

Reforma a rozvoj výuky Biofyziky pro potřeby 21. století

Číslo výzvy: **IPo - Oblast 2.2 (výzva 15)**

Reg. č. projektu: **CZ.1.07/2.2.00/15.0215**



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Skenovací elektronový mikroskop

Vysokovakuový
Environmentální
Nízkovakuový

Ing. Jana Nebesářová, CSc.
Laboratoř elektronové mikroskopie
České Budějovice
nebe@paru.cas.cz

Skenovací
Rastrovací elektronový mikroskop
Řádkovací



JEOL 6300

SEM

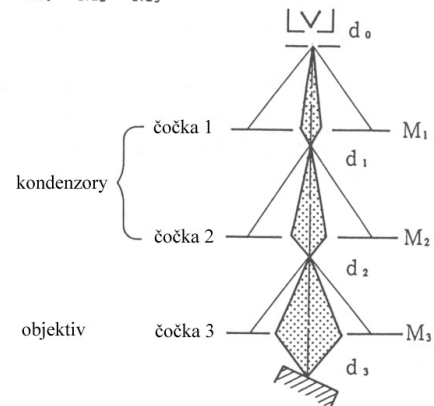
is a type of electron microscope that images a sample by scanning it with a high-energy beam of electrons in a raster scan pattern. The electrons interact with the atoms that make up the sample producing signals that contain information about the sample's surface topography, composition, and other properties such as electrical conductivity.



SEM

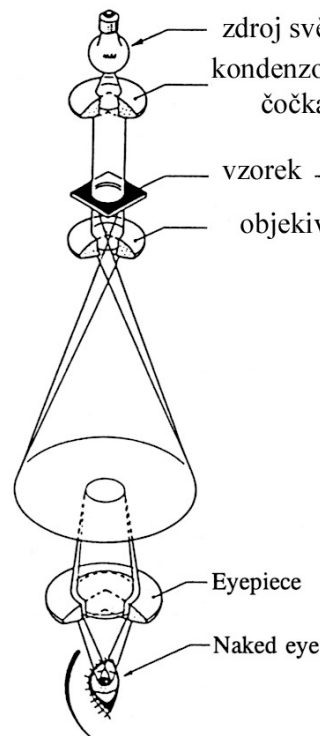
výsledný průměr svazku:

