

Moderní mikroskopické techniky

Roman Kubínek a Josef Půlkrábek

V současnosti existuje řada mikroskopických technik a jejich aplikací, které mají nezastupitelné uplatnění v mnoha vědeckých oborech a které v poslední době přispěly k mnoha důležitým objevům. S některými z nich se studenti mohou setkat i v různých učebnicích, populárně vědeckých knihách a časopisech. Ze všech mikroskopických technik se v nynějších učebních osnovách vyskytuje pouze princip světelného mikroskopu (SM), a to jako rozšiřující část učiva paprskové optiky (učivo 9. ročníku ZŠ; 2. ročníku SPŠ a 4. ročníku gymnázií). Vzhledem k tomu, že současný trend spíše směřuje k omezování výuky fyziky, nedá se předpokládat, že se učební osnovy budou rozšiřovat i o jiné mikroskopické metody.

Základní fyzikální principy současných moderních mikroskopických technik uvedené v tomto textu by mohly např. sloužit ke vzdělávání učitelů nebo jako součást učiva v zájmových seminářích z fyziky na SŠ. Součástí tohoto příspěvku rovněž je návrh, jak by mohlo být lépe zpracováno učivo světelné mikroskopie, s ohledem na zpracovanou rešerši učebnic a na výsledky provedených testů a jak by bylo možné do učiva fyziky na gymnáziích zanést i některé další mikroskopické techniky, především elektronovou mikroskopii, případně mikroskopii skenující sondou.

1. Současný stav řešené problematiky

Světelnou mikroskopií se na ZŠ zabývají jak učebnice fyziky, tak učebnice biologie (popř. přírodopisu). Zmínku o světelném mikroskopu (SM) i jeho schématický náčrt je např. v učebnici přírodopisu pro 5. ročník ZŠ ([7] – str.8). Učebnice přírodopisu pro 6. ročník ZŠ studenty seznamuje také s elektronovým mikroskopem ([8] – str.12 a 13). Ve fyzice se studenti setkávají se SM až v 7. ročníku ([10] – str.249) a podrobněji i v 9. ročníku ([11] – str.118-120). Nejpodrobněji je tato problematika zpracována v učebnici vydané nakladatelstvím Prometheus ([11]). Tato učebnice seznamuje studenty se stavbou i s funkcí SM prostřednictvím pokusu, ve kterém si žáci mikroskop sestaví pomocí dvou čoček. Tato forma výkladu je názorná, chybí tu ovšem celkový souhrn nastíněné problematiky (např.: parametry čoček, charakteristiky vzniklého obrazu). Studenti jsou zde informováni také o maximálním užívaném zvětšení SM, není tu ovšem nastíněn důvod tohoto omezení ani rozlišovací mez tohoto přístroje. S pojmem „rozlišovací mez“ SM je možné se setkat pouze v jedné učebnici ZŠ, a to kupodivu v učebnici přírodopisu pro 6. ročník ([8] – str.12 a 13), kde je dokonce uvedena i rozlišovací mez elektronového mikroskopu.

V učebnicích pro gymnázia je výklad stavby a funkce SM roztříštěný. Základní poznatky získají studenti v kapitole týkající se paprskové optiky ([16] – str.73-75), kde je též uvedena velikost maximálního užitečného zvětšení SM. Rozlišovací schopnost optických přístrojů je vysvětlena až později, a to pouze na příkladu dalekohledu ([16] – str.111-112), takže se tu vůbec nesetkáme s pojmem rozlišovací meze a její hodnotou. Její hodnota je uvedena až v další učebnici zabývající se fyzikou mikrosvěta ([14] – str.12). Tato učebnice se zmiňuje i o dalších mikroskopických technikách (elektronová a iontová mikroskopie a skenovací tunelovací mikroskopie) a uvádí i přibližné hodnoty jejich rozlišovacích mezí ([14] – str.11-13). S žádnou z těchto technik ovšem není student v učebnicích fyziky blíže seznámen, i když se tyto učebnice zabývají většinou fyzikálních jevů, na jejichž základě pracují některé z uvedených mikroskopických technik (především elektronová mikroskopie).

S dalšími mikroskopickými technikami (kromě SM) se studenti mohou setkat i v různých populárně vědeckých knihách a časopisech, kde se vyskytují zmínky o těchto technikách a jejich aplikacích (např. [20], [21]) i fotografie obrazů vytvořených těmito přístroji (např. [19], [22]).

1. Ověření vědomostí studentů ZŠ a SŠ

Na podporu toho, proč se mikroskopickými metodami zabývat by měl přispět průzkum vědomostí studentů v oblasti orientace v mikroskopických technikách a fyzikálních principech, na jejichž základě mikroskopy pracují. Ve vyučování fyziky se žáci základních i středních škol setkají prakticky pouze se světelným mikroskopem, proto jsou i tyto testy zaměřeny především na optiku a světelnou mikroskopii.

Princip práce světelného mikroskopu je zařazen do osnov 9. třídy ZŠ, 2. ročníku SPŠ a 4. ročníku gymnázií jako rozšiřující část učiva paprskové optiky. Za předpokladu, že rozšiřující učivo se vyučuje především na gymnáziích (čtyřletých i víceletých), byly uplatněny testy především na těchto typech škol vždy 1 až 2 měsíce po probrání učiva paprskové optiky. Účelem těchto testů nebylo studenty zkoušet, proto je studenti vyplňovali anonymně. Na vyplnění testu měli žáci asi 20 minut.

Otázky týkající se rozlišovací meze a užitečného zvětšení elektronového mikroskopu nejsou součástí učiva ZŠ ani SŠ. Účelem těchto otázek bylo pouze zjistit, jakou představu mají studenti o hodnotách uvedených charakteristik elektronového mikroskopu.

1.1 Test pro studenty ZŠ

Znění testu

V testových otázkách zakroužkujte všechny správné odpovědi.

- 1) Co rozumíme pod pojmem světlo?
- 2) Jaký přibližný rozsah vlnových délek má světlo ve vakuu:
 - a) 390-790 μm
 - b) 39-79 μm
 - c) 3,9-7,9 μm
 - d) 390-790 nm
- 3) Jaká je nejmenší doporučená vzdálenost knihy od očí při čtení:
 - a) cca 15 cm
 - b) cca 25 cm
 - c) cca 35 cm
 - d) cca 45 cm
- 4) *V následujících větách zakroužkujte správné varianty:*

Dalekozraký člověk vidí špatně a) na blízko.
b) na dálku.

Obraz předmětu se mu v oku vytvoří a) před sítnicí.
b) za sítnicí.

Tuto vadu lze napravit a) spojkou.

b) rozptylkou.

- 5) Průměrně unavené zdravé oko rozliší 2 body vzdálené nejméně:
- cca 0,7 mm
 - cca 0,2 mm
 - cca 0,07 mm
 - cca 0,02 mm
- 6) Přiřaďte vzdálenosti předmětu od čočky a příslušné charakteristiky obrazu vytvořeného spojkou:
- | | |
|----------------------|-----------------------------------|
| a) $\infty > a > 2f$ | 1) skutečný, převrácený, zvětšený |
| b) $2f > a > f$ | 2) skutečný, převrácený, zmenšený |
| c) $f > a > 0$ | 3) zdánlivý, vzpřímený, zvětšený |
- 7) Lupa je:
- rozptylná čočka s ohniskovou vzdáleností menší než 25 cm
 - rozptylná čočka s ohniskovou vzdáleností větší než 25 cm
 - spojná čočka s ohniskovou vzdáleností menší než 25 cm
 - spojná čočka s ohniskovou vzdáleností větší než 25 cm
- 8) Optická soustava světelného mikroskopu je tvořena:
- dvěma spojnými optickými soustavami
 - dvěma rozptylnými optickými soustavami
 - jednou spojnou a jednou rozptylnou optickou soustavou
- 9) Který z prvků světelného mikroskopu má zpravidla větší zvětšení?
- objektiv
 - okulár
- 10) Jakým způsobem lze obvykle u světelného mikroskopu měnit zvětšení?
- 11) Světelným mikroskopem lze rozlišit 2 body vzdálené nejméně:
- cca 20 μm
 - cca 2 μm
 - cca 0,2 μm
 - cca 0,02 μm
- 12) Jaké největší zvětšení se používá u světelných mikroskopů:
- cca 100
 - cca 1000
 - cca 5000
 - cca 10 000
- 13) Elektronovým mikroskopem lze rozlišit 2 body vzdálené nejméně:
- cca 20 nm – 100 nm
 - cca 2 nm – 20 nm
 - cca 0,2 nm – 2 nm
 - cca 0,02 nm – 0,2 nm
- 14) Jaké největší zvětšení se používá u elektronových mikroskopů:
- cca $10^4 - 10^5$
 - cca $10^5 - 10^6$
 - cca $10^6 - 10^7$
 - cca $10^7 - 10^8$
- 15) Ke každému z uvedených mikroskopů přiřaďte tu číselnou variantu, která nejlépe vystihuje vaše povědomí o tomto přístroji.
- | | |
|--------------------------|------------------------------|
| a) elektronový mikroskop | 1) nikdy jsem o něm neslyšel |
|--------------------------|------------------------------|

- | | |
|-------------------------------------|---|
| b) rastrovací elektronový mikroskop | 2) slyšel jsem o něm |
| c) neutrinový mikroskop | 3) viděl jsem ho na obrázku |
| d) iontový mikroskop | 4) mám představu, jak velké předměty lze tímto mikroskopem pozorovat |
| e) rastrovací tunelový mikroskop | 5) znám princip vzniku obrazu předmětu pozorovaného tímto mikroskopem |

