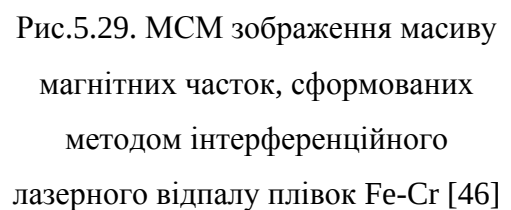
а.



б.

Рис.5.28. Моделювання MCM зображення однорідно намагніченої частки: а) розподіл намагніченості в частці; б) відповідне MCM зображення

Система управління АСМ, ЭСМ, МСМ (коливальні методики). Спрощена схема системи управління АСМ, ЭСМ, МСМ, представлена на рис.5.30. Електронні ключі К1-К5 управляються напругою з вихідного регістра (ВР) і служать для конфігурації системи управління. Генератор (Г) формує гармонійні сигнали для збудження коливальних контурів.



Величина амплітуди і значення частоти сигналу генератора задаються за допомогою двоканального ЦАП-г. Механічні коливання кантилевера збуджуються за допомогою п'єзовібратора (ПВ). Амплітуда і фаза цих коливань детектуються за допомогою синхронного детектора (СД).

На першому етапі вимірюється амплітудно-частотна (АЧХ) і фазо-частотна (ФЧХ) характеристики кантилевера у вільному стані (далеко від поверхні). Для цього ключ К2 замикається і синусоїдальна напруга з генератора подається на п'єзовібратор і одночасно в якості опорної напруги та на синхронний детектор. Коливання кантилевера призводять до того, що струм фотодіода міститиме змінну складову на частоті збудження. За допомогою ЦАП-г формується пилоподібна напруга, що управляє, яка перебудовує частоту генератора у вибраному оператором діапазоні. Напруга з фотодіода посилюється попереднім підсилювачем і подається на синхронний детектор. Амплітуда і фаза сигналу (синхронно з напругою ЦАП-г) записуються за допомогою АЦП в пам'ять комп'ютера. Потім АЧХ і ФЧХ характеристики візуалізуються на екрані монітора засобами комп'ютерної графіки.

АСМ зображення поверхні у безконтактному і "напівконтактному" режимах коливань кантилевера формуються таким чином. За допомогою генератора (Г) задається частота вимушених коливань кантилевера поблизу резонансу. Амплітуда цих коливань детектується за допомогою синхронного детектора, і напруга U , пропорційна амплітуді, поступає на вхід схеми порівняння (СС). На інший вхід схеми порівняння подається напруга U_0 , що задається оператором за допомогою ЦАП-Set, що відповідає амплітуді коливань, яку повинна підтримувати система зворотного зв'язку ($U_0 < U$). При замиканні петлі зворотного зв'язку сканер підсовуватиме зразок до зонду до тих пір, поки амплітуда коливань кантилевера не зменшиться настільки, що напруга U стане рівною U_0 . При скануванні зразка амплітуда коливань підтримується на заданому рівні, і напруга, що управляє, в ланцюзі зворотного зв'язку записується в якості АСМ зображення в пам'яті комп'ютера. Як було показано вище, амплітуда коливань зменшується за рахунок зрушення АЧХ,

обумовленого градієнтом сили взаємодії зонду з поверхнею. Тому АСМ зображення, що отримується при скануванні зразка в режимі постійної амплітуди коливань кантилевера є поверхнею постійного градієнта сили, яка, у відсутність електричних і магнітних взаємодій, визначається силами Ван-дер-Ваальса і з великою точністю співпадає з рельєфом поверхні. Одночасно з рельєфом поверхні часто реєструють фазу коливань кантилевера. Це дозволяє будувати АСМ зображення фазового контрасту і аналізувати пружні властивості поверхні при "напівконтактному" режимі коливань кантилевера.

Дослідження магнітних зразків проводяться за допомогою спеціальних зондів з магнітним покриттям. Для отримання магнітних зображень застосовується двопрохідна методика. У кожному рядку сканування на першому проході реєструється рельєф поверхні в "напівконтактному" режимі коливань кантилевера. На другому проході зворотний зв'язок розривається, і при скануванні за допомогою ЦАП-Z зондовий датчик проводиться над зразком на деякій висоті по траєкторії, що повторює рельєф цієї ділянки поверхні. Оскільки середня відстань між зондом і зразком в кожній точці постійно, зміни амплітуди і фази коливань кантилевера будуть пов'язані тільки зі зміною градієнта магнітної сили, діючої між зондом і поверхнею.

Використання зондів, що проводять, дозволяє досліджувати локальні електричні властивості зразків методом МСМ. В цьому випадку змінна напруга з генератора (Г) і постійна напруга з ЦАП-U підсумовуються і подаються на зонд. Зразок заземляється за допомогою ключа К1. Коливання кантилевера збуджуються під дією періодичної електричної сили між зондом і зразком. Амплітуда і фаза коливань на частоті збудження і на подвоєній частоті детектуються за допомогою синхронного детектора. При дослідженні неоднорідностей електричної взаємодії зонду із зразком також застосовуються двопрохідні методики. На першому проході реєструється рельєф цієї ділянки поверхні. На другому проході зондовий датчик рухається по траєкторії, що відповідає рельєфу, на деякій відстані над поверхнею. При цьому зміна

амплітуди сигналу з фотодіода на подвоєній частоті записується в пам'ять комп'ютера як розподіл похідній електричної ємності системи зонд-зразок $C_2(x, y)$. Для визначення локального потенціалу поверхні методом Кельвіна в кожній точці сканування постійна складова напруги змінюється за допомогою ЦАП-С до тих пір, поки амплітуда коливань на частоті збудження (аналізована комп'ютером) не стане рівною нулю. Напруга, що відповідає цій умові, записується в пам'ять для формування файлу розподілу поверхневого потенціалу $\Phi(x, y)$.

5.1.5 Електросилова мікроскопія

У електросиловій мікроскопії для отримання інформації про властивості поверхні використовується електрична взаємодія між зондом і зразком. Розглянемо систему, що складається із зондового датчика, у якого зонд має покриття, що проводить, і зразка, що є тонким шаром матеріалу на підкладці, що добре проводить.

Нехай між зондом і зразком подана постійна напруга U_0 і змінна напруга $U_{\sim} = U_j \sin(\omega t)$. Якщо тонкий шар на підкладці є напівпровідником або діелектриком, то він може містити поверхневий заряд, так що на поверхні зразка існує розподіл потенціалу $\varphi(x, y)$. Напруга між зондом і поверхнею зразка можна представити у вигляді: $U = U_0 + U_1 \sin(\omega t) - \varphi(x, y)$.

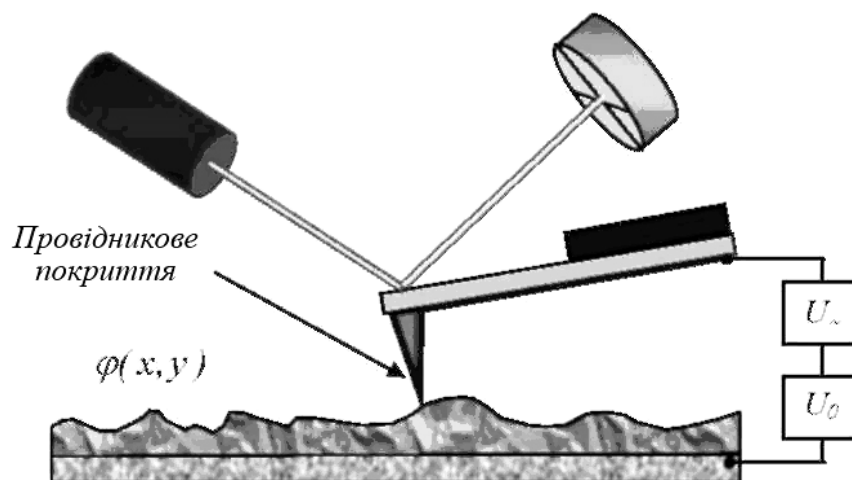


Рис.5.31. Схема виміру електричної взаємодії зонду із зразком

Система зонд-зразок має деяку електричну ємність C , так що енергія такої системи може бути представлена в наступному вигляді: $E = \frac{1}{2} CU^2$.

Тоді електрична сила взаємодії зонду і зразка дорівнює:

$$\vec{F} = -\text{grad } E.$$

Тут, A - та Z -компонента може бути представлена у вигляді:

$$F_z = -\frac{\partial E}{\partial z} = -\frac{1}{2}U^2 \frac{\partial C}{\partial z}.$$

Таким чином, Z -компонента електричної сили, діючої на зонд з боку зразка, дорівнює:

$$F_z = -\left\{ \frac{1}{2} \left[(U_0 - \varphi(x, y))^2 + \frac{1}{2}U_1^2 \right] + [U_0 - \varphi(x, y)] \cdot U_1 \sin(\omega t) - \frac{1}{4}U_1^2 \cos(2\omega t) \right\} \times \frac{\partial C}{\partial z}$$

З останнього виразу виходить, що сила взаємодії має три складові:

- постійну складову на частотах:

$$F_{z(\omega=0)} = -\left\{ \frac{1}{2} \left[(U_0 - \varphi(x, y))^2 + \frac{1}{2}U_1^2 \right] \right\} \times \frac{\partial C}{\partial z};$$

$$F_{z(\omega)} = -\left\{ [U_0 - \varphi(x, y)] \cdot U_1 \sin(\omega t) \right\} \times \frac{\partial C}{\partial z};$$

$$F_{z(2\omega)} = \left\{ \frac{1}{4}U_1^2 \cos(2\omega t) \right\} \times \frac{\partial C}{\partial z},$$

щоб електрична сила в системі зондовий датчик-зразок визначалася, в основному, взаємодією між зондом і поверхнею. Сила взаємодії зонду з поверхнею на основі простої моделі плоского конденсатора може бути представлена у вигляді:

$$F_{PS} = -\frac{1}{2}U^2 \frac{\partial C}{\partial z} \cong -\frac{1}{2}\alpha U^2 \frac{\pi R^2}{h^2},$$

де α - постійна величина, R - характерний радіус закруглення кінчика зонду, h - відстань зонд-поверхня (чи товщина плівки діелектрика на підкладці, що проводить). З іншого боку сила, діюча на кантилевер з боку зразка:

$$F_{CS} = -\frac{1}{2}U^2 \frac{\partial C}{\partial z} \cong -\frac{1}{2}\alpha U^2 \frac{LW}{H^2},$$

де α - постійна величина, L - довжина кантилевера, W - ширина кантилевера,

H - відстань до поверхні (визначається розмірами зонду). З умови $F_{ps} > F_{cs}$

витікає:
$$h < \sqrt{\frac{\pi R^2 H^2}{LW}}.$$

Звідси для типових значень параметрів зондових датчиків ($L \sim 100$ мкм, $W \sim 30$ мкм, $H = 30$ мкм, $R \sim 10$ нм) можна отримати наступну оцінку: $h < 10$ нм.

Оскільки сама величина dC/dz залежить від відстані зонд-зразок, для дослідження діелектричних властивостей зразків застосовується двопрхідна методика. У кожному рядку сканування робиться наступна процедура. На першому проході за допомогою п'єзовібратора збуджуються коливання кантилевера на частоті, близькій до резонансної частоти ω_0 і знімається АСМ зображення рельєфу в "напівконтактному" режимі. Потім зондовий датчик відводиться від поверхні на відстань z_0 , між зондом і зразком подається змінна (на частоті $\omega = \omega_0$) напруга, і здійснюється повторне сканування (рис.5.32).

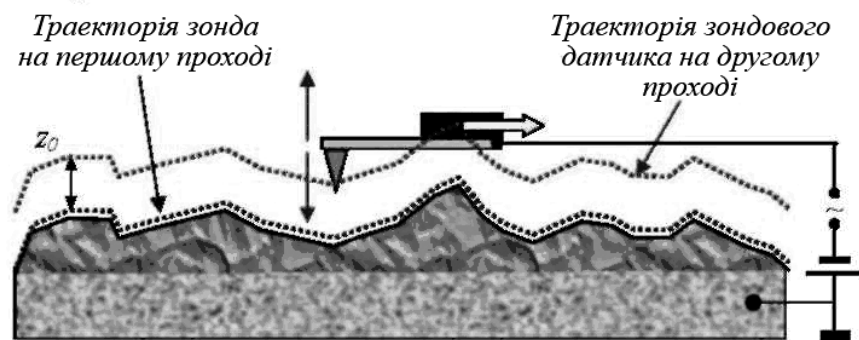


Рис.5.32. Двохпрхідна методика ЕСМ

На другому проході датчик рухається над поверхнею по траєкторії, що повторює рельєф зразка. Оскільки в процесі сканування локальна відстань між зондовим датчиком і поверхнею в кожній точці постійна, зміни амплітуди коливань кантилевера на частоті 2ω будуть пов'язані зі зміною ємності системи зонд-зразок внаслідок зміни діелектричних властивостей зразка.

Таким чином, підсумковий ЕСМ кадр є двовимірною функцією $z(x, y)$, що характеризує локальні діелектричні властивості зразка.

Детектування сигналу на частоті ω дозволяє вивчати розподіл поверхневого потенціалу ϕ (так званий метод Кельвіна [82]). Для цього,

при скануванні зразка на другому проході в кожній точці робиться наступна процедура. За допомогою перебудовуваного джерела постійної напруги підбирається величина U_0 так, щоб амплітуда коливань кантилевера на частоті ω ставала рівною нулю. Це відбувається у тому випадку, якщо $U_0 = \varphi(x, y)$ у цій точці поверхні. На рис.5.33 як приклад приведені ЕСМ-зображення рельєфу поверхні і розподіл поверхневого потенціалу для композитної плівки, що містить азобензол. На зображенні поверхневого потенціалу виділяються молекули азобензолу, що мають сильний дипольний момент.

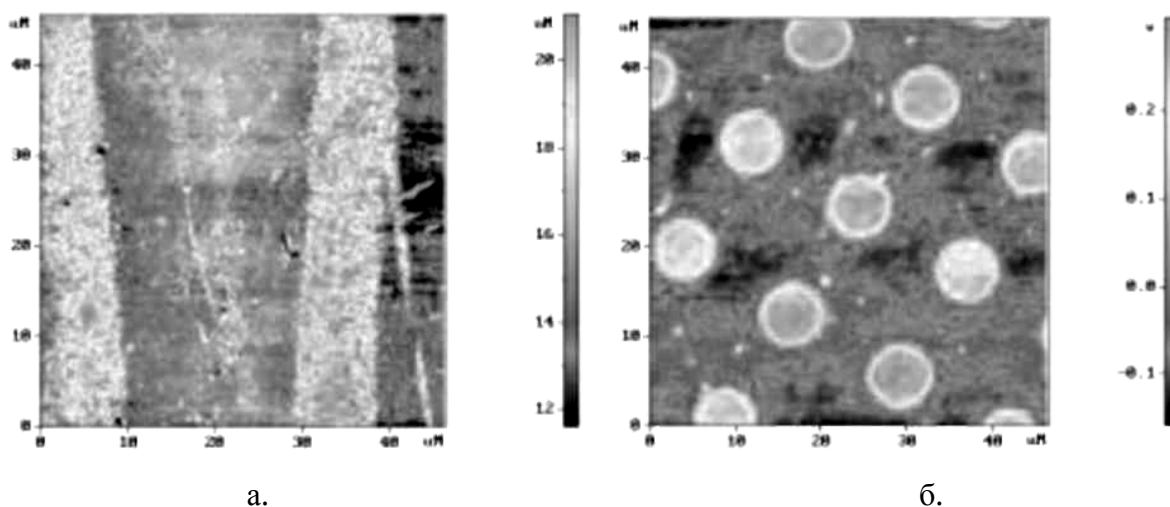


Рис.5.33. Рельєф поверхні (а) і розподіл поверхневого потенціалу (б) плівки азобензолу

5.2 Технічні характеристики, їх розрахунки та основні фізичні ефекти в наноконтактах зонду з поверхнею

Перенесення електронів. Одним з важливих факторів, що визначають характер переносу електронів [83] між голкою і зразком є інтервал між зондом і зразком. З традиційної точки зору передбачається, що цей інтервал повинен бути великим, хоча це не завжди вірно для практичного застосування. Тому важливо розглянути процеси перенесення електронів при малих інтервалах між зондом і зразком. Теоретичні дослідження показують, що при зменшенні відстані, процес переносу електронів змінюється від звичайного тунельного режиму до електронного контактного режиму і до механічно-контактного режиму. Цей аналіз служить початком для взаємодії між теорією та експериментом, а також для кращого розуміння операцій СТМ, пов'язаних із

взаємодією між зондом і зразком.

Електронно-тунельний режим. Процес переносу електронів в металевих системах зонд-діелектрик-метал поділяють на три механізми, оснований на відношенні струму і напруги (I - U). У тунельній емісії, коли напруга (U) значно менше, ніж бар'єр діелектрика, струм пропорційний прикладеній напрузі ($I \sim U$). У полі емісії, коли напруга значно більше, ніж бар'єр діелектрика, залежність представляється у вигляді: $I \approx U^2 \exp(-\text{const} / U)$.

В емісії Шоткі, де потенційний бар'єр низький, струм пропорційний $\exp(\text{const} U_1/2)$. В топографії теж працює явище автоелектронної емісії і відстань між зондом і зразком становить приблизно 100 нм. В електронному тунелюванні, яке відбувається між електродами (відстань між електродами 0,5...1 нм), I - U залежність є лінійною.

У тунельному режимі, зонд і зразок можна розглядати незалежними і перенесення електронів між ними описується обуреним рухом і використовується хвильова функція вільних електродів. Представляючи вістря зонда як атом з s -орбітальною, і припускаючи малу напругу зсуву між зондом і зразком, Терсоф і Хаман показали на основі збурення, що просторова зміна тунельного струму $I_{\text{тун}}$ описується розподілом часткової електронної щільності зразка як $I_{\text{тун}} \approx \rho(r, e_f)$. Часткова електронна щільність пов'язана з енергією рівнів, наближених до рівня Фермі e_f . Оцінки цього розподілу щільності на відстані r_0 між зондом і поверхнею зразка призводить до області ділянки щільності, яка імітує СТМ зображення.

