

DK 537.533.35

Elektronska mikroskopija

POLDE LESKOVAR

Elektronska mikroskopija je doživela po drugi svetovni vojni silen in nesluten razmah, čeprav je bil njen začetek zelo težak. Premagati je bilo treba vrsto težav in predsodkov. Zanimivo je, da so bili vsi tisti, ki jim je bil elektronski mikroskop pravzaprav namenjen, v začetku skoraj soglasno proti njemu. Tako je n. pr. v vrstah biologov prevladovalo prepričanje, da je svetlobni mikroskop pokazal že vse, kar je pričakovati na tem področju zanimivega. Ko je bil leta 1934 posnet z elektronskim mikroskopom prvi posnetek, so se pojavili novi ugovori, češ da bo vakuum v notranjosti mikroskopa potegnil vso vodo iz bioloških preparatov, jih ubil in jim spremenil obliko. Pri uporabi elektronskega mikroskopa v metalurgiji in tehnologiji kovin se je pozneje prav tako dalj časa držalo mnenje, da replike, s pomočjo katerih opazujemo predvsem površine kovin, niso dovolj verne ipd. Na srečo so bili v letih 1939 in 1940 z elektronskim mikroskopom doseženi prvi vidni rezultati. Fotografirani so bili prvi posnetki bakterij in bakteriofagov, ki jih ni bilo mogoče videti z navadnim svetlobnim mikroskopom.

Druga svetovna vojna je razvoj elektronske mikroskopije zavrla; po letu 1945 pa je šel razvoj naglo naprej. Dandanes bi težko našli področja v prirodoslovju, kjer ne bi srečevali elektronskega mikroskopa. Razviti so bili elektronski mikroskopi raznih vrst.

Tudi v Jugoslaviji si elektronski mikroskop močno utira pot in ga uporabljamo že na mnogih področjih. Ponašamo se že z lastnimi konstrukcijami, s katerimi so bili doseženi že zavirljivi uspehi. Tu naj omenim elektronski mikroskop LEM 2, ki dosega direktne povečave do 30000-krat, in sicer pri zveznem spreminjanju povečave od 1000-krat navzgor. To je delo prof. dr. ing. Aleša Strojnika in njegove skupine, kakršno se lahko kosa z najboljšimi tovrstnimi mikroskopi na svetu.

Pred kratkim je dobila Fakulteta za strojništvo Univerze v Ljubljani elektronski mikroskop. To je bila obenem tudi pobuda za obvestitev naše strokovne javnosti o delovanju elektronskega mikroskopa, o tehniki pripravljanja materialov za gledanje pod elektronskim mikroskopom in nazadnje o vrstah elektronskih mikroskopov.

A. ELEKTRONSKI MIKROSKOP

1. Fizikalne osnove

Mikroskop imenujemo napravo, s pomočjo katere vidimo neki predmet povečan. Povečanje predmeta pomeni, da ga gledamo navidezno pod večjim zornim kotom. Zorni kot postaja tem večji, čim bližje pomaknemo predmet k očem. Ker pa to neomejeno ni mogoče — saj vidi normalno človeško oko najbolje v razdalji 25 cm — uporabljamo za povečanje zornega kota posebne naprave, ki jih imenujemo mikroskope.

Glede na povečavo poznamo:

- makroskopično povečanje,
- svetlobno mikroskopijo in
- elektronsko mikroskopijo.

Pri makroskopični povečavi in svetlobni mikroskopiji vidimo povečane predmete s pomočjo navadnih steklenih leč in svetlobnih žarkov, pri elektronski

mikroskopiji pa s pomočjo posebnih elektronskih leč in elektronov.

Principialna omejitev vsakega mikroskopa, ki dela z valovi, je podana po enačbi:

$$d = \frac{k \cdot \lambda}{n \cdot \sin a}$$

kjer pomeni:

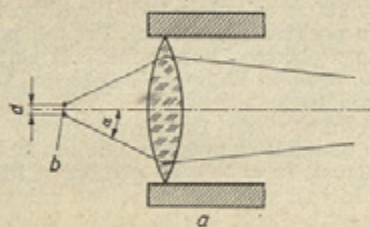
d = razdaljo med dvema točkama, ki ju mikroskop še loči,

λ = valovno dolžino svetlobe, ki gre s predmeta v objektiv,

a = kot (glej sl. 1),

n = razmerje med lomnim količnikom prostora, med objektom in objektivom ter lomnim količnikom prostora za objektivom,

k = koeficient ($\approx 0,61$, ki pa ni natančen — še sporen).