$$d_3 = d_0 \cdot M_1 \cdot M_2 \cdot M_3$$



Čočky zobrazovacího systému v SEM zmenšují průměr primárního svazku elektronů

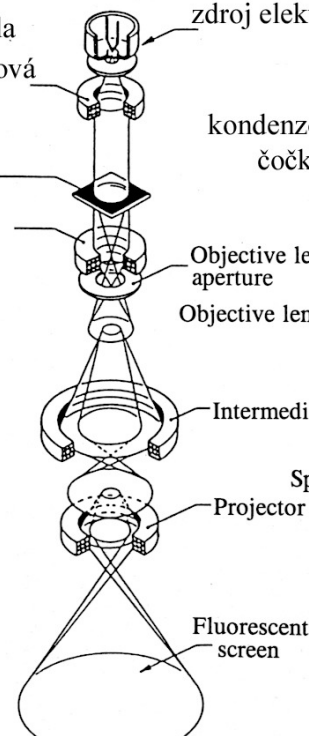
Světelný mikroskop



Rozlišení 200 nm

Zvětšení ~ ×2000

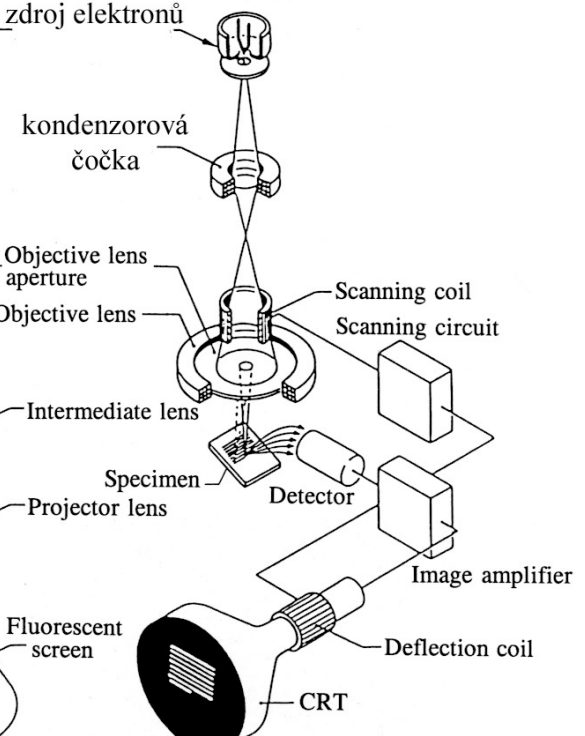
TEM



0.1 nm

×50 ~ ×1,500,000

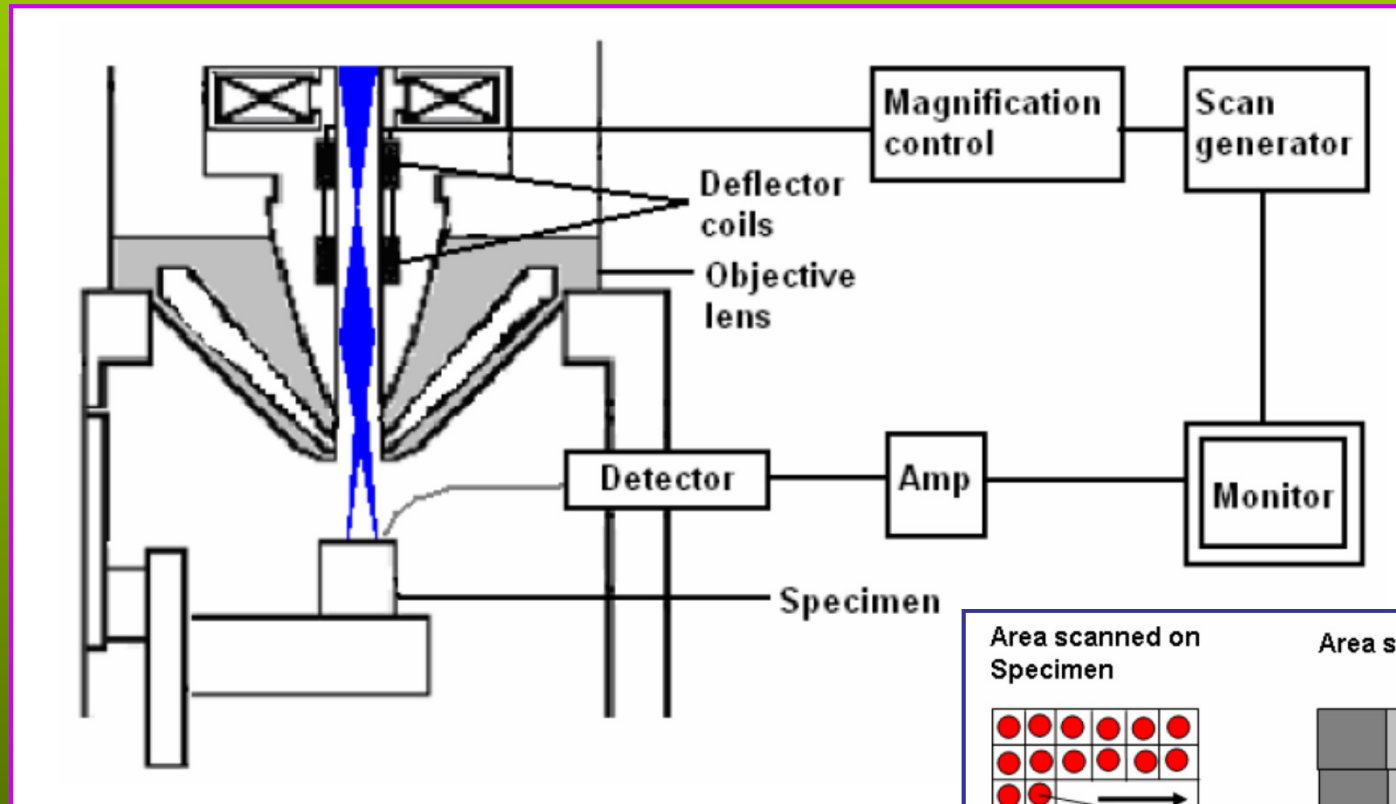
SEM



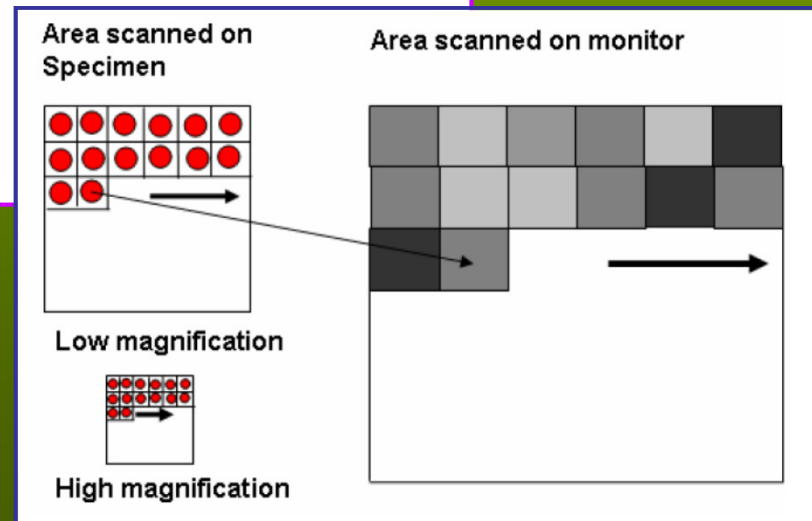
0.5 nm

×10 ~ ×1,000,000

Schéma SEM

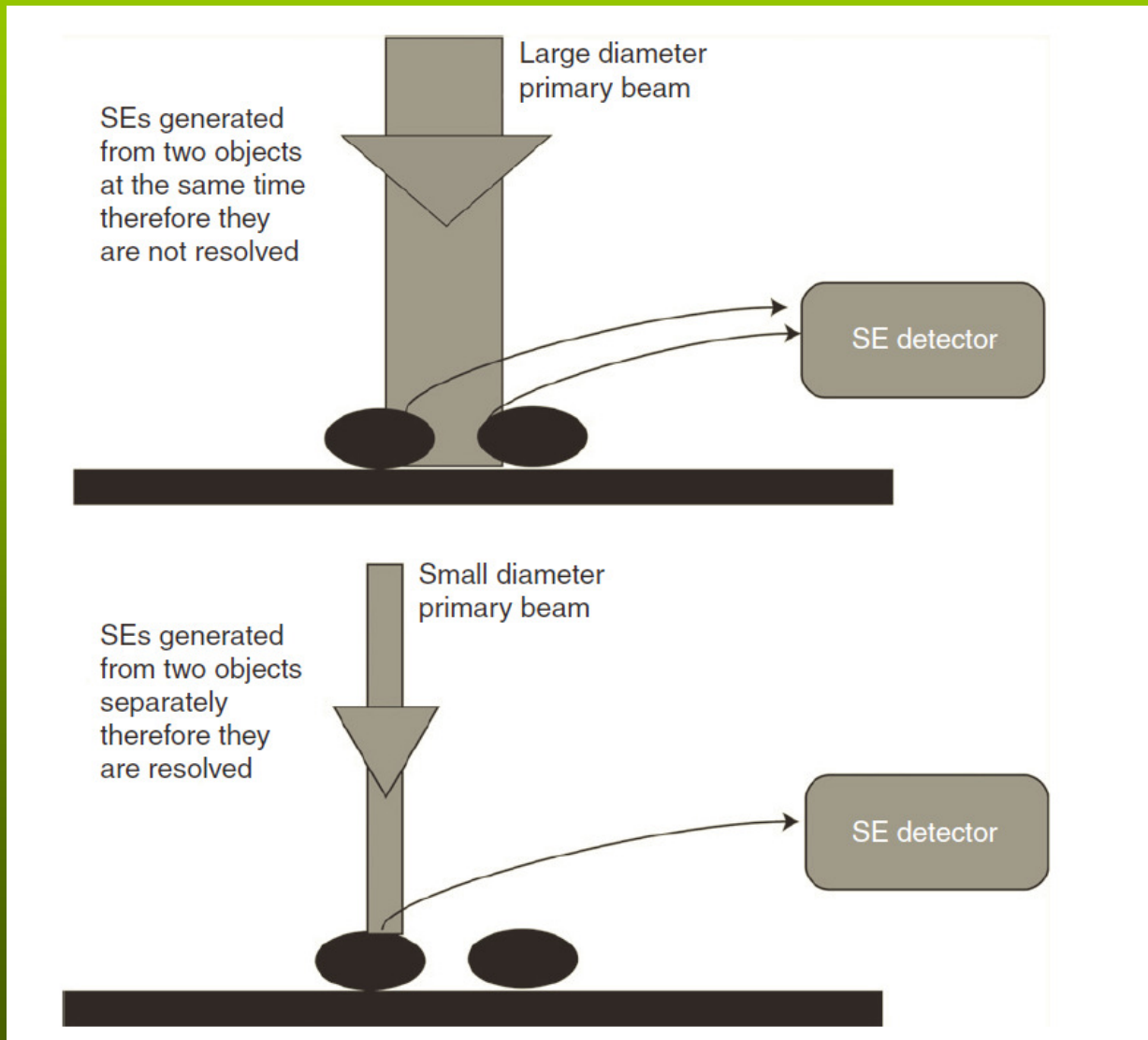


Zvětšení = poměr velikosti obrazu na monitoru ku velikosti rastrované oblasti na povrchu preparátu



Rozlišení SEM

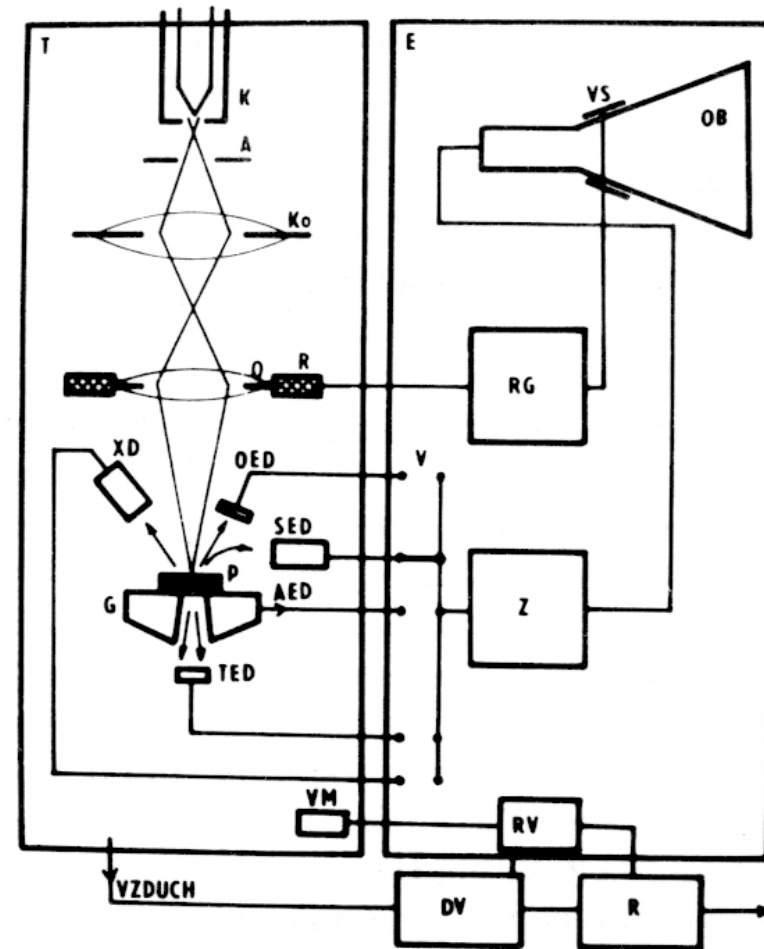
Vliv průměrem svazku
primárních elektronů
dopadajících na preparát



SEM

Zvětšení = poměr skenované plochy ku velikosti obrazovky

Zjednodušené blokové schéma SEM:
 K - katody, A - anoda, Ko - kondenzor,
 O - objektiv, R - skanovací cívký, P - preparát
 G - goniometrický stolek, TED - detektor
 transmitovaných elektronů, AED - detektor
 absorbovaných elektronů, SED - detektor
 sekundárních elektronů, OED - detektor
 održených elektronů, XD - detektor rtg.
 záření, VM - vakuová měrka, VS - vychylovací
 systém obrazovky, OB - obrazovka, RG -
 rastrovací generátor, V - přepínač, Z - zesilovač,
 RV - regulátor vakua, DV - difúzní vývěva,
 R - rotační vývěva



Rozlišení:

Průměrem sfokusovaného svazku

Výkonností elektron-optického systému

Urychlovacím napětím

Typem detekovaného signálu

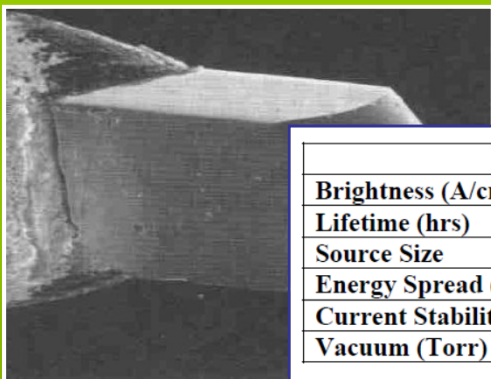
Citlivostí detektoru

Rychlostí přeběhu

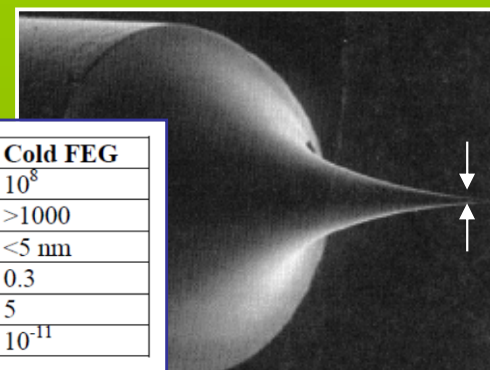
Thermionic

GUN

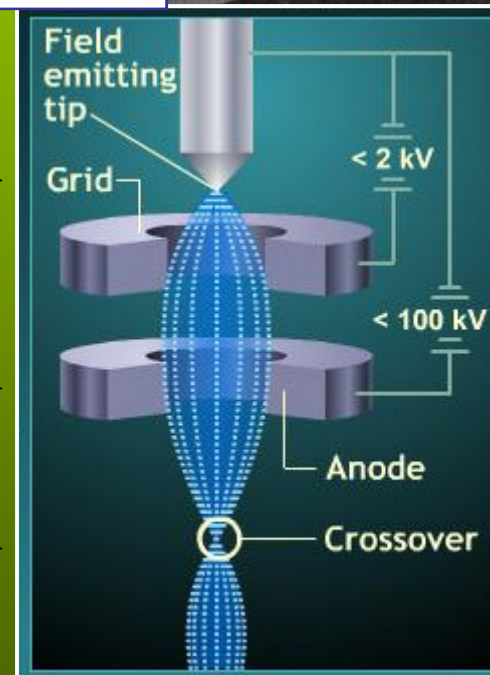
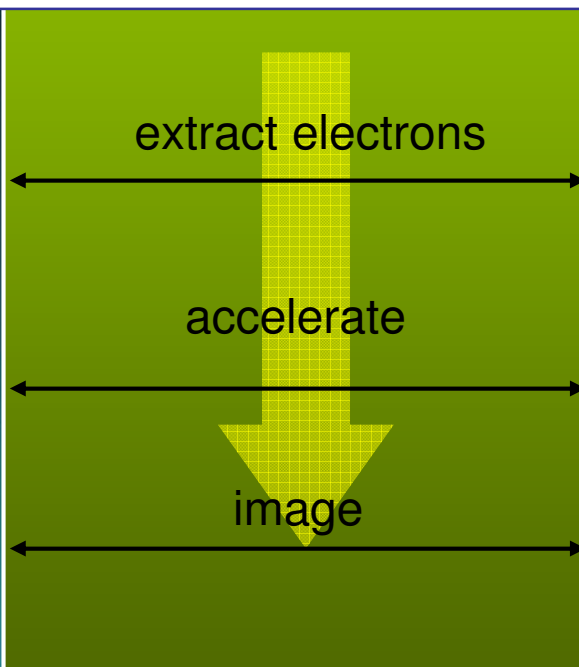
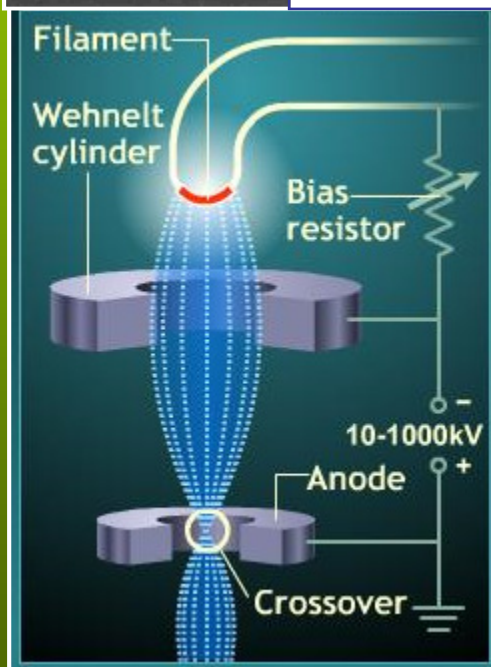
Field emission (FEG)



	Tungsten	LaB ₆	Thermal FEG	Cold FEG
Brightness (A/cm ² str)	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁸
Lifetime (hrs)	40-100	200-1000	>1000	>1000
Source Size	30-100 μm	5-50 μm	<5 nm	<5 nm
Energy Spread (eV)	1-3	1-2	1	0.3
Current Stability (%/hr)	1	1	5	5
Vacuum (Torr)	10 ⁻⁵	10 ⁻⁷	10 ⁻¹¹	10 ⁻¹¹