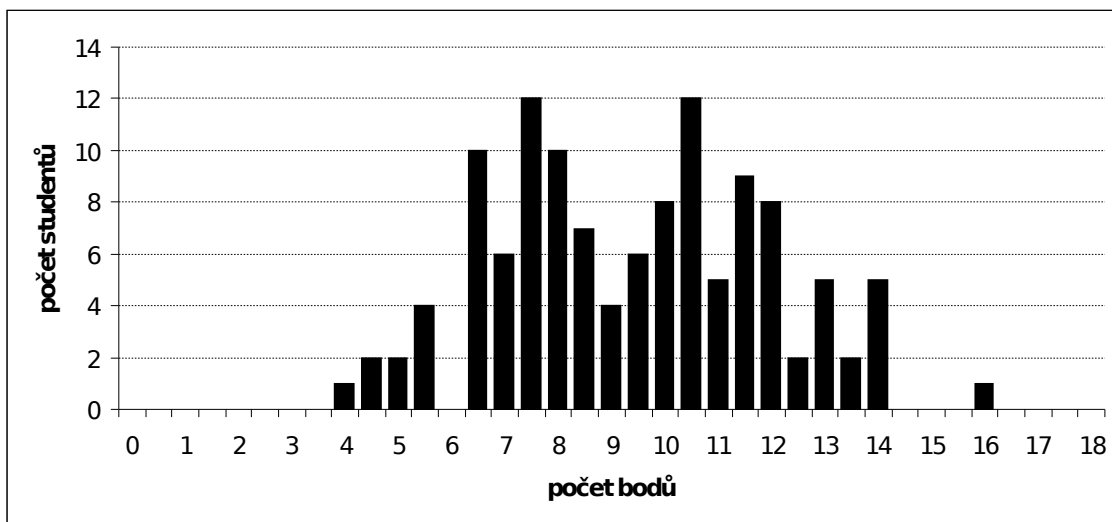
Vyhodnocení testu

Tento test byl zadán studentům 5 tříd na 3 osmiletých gymnáziích. Vyplnilo jej celkem 121 studentů. V tabulce 1 jsou uvedeny relativní četnosti jednotlivých odpovědí (v procentech) na ty otázky testu, ve kterých jsou nabízeny různé varianty odpovědí. (Otázky 4, 6 a 15 jsou zpracovány samostatně.) Umístění správné odpovědi je vyznačeno tučným písmem. V posledním sloupci tabulky jsou relativní četnosti studentů, kteří danou otázku nezodpověděli.

Tab. 1:

Číslo otázky	Varianta odpovědi				
	a)	b)	c)	d)	N
2	19,0	17,4	11,6	47,9	4,1
3	5,8	75,2	18,2	0,8	0,0
5	25,6	47,1	22,3	4,1	0,8
7	9,1	7,4	65,3	18,2	0,0
8	52,1	6,6	38,8	---	2,5
9	71,1	26,4	---	---	2,5
11	5,8	38,0	41,3	13,2	1,7
12	9,9	38,0	38,0	11,6	2,5
13	0,8	28,9	43,8	21,5	5,0
14	7,4	37,2	42,1	10,7	2,5

Každý test byl bodově ohodnocen tak, aby počet bodů vystihl počet správných odpovědí. Za plně správnou odpověď na otázky č.1 a č.10 student získal 1 bod, za částečně správnou odpověď 0,5 bodu. Za správné zodpovězení každé podotázky v otázkách č.4 a č.6 i všech ostatních otázek (kromě otázky č.15) získal také 1 bod. Otázka č.15 nebyla do bodového hodnocení zahrnuta. Maximální bodový zisk, kterého mohl student dosáhnout, byl tedy 18 bodů. Bodové zisky byly v intervalu od 4 bodů (1 student) do 16 bodů (1 student). Průměrný bodový zisk byl 9,40 bodu, standardní odchylka 2,50 bodu.



Obr. 1.1: Rozložení bodových zisků v testu pro nižší stupeň víceletých gymnázií

1.2 Test pro studenty SŠ

Znění testu

V testových otázkách zakroužkujte všechny správné odpovědi.

- 1) Co rozumíme pod pojmem světlo?
- 2) Jaký přibližný rozsah vlnových délek má světlo ve vakuu:
 - a) $(3,9 - 7,9) \cdot 10^{-5}$ m
 - b) $(3,9 - 7,9) \cdot 10^{-6}$ m
 - c) $(3,9 - 7,9) \cdot 10^{-7}$ m
 - d) $(3,9 - 7,9) \cdot 10^{-8}$ m
- 3) Vysvětlíte pojem *konvenční zraková vzdálenost* a uveďte její dohodnutou velikost.
- 4) *V následujících větách zakroužkujte správné varianty:*

Dalekozraký člověk vidí špatně a) na blízko.
 b) na dálku.

Obraz předmětu se mu v oku vytvoří a) před sítnicí.
 b) za sítnicí.

Tuto vadu lze napravit a) spojkou.
 b) rozptylkou.
- 5) Průměrně unavené zdravé oko rozliší 2 body vzdálené nejméně:
 - a) cca 0,7 mm
 - b) cca 0,2 mm
 - c) cca 0,07 mm
 - d) cca 0,02 mm
- 6) Přiřaďte vzdálenosti předmětu od čočky a příslušné charakteristiky obrazu vytvořeného spojkou:

a) $\infty > a > 2f$	1) skutečný, převrácený, zvětšený
b) $2f > a > f$	2) skutečný, převrácený, zmenšený

- c) $f > a > 0$ 3) zdánlivý, vzpřímený, zvětšený
- 7) Optická soustava světelného mikroskopu je tvořena:
a) dvěma spojnými optickými soustavami
b) dvěma rozptylnými optickými soustavami
c) jednou spojnou a jednou rozptylnou optickou soustavou
- 8) Který z prvků světelného mikroskopu má zpravidla větší zvětšení?
a) objektiv
b) okulár
- 9) Jakým způsobem lze obvykle u světelného mikroskopu měnit zvětšení?
- 10) Obraz vytvořený jednoduchým světelným mikroskopem je:
a) zdánlivý, převrácený, zvětšený
b) zdánlivý, vzpřímený, zvětšený
c) skutečný, převrácený, zvětšený
d) skutečný, vzpřímený, zvětšený
- 11) Ve standardním světelném mikroskopu je předmětové ohnisko okuláru totožné s:
a) obrazovým ohniskem objektivu
b) předmětovým ohniskem objektivu
c) místem, kde se objektivem vytvoří obraz předmětu
d) místem, kde je umístěn předmět
- 12) Světelným mikroskopem lze rozlišit 2 body vzdálené nejméně:
a) cca 20 μm
b) cca 2 μm
c) cca 0,2 μm
d) cca 0,02 μm
- 13) Jaké největší zvětšení se používá u světelných mikroskopů:
a) cca 100
b) cca 1000
c) cca 5000
d) cca 10 000
- 14) Co se stane, použijeme-li světelný mikroskop o větším celkovém zvětšení než je tato mez?
- 15) Po jaké trajektorii se pohybuje elektron, který vlétl do homogenního magnetického pole kolmo na směr indukčních čar? Dále uveďte příklady míst, kde vzniká přibližně homogenní magnetické pole.
- 16) Elektronovým mikroskopem lze rozlišit 2 body vzdálené nejméně:
a) cca 20 nm – 100 nm
b) cca 2 nm – 20 nm
c) cca 0,2 nm – 2 nm
d) cca 0,02 nm – 0,2 nm
- 17) Jaké největší zvětšení se používá u elektronových mikroskopů:
a) cca $10^4 - 10^5$
b) cca $10^5 - 10^6$
c) cca $10^6 - 10^7$
d) cca $10^7 - 10^8$
- 18) Ke každému z uvedených mikroskopů přiřipšte tu číselnou variantu, která nejlépe vystihuje vaše povědomí o tomto přístroji.
a) elektronový mikroskop 1) nikdy jsem o něm neslyšel

- | | |
|-------------------------------------|---|
| b) rastrovací elektronový mikroskop | 2) slyšel jsem o něm |
| c) neutrinový mikroskop | 3) viděl jsem ho na obrázku |
| d) iontový mikroskop | 4) mám představu, jak velké předměty lze tímto mikroskopem pozorovat |
| e) rastrovací tunebový mikroskop | 5) znám princip vzniku obrazu předmětu pozorovaného tímto mikroskopem |

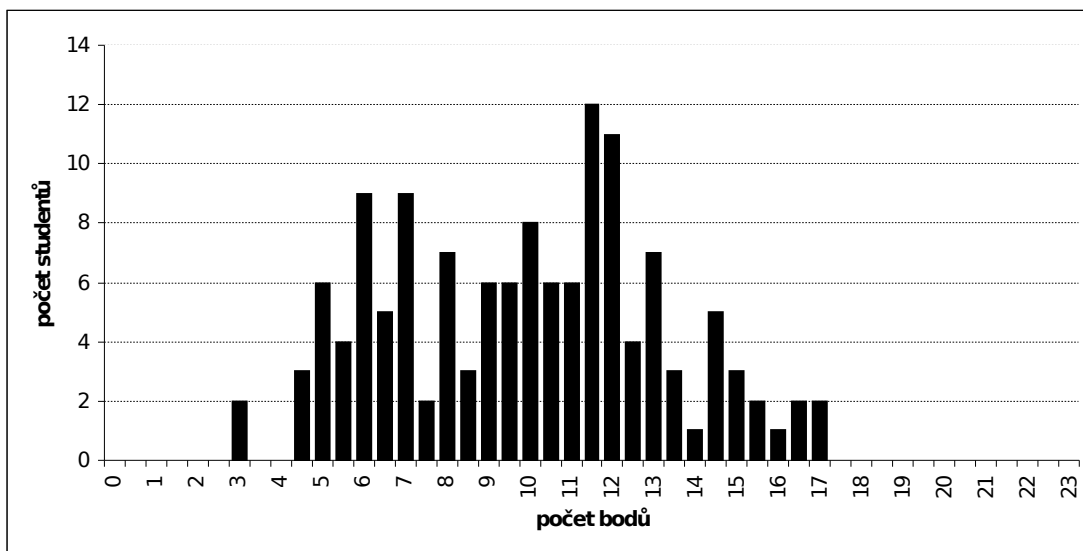
Vyhodnocení testu

Tento test byl zadán studentům 5 tříd na 2 gymnáziích a 1 třídě SPŠE. Vyplnilo jej celkem 135 studentů. V tabulce 3 jsou uvedeny relativní četnosti jednotlivých odpovědí na ty otázky testu, ve kterých jsou nabízeny různé varianty odpovědí. (Otázky 4, 6 a 18 jsou zpracovány samostatně.)