Електронний і механічний контактні режими. Коли відстань між зондом і поверхнею зразка менше певної відстані, накладення їх хвильових функцій збільшується, а потенційний бар'єр між електродами поступово знижується. Це призводить до перестановки розподілу електронної щільності і викликає сили притягнення (зчеплення) та зміщення атомів в зонді і в зразку. Місцеві електронні та структурні зміни є значними, але вони є оборотними. Крім того, перенесення струму виступає в ролі тунельного. При зменшенні відстані зонд-зразок, безпосередній контакт зонд-зразок починається з

квантової точки контакту, для якої діаметр контакту менше, ніж довжина вільного пробігу електрона. У цьому режимі, перенесення електронів відбувається з відсутністю будь-якого бар'єру (балістична провідність). При подальшому зменшенні відстані зонд-зразок, опір проміжку R_{gap} (тобто опір між зондом і зразком) досягає граничного значення – опору Шарвіна (тобто $4\pi^2 e^2 / h^2 = 13K\Omega$). Залежність струму від відстані в балістичному режимі досить різке, так що зображень в цьому режимі може бути досягнуто з високою роздільною здатністю. Однак, в балістичних і омічних контактних режимах, голка і зразок можуть перейти до необоротної деформації через сильні взаємодії.

Розрахунок деяких сил взаємодії між зондом і зразком.

Сили Ван-дер-Ваальса. Як відомо, потенціал парної взаємодії молекул носить характер r^{-6} . Відповідна сила дорівнює похідній по відстані r :

$$f = \frac{6A_G}{r^7}, \quad (5.1)$$

де A_G – константа Гамакера.

Виходячи з цього мікроскопічного опису, можна визначити силу тяжіння, що виникає між зондом і зразком у цілому. Вона дорівнює сумі всіх парних взаємодій молекул консолі і досліджуваної поверхні:

$$F = \sum_{i=2}^{n+2} F_i n_i dV. \quad (5.2)$$

Зрозуміло, що при цьому результат буде істотно залежати від просторової геометрії завдання.

Нехтуючи дискретним розподілом взаємодіючих центрів (молекул), нескладно від парного підсумовування (5.2) перейти до подвійного інтегралу:

$$F = \int n_1 \cdot d \cdot V_1 \left(\int n_2 \cdot d \cdot V_2 \cdot f \right), \quad (5.3)$$

де n_1 і n_2 – концентрації молекул зонда і зразка.

Розрахуємо внутрішній інтеграл (позначивши його F_1). Його фізичний сенс – сила взаємодії однієї молекули з площиною. Сила тяжіння дуже швидко спадає зі збільшенням відстані (r^{-7}), тому віддалені частини системи не вносять в інтеграл істотного внеску. Завдяки цьому, інтегрування можна поширити на весь півпростір, так, якщо б воно було однорідним зразком.

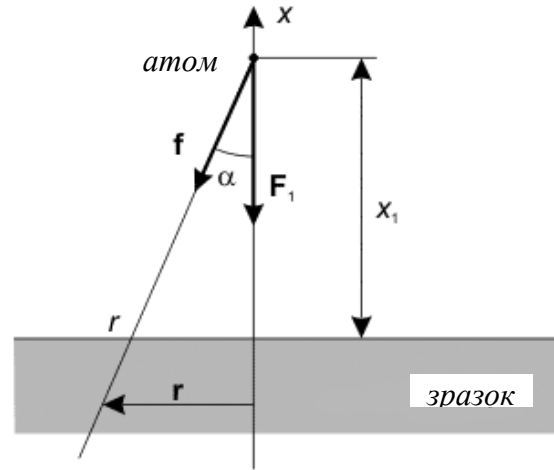


Рис.5.34. Система атом – плоский зразок.

Для обчислень введемо циліндричну систему координат, як показано на рис.5.34. Початок відліку сумісний з нашою молекулою. З міркувань симетрії зрозуміло, що результуюча сила буде направлена вертикально вниз. При цьому горизонтальні складові сили тяжіння до двох молекул, розташованих симетрично щодо осі, компенсуються. Тому простіше спочатку враховувати лише вертикальну компоненту сили:

$$f_1 = \cos \alpha \frac{6A_G}{r^7}. \quad (5.4)$$

Ця сила буде однакою для всіх точок кільця з радіусом r , тому інтегрування по куту навколо осі x зводиться просто до множення. Подальші обчислення досить прості і ми отримуємо:

$$F_1 = n_2 \int_0^\infty 2\pi r dr \int_0^\infty dx \frac{z}{\sqrt{\rho^2 + x^2}} \frac{6A_G}{\left(\sqrt{\rho^2 + x^2}\right)^7} = \frac{\pi A_G n_2}{2x_0^4}. \quad (5.5)$$

Щоб тепер взяти зовнішній інтеграл в (5.3), потрібно проінтегрувати за об'ємом зонда:

$$F = \int F_1 n_1 dV_1. \quad (5.6)$$

Тому подальші обчислення необхідно проводити для конкретної моделі вістря зонду.

Параболічний або сферичний зонд. Модель може бути застосованою для

зондів з сферично (рис.5.35) закругленим вістрям при малих відстанях до поверхні зразка.

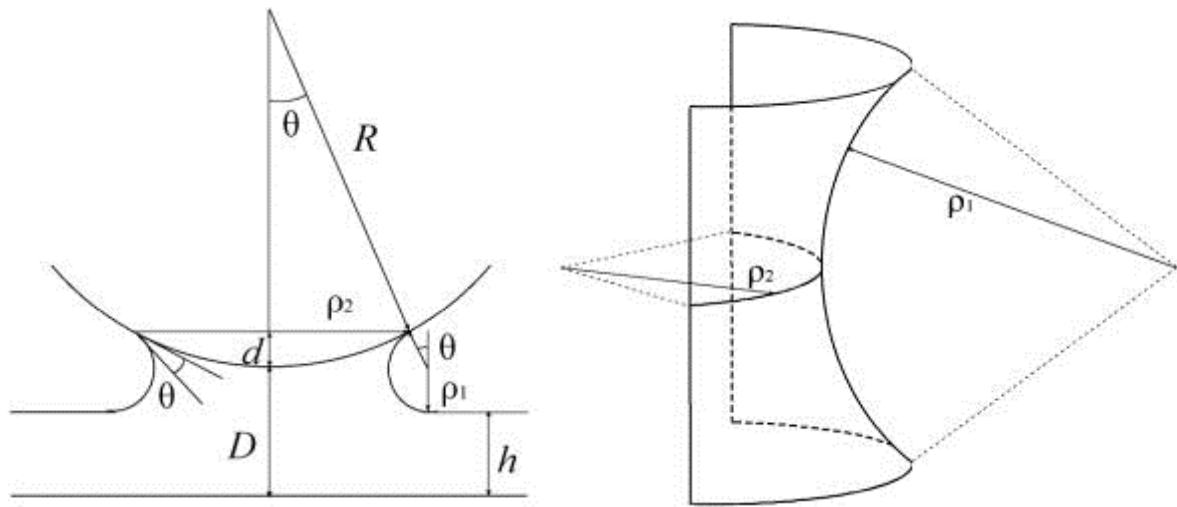


Рис.5.35. Розрахунок капілярних сил за формулою Лапласа

Такий же результат виходить в загальному випадку для параболічного зонда:

$$F = \frac{\pi^2 n_1 n_2 A_G R}{6h^2}. \quad (5.7)$$

У АСМ умовах для кремнієвого зонда і зразка при: $R=10$ нм, $h=0,1$ нм, $A_3 \approx 10^{-78}$ Дж·м⁶ маємо $F \approx 3,3 \cdot 10^{-9}$ Н.

Конічний зонд. Модель використовується у випадку, коли масштабом заокруглення вістря зонда в порівнянні з відстанню до зразка можна знехтувати.

$$F = \frac{\pi^2 n_1 n_2 A_G \operatorname{tg}^2 \varphi}{6h}. \quad (5.8)$$

У АСМ умовах для кремнієвого зонда і зразка при: $h=100$ нм, $\varphi=11^\circ$, $A_3 \approx 10^{-78}$ Дж·м⁶, $F \approx 1,3 \cdot 10^{-15}$ Н.

Капілярні сила. Розрахунок цієї сили досить простий. Нехай радіус кривизни зонда набагато перевершує всі інші характерні розміри завдання. На рис.5.35 введені наступні позначення: D – відстань між зондом і зразком; d – "глибина занурення"; h – товщина плівки; ρ_1 – менший радіус кривизни рідкої поверхні; ρ_2 – радіус площини зіткнення консолі з рідиною.

Відповідно до формули Лапласа тиск в рідині буде менше атмосферного на величину:

$$\Delta p = \sigma \left(\frac{1}{\rho_1} - \frac{1}{\rho_2} \right) \approx \frac{\sigma}{\rho_1}, \quad \rho_1 \ll \rho_2. \quad (5.9)$$

Цей тиск докладено до поверхні зіткнення зонда з рідиною площею $\pi r_2^2 \approx 2\pi R d$. Сила тяжіння консолі до зразка, обумовлена капілярним ефектом, становить:

$$F = P \cdot 2\pi R d = 2\pi R d \frac{\sigma}{\rho_1}. \quad (5.10)$$

Нескладно помітити, що $\rho_1 \cos \theta + \rho_1 = D + d - h$ (для простоти вважаємо крайові кути для зразка і зонда рівними).

Таким чином, по порядку величини капілярна сила збігається із взаємодією Ван-дер-Ваальса і електростатичними силами.

Фізичні ефекти в наноконтактах зонду скануючого мікроскопа з поверхнею.

Безконтактні силові взаємодії. В основі сил, що виникають між зондом і поверхнею зразка, лежать електромагнітні взаємодії. У деяких практично важливих випадках правильний вид відповідних залежностей від відстані і основних фізичних чинників для взаємодій часток (зондів), що рухаються з нерелятивістською швидкістю, і плоскою поверхнею зразків, що мають діелектричну та/чи магнітну проникність,

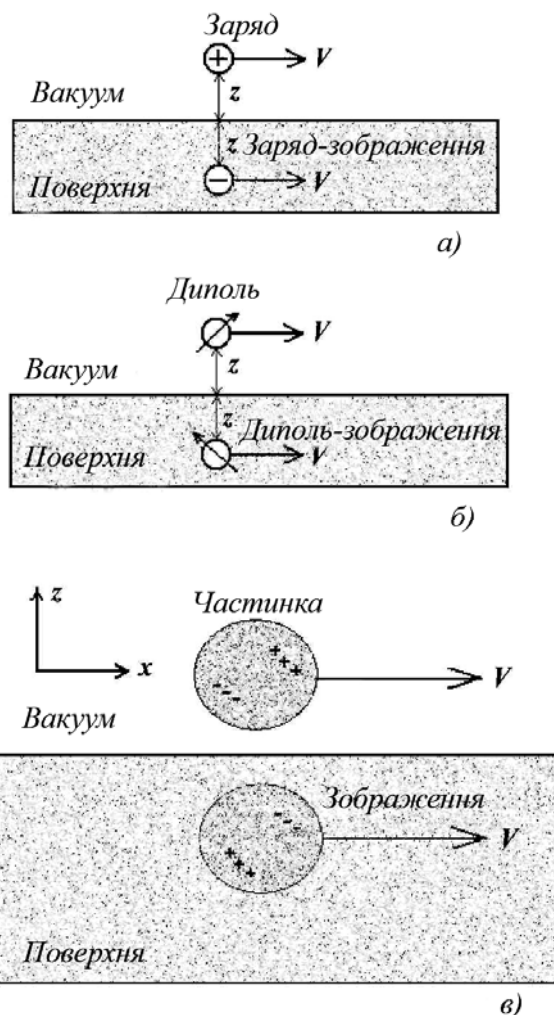


Рис.5.36. Схема руху і безконтактної взаємодії рухомих часток з поверхнею, що поляризується: а - заряджена частка; б - постійний диполь; в - нейтральна

можна знайти з аналізу фізичної розмірності. Рис.5.36 пояснює фізичну ситуацію у разі паралельного до поверхні руху часток.

При паралельному до поверхні русі часток нормальні сили, діючі на них, є консервативними, а тангенціальні - дисипативними; при перпендикулярному русі і консервативна, і дисипативна сили перпендикулярні до поверхні. Кінцевість швидкості поширення світла с призводить до ефекту запізнювання електромагнітних взаємодій, вплив якого визначається значенням безрозмірного параметра $k = z\omega_0/c$. В СЗМ, проте, типові відстані зондів від поверхні складають 1...100 нм, тому до частот рентгенівського діапазону, внаслідок чого роль ефекту запізнювання зазвичай невелика і його можна не враховувати. Для консервативної і дисипативної сил, що діють на рухомі частки, мають вигляд (з точністю до численних коефіцієнтів порядку одиниці), приведений нижче.

Взаємодія заряду з поверхнею:

$$F_c(z) \propto -\frac{(Ze)^2}{z^2}, \quad F_d(z) \propto -\frac{(Ze)^2}{z^2} \frac{V}{z\omega_0}. \quad (5.11)$$

Взаємодія дипольної частки з поверхністю:

$$F_c(z) \propto -\frac{d^2}{z^4}, \quad F_d(z) \propto -\frac{d^2}{z^4} \frac{V}{z\omega_0}. \quad (5.12)$$

Негативний знак F_c відповідає притягненню до поверхні, а негативний F_d - гальмівній силі, причому для магнітного диполя у формулі (5.12) слід писати M^2 замість d^2 . Характерна частота поглинання ω_0 для взаємодій з поверхнею електричного і магнітного диполів, взагалі кажучи, різна: в першому випадку вона визначається діелектричними властивостями зразка, а в другому - магнітними. Формули, аналогічні (5.12), мають місце і для взаємодії часток, що мають мультипольні моменти більш високого порядку. Наприклад, для квадрупольної молекули з відмінною від нуля компонентою тензора електричного квадрупольного моменту Q_{zz} у формулі (5.12) досить зробити заміну d на Q_{zz}/z .

Флуктуаційно-електромагнітні сили обумовлені взаємодією спонтанних і індукованих електричних і магнітних моментів, що виникають на нейтральній частці і в середовищі, внаслідок квантового і теплового руху електронів і атомів. Найбільш важливу роль грають флуктуації електричного дипольного моменту. У разі наночасток відповідні сили, зумовлені тепловими флуктуаціями (дипольного моменту), записуються у вигляді:

$$F_c(z) \propto -\frac{(k_B T) \cdot R^3}{z^4}, \quad F_d(z) \propto -\frac{(k_B T) \cdot R^3}{z^4} \frac{V}{z \omega_0}, \quad (5.13)$$

де k_B - постійна Больцмана; T - температура (для простоти вважаємо, що температури частки і поверхні однакові).

Помітимо, що формули (5.13) витікають з формул (5.12), якщо в останніх виконати заміну d^2 на $(k_B T)R^3$. Квантові флуктуації дипольного моменту є причиною виникнення консервативної сили F_c (сили Ван-дер-Ваальса), для якої у формулі (5.13) достатньо замінити $k_B T$ на $\hbar \omega_0$, але "зв'язану" їй дисипативну компоненту F_d не можна отримати таким же простим чином. Сила цього типу надмала. Фізичний сенс формул для консервативних компонентів сил (5.11)-(5.13) очевидний: тяжіння голки до поверхні обумовлено взаємодією заряду, постійного і флуктуючого диполя зі своїми дзеркальними "зображеннями" (рис.5.45).

На практиці форма голки СЗМ часто моделюється параболоїдом обертання з радіусом кривизни R поблизу апексу і заввишки H , причому $H/R \gg 1$. В цьому випадку формули (5.13) розглядаються як локальні співвідношення для малого об'єму речовини зонду, а при обчисленні сумарних сил, діючих на нього, застосовується наближення адитивності, що забезпечує правильні кінцеві залежності сил від відстані. Виникаюча помилка в обчисленні констант взаємодії може складати декілька десятків відсотків, але для сучасного рівня кількісних вимірів в СЗМ такої точності цілком достатньо. У наближенні адитивності, інтегруючи формули (5.13) за об'ємом зонду, отримаємо (знову ігноруємо чисельні чинники):

$$F_c(z) \propto -\frac{(k_B T) \cdot R}{z^2}, \quad F_d(z) \propto -\frac{(k_B T) \cdot R}{z^2} \frac{V}{z \omega_0}, \quad (5.14)$$

де R - радіус кривизни, z - відстань точки апексу параболоїда від поверхні.

Таким чином, перехід від формул (5.13) для малої сферичної частки до формул (5.14) для параболічного зонду здійснюється формальною заміною R^3/z^3 на R/z .

Для розрахунку сил в СЗМ вживається також так зване "наближення Дерягіна" [84], згідно якому сила взаємодії між випуклим зондом з радіусом кривизни R і плоскою поверхнею зразка виражається через віднесену до одиниці площі питому енергію взаємодії двох напівнескінченних середовищ, розділених плоскою щілиною. У цьому наближенні:

$$F_c(z) = 2\pi R \omega(z). \quad (5.15)$$

Електростатична взаємодія.

$$\omega(z) = -\frac{CU^2}{2A} = -\frac{U^2}{4\pi z}.$$

Особлива цінність формули (5.15) полягає в тому, що вона може успішно застосовуватися і в розрахунках інших типів сил. Наприклад, у разі електростатичної взаємодії питома енергія взаємодії двох "товстих" пластин, розділених плоским вакуумним проміжком, дорівнює:

$$F_c(z) = -\frac{RU^2}{2z}. \quad (5.16)$$

Формула (5.16) справедлива при $z \ll R$. При $z \gg R$ зонд можна вважати точковим зарядом і $F_c(z) \sim z^{-2}$. У проміжній області відстаней сила взаємодії залежить також від висоти параболоїда.