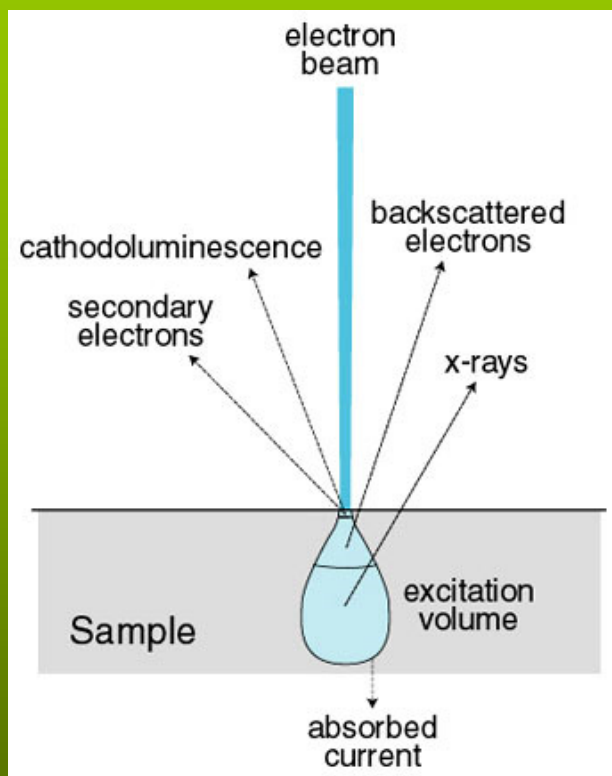
100 nm



LaB₆ crystal or Tungsten

Tungsten tip coated with ZrO

Excitační objem

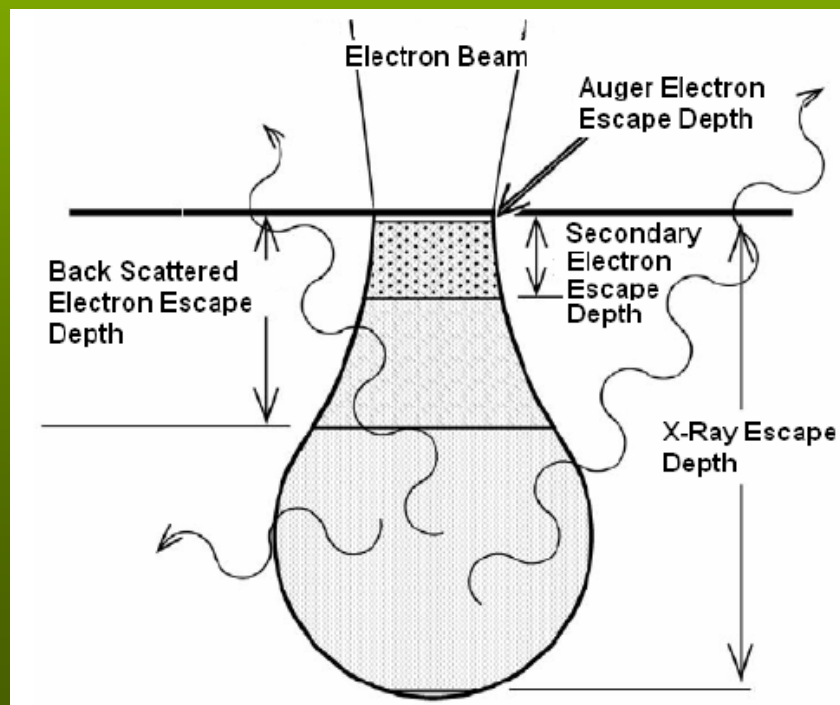


Interaction volume

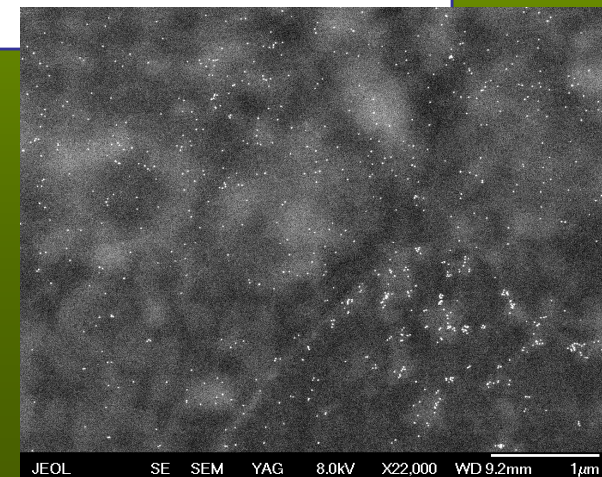
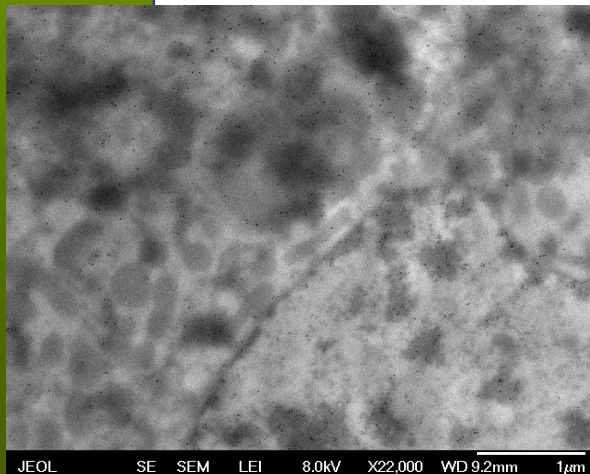
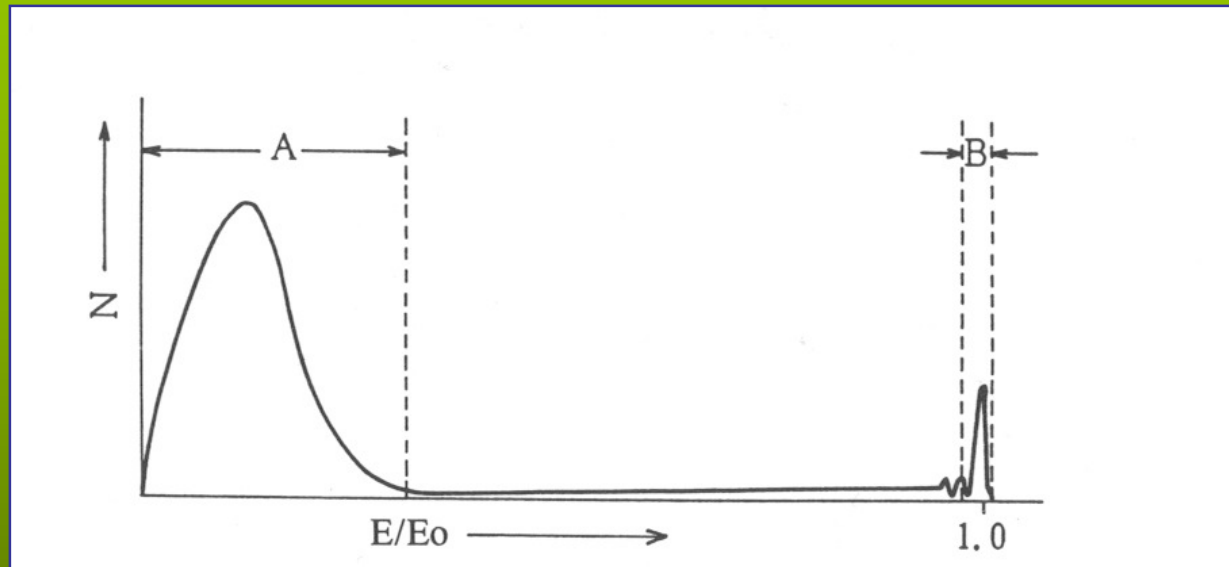
The escape depth of SE – 5-50 nm,
BSE – a hundred times greater

Morphology – SE, BSE,
cathodoluminescence

Composition – BSE, X-Rays,
Auger electrons

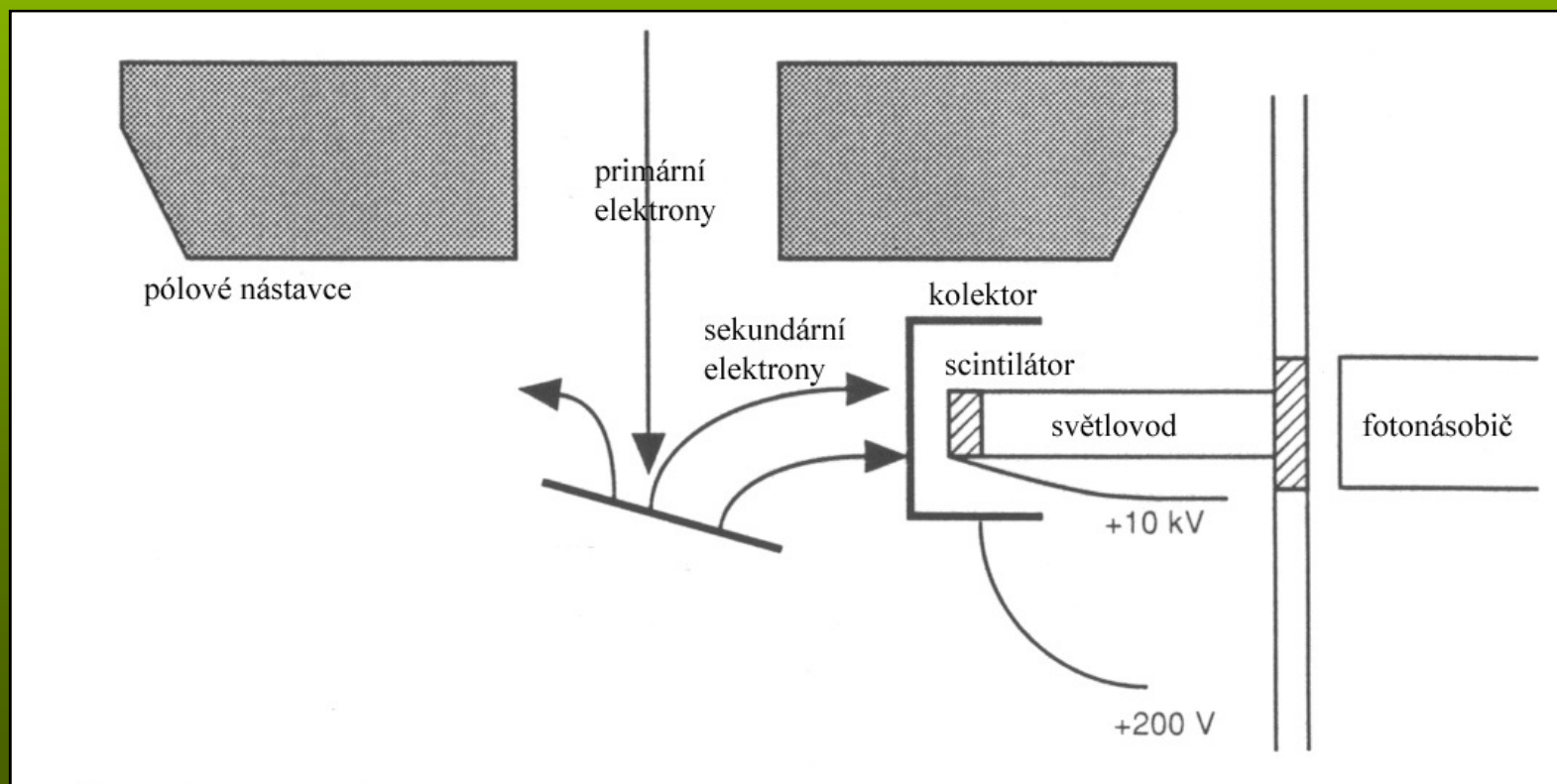
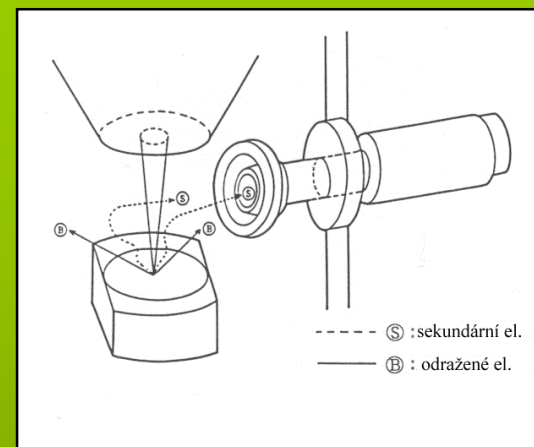