Tab. 3:

Číslo otázky	Varianta odpovědi				
	a)	b)	c)	d)	N
2	0,7	18,5	54,1	25,9	0,7
5	26,7	44,4	17,8	9,6	1,5
7	51,9	3,7	41,5	---	3,0
8	63,0	33,3	---	---	3,7
10	13,3	18,5	25,2	43,0	0,0
11	37,0	25,2	22,2	4,4	11,1
12	11,1	26,7	44,4	15,6	2,2
13	9,6	49,6	25,9	12,6	2,2
16	5,2	15,6	42,2	31,1	5,9
17	11,9	25,2	34,8	20,0	8,1

Každý test byl bodově ohodnocen tak, aby počet bodů vystihl počet správných odpovědí. Za plně správnou odpověď na otázky č.1,9 a 14 student získal 1 bod, za částečně správnou odpověď 0,5 bodu. Za správné zodpovězení každé podotázky v otázkách č.3,4,6 a 15 i všech ostatních otázek (kromě otázky č.18) student získal také 1 bod. Otázka č.18 nebyla do bodového hodnocení zahrnuta. Maximální bodový zisk, kterého mohl student dosáhnout, byl tedy 23 bodů. Bodové zisky byly v intervalu od 3 bodů (2 studenti) do 17 bodů (2 studenti). Průměrný bodový zisk byl 9,86 bodu, standardní odchylka 3,26 bodu.



Obr. 1.2: Rozložení bodových zisků v testu pro SŠ

Z uvedeného vyhodnocení vyplývá, že rovněž i metody světelné mikroskopie by si zasloužily posílit vysvětlení některých fyzikálních základů. Návrh oblastí, na které se zaměřit, navrhne v závěrečné kapitole. V tomto příspěvku se budeme věnovat jen těm mikroskopickým metodám, které patří mezi modernější.

2. Elektronový mikroskop

Elektronový mikroskop (EM), stejně jako každý mikroskop, slouží k pozorování a zvětšování velmi malých a blízkých předmětů. EM ovšem, narozdíl od SM, využívá k zobrazování předmětů proud elektronů. Vlnová délka de Broglieho vlny elektronu je mnohem menší než vlnová délka světla. Proto je i rozlišovací mez EM až 1000x menší než rozlišovací mez SM. V současnosti existuje několik typů elektronových mikroskopů. Základními typy EM jsou:

- **Transmisní (prozařovací) elektronový mikroskop (TEM)**, v němž je předmět zobrazován prostřednictvím svazku elektronů, kterým procházejí.
- **Rastrovací (skenovací) elektronový mikroskop (REM, v některé literatuře i SEM)**. REM se používá především k zobrazení povrchu předmětu. Povrch předmětu je v něm zobrazován postupně, bod po bodu, prostřednictvím úzkého svazku elektronů, které interagují se vzorkem a uvolňují další signály, podílející se na tvorbě obrazu nebo nesou informaci o složení vzorku. Výsledný obraz vzniká složením obrazů jednotlivých bodů předmětu.

2.1 Vývoj elektronového mikroskopu

První konstrukci elektronového mikroskopu nutně předcházela řada dílčích objevů, jejichž závěry byly využity při sestavení tohoto přístroje. První důležitý krok učinil anglický fyzik J.J. Thompson, který v r.1897 prokázal, že katodové paprsky jsou proudem rychle letících záporně elektricky nabitých částic, které byly později nazvány **elektrony**. Další důležitý poznatek uveřejnil v r.1925 **Louis de Broglie**. Vyslovil totiž hypotézu, že volně se pohybující částici lze přiřadit vlnovou délku. O dva roky později toto potvrdily pokusy, které nezávisle na sobě provedli Davisson s Germerem a Thompson s Reidem. Při těchto pokusech byla totiž pozorována difrakce elektronů. Důležitou roli na cestě k elektronovému mikroskopu sehrály také práce H. Busche, uveřejněné v roce 1926, které se zabývaly analogií mezi vychylováním paprsku elektronů pomocí magnetických polí solenoidů (cívek) a světla pomocí skleněné čočky.

Především díky těmto pokusům se zrodila v r.1928 na Vysoké škole technické v Berlíně myšlenka o možnosti zkonstruovat transmisní elektronový mikroskop. O dva roky později byl také na téže škole v kolektivu, který vedli **Max Knoll** a **Ernst Ruska**, zkonstruován první transmisní elektronový mikroskop. A již v roce 1932 se objevily první fotografie, které byly tímto přístrojem pořízeny. (V roce 1986 získal Ruska za tento objev Nobelovu cenu.) První komerčně vyráběné transmisní elektronové mikroskopy se objevily v roce 1939. Tyto přístroje měly rozlišovací schopnost okolo 10 nm.

Rastrovací elektronový mikroskop jako první sestrojil (v roce 1942) tým vedený americkým vědcem **Vladimírem Zworikynem**. Jeho komerční výroba byla ovšem započata až v r.1965.

Od doby prvních elektronových mikroskopů se jejich konstrukce značně zdokonalila. Elektronové mikroskopy jsou v současné době nepostradatelnou součástí každé moderní biologické laboratoře. Používají se v mnoha různých přírodovědeckých odvětvích a přispěly k mnoha významným objevům. Díky elektronovým mikroskopům se dají s vysokou rozlišovací schopností studovat např. jednotlivé části buněk i pochody, které v nich probíhají; povrch a struktura krystalů řady materiálů; atd.

2.2 Transmisní elektronový mikroskop (TEM)

Stavba transmisního elektronového mikroskopu je principiálně stejná jako stavba světelného mikroskopu. I jednotlivé prvky TEM pracují analogicky jako prvky SM. Základním rozdílem ovšem je, že zobrazovacím vlněním není světlo, ale proud urychlených elektronů. A tomuto rozdílu je vše uzpůsobeno.

Zdrojem zobrazujícího vlnění je tzv. **elektronová tryska**. Zobrazovacím prostředím je vakuum, protože ve vzduchu by docházelo k pohlcování elektronů. K úpravě chodu elektronového svazku se používají tzv. **elektromagnetické čočky**, což jsou prakticky různé typy cívek. Výsledný obraz nelze pozorovat přímo okem, ale např. prostřednictvím **fluorescenčního stínítka** či obrazovky, díky nimž lze proud dopadajících elektronů zviditelnit.

V tomto textu se omezíme jen na popis funkce transmisního elektronového mikroskopu, protože umožňuje dobré srovnání s klasickým světelným mikroskopem.

Vlnová povaha elektronů

Na počátku 20. století bylo zjištěno, že elektromagnetické záření má nejen vlnovou, ale i částicovou povahu (proud fotonů). Otázkou tedy bylo, jestli naopak i ty objekty, které do té doby byly považovány za částice, nemají i vlnové vlastnosti.

V roce 1925 přišel **Louis de Broglie** s hypotézou, že proud částic lze považovat za vlnění o frekvenci f a vlnové délce λ , pro které platí:

$$f = \frac{E}{h}, \quad \lambda = \frac{h}{mv},$$

kde $h = 6,626 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$ je Planckova konstanta.

Každou nabitou částici (tedy i elektron) lze urychlit pomocí elektrického pole a tím i zmenšit její vlnovou délku. Ze zákona zachování energie lze pro libovolnou částici o náboji q odvodit vztah:

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2meU}}$$

Pro elektron tedy platí:

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2meU}} = \frac{1,226}{\sqrt{U}} [\text{nm}],$$

kde U je velikost urychlujícího napětí a $m = 9,11 \cdot 10^{-31} \text{ kg}$ je (klidová) hmotnost elektronu.

Je-li urychlovací napětí větší než 100 kV, překročí již velikost rychlosti elektronu hodnotu $0,5 \cdot c$. A proto je nutné v uvedeném vztahu počítat se závěry teorie relativity. Pak platí

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2m_0 eU \left(1 + \frac{eU}{2m_0 c^2}\right)}},$$

kde m_0 je klidová hmotnost elektronu a $c = 3 \cdot 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ je rychlost světla ve vakuu.