У практиці СЗМ застосовується також складніший електростатичний режим, коли, наряду з постійною напругою U_0 , між зондом і зразком додатково подається змінна напруга U_1 . В цьому випадку у відповідності з (5.16) сила взаємодії, окрім постійної складової, утримує гармоніки на частотах ω і 2ω . Якщо зразок (на підкладці, що проводить) має неоднорідний розподіл діелектричних властивостей, то його поверхневі шари утворюють додаткову

ємність, включену послідовно з ємністю контакту між кантилевером (із зондом) і поверхнею. Методики детектування електросилової взаємодії на частотах ω і 2ω , дозволяють знаходити розподіл поверхневого потенціалу (мода Кельвіна) і розподіл поверхневої ємності (ємнісна мода). Для виключення впливу рельєфу в цих методиках застосовується двопрохідний режим, в якому спочатку запам'ятовується рельєф поверхні, а потім зонд рухається по траєкторії, що огинає його на фіксованій висоті.

Магнітостатична взаємодія. Якщо вважати, що сферична частка феромагнітного матеріалу на кінці зонду має однорідну намагніченість m і радіус R , то її магнітний момент, енергія взаємодії з магнітним полем H зразка в точці локалізації зонду і сила, діюча на нього, рівні, відповідно, є неоднорідний розподіл намагніченості $m_s(x, y, z)$, то $F \neq 0$. В цьому випадку значення магнітного поля знаходиться підсумовуванням (інтегруванням) полів елементарних магнітних моментів, пов'язаних з намагніченістю $m_s(x, y, z)$, після чого обчислюється потенційна енергія і сила взаємодії зонду із зразком. Нехай під зондом на відстані z від нього на поверхні знаходиться локалізований магнітний момент M_s , а вектори M і M_s перпендикулярні до поверхні і спрямовані однаковим чином. Тоді магнітне поле, що створюється магнітним моментом M_s на зонді, дорівнює $H = -\frac{2M_s}{z^3}$, а сила взаємодії зонду з поверхнею:

$$F_c(z) = -\frac{6MM_s}{z^4} \approx -\frac{MM_s}{z^4} \quad (5.17)$$

(негативний знак відповідає тяжінню). Формула (5.17) повністю аналогічна формулі (5.12) для взаємодії магнітного диполя з поверхнею зразка, що має магнітні властивості якщо в (5.12) замінити d^2 на MM_s . На відміну від формули (5.12), проте, взаємодія (5.17) може бути і від'ємною, якщо вектори M_s і M мають різний напрям. Відштовхування магнітного зонду спостерігатиметься, зокрема, при його взаємодії з поверхнею надпровідника. Модифікація (5.17) для зонду параболічної форми робиться точно так, як і при отриманні (5.14).

Контактні взаємодії. На відміну від електромагнітних, флуктуаційно-електромагнітних і Ван-дер-Ваальсових сил, дальнодіючими пружними контактними взаємодіями в режимі відштовхування зонду є можливість їх опису у рамках класичної механіки суцільного середовища. Відповідна теорія була розроблена ще в 1882 р. Г. Герцем. Згідно цієї теорії пружна енергія, що запасається в контакті опуклого тіла з поверхнею в електрон-вольтах дорівнює:

$$U = 0,021 \frac{F^{5/3}}{E^{2/3} R^{1/3}}, \quad (5.18)$$

де F - зовнішня сила (нН) навантаження, яку прикладають до зонду; R та E - приведений радіус кривизни (нм) і модуль Юнга (ТПа) контакту, пов'язані з радіусами кривизни зонду і локальної ділянки поверхні (R_1 і R_2) і модулями пружного стискування відповідних матеріалів (E_1 і E_2) відношеннями

$$\frac{1}{R} = \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \quad \text{та} \quad \frac{1}{E} = \frac{(1 - \eta_1^2)}{E_1} + \frac{(1 - \eta_2^2)}{E_2} \quad (\eta_1 \text{ та } \eta_2 - \text{коефіцієнти}$$

Пуасона). Еквівалентним чином енергія U може бути виражена як функція деформації h , що враховує сумарне м'яття зонду і продавлювання поверхні зразка:

$$U = \frac{1}{3} \cdot 10^4 \cdot E \cdot R^{1/2} h^{5/2} \text{ eV}, \quad (5.19)$$

з іншими силами, вносять значний вклад в сумарну силу адгезії зонду до поверхні. Досить точні оцінки хімічних сил дає апроксимація Морза:

$$V_M(r) = -E_b \cdot \left(2e^{-a(r-r_0)} - e^{-2a(r-r_0)} \right), \quad (5.20)$$

де E_b - енергія зв'язку; r_0 - рівноважна відстань між атомами (довжина зв'язку), а параметр a характеризує радіус дії сил. Типові значення E_b , r_0 та a у разі ковалентних зв'язків складають 2...3 еВ, 0,2 нм і 5 нм [85]. У разі іонних зв'язків притягуюча частина потенціалу, що має негативний знак, замінюється виразом для електростатичної енергії точкових зарядів $q_1 q_2 / r$, де q_1 , q_2 - заряди іонів.

Нормальна (консервативна) сила, діюча на зонд у випадку пружного

контакту, пов'язана з пружною енергією U звичайним диференціальним співвідношенням:

$$F = \frac{dU}{dh} = \frac{4}{3} \cdot 10^3 \cdot E \cdot R^{1/2} h^{3/2} \text{ нН.} \quad (5.21)$$

Для контактного режиму тяжіння при віддаленні зонду від зразка або наближенні до нього при входженні в контакт нормальна сила визначається адгезійними або поверхневими силами.

До контактних відносяться також сили хімічної взаємодії, що виникають між атомами зонду і поверхні, що вступають у контакт, які не можна розрахувати за допомогою наближеної класичної механіки. Ці сили відповідають за утворення іонно-ковалентних зв'язків між атомами.

5.3 Особливості мікроскопічних досліджень з використанням методик зондової мікроскопії

5.3.1 Особливості вивчення мікрогеометрії поверхонь конструкційних матеріалів методом атомно-силової мікроскопії

Методика вивчення мікропрофілю зразків композиційних матеріалів методом атомно-силової мікроскопії (АСМ) призначена для отримання топограми і дослідження мікрогеометрії поверхні композиційних матеріалів.

Розроблена методика вивчення мікрогеометрії поверхні композиційних матеріалів методом атомно-силової мікроскопії (АСМ) дозволить вивчити мікрогеометрію поверхні композиційних матеріалів з точністю фіксує мікронерівностей до $0,2 \text{ \AA}$ і чутливістю вимірювальної консолі до 10^{-8} Н .

Методика АСМ апробована на прикладі вивчення зразка поверхні композиційного матеріалу, а саме: нанокристалічних плівок SiC і дозволила показати реальний мікрорельєф поверхні, що добре корелює з даними отриманих методом РЕМ і ПЕМ для таких зразків.

На основі отриманих результатів дослідження мікрогеометрії нанокристалічних плівок можна зробити наступний висновок: поверхня зразка

сильно виражена, спостерігається періодичність піків. На основі отриманих результатів вивчення мікрогеометрії дифракційної решітки (середній період решітки – 375 нм, середня амплітуда збурення – 960 нм), середня шорсткість поверхні не більше 7–10 нм, максимальне розкидання висот – 100 нм.

Вимірювальна техніка, допоміжне обладнання, реактиви і матеріали:

1. Атомно-силовий мікроскоп NT–206V (виробник: ОДО “Мікротестмашини”, м. Гомель, Білорусь
2. Довгофокусуючий мікроскоп Logitech (виробництво США)
3. Кремнієвий зонд Ultrasharp CSC (виробник: “MikroMasch”, США)
4. Персональний комп’ютер “Athlon 1800+”, 256 DD RAM, 80 Gb, USB 2.0
5. Гумова груша №3 (60 мл), тип А, ТУ 38.106.003 – 95
6. Шайба діаметром 20 мм і товщиною 0,5...1 мм із сталі 20ХН5, ГОСТ 4543–71
7. Двостороння клейка стрічка 3M Scotch 508 (19x10 мм), Атр.55821

Умови виконання вимірювань. Згідно технічного опису та інструкції по експлуатації атомно-силового мікроскопу NT–206V робочі умови експлуатації приладу такі:

- умови роботи – відкрите повітря;
- температура навколишнього повітря 22 ± 4 °С;
- відносна вологість повітря (при температурі 22°С) не більше 50%;
- атмосферний тиск 760 ± 40 мм.рт.ст.;
- напруга в електронній дузі 220 ± 10 В при частоті струму 50 ± 5 Гц;
- вміст агресивних домішок в повітрі приміщення не повинно перевищувати санітарні норми для “чистої кімнати”;
- додаткова віброізоляція приладу для діапазону частот 4...100 Гц.

Підготовку до вимірювань мікропрофілю зразків композиційних матеріалів на прикладі нанокристалічної плівки SiC (надалі – SiC) методом атомно-силової мікроскопії відбувається в наступному порядку:

- підготовка зразка до дослідження;
- підготовка атомно-силового мікроскопа до роботи;
- отримання топограми ділянки зразка методом АСМ;

- завершення роботи атомно-силового мікроскопу.

Підготовка зразків до дослідження. Підготовка зразків до дослідження починається з виготовлення тримача, який роблять наклеюванням на одну із сторін металічної шайби діаметром 20 мм двосторонньої клейкої стрічки. Потім на вільній стороні клейкої стрічки кріпиться зразок, або, у випадку, коли зразок порошкоподібний – розпилюється з допомогою гумової груші. Залишки порошку, які не приклеїлись ретельно здувають з клейкої стрічки резиною грушею. Категорично забороняється кріпити клейку стрічку безпосередньо на п'єзосканер приладу.

Підготовка атомно-силового мікроскопу до роботи. Після з'єднання модулів АСМ між собою і їх підключення до ПЕОМ і до електричної дуги, прилад може бути включений, для цього виконуються такі дії:

- включається керуючий комп'ютер (в тому числі і монітор);
- включається блок електроніки управління безпосередньо кнопкою "POWER" на його передній панелі;
- запускається програма управління АСМ "SurfaceScan";
- активізується панель "Laser" в програмі управління, включається лазер і підсвітка предметного столика п'єзосканера.

Після цього комплекс готовий до наступної настройки і роботи.

Вивчення мікрогеометрії на прикладі зразка SiC та оцінка погрішності методики.

Для обробки і аналізу даних по мікрорельєфу використовується спеціалізована програма Surface Viewer v.6.2.

Після відкриття зображення отриманого за допомогою АСМ (рис.5.37.а), користувач має такі види сервісу: трьохмірна візуалізація поверхні (рис.5.37.б); профілювання поверхні в необхідному січенні (рис.5.37.в); визначення розподілення висот поверхні (рис.5.37.г); кутова гістограма (рис.5.37.д); отримання інформації про геометричні показники поверхні.

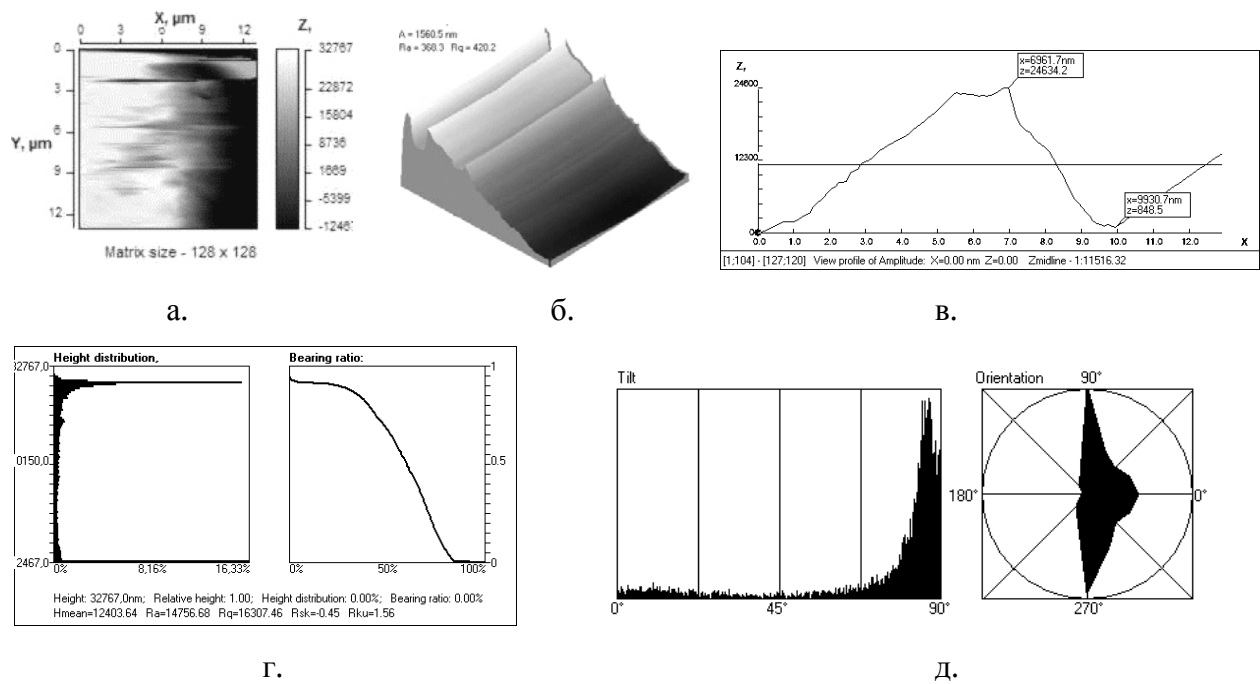
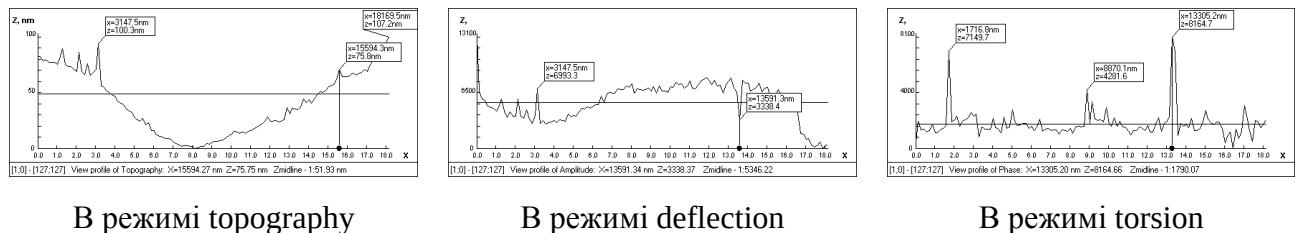


Рис.5.37. Види сервісу, що надаються користувачу програмою Surface Viewer v.6.2.

(на прикладі зразка SiC): а – двомірне зображення площадки поверхні;
 б – трьохмірне зображення площадки поверхні; в – зображення профілю площадки;
 г – розподілення висот; д – кутова гістограма

Обробка та оформлення результатів сканування. Обробка результатів сканування зразка полягає в дослідженні профілю за вибраним направленням площадки, розподілення висот, кутової гістограми та обробка інформації про геометричні показники поверхні.

За допомогою програми Surface Viewer v.6.2. можна побудувати профіль поверхні в необхідному для нас перетині (рис.5.38). Після вибору перетину програма, за допомогою випадаючого списку, дозволяє вивести на екран профіль для отриманих даних.



В режимі topography

В режимі deflection

В режимі torsion

Рис.5.38. Профілограма вздовж вісі OX відсканованої ділянки

(відступ – 6 мкм) на прикладі зразка SiC

Є можливість роботи з одним або двома маркерами. Радіо-кнопки «One marker» і «Two markers» відповідають двом режимам роботи. В режимі «One marker» на профілі ми бачимо маркер. Цей маркер можна переміщати вздовж профілю, при цьому в статусному рядку буде зображено відстань вздовж профілю по OX і висота профілю відносно мінімальної по Z. В статусному рядку зліва також вказані координати лінії пересічення у відносних одиницях. В режимі «Two markers» можна працювати таким же чином з двома маркерами, але при цьому в статусному рядку відображається відстань між маркерами вздовж лінії профілю (по X) і різниця висот між цими маркерами (по Z).

Функція «Show middle line» включає/виключає відображення середньої лінії профілю. Функція «Eliminate tilt» інтерактивно видаляє нахил середньої лінії профілю. Функція «Normalize» інтерактивно нормалізує профіль, що відображається (переміщує горизонтальну лінію початку відліку в нижню точку профілю).

Кнопка «Info» виводить на екран основні характеристики профілю: кількість точок, по яким був побудований профіль, максимальна висота, довжина пересічення і площа поверхні, середнє значення, середня висота відхилення, середньоквадратичне відхилення, асиметрія, ексцес.

При необхідності можна зберегти дані профілю в текстовий файл. Для цього необхідно вибрати пункт меню «Сохранить» або відповідну кнопку. При цьому у файл будуть збережені дані профілю в текстовій формі, а також максимальна висота, довжина пересічення і фізична довжина поверхні, середнє значення, середня висота відхилення, середньоквадратичне відхилення, асиметрія, ексцес.

Сервіс розподілення висот поверхні (рис.5.39) має дві діаграми. Перша діаграма, розміщена зліва показує розподілення висот у відсотках від загального числа висот. Інша діаграма, яка розміщується з

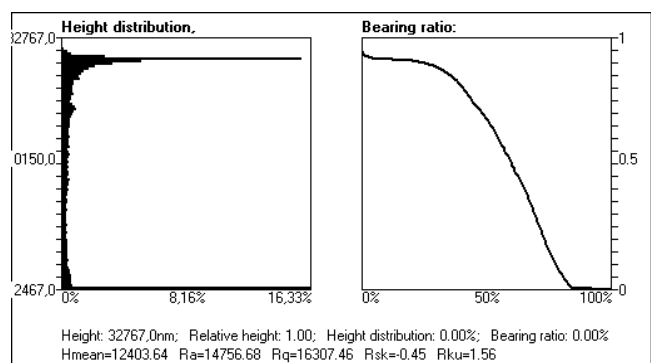


Рис.5.39. Розподілення висот поверхні SiC

права, показує розподілення суми висот нижче наступної. Число інтервалів і довжину інтервалу можна встановити на панелі, розміщеної внизу вікна. Там же можна встановити номер текучої позиції для маркера. Маркер також можна переміщувати мишкою. Під діаграмами розміщена статусний рядок, який показує текуче положення маркера в абсолютних і відносних одиницях, а також значення діаграми. Нижче вказано середнє значення (H_{mean}), середня висота відхилення (Ra), середньоквадратичне відхилення (Rq), асиметрія (Rku). При натисненні кнопки «Save Tops» будуть записані всі висоти, розміщені вище значення маркера, інші висоти будуть мати значення маркера, тобто пройде відкидання впадин.