Sekundární a zpětně odražené elektrony



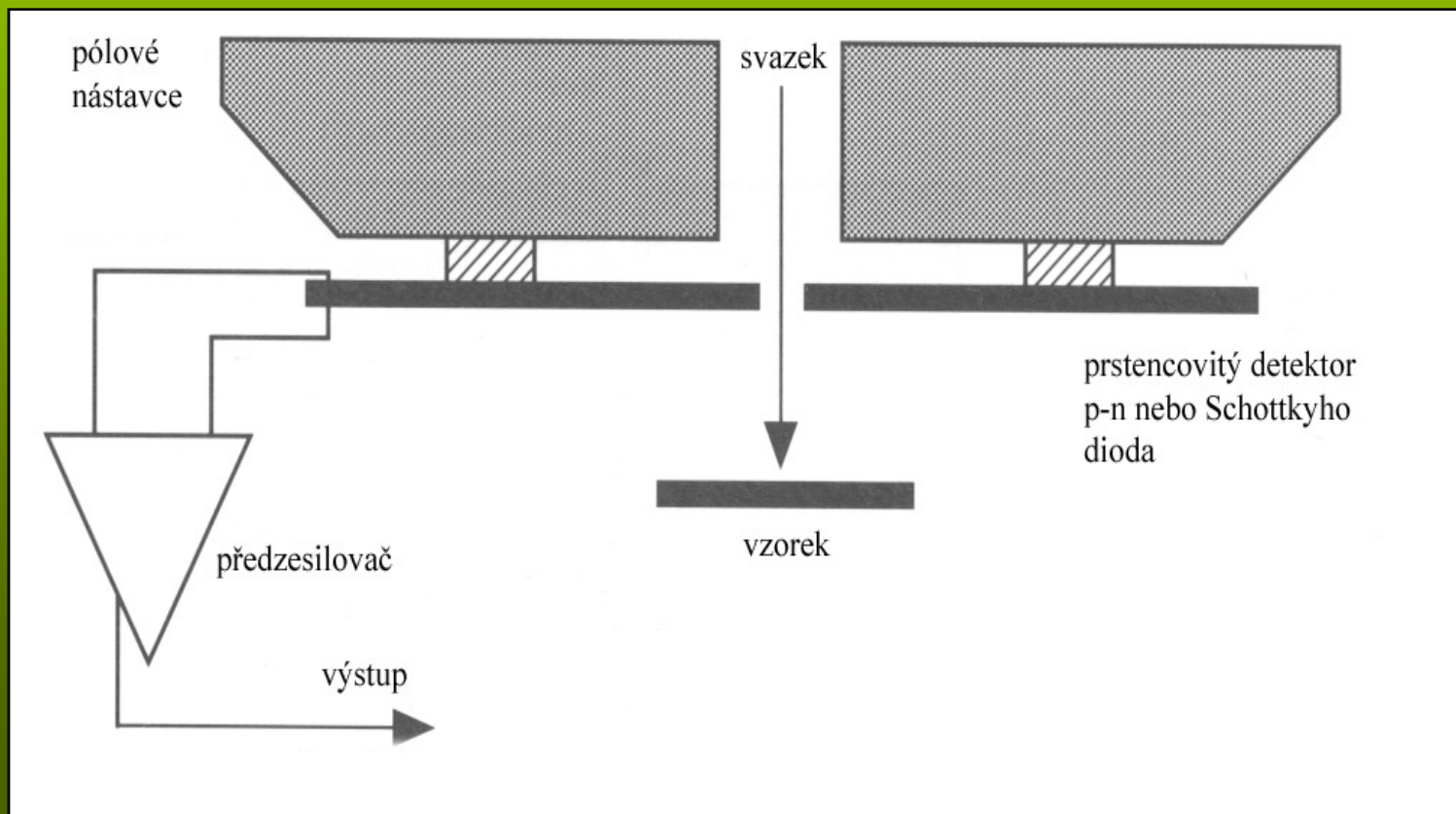
SEM – detekce SE

Everhart –Thornleyův detektor SE



SEM – detekce BSE

- Polovodičový detektor BSE



SEM – záznam obrazu

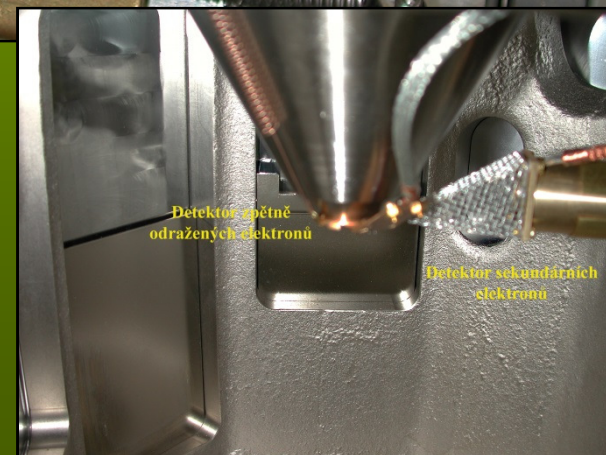
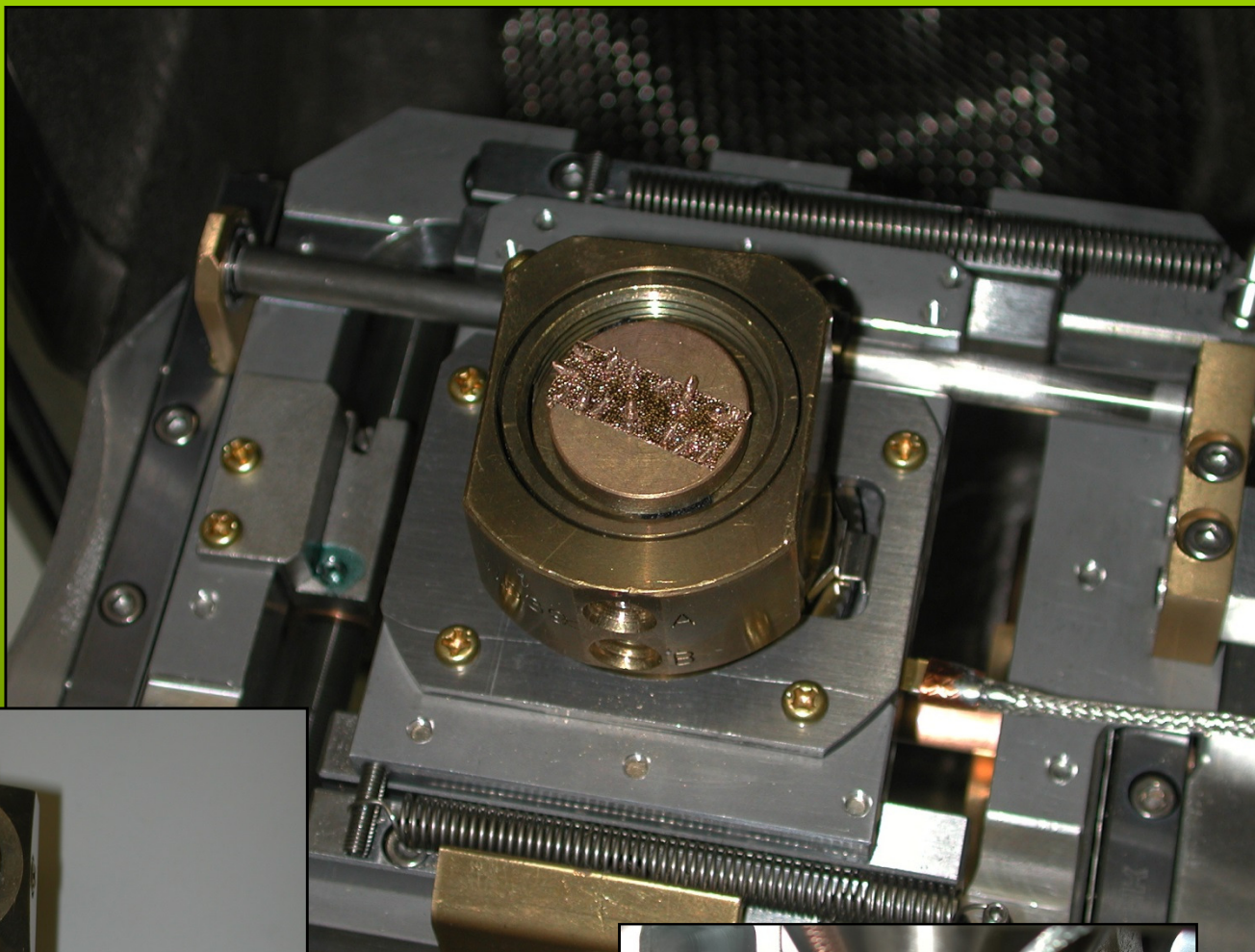
Digitální