Obvykle užívaná hodnota urychlovacího napětí v transmisním elektronovém mikroskopu je přibližně 100 kV. Pro tuto hodnotu urychlovacího napětí je vlnová délka elektronu $\lambda = 0,0037 \text{ nm}$, což je o 5 řádů nižší než vlnová délka světla. Pro **rozlišovací mez** ideálního TEM platí tentýž vztah jako pro rozlišovací mez ideálního SM. Lze tedy předpokládat, že TEM přinese o 5 řádů podrobnější informace o struktuře vzorku než SM. Ovšem důsledkem vad zobrazení je maximální rozlišovací mez TEM d_{\min} jen o 3 řády menší než maximální rozlišovací mez SM (tzn. $d_{\min} \approx 0,2 \text{ nm}$). Maximální **užitečné zvětšení** TEM je tedy kolem 10^6 . Speciálními typy TEM lze dosáhnout i menší rozlišovací meze - až $0,1 \text{ nm}$.

Emise elektronů

Každý elektron je v atomu vázán jistou **výstupní energií** E_v . Abychom tento elektron z vazby uvolnili, musíme mu dodat energii, která je větší než E_v . To lze zrealizovat mnoha různými postupy. V elektronové mikroskopii našly své uplatnění především tyto:

- a) **sekundární emise** - Studené kovové vlákno (zvané **katoda**) bombardujeme urychlenými ionty, které nárazem uvolňují elektrony z povrchu katody. Tento postup se využíval u prvních typů TEM, ale dnes se již prakticky nevyužívá.
- b) **termoemise** - Zahříváme-li katodu, dodáváme jí vnitřní energii. Překročí-li teplota katody jistou mezní teplotu, dochází k uvolňování elektronů z jejího povrchu. Tento postup je nejužívanější.
- c) **autoemise** - Proti studenému kovovému vláknu odleptanému do hrotu umístíme elektrodu s vysokým kladným napětím. V okolí hrotu vzniká velmi silné elektrické pole, které je schopno vytrhovat velké množství elektronů z povrchu hrotu. Nevýhodou tohoto postupu je velmi vysoká potřebná hodnota vakua (10^{-6} až 10^{-8} Pa).

Zdroj elektronů

Zdroj elektronů v elektronovém mikroskopu nazýváme **elektronová tryska** (popř. elektronové dělo). Elektrony jsou emitovány z **katody**, kterou zpravidla prochází elektrický proud. Tím dochází k jejímu zahřátí a následné termoemisi elektronů z jejího povrchu. Pravděpodobnost úniku elektronů může být ještě zvýšena vytvarováním katody do tvaru písmene V, což usnadní uvolnění elektronů v místě ohybu.

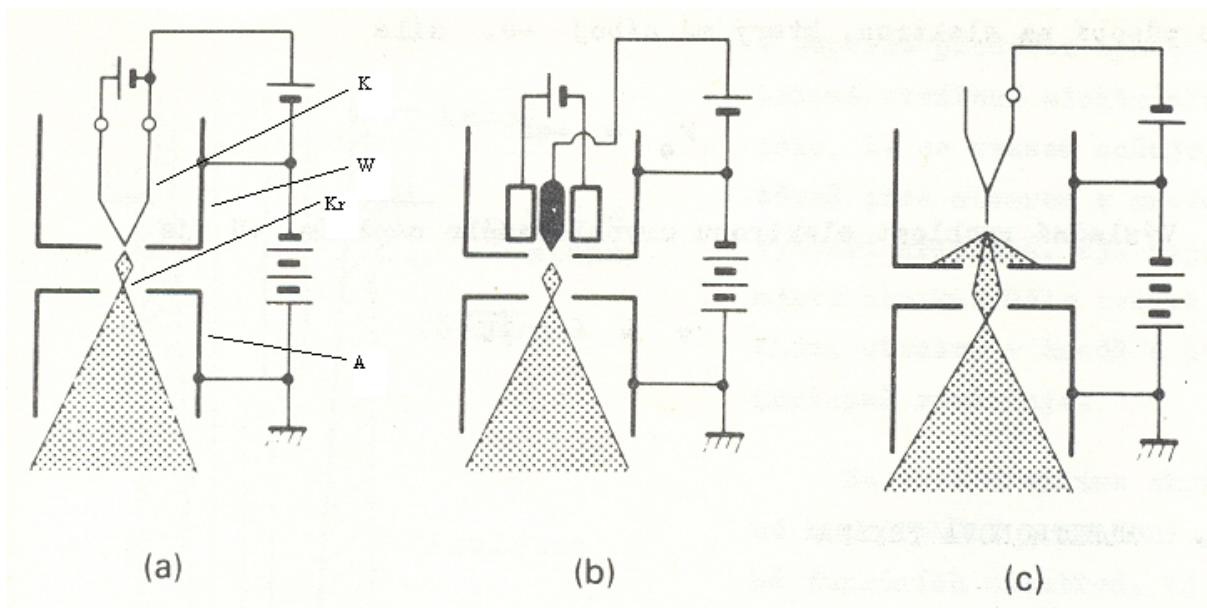
Katoda bývá nejčastěji vyrobena z wolframu, protože má nízkou výstupní energii valenčních elektronů ($E_v = 4,5 \text{ eV}$) a vysoký bod tání ($T_t = 3653 \text{ K}$) a protože pro svůj provoz nevyžaduje vysokou hodnotu vakua. Životnost vlákna katody je nepřímo úměrná teplotě, na kterou bývá vlákno obvykle žhaveno. Vlákno wolframové katody má provozní teplotu přibližně $2600 \text{ }^\circ\text{C}$. Jeho životnost je pak asi 40 hodin.

V novějších typech výkonných elektronových mikroskopů se využívá místo wolframové katody katoda z LaB_6 (hexaborid lanthanu). Tento typ katody má asi $10\times$ větší emisi elektronů než wolframová katoda, vyžaduje ovšem mnohem větší hodnotu vakua (minimálně 10^{-4} Pa). Tato katoda má provozní teplotu cca. $1600 \text{ }^\circ\text{C}$ a vydrží asi 250 hodin.

V nejvýkonnějších elektronových mikroskopech bývá zdrojem elektronů **autoemisní katoda** (FEG), která vydrží až několik let.

Elektronovou trysku tvoří tedy katoda, která je spojena se záporným pólem urychlovacího napětí U a je obklopena tzv. **Wehneltovým válcem**, který má proti špičce vlákna katody otvor (viz. obr. 2.1a). Za válcem je umístěna **anoda** s otvorem uprostřed, která je spojena s kladným pólem urychlovacího napětí a je uzemněna. Wehneltův válec vytváří v okolí vlákna katody elektrické pole, které způsobuje, že se svazek elektronů emitovaných z katody zužuje tak, že těsně před otvorem v anodě vytváří **křížiště**, tj. nejužší místo svazku. Toto místo lze pak považovat za bodový zdroj urychlených elektronů. Rychlost urychlených elektronů ze zdroje je přibližně $v \approx 600\sqrt{U}$.

Dráha, rychlost a šířka svazku elektronů je poté ještě upravena systémem clonek a čoček, které společně s elektronovou tryskou vytvářejí **osvětlovací soustavu elektronového mikroskopu**.



Obr. 2.1: Schéma stavby a funkce elektronové trysky (a) wolframové; (b) z LaB_6 ;
 (c) autoemisní (zkratky K – katoda; W – Wehneltův válec; Kr – křižička; A – anoda)

Pohyb elektronů v magnetickém poli

Na náboj elektronu e , který se pohybuje v magnetickém poli o indukci \mathbf{B} , působí síla \mathbf{F} , jejíž velikost a směr lze určit ze vztahu:

$$\mathbf{F} = e(\mathbf{v} \times \mathbf{B}),$$

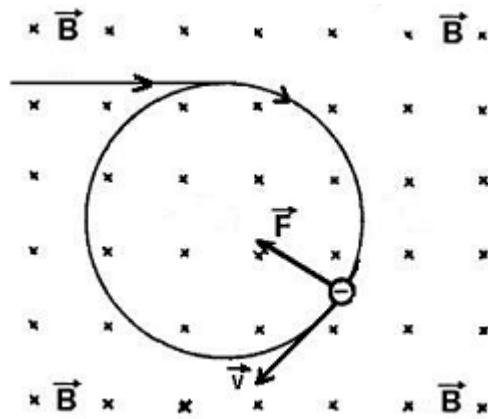
kde \mathbf{v} je rychlost elektronu a α je úhel, který mezi sebou svírají vektory \mathbf{v} a \mathbf{B} .

Pro velikost síly F pak platí vztah: $F = evB \cdot \sin\alpha$. Směr síly F určíme takto: Položíme-li otevřenou pravou ruku tak, aby prsty ukazovaly směr rychlosti \mathbf{v} elektronu a vektor indukce \mathbf{B} magnetického pole vstupoval do dlaně, pak odtažený palec ukazuje směr síly \mathbf{F} , kterou působí magnetické pole na elektron.

Jestliže elektron vletne do **homogenního magnetického pole** ve směru kolmém k magnetické indukci pole, pak magnetická síla působící na elektron zakřivuje trajektorii elektronu do tvaru šroubovice. Tato šroubovice má v průmětu tvar kružnice o poloměru:

$$r = \frac{mv}{Be},$$

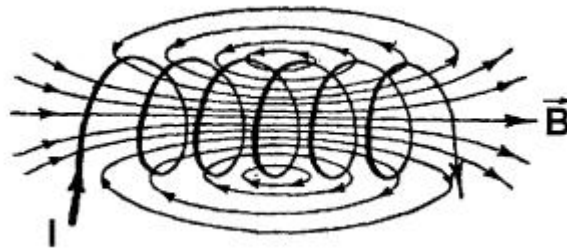
kde m je hmotnost elektronu.