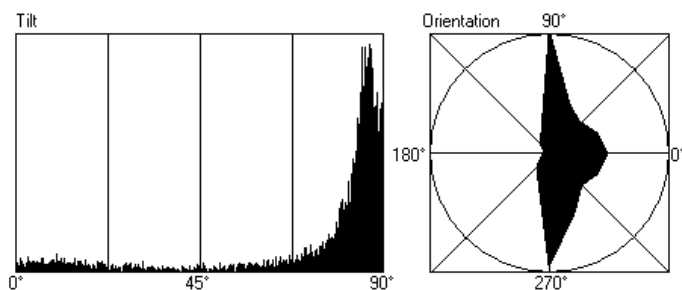


Рис.5.40. Гістограма розподілення кутів нормалей кожної точки поверхні відносно вісі Z зразку SiC

Сервіс (рис.5.40) «Кутова гістограма» виводить на екран гістограму розподілення кутів нормалей кожної точки поверхні відносно вісі Z, а також полярну діаграму розподілення орієнтацій проєкцій нормалей на площину

XY. Розрахунок проходить для висот вище значення маркера в розміщеному з права вікні. Таким чином, можна, наприклад, аналізувати пики. Під діаграмами виводиться середнє і очікуване значення. Число інтервалів розбивки редагується на панелі під діаграмою («Number bars» і «Number sectors»).

При необхідності можна зберегти дані діаграм в текстовий файл. Для цього необхідно вибрати пункт меню «Сохранить» або відповідну кнопку. При цьому у файл будуть збережені дані діаграм в текстовій формі, а також середнє і очікуване значення.

Сервіс «Surface Info» - виводить на екран інформацію про поверхню:

Surface**Scanning area :**

- to X-direction : 12898.44 nm
- to Y-direction : 12898.44 nm

Min height : -12467.00**Max height :** 32767.00**Average value :** 12403.641**Ra :** 14756.676**Rq :** 16307.463**Rsk :** -0.449**Rku :** 1.565**Matrix****Memory :** 32.768 Kb**Step between measured points :**

- to X-direction : 101.56 nm

- to Y-direction : 101.56 nm

Square**Nominal Square :** 166369689.941 sq.nm**Full square :** 3396930070.690 sq.nm**Ratio Nominal / Full :** 0.049751

При необхідності можна зберегти всі ці дані в текстовий файл. Для цього необхідно вибрати пункт меню «Сохранить» або відповідну кнопку.

Результат розрахований округлюють і записують до другої значимої цифри. Результат вимірювання повинен закінчуватися тим же десятковим розрядом, що і абсолютна погрішність вимірювання.

Оцінка похибки методики. Контроль відтворення вимірювань здійснюють по розходженню результатів повторних одиничних сканувань на 3...5 ділянках на різних частинках із одної партії зразків.

Рішення про хорошу відтворюваність приймають за умови:

$$\frac{\sum_{i=1}^{3...5} Z_{\max i} - Z_{\min i}}{3...5} \leq 0,01 * D,$$

де $Z_{\max i} - Z_{\min i}$ – відхилення між найбільшим і найменшим значенням мікрорельєфу на дослідній ділянці; D – норматив оперативного контролю відтворення для двох повторних вимірювань і $P=0,95$, значення якого для діапазону вимірювань складають:

для 3 точок на 3 різних зразках складає 56%;

для 4 точок на 4 різних зразках складає 75%;

для 4 точок на 2 різних зразках складає 65%;

для 5 точок на 5 різних зразках складає 89%;

для 5 точок на 3 різних зразках складає 78%;

для 5 точок на 1 зразку складає 33%;

При незадовільних результатах контролю схожості і відтворенні вимірювань необхідно закінчити, вияснити і усунути причини цієї невідповідності.

Зразками контролю погрішності слугують утверджені в установленому порядку стандартні тест – зразки фірми “Micromasch”.

Контроль погрішності проводять кожний раз перед початком АСМ – дослідження кожного десятого зразка.

5.3.2 Дослідження параметрів біологічних об'єктів методом атомно-силової мікроскопії

Нині велика кількість дослідницьких робіт пов'язана з оцінкою структурних особливостей клітинної поверхні біологічних об'єктів за допомогою атомно-силового мікроскопа (АСМ).

Розглянемо методику визначення параметрів живих біологічних об'єктів методом безконтактної АСМ, а також вивчення впливу середовища на результати АСМ-сканування.

Як експериментальний зразок використовувалася біологічно активна добавка "Біфіформ® Малюк" (виробник - "Ферросан А/З", Данія), форма випуску - порошок. Цей порошок розводився дистильованою водою в співвідношенні 1:10. Дослідження здійснювалися на зондовій нанолaboratorії Ntegra Vita (виробник - ЗАТ "Нанотехнология-МДТ", м.Зеленоград) з використанням приладдя, що поставлялося в комплекті і застосуванням пакету програм Nova (1.0.26.1324). В якості зонду застосовувався кремнієвий кантилевер марки NSG 10.

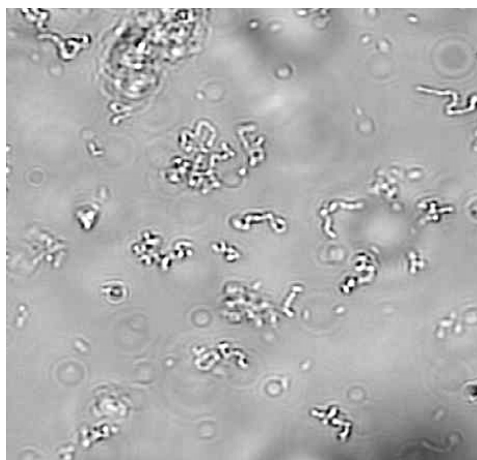


Рис.5.41. Оптична фотографія розчину порошку "Біфіформ" зі збільшенням 25

Під час спостереження цього зразка за

допомогою вбудованого інвертованого оптичного мікроскопа було виявлено, що розчин порошку "Біфіформ" містив велику кількість рухливих бактерій, а також їх досить великі малорухомі скупчення, виділені чорною лінією (рис.5.41).

Дослідження рухливих бактерій без застосування спеціальних фіксаторів було неможливе, тому сканування в напівконтактному режимі АСМ проводилося на малорухомих скупченнях, АСМ-зображення яких показане на рис.5.42.

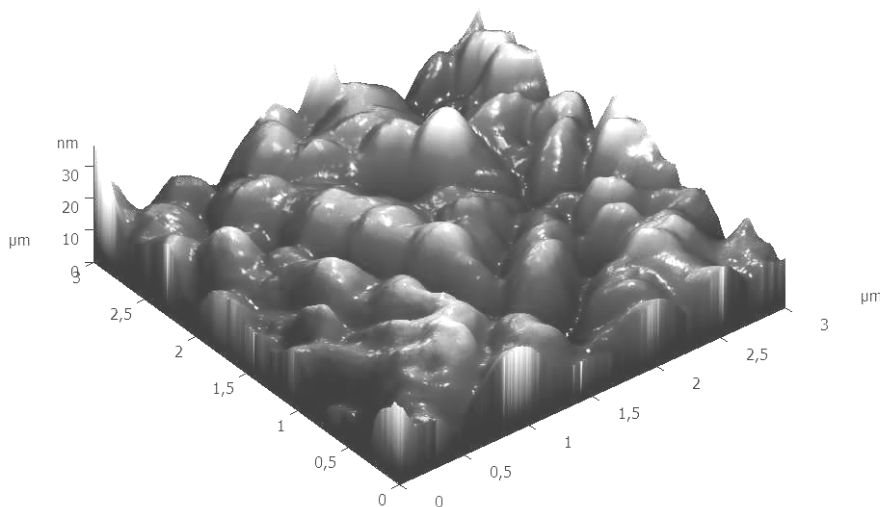


Рис.5.42. АСМ-зображення розчину порошку "Біфіформ",
отримане напівконтактним методом АСМ в рідині

Аналіз отриманих АСМ-зображень проводився з використанням програмного пакету Image Analysis 3.5 (ЗАТ "Нанотехнология-МДТ", м.Зеленоград). В результаті було показано, що досліджуваний розчин містив об'єкти овальної форми розмірами 0,5...1,5 мкм, іноді в коротких ланцюжках завдовжки 1,0...5 мкм.

Наступним етапом роботи було дослідження залежності параметрів живих бактерій від часу інкубації. На рис.5.43 показані АСМ-зображення біологічних об'єктів розчину "Біфіформ", отримані напівконтактним методом АСМ в рідині після однієї години інкубації (рис.5.43, а) та через 2 місяці інкубації (рис.5.43, б).

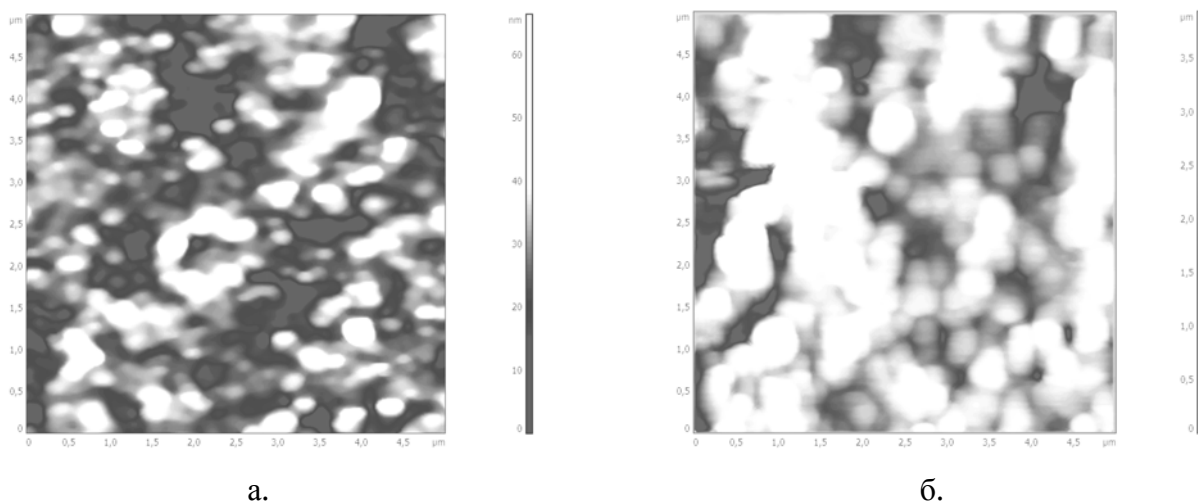


Рис.5.43. АСМ-зображення розчину порошку "Біфіформ":

а) час інкубації через 1 годину; б) час інкубації через 2 місяці

Аналіз отриманих АСМ-зображень показав, що спостерігається значне збільшення кількості бактерій і їх розмірів після закінчення 2 місяців інкубації. Після однієї години інкубації спостерігалися об'єкти овальної і сферичної форми, об'єднані в ланцюжки довжиною 1...5 мкм. Після 2 місяців інкубації біологічні об'єкти переважно мали сферичну форму діаметром 0,5...1 мкм і висотою до 200 нм [86].

Оскільки досліджувані біооб'єкти мали м'яку поверхню, то для мінімізації ушкодження досліджуваного зразка в процесі сканування була розроблена методика, основана на використанні безконтактного режиму роботи АСМ, який є часткою випадком напівконтактного методу, коли зонд в результаті підбору певних параметрів сканування взаємодіє з поверхнею зразка тільки за рахунок сил тяжіння, і його контакт з поверхнею тим самим виключається. Така методика має істотну перевагу при дослідженні м'яких, в'язких або крихких зразків, а також при використанні дорогих зондів.

Для дослідження впливу середовища, в якому проходить сканування, на отримувану за допомогою методу АСМ морфологію біоорганізмів проводилося сканування розчину порошку "Біфіформ® Малюк" безконтактним методом АСМ в двох різних середовищах: на повітрі і в рідині. У першому випадку розчин осідав на ситалову підкладку і висушувався впродовж 20 хвилин в

закритій чашці Петрі, в другому проводилося безпосереднє сканування в краплі цього розчину на підкладках з різних матеріалів: предметне скло, пластмаса (чашка Петрі), ситал і нержавіюча сталь (тримач рідкого осередку MP6LCNTF). Це дозволило досліджувати вплив властивостей підкладки, на яку осідає розчин, на результати сканування і виявити залежність міри адгезії досліджуваного зразка від вибору матеріалу підкладки.

Аналіз отриманих АСМ-зображень розчину порошку "Біфіформ" (рис.5.44) показав, що бактерії при дослідженні на повітрі (рис.5.44, а) мали менші геометричні розміри в порівнянні з бактеріями в рідині (рис.5.44, б), що пов'язано з висиханням м'якої оболонки біооб'єкту і спотворенням його форми. Результати вимірів в рідині, з використанням розробленої методики (рис.5.44, б), добре корелювали з результатами, отриманими в напівконтактному режимі АСМ (рис.5.42, а).

В ході проведених раніше експериментів було виявлено, що значний вплив на результати сканування біооб'єктів в рідині роблять сили гідратації (гідрофобно-гідрофільна взаємодія подошки і зразка). Відомо, що більшість біооб'єктів при взаємодії з водою виставляють гідрофільні групи на зовнішню поверхню, тому можна припустити, що для високої адсорбції біооб'єктів на підкладку необхідно використати гідрофільні підкладки [87].

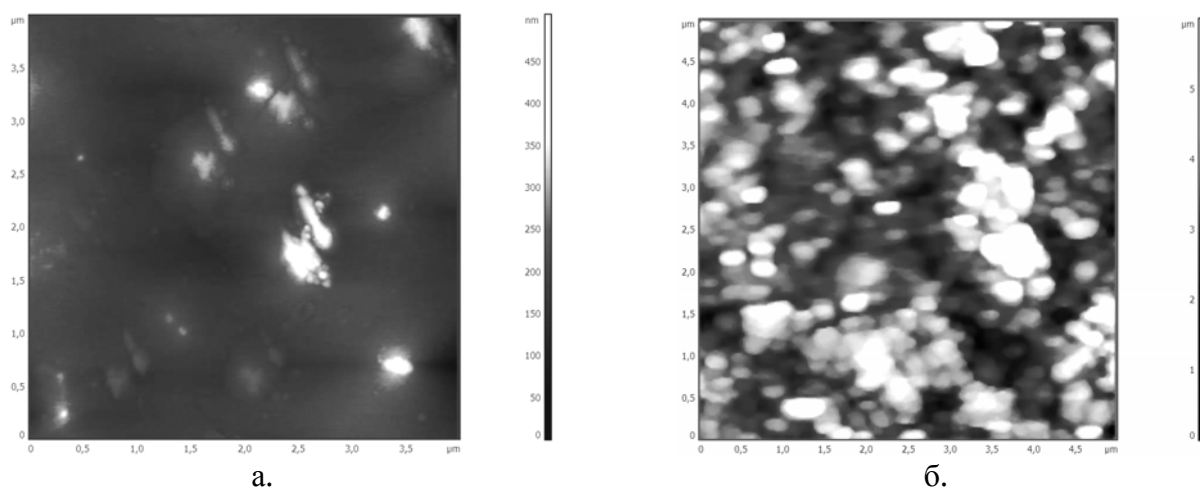


Рис.5.44. АСМ-зображення розчину порошку "Біфіформ", отримані безконтактним методом АСМ: а) на повітрі; б) в рідкому середовищі

Тому було проведено дослідження адсорбції бактерій з розчину порошку

"Біфіформ® Малюк" на поверхню підкладки різних матеріалів.
На рис.5.45 приведені отримані АСМ-зображення.

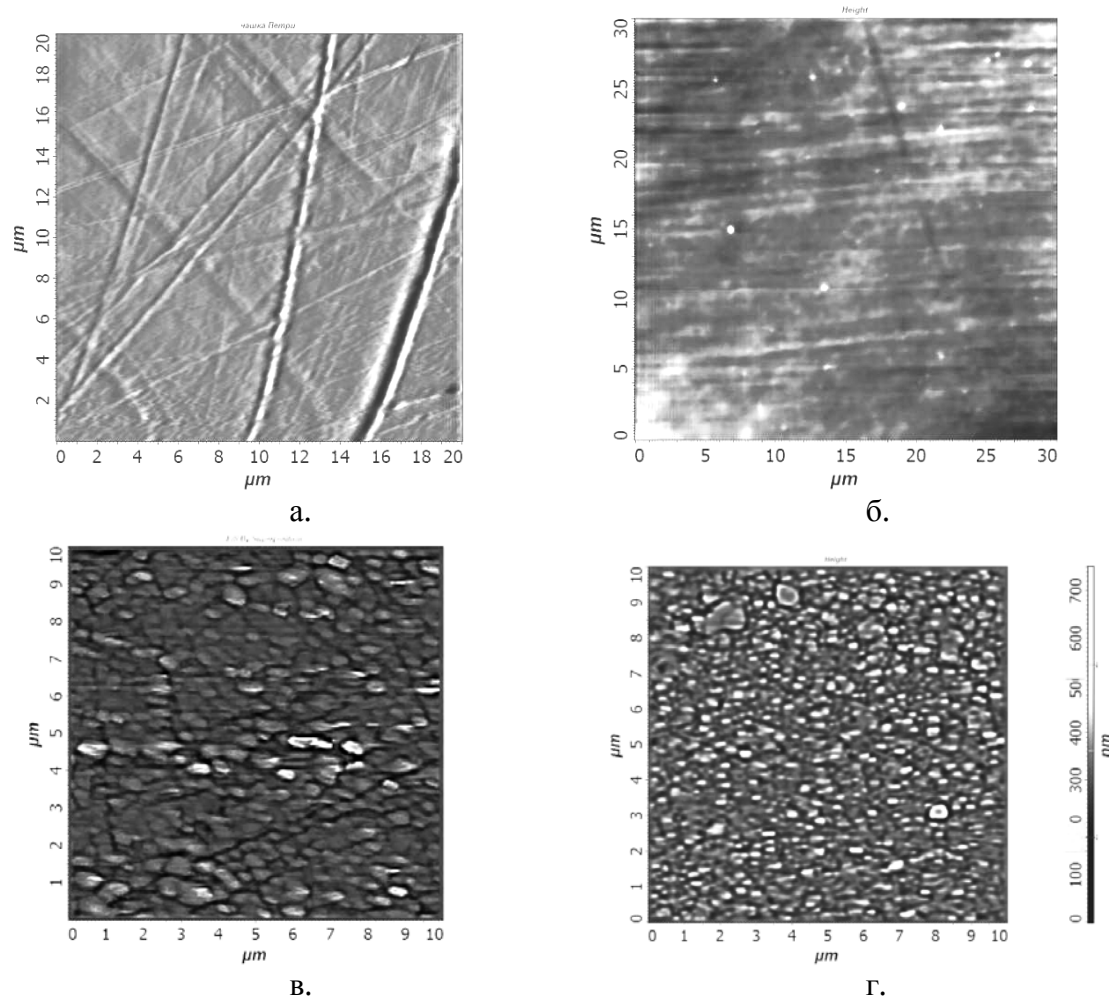


Рис.5.45. АСМ-зображення поверхні розчину порошку "Біфіформ® Малюк", отримані на підкладці: а - скляної; б - пластмасової; в - ситалової; г - металевої

Аналіз цих зображень показав, що на гідрофобній пластмасовій підкладці осадження бактерій не спостерігалось (рис.5.45, а), на скляній - осадження було незначне (рис.5.45, б) і сила зв'язку бактерій з підкладкою мала. Ситалова гідрофільна підкладка забезпечує осадження бактерій переважно в один шар і виступає хорошим адсорбентом для біоб'єктів (рис.5.45, в). При використанні металевої підкладки спостерігалось значне осадження бактерій в декілька шарів, що пов'язано з високою гідрофільністю окисного шару на поверхні металу (рис.5.45, г) [88].