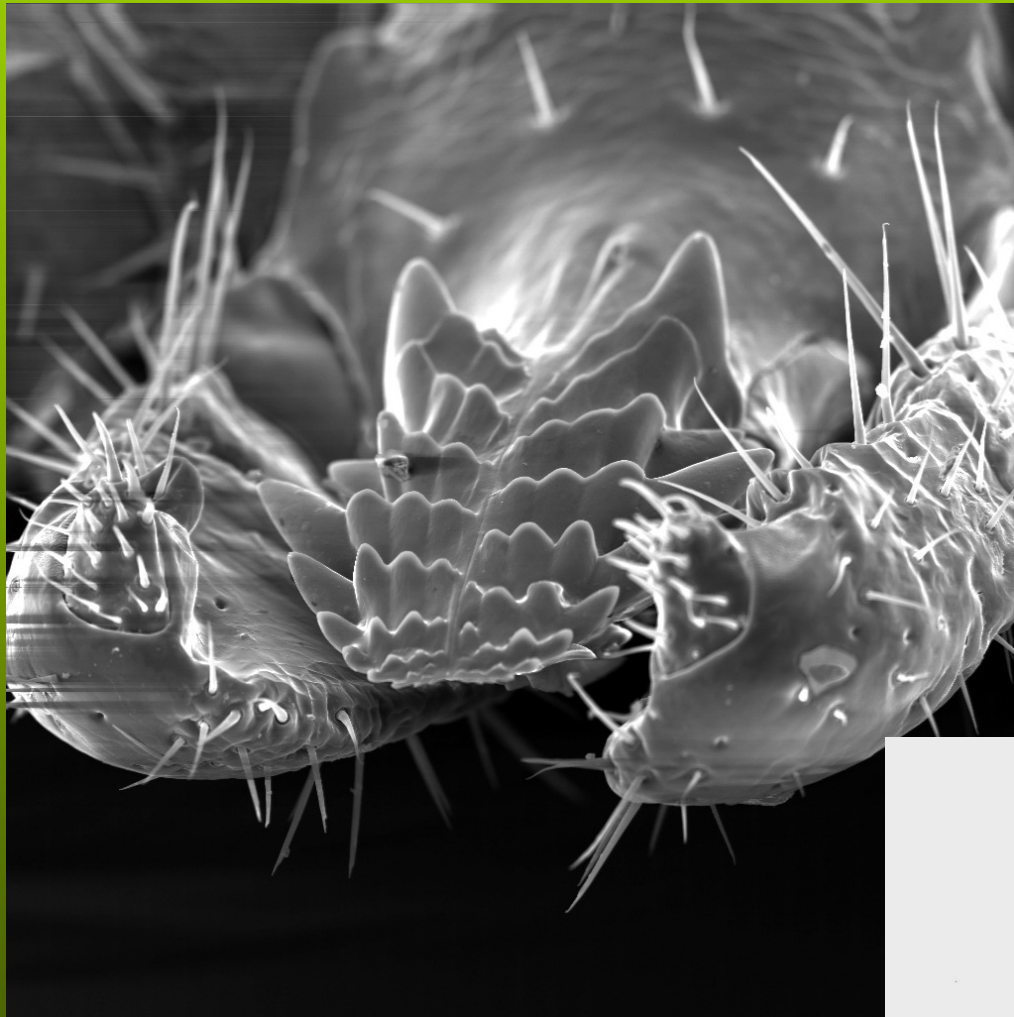
Fotografický
Černobílý
negativní film

SEM

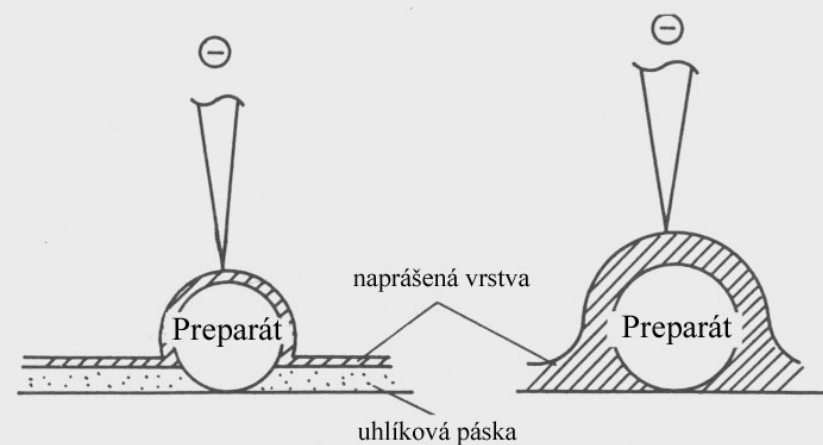
Komora preparátů



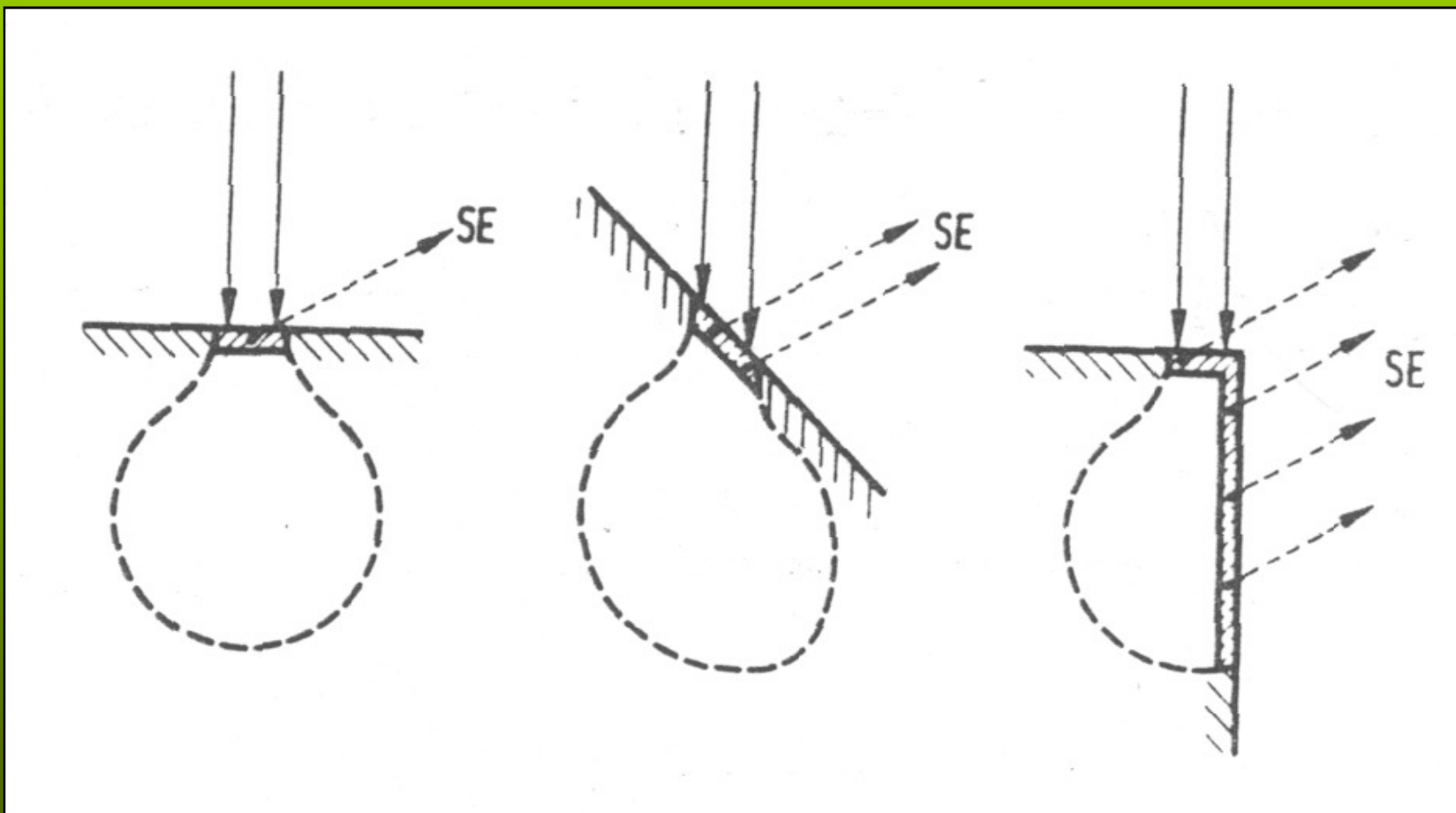
Artefakty - nabíjecí jevy



Eliminace nabíjení –
Pokovením preparátu tenkou
vrstvou dobře vodivého kovu



Artefakty – hranový jev



Astigmatismus, drift přístroje

Vliv urychlovacího napětí

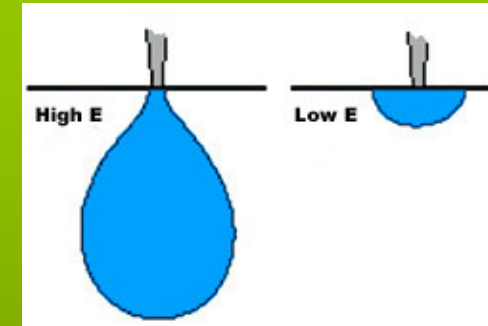
Accelerating voltage (1 – 30kV)

Increasing AV will:

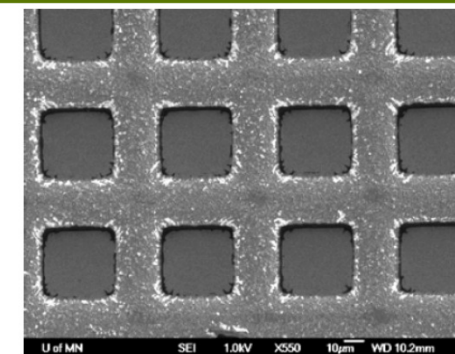
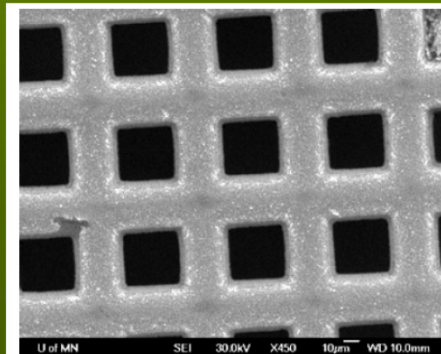
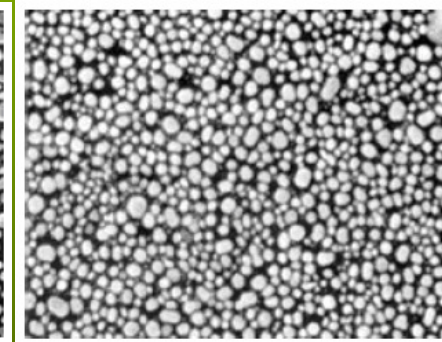
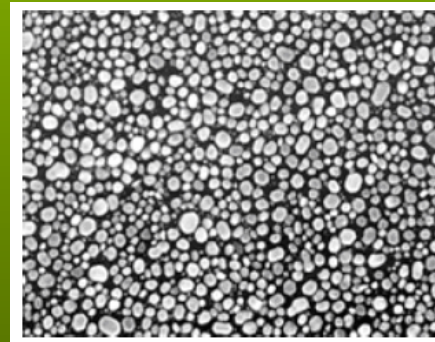
- decrease lens aberation – smaller probe diameter
- increase probe current at the specimen
- increase charge-up and damage in specimen
- increase beam penetration into specimen