Obr. 2.2: Trajektorie elektronu v homogenním magnetickém poli

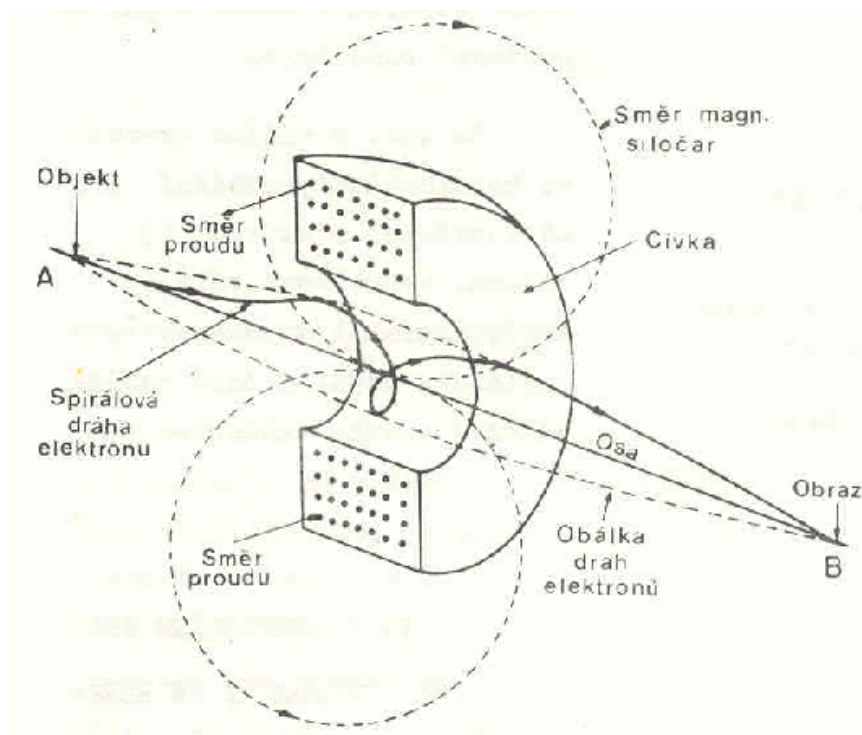
Elektromagnetická čočka

Působení magnetického pole na tvar trajektorie letícího elektronu lze využít k sestrojení tzv. **elektromagnetické čočky**, která by fungovala přibližně stejně jako skleněná čočka v případě světla. Nejjednodušší elektromagnetickou čočkou je **solenoid**. Solenoid je cívka s velkým počtem závitů, jejichž průměr je mnohem menší než délka cívky. Uvnitř solenoidu vzniká homogenní magnetické pole a v okolí solenoidu nehomogenní magnetické pole (viz. obr. 2.3).



Obr. 2.3 Magnetické pole dlouhé jednovrstvé cívky

Trajektorie elektronu, který vletne do magnetického pole elektromagnetické čočky, má tvar prostorové spirály. Trajektorie všech elektronů, které procházejí stejným bodem A na ose čočky, jsou magnetickým polem čočky ovlivněny tak, že se za čočkou opět protínají ve stejném bodě B na ose čočky (viz. obr. 2.4).



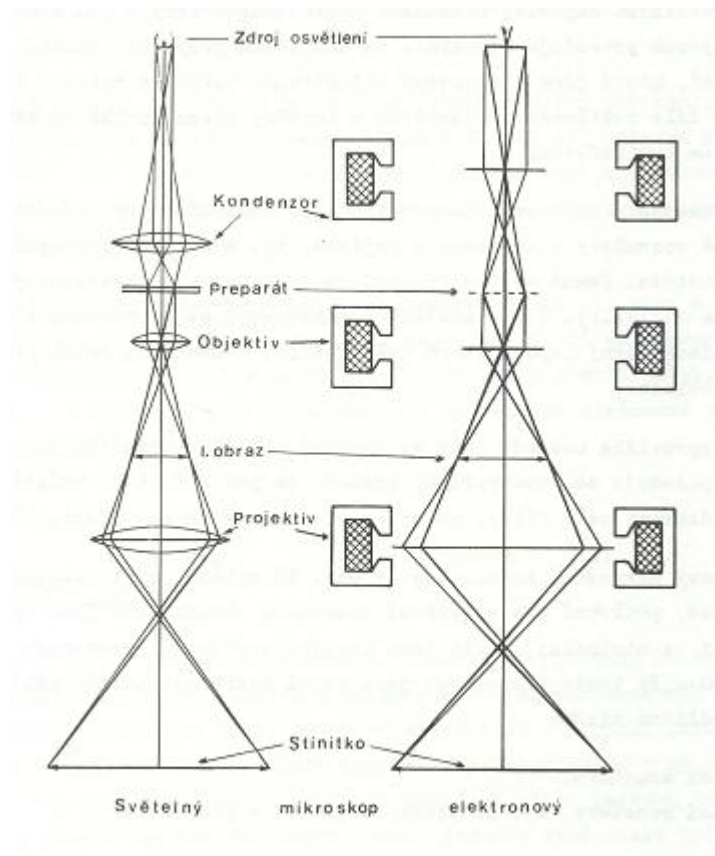
Obr. 2.4 Trajektorie elektronu v dutině elektromagnetické čočky

Čím větší je proud procházející čočkou, tím větší je magnetická indukce pole čočky a tím menší je **ohnisková vzdálenost čočky**. Elektromagnetická čočka je tedy pak výkonnější. Průchodem vysokého proudu čočkou ovšem vzniká teplo, které zvyšuje teplotu čočky. Proto musí být elektromagnetické čočky chlazeny.

Magnetické pole uvnitř reálné elektromagnetické čočky není přesně homogenní. To vede k mnoha vadám, které jsou svou podstatou totožné s vadami optických čoček. Tyto vady negativně ovlivňují obraz vytvořený čočkou, především jeho kontrast, hloubku ostrosti a rozlišovací mez.

Zobrazení elektronovým mikroskopem

Stavba transmisního elektronového mikroskopu je analogická stavbě světelného mikroskopu. Tedy i zobrazení předmětu pomocí TEM probíhá analogicky.



Obr. 2.5 Srovnání stavby SM a TEM

Základními stavebními prvky **zobrazovací soustavy TEM** jsou **objektiv** a **projektiv** (odpovídá okuláru SM). Objektiv je zpravidla tvořen pouze jednou elektromagnetickou čočkou, zatímco projektiv tvoří až čtyři elektromagnetické čočky. Součástí zobrazovací soustavy TEM je i systém clonek, které omezují šířku zobrazujícího svazku elektronů. Zobrazovaný předmět je v TEM umístěn v těsné blízkosti objektivu. Objektiv tedy stejně jako v SM vytváří základní obraz předmětu.

Objektiv je nejvýkonnější čočkou mikroskopu. Je schopen největšího **zvětšení** (50 až 100×) a má také nejkratší ohniskovou vzdálenost. Aby se dosáhlo požadovaného výkonu, má cívka objektivu velký počet závitů, kterými protéká značný proud.

Obraz vytvořený objektivem je dále zobrazen čočkami tvořícími projektiv. Proud procházející čočkami projektivu lze regulovat a tím i měnit výsledné zvětšení elektronového mikroskopu. Maximální zvětšení užívané v elektronovém mikroskopu je 10^6 , což odpovídá velikosti užitečného zvětšení TEM.

Interakce elektronového svazku s hmotou

Vlastním zdrojem obrazu v elektronovém mikroskopu jsou **interakce** mezi elektrony ze zdroje (tzv. **primární elektrony** - PE) a hmotou zobrazovaného předmětu (preparátu), na nějž elektrony dopadají. Tyto interakce lze zjednodušeně rozdělit do dvou skupin:

a) **Pružný (elastický) rozptyl** - Když urychlený elektron prolétá elektronovým obalem atomu preparátu, je vychýlen pod úhlem, který je tím větší, čím blíže tento elektron míjí jádro a čím větší je počet protonů jádra tohoto atomu. Tento úhel může přesáhnout i 90° a elektron je pak zpětně odražen. Při tomto ději se energie primárních elektronů nemění. Část elektronů vychýlených preparátem o příliš velký úhel je zachycena objektivovou clonou a tím vyřazena z tvorby obrazu preparátu na stínítku TEM. **Odražené elektrony** (BSE) se v TEM nevyžívají, podílejí se ovšem na tvorbě obrazu v REM.

b) **Nepružný rozptyl** – Dochází k němu při srážkách primárních elektronů s elektrony atomu preparátu. Jedná se tu tedy o srážku dvou částic stejné hmotnosti. Proto při těchto srážkách primární elektrony ztrácejí část své energie, neodchylují se od původního směru a tudíž se všechny podílejí na tvorbě obrazu na stínítku TEM. Změna energie a rychlosti těchto elektronů přispěje ke změně jejich vlnové délky. Proto jsou tyto elektrony jedním ze zdrojů vad zobrazení. Jejich nepříznivý vliv roste s tloušťkou preparátu a s klesajícím urychlovacím napětím.

Při nepružném rozptylu mohou být z atomů preparátu vyraženy elektrony (tzv. **sekundární elektrony** - SE), které se společně s odraženými elektrony vytvářejí obraz v REM. Současně vzniká ještě řada dalších signálů (např. rentgenové záření, Augerovy elektrony a katodoluminiscence), které nesou mnoho dalších informací o preparátu.

Pozorování a záznam obrazu vytvořeného elektronovým mikroskopem

Svazek urychlených elektronů, který nese informaci o zobrazovaném předmětu, nelze přímo vidět okem. Abychom tedy viděli obraz vytvořený elektronovým mikroskopem, je nutné převést tyto informace do viditelné podoby.