Таким чином встановлено, що безконтактний режим АСМ в рідині є найбільш перспективним режимом АСМ, який дозволяє проводити

дослідження живих мікроорганізмів без застосування спеціальної пробопідготовки і з мінімальною дією на їх поверхню під час сканування. Встановлено, що для отримання достовірних результатів вимірів методом АСМ сканування поверхні живих мікроорганізмів необхідно проводити в умовах, близьких до природних, в даному випадку - в рідкому середовищі.

Показано, що вибір підкладки грає визначальну роль при дослідженні біооб'єктів методом АСМ, і для отримання позитивних результатів сканування необхідно використати гідрофільні підкладки, оскільки вони забезпечують необхідну адгезію зразка на свою поверхню.

5.3.3 Дослідження феромагнітних властивостей напівпровідникових шарів методом магнітно-силової мікроскопії

Інтерес до феромагнітних наноструктур, обумовлений, передусім, перспективністю їх застосування в приладах спінтроники, в системах запису інформації, а також в елементах гібридної магнітної логіки [68, 89]. У зв'язку з цим потрібне вивчення магнітних станів в складних феромагнітних наносистемах і механізмів їх перемагнічування в локальних зовнішніх магнітних полях. В цьому випадку магнітно-силовий мікроскоп (МСМ) надає унікальні можливості, оскільки, з одного боку, зонд МСМ має значні поля розсіяння, які викликають ефекти перемагнічування, а з іншого боку, МСМ одночасно дозволяє контролювати результати такої локальної дії.

Методика експерименту. Масиви феромагнітних наночасток різного складу і форми виготовлялися методами електронної літографії й іонного травлення тонкоплівкових феромагнітних структур, вирощених методом магнетронного напилення на підкладках Si. Початкові структури представляли собою або поодинокі шари С, або багат шарові структури Co/Si/Co або Co/Si/Co/Si/Co, в яких феромагнітні шари С розділялися тонким немагнітним прошарком з Si. Згори структури покривалися маскуючим шаром V і шаром електронного резисту ФП-9102. Електронна літографія проводилася на установці "ELPHY PLUS" на основі скануючого електронного мікроскопа

"Supra 50VP" (компанія "Carl Zeiss"). Формування захисної маски в шарі V робилося іонним травленням в атмосфері фреону. На заключній стадії масиви феромагнітних наночасток формувалися за допомогою іонного травлення в атмосфері Ar^+ . Магнітні стани в наночастках і процеси локального перемагнічування досліджувалися за допомогою вакуумного зондового магнітно-силового мікроскопа "Solver HV" (компанія "NT-MDT"). Комп'ютерне мікромагнітне моделювання основних станів намагніченості часток і процесів їх перемагнічування зондом MCM проводилося за допомогою стандартного пакету OOMMF і спеціально розробленого в ІФМ РАН пакету SIMMAG.

Одношарові нанодиски. У одношарових феромагнітних нанодисках, залежно від аспектних співвідношень, реалізуються декілька типів розподілу намагніченості, такі, як однорідний (OC), вихровий (BC), квазіоднорідний С-стан або так звані цибулинні стани. При цьому за допомогою спеціальних алгоритмів проходу MCM-зонду над частками вдається переводити їх з одного стану в інший, досліджуючи процеси MCM-перемагнічування круглих нанодисків CoPt з перпендикулярною анізотропією. Як приклад на рис.5.46 наведені результати селективного MCM-перемагнічування нанодисків CoPt діаметром 30 нм (просторовий період структури — 120 нм).

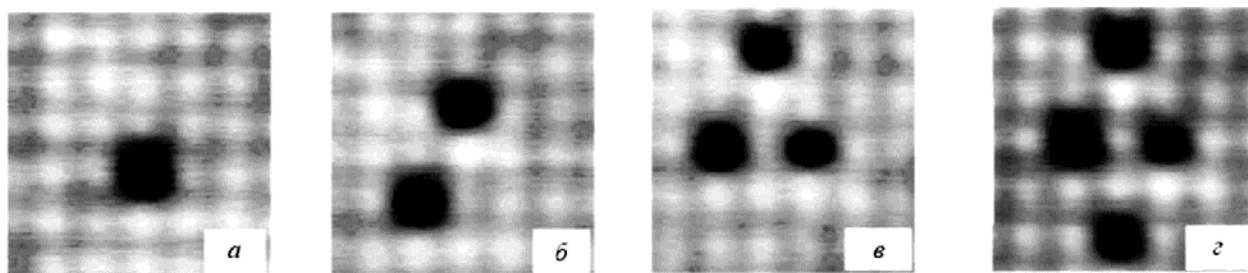


Рис.5.46. Послідовні (а-г) MCM-зображення однієї і тієї ж ділянки масиву нанодисків CoPt в процесі перемагнічування полем зонду (розмір кадру - 700×700 нм)

Мікромагнітне моделювання показало, що в усіх випадках перемагнічування часток відбувається через сильно неоднорідні стани намагніченості.

Двошарові нанодиски. Були проведені дослідження процесів локального перемагнічування нанодисків Co/Si/Co під дією неоднорідного поля

МСМ-зонду. У експериментах досліджувалися еліптичні нанодиски з латеральними розмірами 400×250 нм. Товщина шарів С складала 15 нм, товщина прошарку Si - 3 нм. В силу досить великого аспектного співвідношення в таких частках реалізуються дві стійкі конфігурації магнітних моментів в сусідніх феромагнітних шарах. Основний стан відповідає антиферомагнітній впорядкованості намагніченості шарів Co. Інший стан з феромагнітною впорядкованістю магнітних моментів в шарах С є метастабільним. Безпосередньо перед експериментом зразок намагнічувався в напрямі, паралельному довгій осі дисків, і усі частки опинялися в $\uparrow\uparrow$ конфігурації (рис.5.47, а). Далі центральна частка переведена з $\uparrow\uparrow$ в $\uparrow\downarrow$ стан (рис.5.47, б).

З цією метою застосовувалося сканування на малій висоті (~ 30 нм) в напрямі, перпендикулярному напрямку магнітного моменту частки. Після цього було проведено повторне перемагнічування центрального нанодиска. При цьому спостерігалось інвертування МСМ-контрасту без зміни його амплітуди (рис.5.47, в).

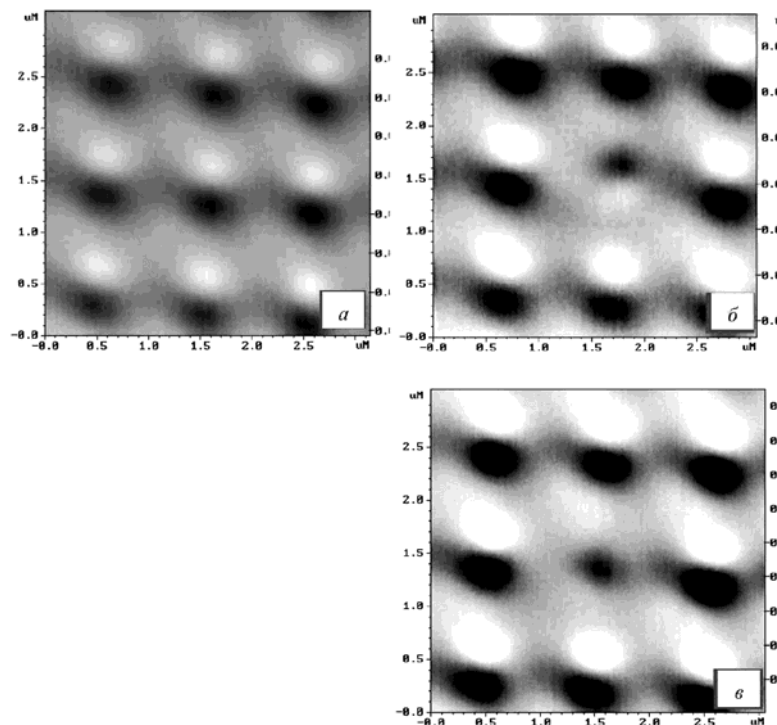


Рис.5.47. Перемагнічування еліптичного нанодиска Co/Si/Co зондом МСМ. Центральний диск переведений із стану $\uparrow\uparrow$ (а) в стан $\uparrow\downarrow$ (б), далі - в стан $\downarrow\uparrow$ (в) з протилежним напрямом моментів

Це свідчить про одночасне перемагнічування верхнього і нижнього феромагнітних шарів. Значить, напрям магнітних моментів в обох шарах змінюється на протилежне. Було проведено мікромагнітне моделювання, що показує динаміку перемагнічування подвійних часток в полі зонду, що рухається МСМ.

Тришарові нанодиски. Нами були проведені експериментальні МСМ-дослідження станів намагніченості в круглих багатошарових дисках, що складаються з трьох шарів С, розділених немагнітними прошарком Si [90]. Теоретично було передбачено, що в таких частках можлива реалізація як колінеарних станів різної симетрії, так і таких, які полягають з неколінеарним (гелікоїдом) розподілом намагніченості (рис.5.48, а). Для спостереження неколінеарного стану була запропонована оптимальна структура частки, в якій значення товщини шарів С росте зі збільшенням відстані між шаром і зондом.

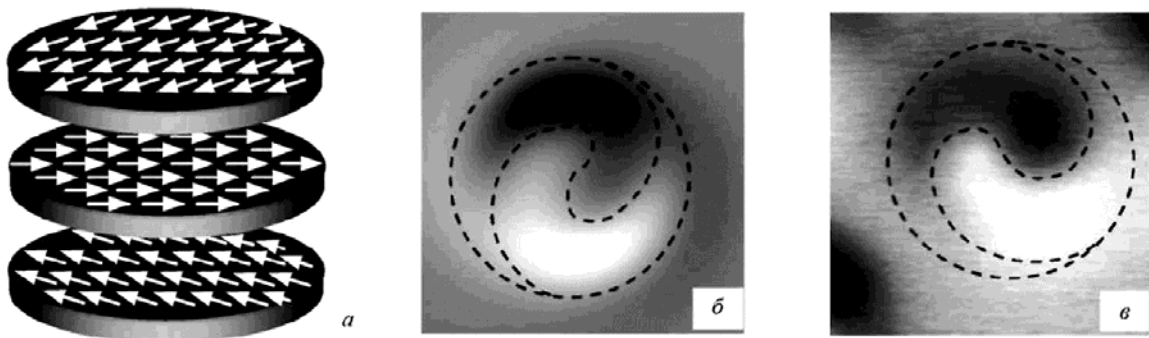


Рис.5.48. Структура намагніченості тришарової частки в стані (а) гелікоїда: модельне МСМ-зображення стану (б) гелікоїда; експериментальне МСМ-зображення (в).

Пунктирні лінії розділяють області з темним і світлим контрастом

При цьому внески різних шарів у формування МСМ-контрасту ставали приблизно однаковими і робили можливим спостереження спірального МСМ-контрасту, що відповідає стану гелікоїда. Модельні розрахунки показали, що частки діаметром 300 нм з товщиною шарів С 8...11...16 нм і товщиною Si прошарків 3 нм мають стан гелікоїда з кутами між магнітними моментами шарів 109° і 257° і є оптимальними для спостереження спірального МСМ-контрасту (рис.5.48, б). При дослідженнях оптимізованих часток було

експериментально зареєстровано спіральний розподіл МСМ-контрасту, що відповідає конфігурації гелікоїда магнітних моментів шарів Co (рис.5.48, в).

Частки хрестоподібної форми. Інтерес до магнітних станів феромагнітних часток хрестоподібної форми обумовлений декількома причинами. По-перше, складна форма часток призводить до формування сильно неоднорідних станів. По-друге, в таких частках реалізується так званий антивихровий розподіл намагніченості, який проявляється в незвичайній спіновій динаміці при перемагнічуванні, а також може виражатися в топологічному ефекті Холу.

Залежно від аспектного відношення, тобто стосунки довжини сектора хреста до його ширини, в таких частках можуть реалізовуватися різні стани намагніченості. У частках з досить великим аспектним відношенням $g = a/b$ ($g > 1$) реалізуються квазіоднорідні розподіли намагніченості (рис.5.49).

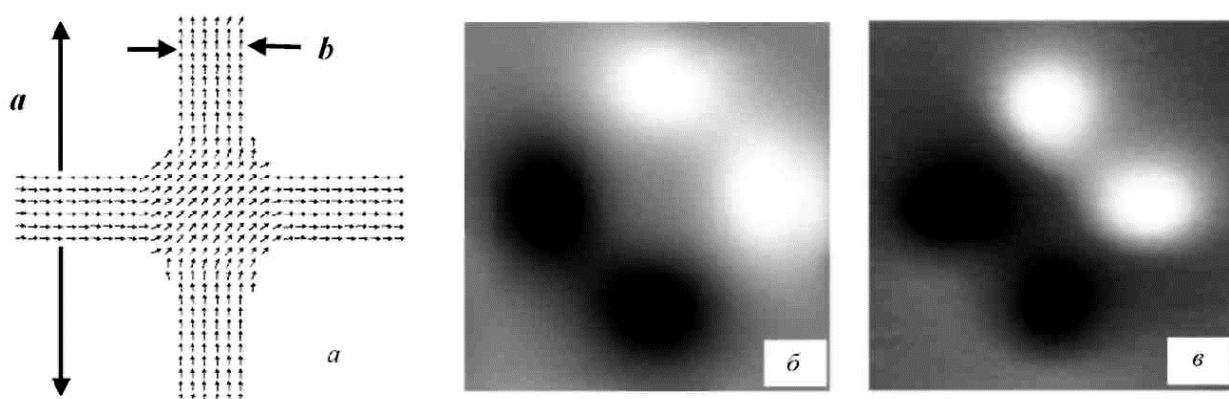


Рис.5.49. Квазіоднорідний стан в хрестоподібній частці. Модельний розподіл намагніченості (а); модельний розподіл МСМ-контрасту (б); експериментальне МСМ-зображення хреста з латеральними розмірами $a = 600$ нм, $b = 100$ нм (в). Товщина частки - 40 нм

Для реалізації антивихрового стану були запропоновані та виготовлені хрестоподібні частки несиметричної форми, у яких два сектора мали на кінцях загострення, що підвищують коерцитивність, а ще два - потовщення, що знижують її. Латеральні розміри складали $a = 1$ мкм, $b = 100$ нм ($g = 10$), ширина частини з потовщенням - 150 нм, товщина частки - 40 нм. Антивихровий стан реалізовувався в таких частках в процесі перемагнічування в зовнішньому однорідному полі за рахунок різної коерцитивності секторів

хреста (рис.5.50, в) [91].

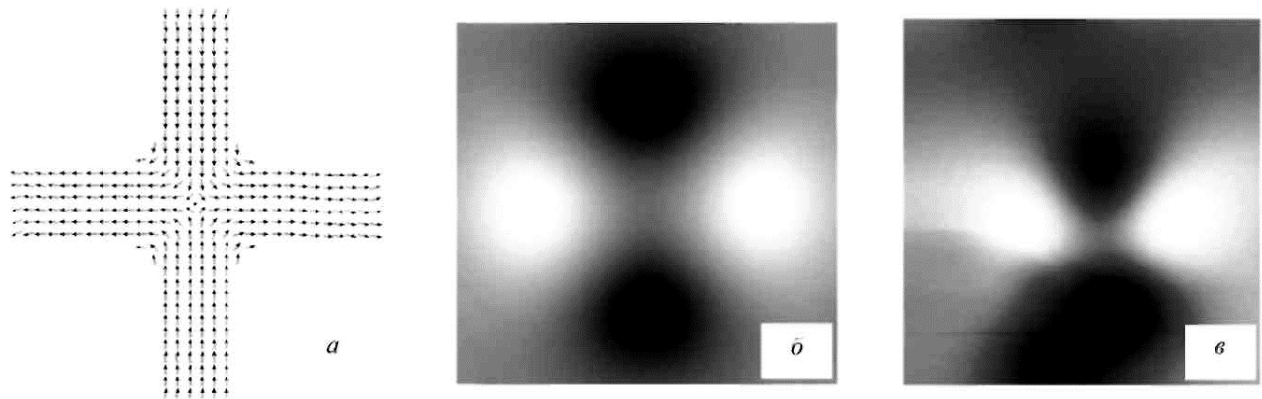


Рис.5.50. Антивихровий стан в хрестоподібній частці. Модельний розподіл намагніченості (а); модельний розподіл МСМ-контрасту (б); експериментальне МСМ-зображення несиметричного хреста з латеральними розмірами $a = 1 \text{ мкм}$, $b = 100 \text{ нм}$ (в). Товщина частки - 40 нм

Експерименти по перемагнічуванню часток хрестоподібної форми під дією поля МСМ-зонду (рис.5.51) показали, що спочатку зразок намагнічувався в зовнішньому магнітному полі, прикладеному уздовж діагоналі хреста. Усі частки мали стан з квазіоднорідною намагніченістю (рис.5.61, а). Потім за допомогою сканування на малій висоті частки переводилися в антивихровий стан (рис.5.51, б).