• FESEM JEOL7401F
AV 15kV – RS 1,0 nm
AV 1kV - RS 2,2 nm

Filtering of SE and BSE
GB mode



SE ← ← ←
BSE ← ← ←



30 kV

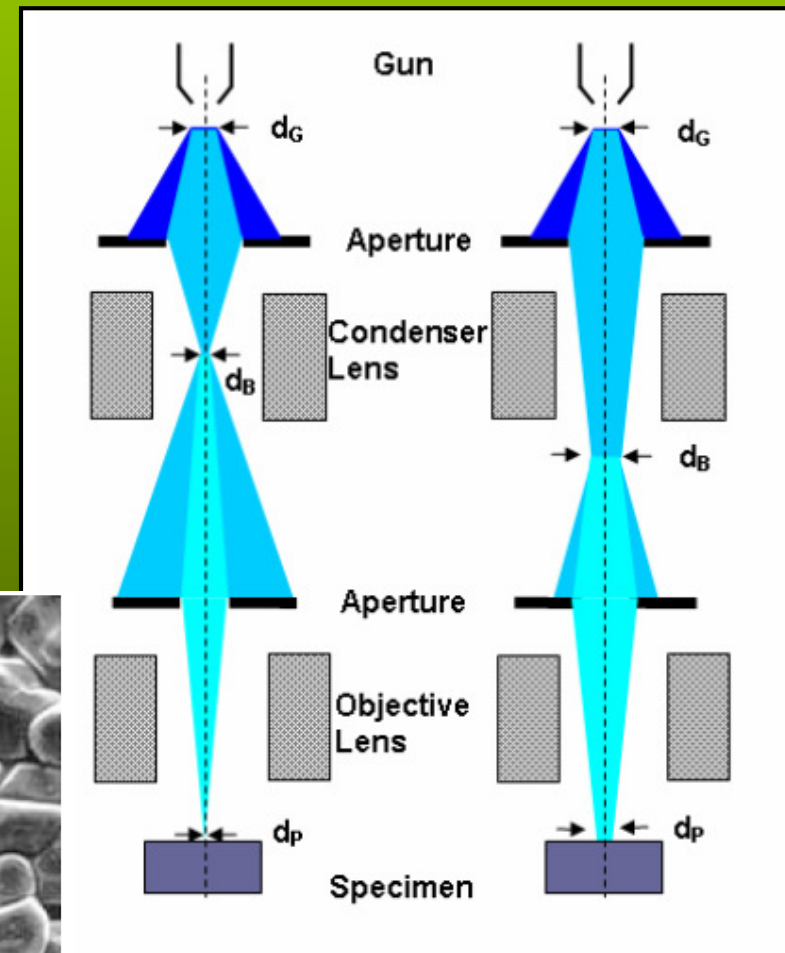
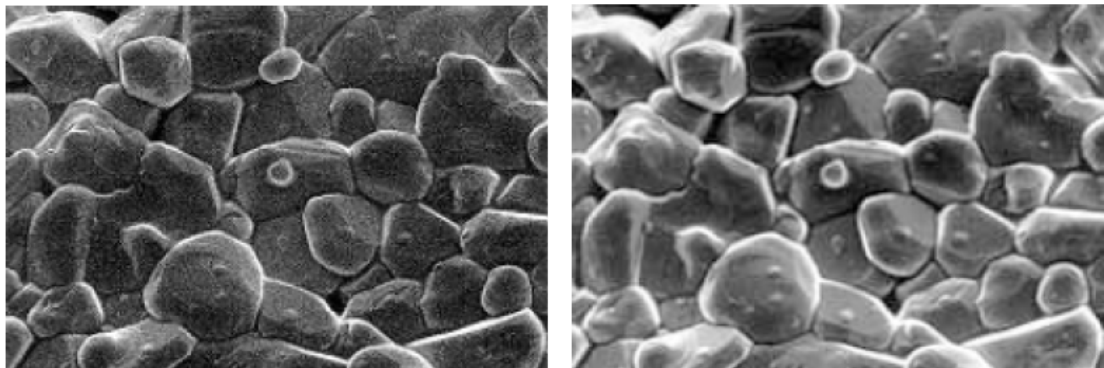
1 kV

Vliv průměru svazku

Probe diameter (spot size – by altering current to a condenser lens)

Decreasing the probe diameter will:

- enables greater resolution
- Resolving small specimen features requires probe diameter of similar dimension
- decrease lens aberration due to a stronger lens setting
 - decrease probe current

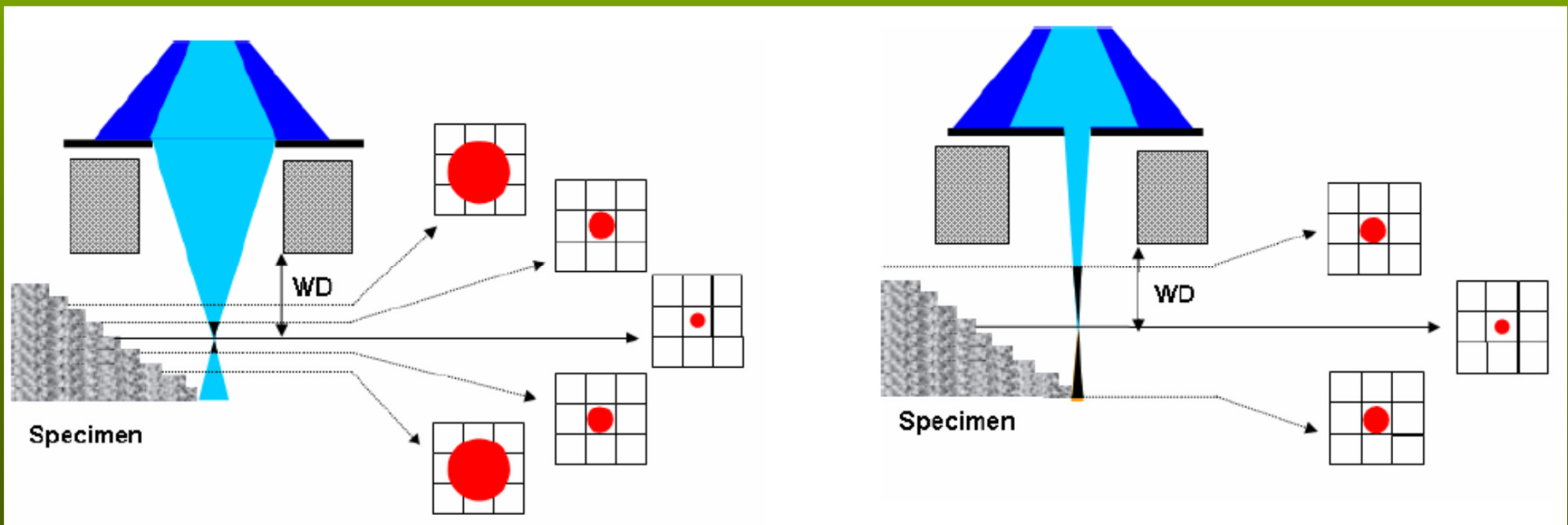


Vliv objektivové clony

Objective aperture size

Decreasing the diameter of the aperture will:

- decrease lens aberrations and thus increase resolution
- decrease probe current
- increase depth of focus

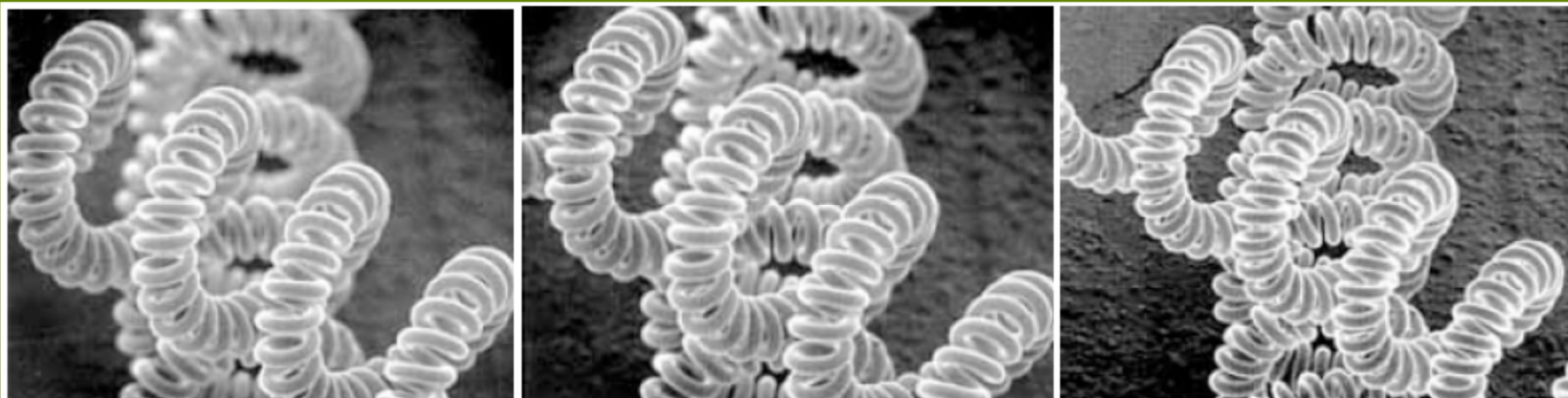
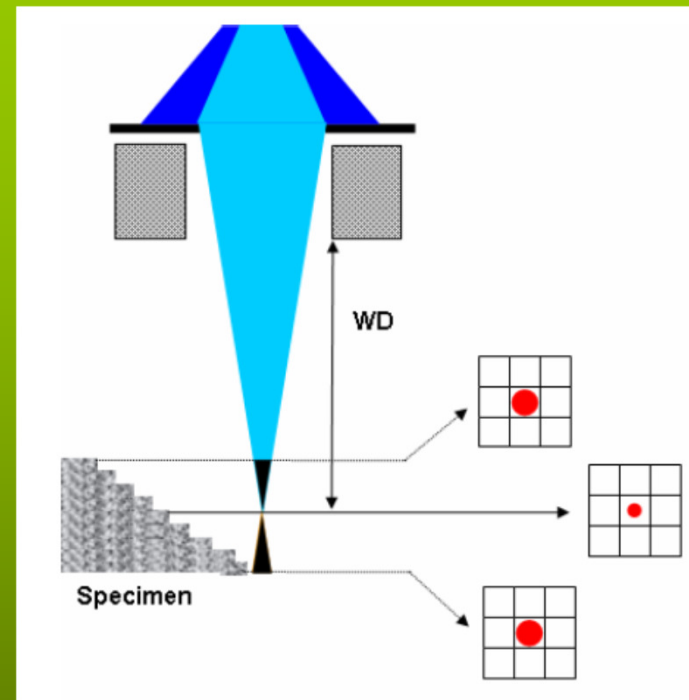


Vliv pracovní vzdálenosti

Working distance

Increasing WD will:

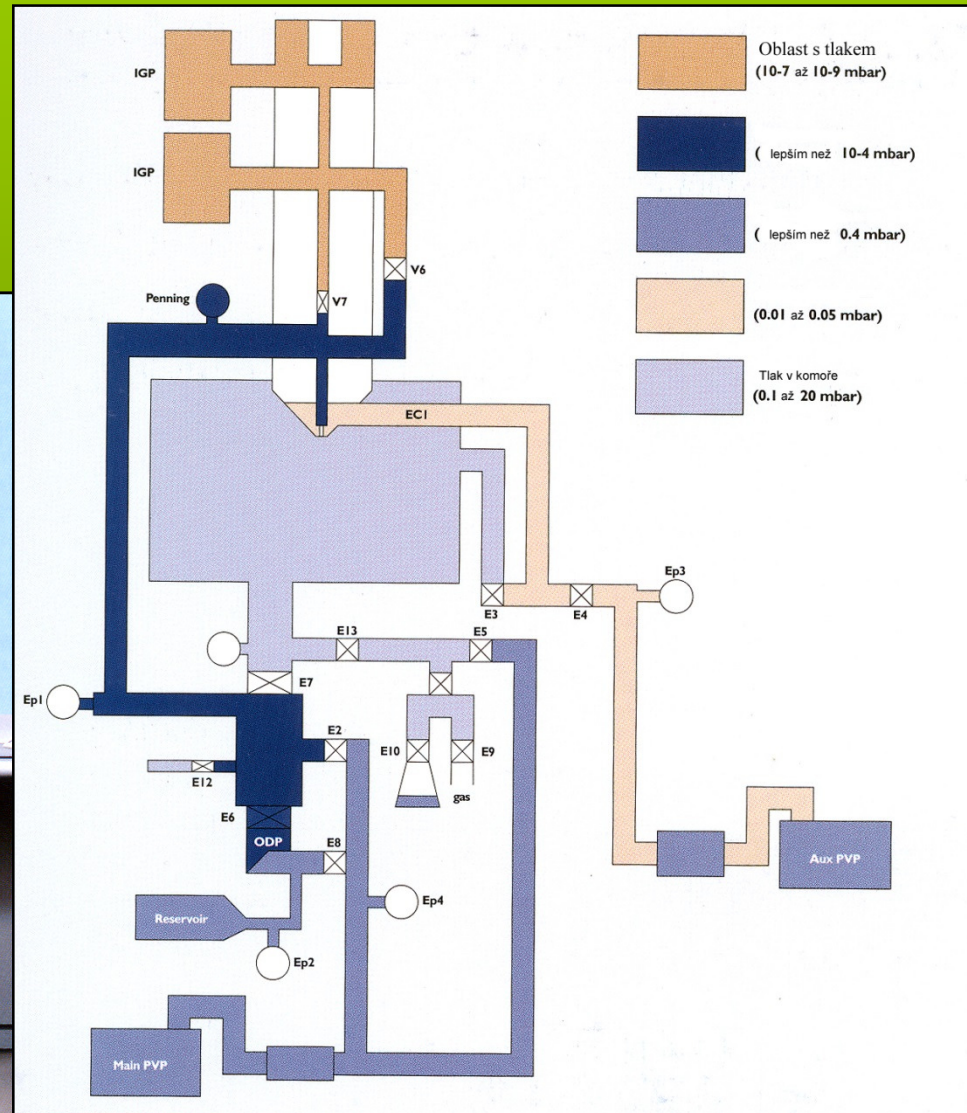
- increase depth of focus
- increase probe size
- increase aberrations