K **pozorování obrazu** se používá **stínítko** pokryté luminoforem (nejčastěji ZnS), které bývá umístěno na dně tubusu TEM. **Luminofor** je látka, která je schopna v závislosti na energii a množství dopadajících elektronů emitovat světlo různé intenzity o přibližně stejné vlnové délce. V případě ZnS má vlnová délka vznikajícího světla velikost

okolo 550 nm. Na stínítku tedy vzniká obraz z odstínů zelené barvy, který je již možné pozorovat okem. Ve výsledném obrazu tedy nerozeznáme skutečné barvy předmětu. Rozlišení stínítka je dáno velikostí zrn ZnS, která se pohybuje okolo 50 nm.

Kromě velkého stínítka je většina elektronových mikroskopů vybavena ještě malým stínítkem, na kterém je možno detail obrazu ještě zvětšit pomocí světelného mikroskopu. Velikost zrn ZnS na malém stínítku se pohybuje kolem 10 nm.

V praxi je vhodné vytvořit **záznam obrazu** pozorovaného předmětu. V současnosti se obraz zaznamenává buď na speciální fotografický materiál nebo v digitální podobě pomocí SSC kamery.

Fotografický materiál vhodný pro EM musí být především citlivý na velmi krátké vlnové délky elektronového svazku a musí být stabilní i při vysoké hodnotě vakua, která je uvnitř EM. Nejpoužívanějším typem fotografického materiálu je polyesterová podložka, na které je nanášena želatinová vrstvička s drobnými krystalky chloridu stříbrného (Ag Cl).

Tzv. **slow-scan CCD kamery** (SSC) používané v TEM pracují obdobně jako klasické CCD kamery používané v SM. Rozdílem je pouze to, že detektor SSC kamery je schopen zaznamenávat intenzitu a energii zobrazujícího svazku elektronů.

Vakuový systém

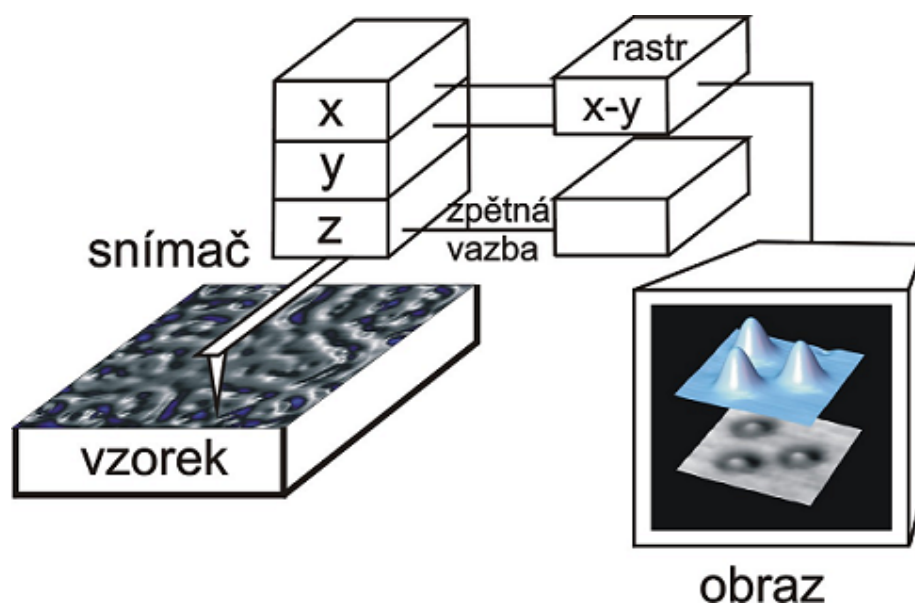
Vnitřní prostor mikroskopu, ve kterém se pohybují elektrony musí být vakuovaný. Základní důvody tohoto požadavku jsou tyto:

- a) Dosah elektronového svazku ve vzduchu je maximálně 1 m.
- b) Elektronová tryska musí být izolována vakuem, protože vzduch není dostatečně dobrým izolantem. Vzniká totiž nebezpečí ionizace vzduchu a následného elektrického výboje mezi katodou a anodou trysky.
- c) Vzduch obsahuje molekuly O₂, N₂, CO₂ a hydrokarbonáty, které způsobují kontaminaci tubusu i pozorovaného předmětu (vzorku).

Na dosažení pracovního vakua (minimálně 10⁻³ Pa) musí být mikroskop vybaven dostatečně výkonnými **vývěvami** mnoha různých typů. (Používají se především rotační, difúzní a iontové vývěvy.) Kvalitu vakua sleduje několik měrek a celý proces čerpání vzduchu je řízen automaticky.

3. Mikroskopie skenující sondou (Scanning Probe Microscopy - SPM)

Mikroskopie skenující sondou je soubor experimentálních metod určených ke studiu struktury povrchů s atomárním rozlišením. V SPM je povrch předmětu postupně rastrován (snímán bod po bodu) prostřednictvím sondy, která se pohybuje v přesně definované síti bodů ve vzdálenosti od několika desetin po několik desítek nm od povrchu vzorku. Výsledný trojrozměrný obraz povrchu získáme složením obrazů jednotlivých bodů povrchu pomocí počítače. Každý **SPM přístroj** se skládá ze tří základních částí - z mechanické a elektronické části a ze sondy tvořené zpravidla hrotem. Mechanická část zajišťuje mechanickou stabilitu přístroje a polohování sondy ve třech rozměrech. Elektronická část zajišťuje napájení, ovládání a součinnost všech částí přístroje, zpětnou vazbu a sběr naměřených dat. Další uspořádání mikroskopu a vlastnosti jeho jednotlivých součástí se mění podle druhů metod SPM, které tento přístroj využívá.



Obr. 3.1 Základní uspořádání SPM přístrojů

SPM přístroje mohou pracovat v různých prostředích. Mezi nejčastěji užívané patří: ultravysoké vakuum (UHV), vzduch, kapalně prostředí (vhodné pro studium biologických preparátů) a elektrochemické prostředí. Protože obraz získaný v SPM není reálným, ale počítačovým obrazem předmětu, bývá součástí všech komerčně dodávaných SPM přístrojů je software pro **počítačovou analýzu obrazu**. Tím je možné získat

upravené obrázky. Je-li ovšem obrazová analýza použita nedbale, mohou být data zkreslena ještě více.

3.1 Vývoj metod SPM

Metody SPM jsou z teoretického hlediska velmi jednoduché. Konstrukce přístrojů se skenující sondou je ovšem velice náročná především z důvodu extrémně malé vzdálenosti hrotu sondy od povrchu vzorku, díky které jsou metody SPM velmi citlivé k vibracím a k výchybkám teploty.

Historie metod SPM začala v roce 1972, kdy R. Young sestrojil **Topografiner**, zařízení schopné mapovat povrch vzorku ze vzdálenosti okolo 100 nm. Rozlišení tohoto přístroje bylo asi 3 nm vertikálně (rovnoběžně s hrotem) a 400 nm laterálně (kolmo na hrot). Atomárního rozlišení dosáhl až přístroj, který v roce 1981 sestrojili **Gerd Binnig** a **Heinrich Rohrer** v laboratoři IBM v Curychu. Jejich metoda využívá tunelování elektronů mezi vodivým hrotem sondy a vodivým povrchem vzorku. Proto se tato metoda nazývá **skenovací tunelovací mikroskopie** (STM). Binnig s Rohrerem získali za objev STM v roce 1986 Nobelovu cenu.

Po objevu STM došlo k mohutnému rozvoji technik SPM. Do dnešního dne bylo vynalezeno několik desítek metod SPM vhodných ke studiu různých vlastností různých typů povrchů. Tyto metody jsou, obecně řečeno, založeny na sledování změn jiných veličin při skenování povrchu vzorku. Jde např. o změny různých druhů přitažlivých či odpudivých sil mezi hrotem a povrchem, změny elektrického napětí nebo proudu mezi hrotem a povrchem, změny tepelné vodivosti, elektrické vodivosti či povrchové teploty povrchu vzorku. Mnohdy je více druhů metod SPM sdruženo v jednom přístroji, který umožňuje současný sběr více druhů signálů, tedy i souběžné studium několika různých charakteristik povrchu vzorku.

Mimo topografie povrchu vzorku lze tedy pomocí metod SPM studovat např. elektrické, magnetické i elastické vlastnosti povrchu vzorku, změny povrchové teploty i tepelné vodivosti povrchu, změny elektrické vodivosti, apod.

V dalším textu rozebereme dvě základní metody SPM, kterými jsou skenovací tunelovací mikroskopie (STM) a mikroskopie atomárních sil (AFM).

3.2 Skenovací tunelovací mikroskopie (Scanning Tunneling Microscopy - STM)

STM je metoda založená na existenci tunelového jevu.

Tunelový jev

Základním závěrem kvantové fyziky je, že v mikrosvětě je vše otázkou pravděpodobnosti. Proto se v mikrosvětě stávají jevy, které z hlediska klasické fyziky nemohou nastat. Jedním z nich je i **tunelový jev**. Pokud některá částice nemá dostatečnou energii k překonání jisté **potenciálové bariéry**, pak by podle závěrů klasické fyziky měla zůstat uvnitř oblasti ohraničené bariérou. Můžeme si to představit jako kuličku, která koná kmitavý pohyb uvnitř misky, ale nemá dostatečnou energii k překonání okraje. Tedy i elektron, který má menší energii než je jeho výstupní energie, by měl zůstat uvnitř atomu.