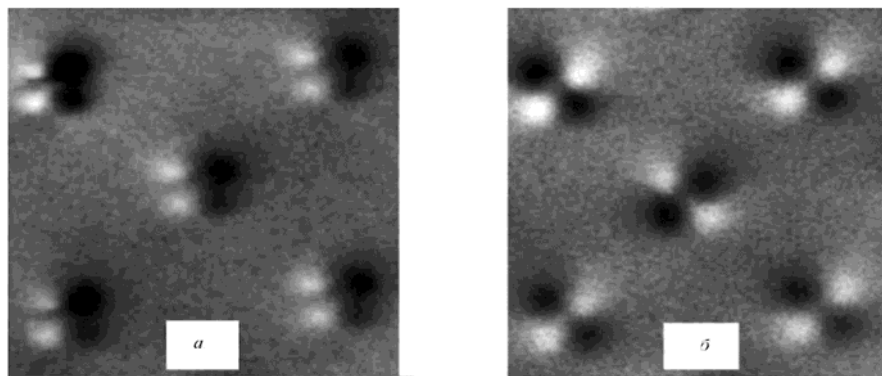


Рис.5.51. Формування антивихрових станів під дією поля зонду МСМ. Початковий стан (а); антивихрові стани (б), сформовані МСМ-зондом

Таким чином, було проведено мікромагнітне моделювання, що показує динаміку перемагнічування часток хрестоподібної форми і формування антивихрового стану в полі зонду МСМ.

5.4 Сучасне програмне забезпечення та формати збереження даних обробки результатів зондової мікроскопії

Нині існує декілька сімейств програмних пакетів високого рівня для наукових і технічних обчислень. За їх допомогою можна розробляти безпосередньо сам алгоритм в спеціальному середовищі, що включає багатий набір різноманітних математичних функцій. В той же час при формулюванні завдання в матричній (векторній) формі отримувана швидкодія лише небагатьом нижче досяжного при використанні компільованих мов, таких як C++. А як раз матричне (для зображення, що сканується) і векторне (для перерізу зображення, для кривих локальної силової спектроскопії) представлення є характерними для СЗМ.

Сказане справедливе, зокрема, для одного з найпопулярніших пакетів технічних обчислень - MATLAB (розробник - фірма "MathWorks", США), що стосується також й інших систем, таких як SciLab, Octave, NumPy.

Розглянемо спеціальну програму-"шлюз", яка дозволяє використати засоби MATLAB в програмі SurfaceXplorer [92]. Після виконання сценарію на мові MATLAB результат обробки автоматично повертається в середовище SurfaceXplorer, де може бути підданий подальшому аналізу. Цей модуль може використовуватися спільно з програмою SurfaceXplorer версій 1.1.3 або 1.1.4 і системою MATLAB версії до 7.5 (2008b).

Треба відмітити, що SurfaceXplorer підтримує досить гнучкий підхід до розробки модулів, що підключаються. Зокрема, вона має спеціальний інтерфейс, завдяки якому підключено модуль, що має доступ до внутрішнього формату даних, до

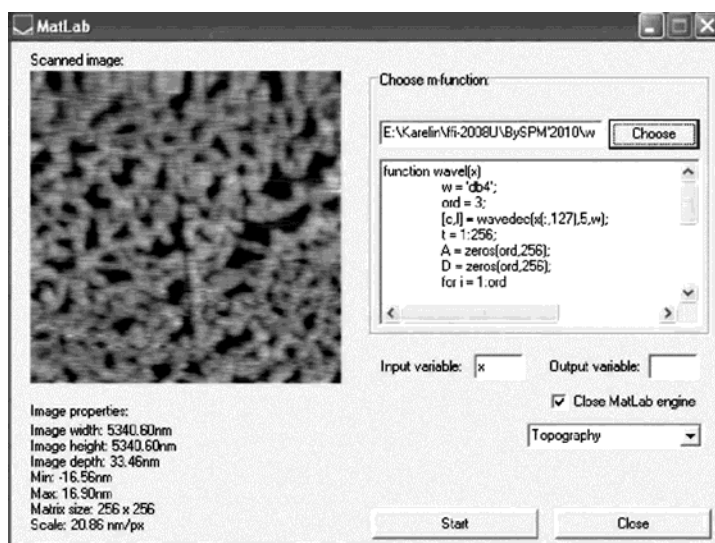


Рис.5.52. Зовнішній вигляд робочого вікна модуля-"шлюза" між програмами SurfaceXplorer та MATLAB

службових функцій програми. В той же час установка модуля, що підключається, здійснюється шляхом його запису в певний каталог пакету програмного забезпечення. Модулі, що підключаються, мають власний графічний інтерфейс користувача (як правило, одна або декілька екранних форм або діалогових вікон).

Зовнішній вигляд інтерфейсу розробленого програмного модуля наведено на рис.5.52. У лівому верхньому кутку програми розташована панель "Scanned image" призначена для візуалізації зображень, отриманих на атомно-силовому мікроскопі (чи на іншому СЗМ). На панелі показується шар зображення, яке було активним на момент запуску модуля.

Як приклад використання модуля приведемо результати обробки топографії поверхні плівки полі-4-вініл-піридину (ПВП) за допомогою методів вейвлет-аналізу (wavelet) [93]. Вейвлет-аналіз дозволяє розділити сигнал (зображення) дві складові - що апроксимує і деталізує - на різних масштабах і для різних

порядків (рівнів деталізації). Широкий набір базових функцій вейвлет-перетворення дозволяє вибрати підхід, що найбільш відповідає особливостям аналізованих даних. Автори роботи [94] вказують, що вейвлет-аналіз може бути дуже ефективний для СЗМ-зображень (пригнічення шуму, помилок сканування тощо), особливо для нерегулярних даних. Початкове зображення представлено на рис.5.52). На рис.5.53 представлені результати вейвлет-аналізу перерізу цього зображення по осі X за допомогою вейвлетів Добеші 4-го порядку. Як видно з рис.5.53, вже починаючи з 2-го рівня деталізації апроксимуюча

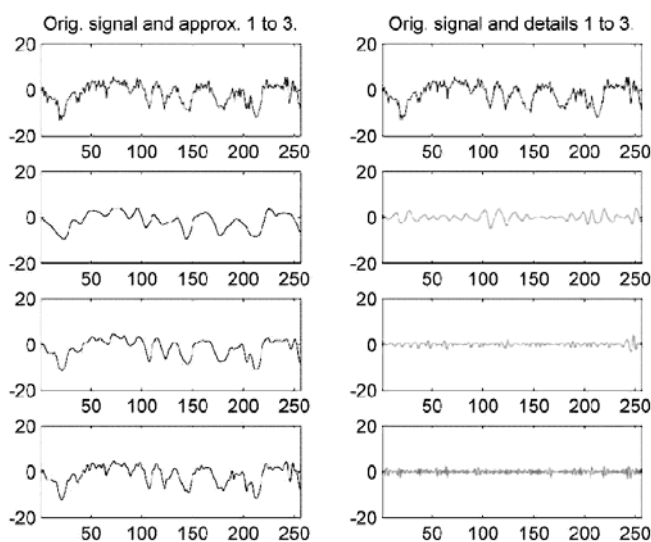


Рис.5.53. Результати вейвлет-аналіза перерізу топографії плівки ПВП

складова добре передає основні характеристики профілю, а та, що деталізує є, головним чином, шумом.

Треба відмітити, що описаний підхід (проробка результатів СЗМ за допомогою високорівневих математичних пакетов) підтримується, судячи з усього, тільки у виняткових випадках. Зокрема, аналіз описів і доступних версій програм зі списку [95] показує, що користувачам пропонується реалізовувати свої алгоритми на порівняно низькорівневих (C/C++) або на не призначених для інтенсивних математичних розрахунків (Visual Basic, C#) мовах програмування. В якості виключення можна згадати середовище Gwyddion [69] (розробляється співтовариством програмістів за підтримки Чеського інституту метрології) у якому можна користуватися мовою Python і, відповідно, математичним пакетом NumPy.

Програмне забезпечення ФемтоСкан. Для управління зондовими мікроскопами і обробки зображень може використовуватися пакет програмного забезпечення "ФемтоСкан Онлайн". Він включає безліч вбудованих функцій для обробки результатів експерименту і математичних розрахунків, дозволяє здійснювати управління мікроскопами як через локальну мережу, так і через Інтернет, приймати дані з тунельного, атомно-силового і резонансного атомно-силового мікроскопів, а також і з інших джерел, таких як відеокамери, сканери тощо.

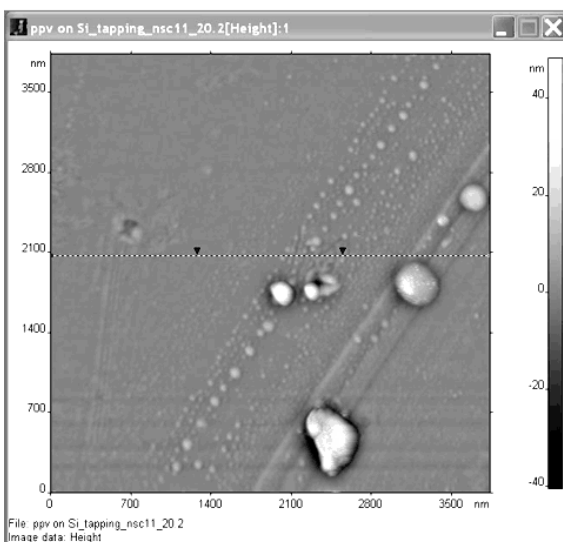


Рис.5.54. Зображення поверхні зразка

Для розширення функцій комплексу при рішенні нових наукових проблем потрібне регулярне внесення в пакет програмного забезпечення різних змін і доповнень. З метою найбільш ефективного рішення цієї задачі в системі розроблені загальні протоколи для опису, зберігання параметрів і для маніпуляцій з ними, засновані на роботі з універсальними змінними.

Зберігання даних СЗМ. Кінцевим результатом сканування є набір даних. Отримана інформація представляється користувачеві у вигляді двовимірної картини, на якій властивості точок, наприклад висота поверхні, передається кольором (рис.5.54), або у вигляді тривимірного зображення. Але при цьому відображається лише частина отриманих даних. Насправді ця картина зберігається у вигляді двовимірної матриці, де кожне число є значенням тунельного струму або відхилення кантилевера, залежно від режиму сканування. Діапазону чисел, присутніх в матриці, ставиться у відповідність колірна палітра. Частіше за все, діапазон початкових значень більший, ніж число можливих кольорів, тому при візуалізації частина інформації втрачається, але при правильній обробці зображення користувач може отримати саме ту інформацію про зразок, яка йому потрібна. Окрім вищеописаних потокових даних для кожного зображення треба зберігати безліч параметрів, що встановлюються в процесі сканування, причому ці параметри залежать від типу мікроскопа і від поточного режиму сканування.

На сьогодні основною проблемою при перетворенні форматів є відмінність в наборах записуваних даних. Мікроскопи мають свою специфіку, призначені для дослідження різних класів об'єктів, і у кожному окремому випадку істотними є різні параметри. В той же час, компанії, що займаються виробництвом програмного забезпечення до СЗМ, використовують свої формати для зберігання експериментальних даних [96], тому спільне використання результатів, отриманих на приладах, створених різними фірмами, стає неможливим, потрібно перетворення форматів у кожному окремому випадку.

У зв'язку з цим завдання створення універсального формату зберігання даних скануючої зондової мікроскопії представляється особливо важливим. Для вирішення цієї проблеми пропонується створити новий формат на основі XML. Це спростить доступ до даних, оскільки вони будуть структуровані, дозволить зберігати тільки потрібні при поточному режимі сканування параметри. Внесення яких-небудь змін до структури даних, що зберігаються, і

додавання нових змінних також буде пов'язано лише з локальними змінами: додаванням нових блоків в XML-схему і написанням додаткових обробників для конкретних подій. Усі ці чинники істотні для обробки даних, яка стане простіша і швидша.

Такий формат зберігання даних може бути легко перетворений у будь-якій іншій, який використовується в скануючій зондовій мікроскопії. Для цього необхідно буде витягати інформацію з XML-файлу в потрібній послідовності і формувати документ відповідно до правил того формату, в який робиться перетворення. Ці дії також можуть бути виконані за допомогою стандартних програм, розроблених для XML.

За останній час за допомогою стандарту XInclude, створеного консорціумом W3C для організації об'єднання XML-документів, проводилося виділення загальних блоків і їх опис поза основними документами. В результаті цього зараз в системі знаходяться основні XML-документи, кожен з яких відповідає за свій інтерфейс, і файли-включення, які спільно використовуються ними для додавання в інтерфейси однакових блоків.

Завдяки цьому в майбутньому роботи по внесенню змін до призначеного для користувача інтерфейсу стануть простішими, оскільки при появі нових функцій або параметрів вони мають бути додані в декілька незалежних інтерфейсів однаковим чином. До того ж, при діленні XML-документа на частини його аналіз можна починати до того, як він цілком є в наявності, це особливо корисно при аналізі велетенських документів, які не поміщаються в пам'ять, але навіть для менших об'ємів це прискорює роботу програми-аналізатора.

ЗАКЛЮЧЕННЯ

У XX ст. на фоні списку наукових чудес, що нестримно поповнювався, мікротехнології спочатку залишалися в тіні. Мікроскоп для більшості звичайних людей став рутинним об'єктом для практичного досягнення шкільного курсу біології, а ученим здавалося, що перевершити природну межу і розрізняти структури з відстанню між елементами до 0,2 мікрометра неможливо. Цього цілком вистачало для спостереження мікроорганізмів, рослинних і тваринних клітин, дрібних кристалів, деталей мікроструктури металів і сплавів.

Нова революція грянула в 1959 році, коли американський фізик Річард Фейнман прочитав доповідь з провокаційною назвою "Там внизу повно місця". Він запропонував створити систему маніпуляторів, здатних зрештою вийти на окремо взятий атом. Тактика Фейнмана ґрунтувалася на тому, щоб побудувати механізм, що створював свою зменшену копію. Процедура повторювалася до тих пір, поки розміри механізму не порівнювалися з розмірами одного атома.

Уперше розгледіти через мікроскоп клітину вдалося в 1660-тих роках англійцеві Роберту Гуку. Він же і придумав сам термін "клітина". По Фейнману, після проникнення в атомний мікросвіт, слід було збирати систему по новій, вносячи в неї потрібні прогресивному людству зміни. У ідеалі потрібний механізм сам створить свою копію з окремих атомів. Кількість таких копій, згідно з пророцтвами Фейнмана, необмежено, і теоретично за короткий час можливо створити будь-яке число таких машин, які потім таким же по-атомним збиранням збиратимуть видимі оку макроречі зі зміненими людською волею властивостями. Це дозволить в перспективі радикально здешевити багато виробництв — нанороботам треба буде дати тільки необхідну кількість молекул і енергію, написавши заздалегідь програму для збирання необхідних предметів.

У кінці п'ятдесятих років минулого століття виводи Фейнмана сприймали в одному ряду з іншими очікуваними проривами в науці, наприклад з

польотами на Марс. Але до років восьмидесятих його прогнози почали потроху збуватися. Розпочалося з того, що в 1974 р. японець Норіо Танігуті запропонував термін "нанотехнології", яким охрестив виробництво предметів, вимірюваних в нанометрах. А в 1986 р. американець Ерік Дрекслер з Масачусетського технологічного інституту написав книгу "Машини створення: настає ера нанотехнології", в якій передбачив швидке переважання мікросвіту над світом великих людей і тіл. А інструментом для проникнення в цей мікросвіт суджено було стати саме мікроскопу.

Без мікроскопа нині неможливе нормальне функціонування переважної більшості медичних та біологічних лабораторій, розвитку технології, техніки та матеріалознавства та багатьох інших напрямів сучасної людської діяльності. Без результатів досліджень, що проводяться з використанням мікроскопу неможливі ні постановка точного діагнозу, ні розробка і впровадження нових елементів схемотехніки, ні наукові відкриття.

При усьому різноманітті завдань, для вирішення яких використовується мікроскоп, можна сформулювати ряд вимог, що пред'являються до мікроскопів і результатів мікроскопічних досліджень: достовірність, повторюваність, показність, можливість реєстрації і обробки отримуваних результатів, можливість обміну результатами досліджень.

Мікроскопи повинні мати достатню міру універсальності (використання для вирішення різних завдань по спостереженню і вивченню різних об'єктів на єдиній елементній базі). Крім того, вони повинні надавати можливістю стандартизації методик досліджень при широкому використанні (стандартизація використовуваних збільшень, освітлення, методів контрастування і тому подібне). Якісний мікроскоп має гнучкість комплектації конкретних приладів (можливість урахування специфіки конкретних завдань, для вирішення яких планується використання приладу). При цьому обов'язкові умови, яким повинен відповідати мікроскоп це ергономічність, надійність (тривалий час безвідмовної експлуатації), ремонтпридатність.

Чого ж можна чекати від мікроскопії завтрашнього дня ? На рішення яких завдань можна розраховувати ? Передусім - поширення на усе нові об'єкти. Досягнення атомарної роздільної здатності, безумовно, є найбільшим завоюванням наукової і технічної думки. Проте не забуватимемо, що це досягнення поширюється лише на обмежений круг об'єктів, розміщених до того ж в дуже специфічні, незвичайні умови, які чинять сильний вплив. Тому необхідно прагнути розповсюдити атомарну роздільну здатність на широке коло об'єктів.