Environmentální SEM

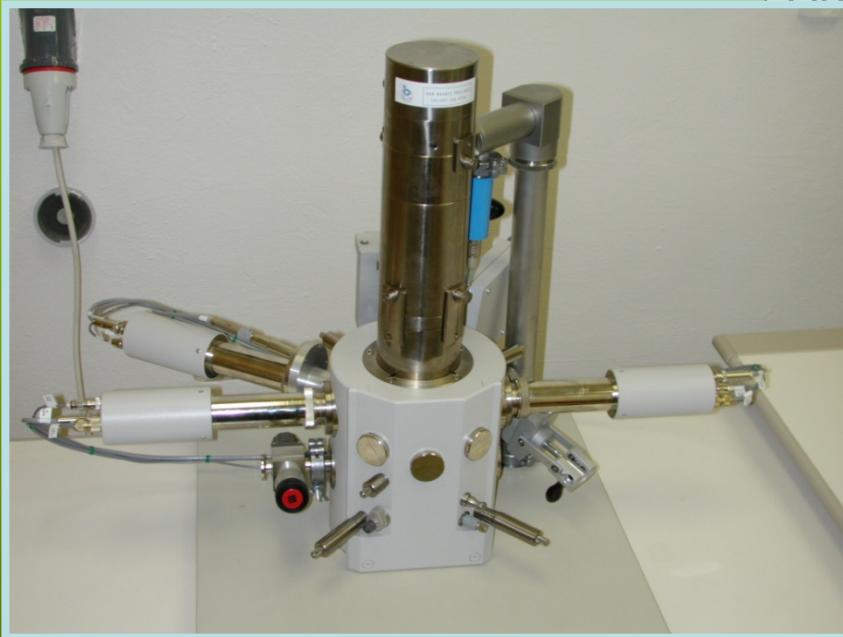
Výhoda – zavodněné preparáty

Nevýhoda – nízké rozlišení



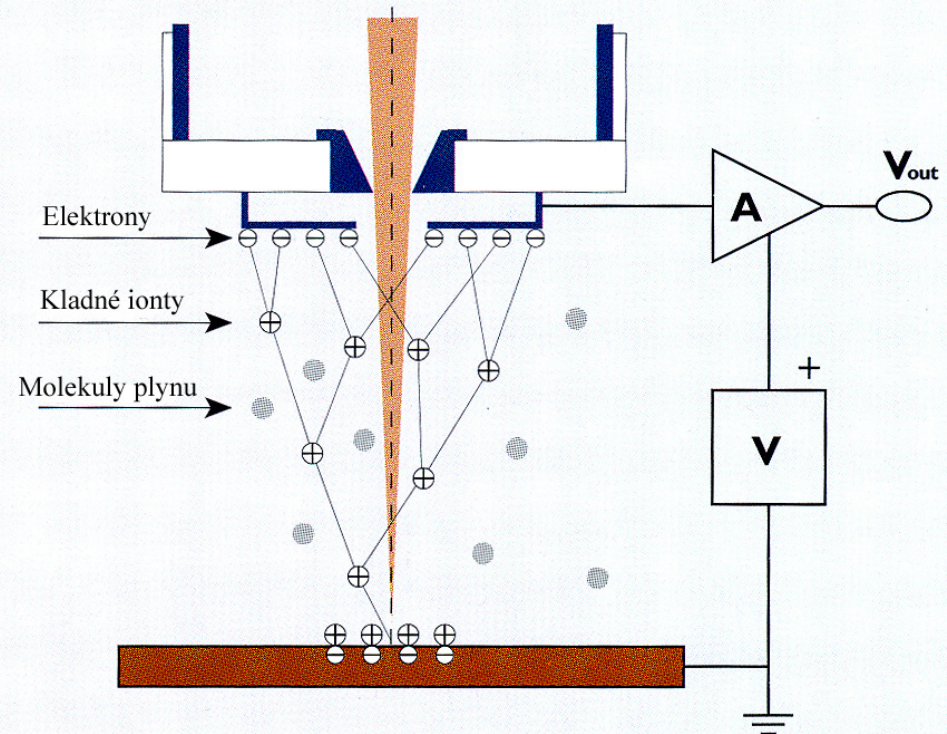
Environmentální SEM

AQUASEM (Tescan Brno)

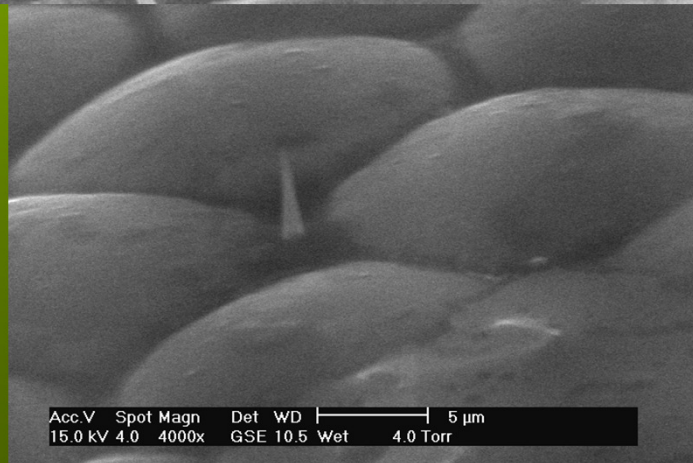
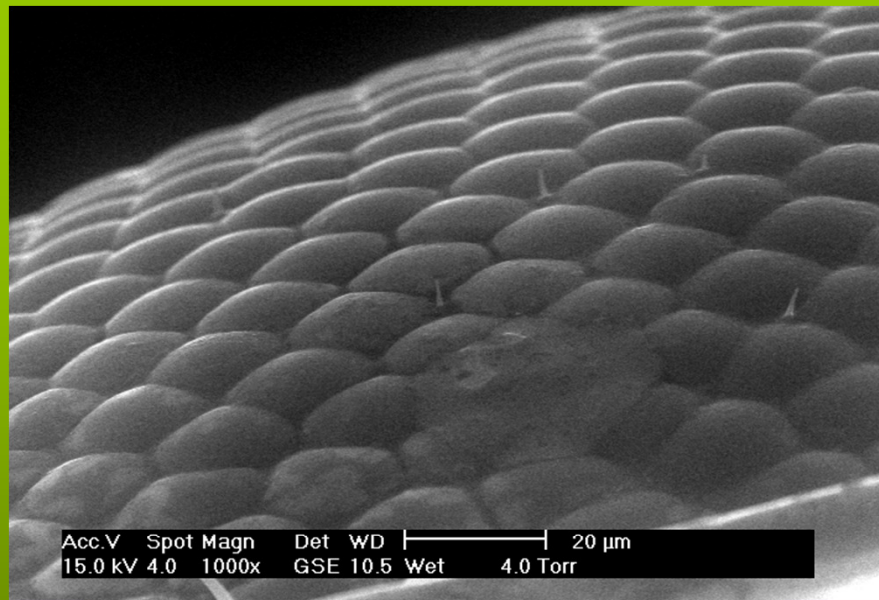


Nízkovakuový SEM
Detekce pouze
odražených elektronů

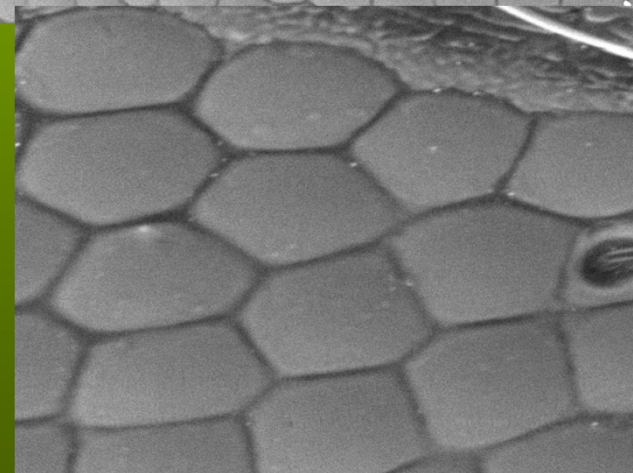
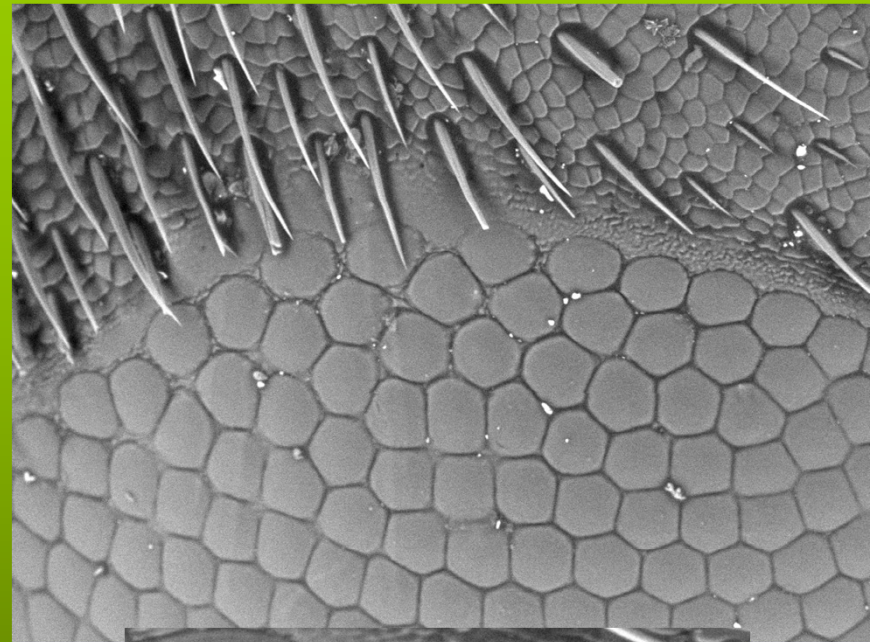
Detekce SE – ionizační detektor



ESEM XL 30 (Philips)