Ze závěrů kvantové fyziky ovšem plyne, že taková částice se může s nenulovou pravděpodobností vyskytnout i za touto potenciálovou bariérou. Může tedy tzv. tunelovat touto bariérou na druhou stranu. Proto i uvedený elektron může tunelovat ven z atomu. Uvedený jev se nazývá tunelový jev.

Pravděpodobnost tunelového jevu je velmi malá a přibližně se dá vyjádřit tímto vztahem:

$$P \approx e^{-\frac{2}{\hbar}\sqrt{2m(V-E)}d}$$

kde $\hbar = 1,055 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$ je Diracova konstanta, m hmotnost elektronu, E energie elektronu, V výška bariéry (= výstupní energie elektronu) a d je šířka bariéry.

Z uvedeného vztahu je zřejmé, že s narůstající šířkou d prudce (exponenciálně) klesá pravděpodobnost výskytu částice za bariérou. A právě tato vlastnost je základem tunelovací mikroskopie.

Princip práce skenovacího tunelovacího mikroskopu

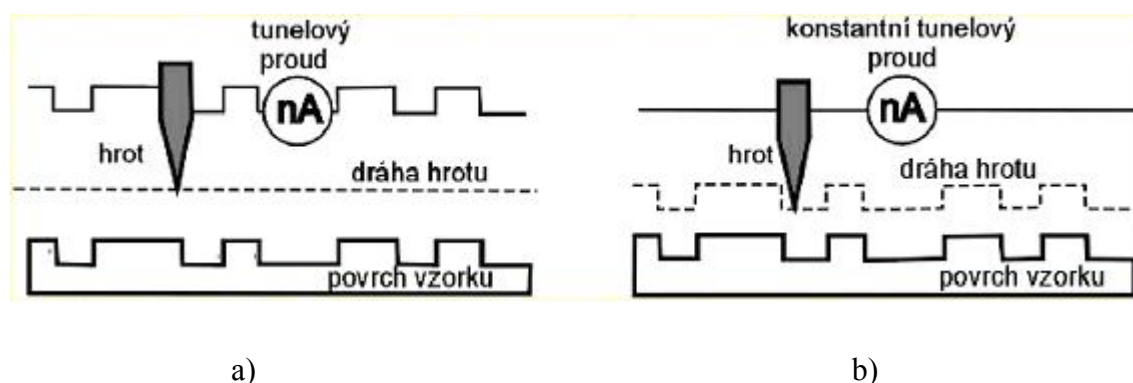
STM užívá k mapování povrchu vzorku ostrý **vodivý hrot**. Mezi hrot a vzorek je přivedeno napětí. Ve volném prostoru mezi hrotem a vzorkem se vytvoří potenciálová bariéra, kterou mohou elektrony tunelovat s výše uvedenou pravděpodobností. Aby se tunelování vůbec uskutečnilo musí být vzorek také vodivý (případně polovodič) a vzdálenost mezi hrotem a vzorkem musí být do 1 nm

Průběh potenciálové bariéry je vlivem přiloženého napětí nesymetrický. Proto převažuje počet tunelujících elektronů v jednom směru buď z hrotu k povrchu vzorku nebo obráceně. Obvodem tedy protéká tzv. **tunelový proud**, jehož závislost na vzdálenosti hrotu od vzorku (= šířka bariéry) bude velmi strmá (exponenciální). Průběh této závislosti tedy umožňuje určit vzdálenost mezi hrotem a povrchem vzorku,

prostřednictvím měření velikosti tunelového proudu, s přesností na setiny nanometru. Tímto způsobem ovšem získáme informace pouze o jednom bodě. K tomu, abychom mohli mapovat celý povrch vzorku, musí být každý SPM přístroj vybaven velmi přesným **polohovacím zařízením** (tzv. skenerem), které zajišťuje posuv a stabilitu polohy hrotu i vzorku. Při měření se hrot skokově posouvá v rovině xy po předem daných měřicích bodech. Tento velmi jemný posuv zajišťují **piezoelektrické látky** (např.: křemen, LiNbO_3 a LiTaO_3). Mechanickou stabilitu zajistíme mechanickým tlumením přístroje (pružinami a pneumatickým stolem).

STM přístroje mohou pracovat ve dvou různých režimech: v režimu konstantní výšky či v režimu konstantního proudu. V **režimu konstantní výšky** se hrot pohybuje ve vodorovné rovině xy nad vzorkem a tunelový proud se mění v závislosti na vzdálenosti povrchu vzorku od hrotu a na lokálních povrchových elektrických vlastnostech vzorku. Na základě stálého měření velikosti tunelového proudu v jednotlivých měřicích bodech se vytváří výsledný obraz (viz. obr. 3.2a). Tento režim umožňuje rychlé snímání obrazu. Je ovšem méně přesný, a proto se používá především u hladkých povrchů.

V **režimu konstantního proudu** využívá STM zpětné vazby tak, aby byla udržena konstantní hodnota tunelového proudu. V případě, že systém detekuje zvýšení tunelového proudu, je přivedeno odpovídající napětí k piezoelektrickému systému, který zajistí oddálení hrotu od povrchu vzorku. Je-li naopak zaznamenáno snížení proudu, pak systém přiblíží hrot ke vzorku (viz. obr. 3.2b). Výsledný obraz se vytváří na základě sledování vertikálního pohybu skeneru. To se zpravidla uskutečňuje pomocí laserového systému s optoelektronickou detekcí. Tento režim je pomalejší, ale přesnější. Proto se používá k mapování členitějších povrchů.



Obr. 3.2 Režimy měření tunelového proudu v STM

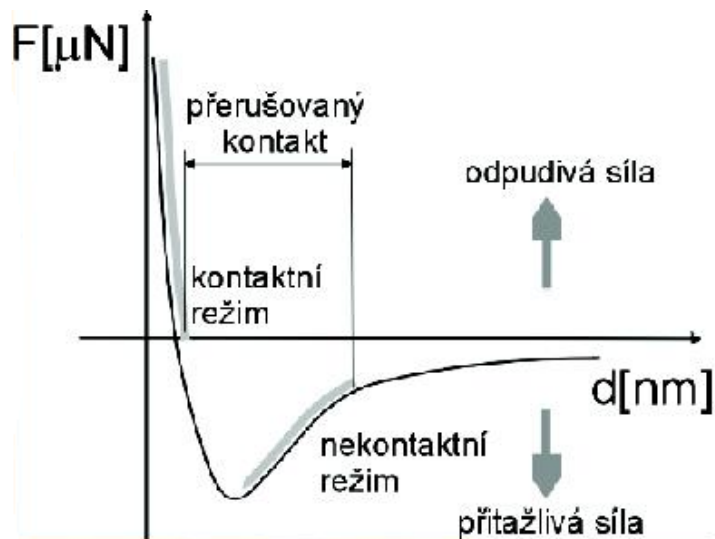
V režimu konstantního proudu může také dojít k poškození povrchu vzorku. Přejde-li totiž hrot nad oblast s výrazně odlišnými elektrickými vlastnostmi (např. zoxidovaná oblast), dojde k velkému snížení tunelového proudu a tedy i k velkému zmenšení vzdálenosti hrotu od vzorku, někdy i k dotyku hrotu a vzorku a následnému poškození povrchu vzorku. Vzhledem k exponenciálnímu průběhu závislosti velikosti tunelového proudu na vzdálenosti hrotu od povrchu vzorku, dochází při měření k interakcím pouze mezi několika nejbližšími atomy hrotu a povrchu. Proto lze pomocí STM dosáhnout věrného atomárního rozlišení (řádově desetiny nanometru).

Obraz získaný pomocí STM ovšem odpovídá jen přibližně topografii povrchu vzorku, protože tunelový proud nezávisí pouze na vzdálenosti hrotu od vzorku, ale i na lokálních elektrických vlastnostech povrchu vzorku.

3.3 Mikroskopie atomárních sil (Atomic Force Microscopy - AFM)

AFM využívá sondu, která rastruje povrch vzorku ostrým hrotem. **Hrot** je několik μm dlouhý s poloměrem zakřivení okolo 10 nm. Je umístěn na volném konci **raménka** (cantileveru), které je dlouhé 100 až 200 μm . Mezi hrotem a povrchem vzorku lze při malých vzdálenostech (max. několik desítek nm) pozorovat nezanedbatelné **silové působení**. Při tomto silovém působení se uplatňují především odpudivé a přitažlivé síly krátkého dosahu (van der Waalsovy síly, kapilární síly, Pauliho odpudivé síly, aj.). Tyto síly působí u jakéhokoliv vzorku nezávisle na jeho vodivosti, proto hrot ani povrch vzorku nemusí být vodivé, což je velká výhoda této metody oproti STM.

Vzájemné silové působení mezi hrotem a povrchem vzorku způsobuje ohyb a odklon raménka. Ohyb raménka je snímán citlivým (zpravidla laserovým) snímačem. Na základě tohoto snímání je pak pomocí počítače vytvářen celkový obraz povrchu vzorku. Aby rozlišení změn topografie povrchu zkoumaného vzorku bylo co největší, využíváme při měření strmějších oblastí uvedené závislosti (viz. obr. 3.3). Podle oblasti závislosti, ve které pracujeme, rozlišujeme kontaktní a nekontaktní režim AFM.



Obr. 3.3 Závislost výslednice působících atomárních sil na vzdálenosti hrotu od

V **kontaktním režimu AFM** je udržován jemný mechanický kontakt mezi hrotem a povrchem vzorku. Jejich vzájemná vzdálenost je max. 0,1 nm. Tuhost raménka, na kterém je upevněn hrot, musí být nižší než je vazebná síla mezi atomy vzorku. Výsledná síla působící mezi hrotem a povrchem je odpuzivá a pohybuje se v rozmezí od 10^{-8} N po 10^{-6} N.