З часом можна чекати залучення "на роботу" в мікроскопах інші заряджені частки. Ясно, проте, що цьому повинні передувати пошуки і розробка потужних джерел таких часток; крім того, створення мікроскопів нового типу визначатиметься появою конкретних наукових завдань, в рішення яких саме ці нові частки внесуть вирішальний вклад.

Удосконалюватимуться мікроскопічні дослідження процесів в динаміці, тобто ті, що відбуваються безпосередньо в мікроскопі або в подібних до них установках. До таких процесів відносяться випробування зразків в мікроскопі (нагрів, розтягування і так далі) безпосередньо під час аналізу їх мікроструктури. Тут успіх буде зумовлений, в першу чергу, розвитком техніки високошвидкісної фотографії і підвищенням тимчасової роздільної здатності детекторів (екранів) мікроскопів, а також використанням потужних сучасних комп'ютерів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Векірчик К.М. Мікробіологія з основами вірусології: підручник / К.М.Векірчик. – К.: Либідь, 2002. – 312 с.
2. Вермель Е.М. История учения о клетке / Е.М.Вермель – М.: Наука, 1970. – 256 с.
3. Захватін В.О. Посібник з мікроскопічної техніки / В.О.Захватін – Львів, 1961. – 71 с.
4. Новак В.П., Цитологія, гістологія, ембріологія: Підручник / Новак В.П., Пилипенко М.Ю., Бичков Ю.П. та інші. – К.: ВІРА-Р, 2001. – 288 с.
5. Пішак В. П. Гістологія з основами гістологічної техніки: підруч. для студ. вищ. навч. закл.: підруч. для студ. вищ. мед. навч. закл. I-II рівнів акредитації / Пішак В.П., Федонюк Л.Я., Зажаєва В.В. та інші. – К. : Кондор, 2008. – 400 с.
6. Zengbo Wang Optical virtual imaging at 50 nm lateral resolution with a white-light nanoscope / Wang Zengbo, Guo Wei, Li Lin etc. // Nature Communications 2, 2011.
7. Westphal, V., S. W. Hell (2005)."Nanoscale Resolution in the Focal Plane of an Optical Microscope" Phvs. Rev. Lett. 94 : 143903.
8. Батырев В.А. Рентгеноспектральный электроннозондовый микроанализ / В.А.Батырев, М., Металлургия, 1982.
9. Глоба О. З історії мікроскопічних досліджень / О.Глоба // Технологічна освіта: досвід, перспективи, проблеми. – 2009. – №3-4, С.189-195.
10. Мосолов А. Секрет Антони ван Левенгука / А.Мосолов, А.Белкин. - М., «Наука и жизнь», 09.1980
11. Рождественский Д.С. К вопросу об изображении прозрачных объектов в микроскопе / Д.С.Рождественский. - Тр. ГОИ, 1940, т. 14
12. Рождественский Д.С. Избранные труды / Д.С.Рождественский. М.-Л., "Наука", 1964.

13. Clay R.S., Court T.H. The history of the microscope. L., 1932; Bradbury S. The evolution of the microscope. Oxford, 1967.
14. Скворцов Г.Е. Микроскопы / Г.Е.Скворцов, В.А.Панов, Н.И.Поляков и др. Л.: Машиностроение, 1969, 511 с.
15. Радковскій П. Микроскопъ и его исторія / П.Радковскій // "Наука и Жизнь", №2, 1893.
16. Хакинг Я. Представление и вмешательство. Введение в философию естественных наук. Пер. с англ. / Перевод С. Кузнецова, Науч. ред. Мамчур Е. А. М.: Логос 1998. – 296 с.
17. Генкель П.А. Роберт Броун / П.А.Генкель. – Известия АН СССР, 1959, № 1
18. Соболев С.Л. История микроскопа и микроскопических исследований в России в XVIII веке / С.Л. Соболев, 1949.
19. Лебедев Е.Н. Ломоносов / Е.Н. Лебедев. М: Молодая гвардия, 1990.
20. Скворцов Г.Е. Микроскопы / Г.Е.Скворцов, В.А.Панов, Н.И.Поляков и др. Л.: Машиностроение, 1984, 508 с.
21. Спасский Б.И. История физики. Ч.2 / Б.И. Спасский. — М.: Высш. школа, 1977. — С. 36 — 63.
22. Опубликовано 29.06.2009 Источник: Егорова О.В. С микроскопом на "Ты". - РепроЦЕНТР М, 2006
23. Гоулдстейн Дж. Растровая электронная микроскопия и рентгеновский микроанализ: в 2 – х книгах / Дж.Гоулдстейн, Д.Ньюбери, и др. Пер. с англ. – М.: Мир, 1984, С.296-348.
24. Практическая растровая микроскопия: Пер. с англ. / Под ред. Гоулдстейна Дж. и Яковица Х. М. – М.: Мир, 1978. – 656 с.
25. H. Busch. Berechnung der Bahn von Kathodenstrahlen im axialsymmetrischen elektromagnetischen Felde // dans Annalen der Physik, vol. 386, no 25, 1926, p. 974—993
26. M. Knoll, E. Ruska. Das Elektronenmikroskop // dans Zeitschrift für Physik A Hadrons and Nuclei, vol. 78, 1932, p. 318—339.

27. M. Knoll. Aufladepotential und Sekundäremission elektronenbestrahlter Körper // Zeitschrift für technische Physik. 16, 467—475 (1935)
28. M. von Ardenne. Das Elektronen-Rastermikroskop // Zeitschrift für Physik A Hadrons and Nuclei, 108 (9-10) :553-572, 1938
29. Zworykin V.K. Application of the electron microscope in metallurgy // J. Amer. Inst. Mining and Metallurgical Eng. 1943. Vol. 152, June. P. 12-37. A compact high resolving power electron microscope // J. Appl. Phys. 1943. December.
30. Zworykin V.K. The electron microscope // Med. Phys. 1944.
31. Гоулдстейна Дж.. Практическая растровая электронная микроскопия / Дж.Гоулдстейна, Х.Яковица. – М.: Мир, 1978г. – 656с.
32. Хокс П. Электронная оптика и электронная микроскопия / П.Хокс. - М.: Мир, 1974. – 354 с.
33. Bradbury, S. The Evolution of the Microscope. Oxford and New York, 1967.
34. Daumas, Maurice. Scientific Instruments of the Seventeenth and Eighteenth Centuries and Their Makers. Translated and edited by Mary Holbrook. London, 1989.
35. Turner, Gerard L'E. Elizabethan Instrument Makers: The Origins of the London Trade in Precision Instrument Making. Oxford and New York, 2000.
36. K.C.A. Smith, Charles Oatley: Pioneer of scanning electron microscopy, EMAG '97 Proceedings, IOP Publishing Lt, 1997
37. Шиммель Г. Растровая электронная микроскопия и рентгеновский микроанализ / Г.Шиммель, М., 1984.
38. Binnig G. Scanning tunneling microscopy: from birth to adolescence / G.Binnig, H.Rohrer // Rev. Mod. Phys. 1987. V. P. 615; УФН. 1988. Т. 154. С 261.
39. Эдельман В.С. Сканирующая туннельная микроскопия / В.С. Эдельман // Приборы и техника эксперимента. 1989. № 5. С. 24.
40. Binnig G. In touch with atoms / G.Binnig, H.Rohrer // Rev. Mod. Phys. 1999. V. 71. N 2. S. 324.
41. Дряхлушин В.Ф. Сканирующая ближнепольная оптическая микроскопия и ближнепольные оптические зонды: свойства, изготовление и контроль

- параметров / В.Ф.Дряхлушин, В.П.Вейко, Н.Б.Вознесенский // Квант. электроника, 2007, 37 (2), 193—203.
42. Куетт Ф. Вакуумное туннелирование: новая методика в микроскопии / Физика за рубежом. Сер. А. Москва: Мир (1988), 93 – 111.
43. Микроскоп биологический исследовательский универсальный МБИ-15 — техническое описание и инструкция по эксплуатации, ЛОМО 1979
44. Пешков М.А., Милютин В.Н., Световой микроскоп, основы работы с ним и его разновидности, в кн.: Руководство по микробиологической диагностике инфекционных болезней, 2 изд. / М.А.Пешков, В.Н.Милютин, М., 1973.
45. Метод темного поля // Микроскопическая техника в биологии http://labx.narod.ru/documents/metody_microscopirovanija.html
46. Камаева М. Обзор Logitech Anywhere MX Wireless Mouse (рус.) / М.Камаева // Компьютерная газета. Проверено 26 марта 2010.
47. Wells O.C. Correction of errors in electron stereomicroscopy / O.C.Wells // British Journal Applied Physics, 11 (1960) pp. 199–201.
48. Красная книга микроструктур новых функциональных материалов: Сборник трудов // М.: МГУ им.М.В.Ломоносова (факультет наук о материалах), 2006. – 115 с.
49. Кулаков Ю.А Электронная микроскопия / Ю.А. Кулаков. – М.: Знание, 1981. – 64 с.
50. Энгель А. Растровая электронная микроскопия. Справочник / А.Энгель А., Г.Клингеле. М.: Металлургия, 1986.
51. Гоулдстейн Дж. Растровая электронная микроскопия и рентгеновский микроанализ: в двух книгах / Дж.Гоулдстейн, Д.Ньюбери, П.Эчлин. — М.: Мир, 1984. 303 с.
52. Спенс Дж. Экспериментальная электронная микроскопия высокого разрешения / Под ред. В. Н. Рожанского. – М.: Наука. Гл. ред. физ.-мат. Лит., 1986. – 320 с., ил.
53. Практические методы в электронной микроскопии / Под ред. М.Одри Л.Глоэра, М.: Машиностроение, 1980.

54. Томас Г. Просвечивающая электронная микроскопия материалов: Пер. с англ./ Под ред. Б.К.Вайнштейна – М: Наука. Главная редакция физико-математической литературы, 1983 – 320 с
55. Пилянкевич А.Н. Практика электронной микроскопии / А.Н.Пилянкевич. Киев: Машгиз, 1961.
56. Электронная микроскопия в минералогии: Пер. с англ./ Под общей ред. Г.-Р.Венка. – М.: Мир, 1979. – 485 с.
57. Хириш П. Электронная микроскопия тонких кристаллов / П. Хириш. М., “Мир”, 1968.
58. Утневский М.М. Дифракционная электронная микроскопия в металловедении / М.М.Утневский, М., “Металлургия”, 1973.
59. А.с. № 1739266 от 8.11.92г. "Способ препарирования ультрадисперсных порошков и сред для электронно-микроскопических исследований"
60. Методика РЭМ – 31. БРНПО Порошковой металлургии, 1988, Минск.
61. Панченко Е.В. Лаборатория металлографии / Е.В.Панченко, Ю.А.Скоков, Б.И.Криммер, М., “Металлургия”, 1965.
62. Практические методы в электронной микроскопии / Под ред. Одри М.Глоэра, Л., "Машиностроение", 1980.
63. Эндрих К. Электронограммы и их интерпретация / К.Эндрих, Д.Дайсок, С.Клоди, М.,”Мир”, 1971.
64. Snigirev A. Hard X-ray microoptics development at the ESRF: Hard ways to nanometer resolution // Рабочее совещание «Рентгеновская оптика – 2008», г. Черноголовка, 6 - 9 октября 2008 г. – С.91.
65. Рентгеновская оптика и микроскопия / Под ред. Г.Шмаля, Д.Рудольфа; пер. с англ. В.А.Слемзин, М., 1987.
66. Суслов А.А. Сканирующая зондовая микроскопия / А.А.Суслов, С.А.Чижик // Материалы, технологии, инструменты, 1997, № 3. - С. 78.
67. Бахтизин Р.З. Физические основы сканирующей зондовой микроскопии / Р.З.Бахтизин, Р. Р. Галлямов Уфа: РИО Баш. ГУ, 2003. - 82 с.

68. Миронов В.Л. Основы сканирующей зондовой микроскопии / В.Л. Миронов. - Н. Новгород: Ин-т физики микроструктур РАН, 2004. - 143 с.
69. Gwyddion - Free SPM (AFM, SNOM/NSOM, STM, MFM, ...) data analysis software [Электронный ресурс] / D. Necas, P. Klapetek. - 2010. - Режим доступа: <http://gwyddion.net/> — Дата доступа: 30.04.2010.
70. Быков В.А. Микромеханика для сканирующей зондовой микроскопии / В.А.Быков // Микросистемная техника. 2000. № 1. С. 21.
71. Суслов А.А. Сканирующие зондовые микроскопы (обзор) / А.А.Суслов, С.А.Чижик Материалы, технологии, инструменты (1997), № 3, 78 – 89.
72. Hurlmann U. An introduction to AFM and related methods. TopoMetrix. 1997. P.56.
73. Арутюнов П.А. Атомно-силовая микроскопия в задачах проектирования приборов микро- и нанoeлектроники. Часть 1. / П.А.Арутюнов, А.Л.Толстихина // Микроэлектроника. 1999. Т. 28. № 6. С. 405; Часть 2. 2000. Т. 29. № 1. С. 13.
74. Шермергор Т. Знакомьтесь: атомный силовой / Т.Шермергор // Наука и жизнь (1991), № 9, 7 – 9.
75. Binning G. Atomic force microscopy / G.Binning, C.F.Quate, Ch.Gerber // Phys. Rev. Lett. 56 (9) (1986), 930 – 933.
76. Meyer E. Atomic Force Microscopy / E.Meyer // Progress in Surface Science, 41/1 (1992), 3 – 49.
77. Чижик С.А. Глаза и руки нанотехнологий / С.А.Чижик, А.П.Свириденко, А.А.Суслов // Наука и инновации. - 2009. — № 3. - С. 53-55.
78. Fischer, U. Near-field optics-light microscopy for nanoscience / U.Fischer, A.Naber // Photo-nik international. - 2006. - N 5. - P. 82-85.
79. Dragnea, B. Advances in submicron infrared vibrational band chemical imaging / B.Dragnea, S.R.Leonea // Int. Reviews in Physical Chemistry. - 2001. - Vol. 20, N 1. - P. 59-92.
80. Яминский И.В. Сканирующая магнитно-силовая микроскопия / И.В.Яминский, А.Н.Тишин // Успехи химии. 1999. V. 68. N 3. P. 165.

81. Cappella B. Force — distance curves by atomic microscopy / B.Cappella, G.Dieller // Surface Sci. Rep. 1999. V. 34. P. 1.
82. Majumdar A. Scanning thermal microscopy / A.Majumdar // Annu. Rev. Mater. Sci. 1999. V. 29. P. 505.
83. Persson B.N.J. Sliding friction: physical principles and applications / B.N.J.Persson, Berlin: Springer. 1998.
84. Bhushan B. (ed). Handbook of Micro/Nanotribology. Boca Raton, FL: CRC Press. 1999.
85. Israclachvili J.N. Intermolecular and surface forces. London. Acad. Press. 1992.
86. Поляков В.В. Исследование параметров биологических объектов бесконтактным методом атомно-силовой микроскопии в жидкости / В.В.Поляков, В.А.Смирнов, М.В.Рубашкина // Труды международной научно-технической конференции и молодежной школы-семинара «Нанотехнологии – 2010». – 2010. – Ч. 2. – С. 251–253.
87. Кузнецова Т.Г. АСМ эластография - новый метод биомедицинских исследований / Т.Г.Кузнецова, М.Н.Стародубцева // Проблемы здоровья и экологии. - 2008. - № 1 (15). — С. 143-150.
88. Micromechanical properties of elastic polymeric materials as probed by scanning force microscopy / S.A.Chizhik [et al.] // Langmuir. - 1998. - Vol. 14. - P. 2606-2609.
89. Chang J. Magnetic state control of ferromagnetic nanodots by magnetic force microscopy probe / J.Chang, V.L.Mironov, B.A.Gribkov [et al.] // Journal of Applied Physics, 100, 104304-1-7 (2006).
90. Вдовичев С.Н. Магнитосопротивление и неколлинеарные состояния многослойных ферромагнитных наночастиц / С.Н.Вдовичев, Б.А.Грибков, С.А.Гусев и др. // Письма в ЖЭТФ, 94(5-6), 418-421 (2011).
91. Миронов В.Л. Управление магнитным состоянием массивов ферромагнитных наночастиц с помощью неоднородного поля зонда магнитно-силового микроскопа / В.Л.Миронов, А.А.Фраерман, Б.А.Грибков и др. // Физика металлов и металловедение, 110, (7), 708-734 (2010).

92. Суслов А.А. Использование программного пакета «SurfaceXplorer» для обработки, визуализации и анализа СЗМ-изображений / А.А.Суслов, Д.И.Шашолко // Методологические аспекты сканирующей зондовой микроскопии. VТТ Междунар. семинар. Сб. докладов. — Минск: ИТМО НАН Беларуси, 2006. - С. 195-201.
93. Klapetek, P. Applications of the wavelet transform in AFM data analysis / P.Klapetek. I.Ohlidal // Acta Physica Slovaca. - 2005. - Vol. 3. - P. 295-303.
94. SPM Software. List of software available to manipulate and analyse AFM and STM images [Электронный ресурс] / P. Eaton. - 2009. - Режим доступа: <http://kno1.google.com/k/spm-soft-ware/> — Дата доступа: 30.04.2010.
95. Sarid D. Exploring scanning probe microscopy with Mathematica / D.Sarid. - NY: John Wiley & Sons, Inc., Interscience. - 1997. - 262 p.
96. Goodhew P. Education moves to a new scale / P.Goodhew // Nanotoday. - 2006. - N1,2.-P. 40-43.

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А.

Основні події у розвитку методів та засобів мікроскопії

1590 — Голландські виробники окулярів Ганс Янсен та його син Захар Янсен, за свідченням їх сучасників (П'єра Бореля (1620-1671 або 1628-1689) та Вільгельма Боріля (1591-1668), винайшли складений оптичний мікроскоп.

1609 — Галілео Галілей винаходить складений мікроскоп з опуклою і увігнутою лінзами.

1612 — Галілей представляє оккіоліно (occhiolino – "маленьке око") польському королю Сигізмунду Третьому.