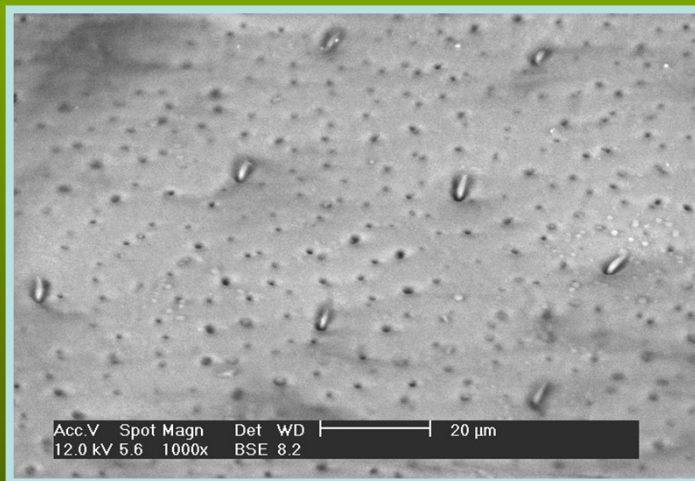
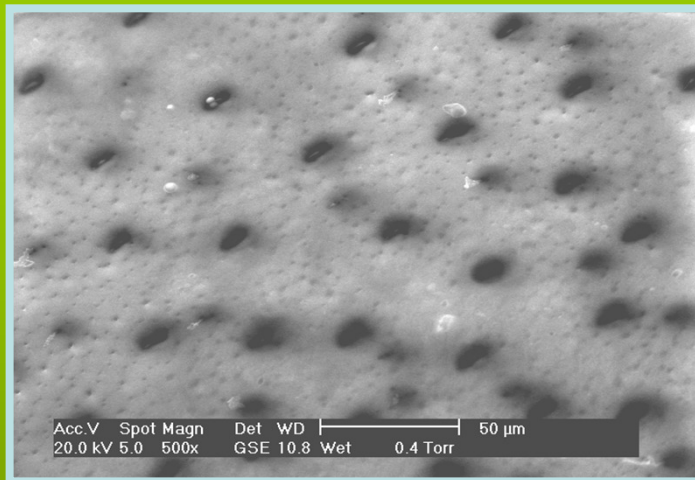


LVSEM 5600 (JEOL)

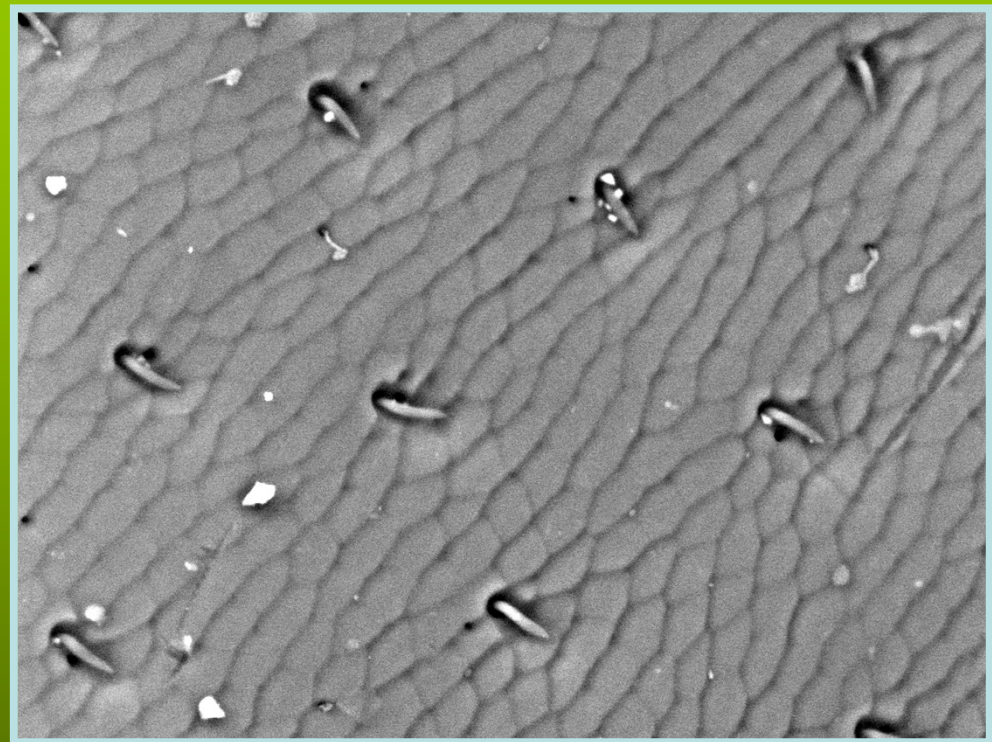


Složené oko slunéčka sedmítečného

ESEM XL 30 (Philips)

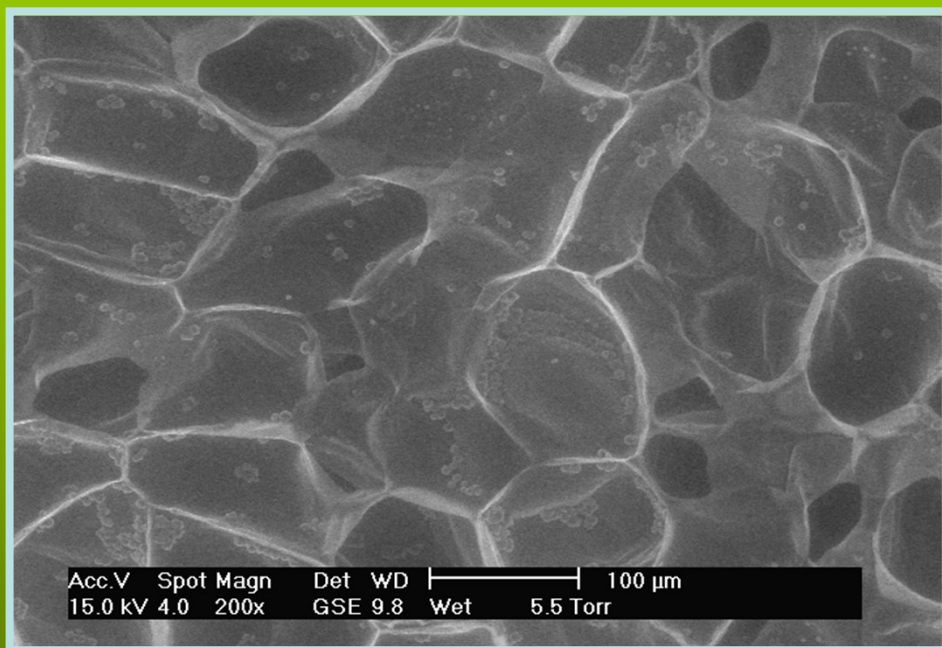


LVSEM 5600 (JEOL)

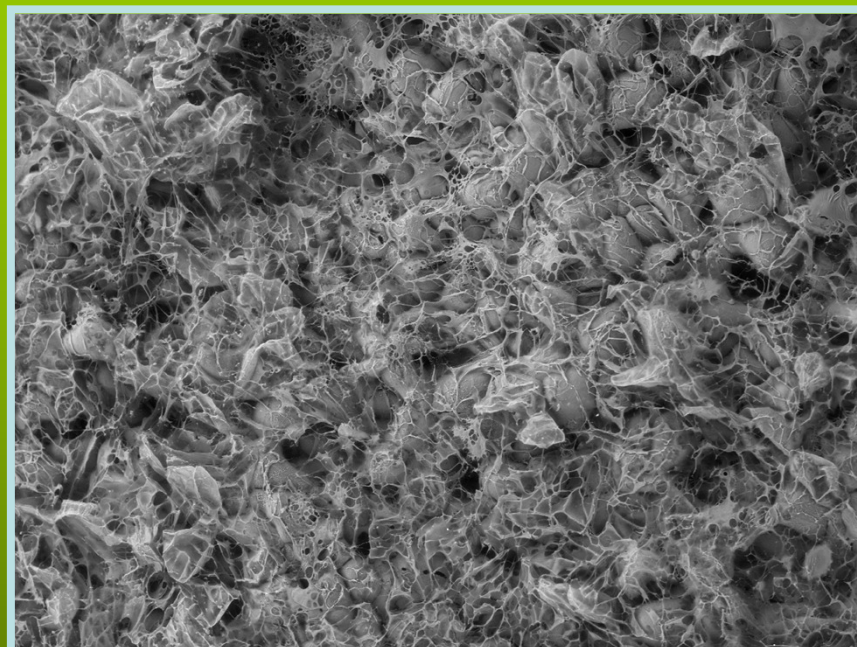


Povrch krovek slunéčka sedmítečného

ESEM XL 30 (Philips)

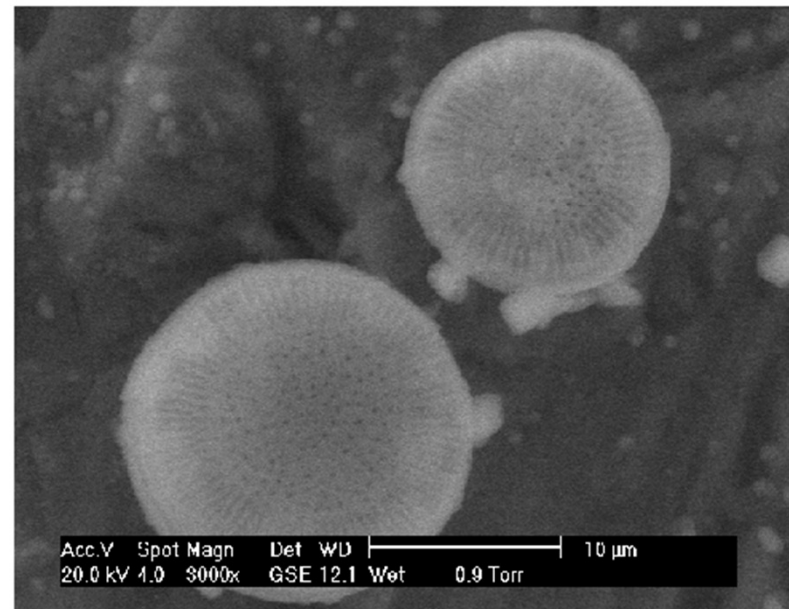
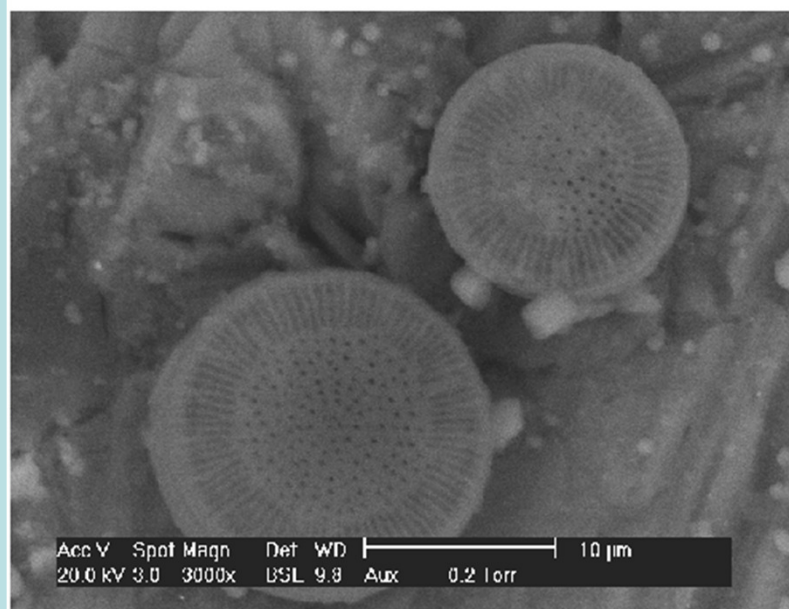


LVSEM 5600 (JEOL)





Zobrazení rozsivek pomocí
ionizačního detektoru a
v sekundárních a odražených
elektronech
ESEM XL 30 (Philips)



SEM JEOL7401F s kryo-nástavcem GATAN ALTO 2500

Kryo SEM umožňuje pozorovat
zmrazené popř. pokovené
vzorky při teplotě -135°C