Kontaktní režim lze provozovat ve dvou modifikacích: s konstantní výškou nebo s konstantní silou. V první z nich se hrot pohybuje ve vodorovné rovině xy a měří se ohnutí raménka. V druhé modifikaci se prostřednictvím zpětné vazby udržuje konstantní ohyb raménka a mění se poloha hrotu vzhledem k ose z . Častěji se využívá modifikace s konstantní silou. Měření je sice pomalejší, ale přesnější. Při **nekontaktním režimu AFM** raménko s hrotem kmitá v blízkosti povrchu vzorku, přičemž jejich vzájemná vzdálenost kolísá od 1 nm po několik desítek nm. Výsledná síla mezi hrotem a povrchem vzorku je přitažlivá a pohybuje se okolo 10^{-12} N. Měření je proto obtížnější než v kontaktním režimu. Jestliže se mění průměrná vzdálenost hrotu od povrchu vzorku, dochází ke změně rezonanční frekvence a amplitudy kmitů hrotu. Na základě sledování těchto změn se pak prostřednictvím počítače vytváří obraz topografie povrchu vzorku. Při nekontaktním režimu AFM se dosahuje nižšího rozlišení než při kontaktním režimu. Přesto je nekontaktní režim výhodnější pro studium měkkých a pružných vzorků, protože při něm nedochází k poškození či kontaminaci povrchu vzorku.

Při některých měřeních se využívá tzv. **poklepový režim AFM**. Při tomto režimu raménko s hrotem také kmitá v blízkosti povrchu vzorku. Rozkmit raménka je ovšem

větší než v předchozím případě. Proto dochází k občasnému dotyku hrotu s povrchem. Obraz je tu opět vytvářen na základě sledování změn rezonanční frekvence a amplitudy kmitů hrotu. Tento režim je výhodnější než kontaktní, pokud hrozí nebezpečí poškození vzorku. Je také výhodnější než nekontaktní režim, a to v případě, že snímáme povrch, který má větší rozpětí v ose z.

Příčné rozlišení AFM obrazu je určeno dvěma faktory: velikostí obrazu a křivostí špičky hrotu. Ostřejší typy hrotů pro AFM mají poloměr křivosti okolo 5 nm. Při využití těchto hrotů může být dosaženo příčného rozlišení o velikosti 1 až 2 nm.

Pomocí AFM bývá snímána zpravidla čtvercová oblast povrchu vzorku, která je rovnoměrně rozdělena na 512×512 měřících bodů. Oblast o rozměrech $1\mu\text{m} \times 1\mu\text{m}$

tedy můžeme nasnímat s rozlišením okolo 2 nm ($\approx \frac{1\mu\text{m}}{512}$). Pokud tedy předpokládáme, že je využito ostřejších typů hrotů, pak má tato oblast optimální rozměry pro AFM měření. Jsou-li rozměry snímané oblasti větší, je rozlišení povrchu vzorku menší pouze vlivem její větší velikosti. Zmenšíme-li rozměry snímané oblasti pod optimální hodnotu ($1\mu\text{m} \times 1\mu\text{m}$), pak se vzhledem k velikosti poloměru křivosti použitého hrotu rozlišení obrazu nezvětší. Pomocí AFM tedy nelze dosáhnout věrného atomárního rozlišení.

3.4 Aplikace SPM

Všechny metody SPM jsou využívány především ke studiu topografie a vlastností nejrůznějších povrchů a ke studiu povrchových procesů (např. chemických reakcí). Kromě fyziky a chemie povrchů je však metoda použitelná i v dalších oborech. Pro **biologii** je největším přínosem metody možnost zobrazovat v libovolném okolním prostředí, což umožňuje zobrazit i živé organismy (např. bakterie, DNA, aj.). Pomocí speciální aplikace AFM lze také zjišťovat přítomnost biologicky aktivních materiálů (toxinů, bakterií, virů, apod.) ve studovaném vzorku.

SPM lze také využít v **metrologii** (pro přesná rozměrová měření, určování drsnosti povrchu, aj.).

Velmi zajímavou aplikací technik SPM jsou **nanotechnologie**. Možnost zobrazovat atomy a přesné polohování hrotu i vzorku lze totiž využít k manipulaci s atomy. Tímto způsobem je možno vytvářet struktury na atomární úrovni. Pro manipulaci s atomy je zapotřebí vzorek, který má velmi kvalitní povrch, a v okolí vzorku je nutné udržovat vysoké vakuum. S jednotlivými atomy je možno manipulovat dvěma způsoby:

- a) STM hrot nastavíme nad přemísťovaný atom a přiložíme napětí vhodné polarizace. Tím dojde k přechodu atomu na hrot. Poté hrot oddálíme, přesuneme nad místo, kam chceme atom přemístit, a přiložíme napětí opačné polarizace. Tím dojde ke zpětnému přechodu atomu na povrch vzorku. Prvním takto vytvořeným obrázkem byl v r. 1990 nápis IBM (viz. obr. 4.4), vytvořený z atomů xenonu na povrchu niklu, ochlazeném na teplotu 4 K (-269 °C).
- b) Jakýkoliv SPM hrot přiblížíme k povrchu za zvoleným atomem a v blízkosti povrchu atom tlačíme před hrotem na žádané místo.

(Podobným způsobem je možno také manipulovat s celými molekulami.)



Obr. 3.4 Logo IBM vytvořené manipulací s atomy Xe na Ni

Jinou formou povrchových modifikací je přímý přenos materiálu. Ten lze realizovat například použitím zlatého hrotu. Přiblížením hrotu k povrchu vzorku a použitím intenzivního napěťového pulsu, lze pak na povrchu vzorku vytvořit zlatou "hromádku" (tzv. kvantovou tečku). Vytvářet kopečky či důlky na povrchu vzorku lze i zatlačováním hrotu do povrchu. Těto metody byly použity i k ověření některých závěrů kvantové mechaniky.

Těmito převratnými technikami byly vytvořeny zdánlivě neskutečné věci: například osičky desettisíckrát menší než lidský vlas, nanorezistory, nanomotorčky, atd., které se již dnes využívají v mnoha různých odvětvích.

Literatura

- [1] Pospíšil, J.: Základy vlnové optiky A 1. vyd., Olomouc, UP 1990
- [2] Pospíšil, J.: Základy optiky B 1. vyd., Olomouc, UP 1983
- [3] Hejtmánek, M.: Úvod do světelné mikroskopie 5. vyd., Olomouc, UP 2001
- [4] Kalina, T.; Pokorný, V.: Základy elektronové mikroskopie: pro biology 1. vyd., Praha, SPN 1979
- [5] Eckertová, L.; Frank, L.: Metody analýzy povrchů - Elektronová mikroskopie a difrakce 1. vyd., Praha, Academia 1996
- [6] Kubínek, R. a kol.: Mikroskopie skenující sondou 1. vyd., Olomouc, UP 2003
- [7] Kvasničková, D. a kol.: Přírodopis pro 5. ročník ZŠ 1. vyd., Praha, Fortuna 1993

- [8] Kvasničková, D. a kol.: Poznáváme život – Přírodopis pro 6. ročník ZŠ (2. část) 1. vyd., Praha, Fortuna 1995
- [9] Černík, V. a kol.: Přírodopis 2 pro 7. ročník základní školy: Zoologie (1. část) 1. vyd., Praha, SPN 1997
- [10] Kolářová, R.; Bohuněk, J.: Fyzika pro 7. ročník základní školy 1. vyd., Praha, Prometheus 1998
- [11] Kolářová, R. a kol.: Fyzika pro 9. ročník základní školy 1. vyd., Praha, Prometheus 2003
- [12] Lepil, O. a kol.: Fyzika pro střední školy 3. vyd., Praha, Prometheus 2003
- [13] Bohuněk, J. a kol.: Fyzika pro 9. ročník základní školy 1. vyd., Praha, Prometheus 1997
- [14] Štoll, I.: Fyzika pro gymnázia – Fyzika mikrosvětla 2. vyd., Praha, Prometheus 1995
- [15] Svoboda, E. a kol.: Přehled středoškolské fyziky 2. vyd., Praha, Prometheus 1996
- [16] Lepil, O.: Fyzika pro gymnázia – Optika 3. vyd., Praha, Prometheus 2003
- [17] Lepil, O.; Kupka, Z.: Fyzika pro gymnázia – Optika 1. vyd., Praha, SPN 1993
- [18] Lepil, O.; Šedivý, P.: Fyzika pro gymnázia – Elektřina a magnetismus 5. vyd., Praha, Prometheus 2000
- [19] Goodman, B.: Vypij si svou injekci, Scientific American (české vydání), 2002, č. 4, s. 15
- [20] Počítač z mikrobů, 100+1 zahraniční zajímavost, 2003, č. 8, s. 14
- [21] ALS - nové poznatky o vzácné chorobě, 100+1 zahraniční zajímavost, 2004, č. 2, s. 40-42
- [22] Nebezpečné viry, 100+1 zahraniční zajímavost, 2002, č. 20, s. 40-42
- [23] <http://exfyz.upol.cz/bf/index.htm>
- [24] <http://www.quido.cz/objevy>
- [25] <http://www.referaty.sk>
- [26] <http://www.paru.cas.cz/lem>
- [27] <http://atmilab.upol.cz>
- [28] <http://apfyz.upol.cz/ucebnice/down/elmag.pdf>