1619 — Корнеліус Дреббель (1572-1633) презентує в Лондоні складений мікроскоп з двома опуклими лінзами.

1622 — Дреббель показує свій винахід в Римі.

1624 — Галілей показує свою оккіоліно принцові Федеріку, засновнику Національної академії деї Лінчеї.

1625 — Джованні Фабер (1574-1629) друг Галілея з Академії рисеоків, пропонує для нового винаходу термін мікроскоп по аналогії із словом телескоп.

1664 — Роберт Гук публікує свою працю "Мікрографія", збори біологічних гравюр мікросвіту, де вводить термін клітина для структур, які їм були виявлені в пробковій корі. Книга, що вийшла у вересні 1664 (часто датується 1665 роком) зробила значний вплив на популяризацію мікроскопії, в основному із-за своїх вражаючих ілюстрацій.

1674 — Антони ван Левенгук покращує мікроскоп до можливості побачити одноклітинні організми. Мікроскоп Левенгука був у край простий і представляв собою пластинку в центрі якої була лінза. Спостерігачеві треба було дивитися через лінзу на зразок, закріплений з іншого боку, через який проходило яскраве світло від вікна або свічки. Незважаючи на простоту конструкції вона дозволяла отримати збільшення, яке у декілька разів перевищує збільшення мікроскопів того часу, що дозволило уперше побачити

еритроцити, бактерії (1683), дріжджі, простіші організми, сперматозоїди (1677), будову очей комах і м'язових волокон, інфузорії та багато інших форм. Левенгук відшліфував більше п'ятисот лінз і виготовив, принаймні, 250 мікроскопів різних типів, з яких збереглося тільки дев'ять. Мікроскопи, що збереглися до наших днів, здатні збільшувати зображення в 275 разів, проте, є підозри, що Левенгук мав мікроскопи, які могли збільшувати в 500 разів.

1863 — Генрі Кліфтон розробляє поляризаційний мікроскоп, щоб досліджувати склад і структуру метеоритів.

1860-ті — Ернст Аббе відкриває число Аббе і першим розробляє теорію мікроскопа, що стає проривом в техніці створення мікроскопів, яка до того моменту в основному ґрунтувалася на методі проб і помилок. Компанія "Карл Цейс" використовує це відкриття і стає провідним виробником мікроскопів того часу.

1931 — Ернст Руска починає створення першого електронного мікроскопа за принципом електронного мікроскопа (Transmission Electron Microscope - TEM), що працює на просвітлення. В якості самостійної дисципліни формується електронна оптика. За цю роботу в **1986-му** році йому буде присвоєна Нобелівська премія.

1936 — Ервін Вільгельм Мюллер винаходить польовий емісійний мікроскоп.

1938 — Джеймс Хіллір будує інший тип трансмісійного електронного мікроскопу.

1951 — Ервін Мюллер винаходить польовий іонний мікроскоп і першим бачить атоми.

1953 — Фриц Цернике, професор теоретичної фізики, отримує Нобелівську премію по фізиці за свій винахід фазово-контрастного мікроскопа.

1955 — Джордж Номарскі, професор мікроскопії, опублікував теоретичні основи диференціальної інтерференційно-контрастної мікроскопії.

1967 — Ервін Мюллер додає часово-прольотний мас-аналізатор до свого польового іонного мікроскопа, створивши перший зондуєчий атомний

мікроскоп і дозволивши тим самим робити хімічну ідентифікацію кожного індивідуального атома.

1981 — Герд Бінніг і Генріх Рорер розробляють скануючий тунельний мікроскоп (Scanning Tunneling Microscope — STM).

1986 — Герд Бінніг, Кует та Гербер створюють скануючий атомно-силовий мікроскоп (Atomic Force Microscope - AFM). Бінніг і Рорер отримують Нобелівську премію за винахід скануючого тунельного мікроскопа.

1988 — Альфред Церезо, Теренс Годфрі і Джордж Сміт застосували позиційно-чутливий детектор в зонduючому атомному мікроскопі, що дозволяє бачити положення атомів в тривимірному просторі.

1988 — Кінго Ітайя (Kingo Itaya) винаходить електрохімічний скануючий тунельний мікроскоп.

1991 — Винайдено метод силового зондування Кельвіна (Метод зонду Кельвіна, Kelvin Probe Force Microscopy, KPFM).

ДОДАТОК Б.

Основні признаки останнього покоління мікроскопів

Покоління	Основні задачі, що вирішуються поколінням приладів	Основні признаки покоління
До початку серійного виробництва	досягнення 100% повторюваності отриманого в мікроскопі зображення в результаті досконалого технологічного процесу розрахунку і виготовлення; задоволення вимог сучасної науки і техніки	конструкція; якість зображення; якість освітлення; методи дослідження
Перше	розробка теорії утворення зображення; розробка принципів математичного розрахунку оптичних систем; розробка комплексу стекол; розробка технологічного процесу виготовлення оптико-механических вузлів; реалізація основних методів для біолого-медичних досліджень	єдиний технологічний процес виробництва; єдиний дизайн основних вузлів і штатива певної серії мікроскопів; примітивна модульність конструкції; освітлювальна система з штучним джерелом освітлення; методи дослідження: темне поле, косе освітлення, фазовий контраст
Друге	стандартизація вихідних параметрів	кінцева довжина тубуса 160 мм, висота об'єктиву 33 мм, висота окуляра 13 мм; планооптика; флуоритові системи; мікрофотографія; поляризаційна мікроскопія; зміна дизайну приладів
Третє	збільшення вихідних параметрів мікроскопа; уніфікація приладів; підвищення якості зображення за рахунок вирівнювання хроматичної різниці збільшення в комплекті об'єктивів із застосуванням компенсаційних окулярів; підвищення якості зображення за рахунок вдосконалення освітлювальних систем	висота об'єктиву 45 мм; ХРУ об'єктивів 2%; лінійне поле окулярів 18-20 мм; винесена площина вихідної зіниці мікроскопа для забезпечення роботи в окулярах; збільшені числові апертури об'єктивів; фотометрія; люмінесцентний метод дослідження; вбудовані системи освітлення системи аналізу зображення; автофокусування; автоматизація процесів управління освітленням; галогенні і ртутні лампи; дзеркальні рефлектори в освітлювачі; великі робочі відстані в об'єктивах; коаксіальне руків'я управління; зміна дизайну приладів

Покоління	Основні задачі, що вирішуються поколінням приладів	Основні признаки покоління
Четверте	підвищення якості зображення за рахунок виключення хроматичної різниці збільшення в комплекті об'єктивів із застосуванням окулярів Гюйгенса підвищення роздільної здатності	ХРУ об'єктивів 0%; тільки бінокулярні системи спостереження; надвеликі лінійні поля (більше 20 мм); довжина тубуса "нескінченність"; висота окулярів 10 мм; діоптрійне налаштування за допомогою рухливого елементу в окулярі; диференціально-інтерференційний метод дослідження у світлі, що проходить; модульність конструкцій системи обробки зображення; скануючі столи; лазерна скануюча мікроскопія; зміна дизайну приладів
П'яте	розширення зони огляду	ахроматизація освітлювальної системи; єдиний принцип побудови конструкції усього ряду мікроскопів усіх класів складності (від простої до універсальної); єдиний стандарт; телемедицина

ДОДАТОК В.

Відомості про найвідоміші фірми-виробники оптичних мікроскопів

Концерн PZO, Польща - виробник мікроскопів і мікроскопічної техніки та його присутність на вітчизняному ринку

			PZO, Польща
Типи і види мікроскопів			
Оптичні мікроскопи, що працюють на світлі, що проходить і віддзеркаленому світлі			
1	2	3	4
Мікроскоп двовимірного площинного зображення	Мікроскопи світла, що проходить	прямий	виробництво робочих і лабораторних моделей
		інвертований	виробництво робочих моделей
	Мікроскопи віддзеркаленого світла	прямий	виробництво до 1980 р./ експериментальне
		інвертований.	виробництво робочих і лабораторних моделей
	Люмінесцентна мікроскопія	прямий	виробництво робочих і лабораторних моделей
		інвертований	виробництво робочих моделей
	Поляризаційна мікроскопія	прямий	виробництво робочих моделей
		віддзеркалений.	виробництво робочих моделей
	Фазово-контрастна мікроскопія	прямий	виробництво робочих моделей
		інверт. змін. ФК	

1	2	3	4
Мікроскопи тривимірного/об'ємного зображення	за схемою Грену		
		фото-	
		люм-	
	за схемою Аббе	фото-	розробка до 1970 року
		полі-	розробка до 1970 року
		люм-	виробництво до 1980 р./ експериментальне
Конфокальні мікроскопи			
Макроскопи			
Фотомікроскоп			
Інфрачервона мікроскопія			виробництво до 1980 р./ експериментальне
Ультрафіолетова мікроскопія			виробництво до 1980 р./ експериментальне
Проточний цитофотометр			
Проекційний мікроскоп			розробка до 1970 року
Аналізатор зображення			розробка до 1970 року
Мікроскоп-спектрофотометр			
Подвійний мікроскоп			

**Концерн Карл Цейсс - виробник мікроскопів і мікроскопічної
техніки та його присутність на вітчизняному ринку**

			Німеччина, Карл Цейсс	
			Карл Цейсс, Йена, Східна Німеччина	Оптон, Західна Німеччина
1			2	3
Типи і види мікроскопів				
Мікроскопи світла, що проходить і відбитого				
Мікроскоп двовимірного площинного зображення	Мікроскопи світла, що проходить	прямий	виробництво від навчальних до дослідницьких	виробництво від навчальних до дослідницьких
		інвертований	— // —	— // —
	Мікроскопи відбитого світла	прямий	— // —	— // —
		інвертований	— // —	— // —
	Люмінесцентна мікроскопія	прямий	— // —	— // —
		інвертований	— // —	— // —
	Поляризаційна мікроскопія	прямий	— // —	— // —
		віддзеркалений	— // —	— // —
	Фазово- контрастна мікроскопія	прямий	— // —	— // —
		інверт. змін. ФК	— // —	— // —
		фото-	— // —	— // —
		люм-	— // —	— // —
		фото-	— // —	— // —
		полі-	— // —	— // —
		люм-	— // —	— // —

1	2	3
Конфокальні мікроскопи	виробництво від навчальних до дослідницьких	виробництво від навчальних до дослідницьких
Макроскопи		виробництво від навчальних до дослідницьких
Фотомікроскоп	— // —	— // —
Інфрачервона мікроскопія	виробництво до 1980 р./ експериментальне	виробництво до 1980 р./ експериментальне
Ультрафіолетова мікроскопія	виробництво до 1980 р./ експериментальне	виробництво до 1980 р./ експериментальне
Проточний цитофотометр	виробництво від навчальних до дослідницьких	виробництво від навчальних до дослідницьких
Проекційний мікроскоп	— // —	— // —
Аналізатор зображення	— // —	— // —
Мікроскоп-спектрофотометр	— // —	— // —
Подвійний мікроскоп	— // —	— // —

**Концерн "Лейка" - виробник мікроскопів і мікроскопічної
техніки та його присутність на вітчизняному ринку**

Типи і види мікроскопів			Німеччина, Лейка			
			Лейтц, Західна Німеччина	Вільд, Швейцарія	Рейхерт, Австрія	Бауш і Ломб, США
1			2	3	4	5
Мікроскопи, що працюють на світлі, що проходить і віддзеркаленому світлі						
Мікроскоп двовимірного площинного зображення	Мікроскопи, що працюють на світлі, що проходить	прямий	виробництво від навчальних до дослідницьких	виробництво робочих моделей		виробництво робочих моделей
		інверт.	— // —			
	Мікроскопи віддзеркаленог о світла	прямий	— // —		виробництво від навчаль- них до дос- лідницьких	
		інверт.	— // —		— // —	
	Люмінесцентн а мікроскопія	прямий	— // —		— // —	
		інверт.	— // —			
	Поляризаційна мікроскопія	прямий	— // —			
		віддзерк.	— // —			
	Фазово- контрастна мікроскопія	прямий	— // —			
		інверт. змін. ФК	— // —			
Мікроскопи тривимірного об'ємного зображення	за схемою Грену	фото-	— // —			виробництво від навчаль- них до дос- лідницьких
		люм-	— // —			— // —
	за схемою Аббе	фото-	— // —	виробництво від навчальних до дослідницьких		
		полі-	— // —	— // —		
		люм-	— // —	— // —		

1	2	3	4	5
Конфокальні мікроскопи	виробництво від навчальних до дослідницьких			
Макроскопи		виробництво від навчальних до дослідницьких		
Фотомікроскоп	виробництво від навчальних до дослідницьких		виробництво від навчальних до дослідницьких	
Інфрачервона мікроскопія	виробництво до 1980 р./ експери- ментальне			
Ультрафіолетова мікроскопія	виробництво до 1980 р./ експери- ментальне			
Проточний цитофотометр	виробництво від навчальних до дослідницьких			
Проекційний мікроскоп	виробництво від навчальних до дослідницьких			
Аналізатор зображення	виробництво від навчальних до дослідницьких			
Мікроскоп-спектрофотометр	виробництво від навчальних до дослідницьких			
Подвійний мікроскоп	виробництво від навчальних до дослідницьких			

Російські фірми-виробники мікроскопів і мікроскопічної техніки та їхня присутність на вітчизняному ринку

Типи і види мікроскопів			Росія, ВАТ ЛОМО, Санкт-Петербург	Росія, ВАТ ЛЗОС, Литкаріно, Московська обл.
Мікроскопи, що працюють на світлі, що проходить і віддзеркаленому світлі				
1	2	3	4	5
Мікроскоп двовимірного площинного зображення	Мікроскопи, що працюють на світлі, що проходить і віддзеркаленому світлі	прямий	виробництво робочих і лабораторних моделей	
		інверт.	виробництво робочих моделей	
	Мікроскопи віддзеркаленого світла	прямий	виробництво до 1980 р./експериментальне	
		інверт.	виробництво робочих і лабораторних моделей	
	Люмінесцентна мікроскопія	прямий	виробництво робочих і лабораторних моделей	
		інверт.	виробництво робочих моделей	
	Поляризаційна мікроскопія	прямий	виробництво робочих моделей	
		віддзерк.	виробництво робочих моделей	
	Фазово-контрастна мікроскопія	прямий	виробництво робочих моделей	
		інверт. змін. ФК	виробництво робочих моделей	

1	2	3	4	5
Мікроскопи тривимірного об'ємного зображення	за схемою Грену			
		фото-	виробництво до 1980 р./ експериментальне	
		люм-		
	за схемою Аббе	фото-	розробка до 1970 р.	виробництво робочих моделей
		полі-	виробництво до 1980 р./ експериментальне	
		люм-	виробництво до 1980 р./ експериментальне	
Конфокальні мікроскопи				
Макроскопи				
Фотомікроскоп			розробка до 1970 р.	
Інфрачервона мікроскопія			виробництво до 1980 р./ експериментальне	
Ультрафіолетова мікроскопія			виробництво до 1980 р./ експериментальне	
Проточний цитофотометр				
Проекційний мікроскоп				
Аналізатор зображення			виробництво бази/ одиниці	
Мікроскоп-спектрофотометр			виробництво бази/ одиниці	
Подвійний мікроскоп			виробництво до 1980 р./ експериментальне	

**Японські фірми-виробники мікроскопів і мікроскопічної
техніки та їхня присутність на вітчизняному ринку**

Типи та види мікроскопів			Олімпус, Японія	Нікон, Японія
1			2	3
Мікроскопи, що працюють на світлі, що проходить і віддзеркаленому світлі				
Мікроскоп двовимірний площинний зображення	Мікроскопи, що працюють на світлі, що проходить	прямий	виробництво від навчальних до дослідницьких	виробництво від навчальних до дослідницьких
		інверт.	— // —	— // —
	Мікроскопи віддзеркаленого світла	прямий	— // —	— // —
		інверт.	— // —	— // —
	Люмінесцентна мікроскопія	прямий	— // —	— // —
		інверт.	— // —	— // —
	Поляризаційна мікроскопія	прямий	— // —	— // —
		віддзерк.	— // —	— // —
	Фазово-контрастна мікроскопія	прямий	— // —	— // —
		інверт. змін. ФК	— // —	— // —
Мікроскопи тривимірний об'ємний зображення	за схемою Грену	фото-	виробництво від навчальних до дослідницьких	
		люм-	— // —	
	за схемою Аббе	фото-	— // —	
		полі-	— // —	
		люм-	— // —	виробництво від навчальних до дослідницьких

1	2	3
Конфокальні мікроскопи	виробництво від навчальних до дослідницьких	виробництво від навчальних до дослідницьких
Макроскопи	— // —	— // —
Фотомікроскоп	— // —	— // —
Інфрачервона мікроскопія		
Ультрафіолетова мікроскопія		
Проточний цитофотометр	невідомі в Україні	невідомі в Україні
Проекційний мікроскоп	невідомі в Україні	невідомі в Україні
Аналізатор зображення	виробництво від навчальних до дослідницьких	виробництво від навчальних до дослідницьких
Мікроскоп-спектрофотометр	невідомі в Україні	невідомі в Україні
Подвійний мікроскоп	невідомі в Україні	невідомі в Україні

Наукове видання

Антонюк Віктор Степанович
Тимчик Григорій Семенович
Бондаренко Юлія Юріївна
Петльований Петро Вікторович
Білокінь Світлана Олександрівна
Бондаренко Максим Олексійович

Методи та засоби мікроскопії

Монографія

*В авторській редакції
Надруковано з оригінал-макета замовника*

Темплан 2013 р., поз. 3-1-003

Підп. до друку 16.01.2013. Формат 60×84¹/₁₆. Папір офс. Гарнітура Times.
Спосіб друку – ризографія. Ум. друк. арк. 19,53. Обл.-вид. арк. 32,48. Зам. № 13-5.
Наклад 300 пр.

НТУУ «КПІ» ВПІ ВПК «Політехніка»
Свідоцтво ДК № 1665 від 28.01.2004 р.
03056, Київ, вул. Політехнічна, 14, корп. 15
тел. (044) 406-81-78



ВПІ ВПК «Політехніка»