Slika 1

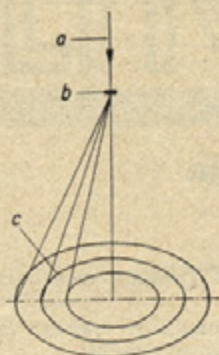
a — objektiv, b — objekt

Iz tega izhaja, da je ločilna sposobnost mikroskopa z vidno svetlobo v najboljšem primeru okrog 2000 Å. (Tu velja obrazec $d \approx \frac{\lambda}{2}$). Iz povedanega je možno izračunati največjo smiselno povečavo svetlobnega mikroskopa. Če upoštevamo, da ima normalno človeško oko pri dobri svetlobi in v povprečni oddaljenosti 25 cm ločilno sposobnost $d = 0,2 \dots 0,5$ mm, dobimo:

$$p \approx \frac{d}{\lambda} = \frac{0,3 \text{ mm}}{2000 \text{ Å}} = \frac{3 \cdot 10^{-4} \text{ m}}{2000 \cdot 10^{-10} \text{ m}} = \frac{3 \cdot 10^3}{2} = 1500\text{-krat}$$

To potrjuje prejšnjo trditev, da je meja ločilne sposobnosti mikroskopa dana z valovno dolžino svetlobe ali kakega drugega valovanja. Za še večje smiselne povečave ali večjo ločljivost mikroskopa je treba iskati kakšno drugo valovanje, valovanje z majhno valovno dolžino.

Tu se vsiljuje misel: kaj z rentgenskimi žarki. Vemo namreč, da znaša njihova valovna dolžina le 0,01 do 10 Å. Če vstavimo to valovno dolžino v že znani obrazec $d \approx \frac{\lambda}{2}$, bi dobili ločilno sposobnost takega mikroskopa $d = 0,005 \dots 5$ Å. Žal to ni mogoče, ker ne poznamo leč za rentgenske žarke.



Slika 2

a — elektroni, pospešeni z napetostjo 2 kV, b — folija iz zlata, c — uklonski kolobarji kot posledica valovanja

Leta 1924 je postavil de Broglie trditev, da je vsakemu delcu, ki ima maso m in se giblje s hitrostjo v , pridruženo valovanje, katerega valovna dolžina je:

$$\lambda = \frac{h}{m v}$$

kjer pomeni:

h = Planckovo stalnico = $(6,624 \pm 0,002) \cdot 10^{-34}$ [J s],
 m = masa delca [kg],
 v = hitrost delca [m/s].

Na to trditev sta se oslanjala tudi Davidson in Germer, ko sta delala poskuse z elektroni. Pri teh poskusih sta bombardirala z elektroni tanke folije iz zlata. Pri tem sta dobila na zaslonu uklonske kolobarje, ki so posledica valovanja (sl. 2).

Če vstavimo v de Brogliev obrazec Planckovo stalnico h in podatek za maso m , dobimo že pri tretjini svetlobne hitrosti ($v = \frac{1}{3}c$), če pomeni v hitrost elektronov, c pa hitrost svetlobe, prirejeno valovno dolžino, ki je več desetstičkrat krajša kakor valovna dolžina svetlobe. Zato je mogoče z elektroni videti podrobnosti, ki so znatno manjše od onih pri svetlobnem mikroskopu. Potrebno je le, da znamo dati elektronom dovolj veliko hitrost in znamo zanje graditi leče.

2. Sproščanje elektronov

Električno prevodnost v kovinah omogočajo prosti elektroni. Zaradi tega jih imenujemo tudi prevodni elektroni. V povprečju vsebuje vsak atom v kovinski rešetki po en prosti ali prevodni elektron. Za sproščanje teh prostih elektronov iz kovine, ki omogočajo v obliki ozkega snopa opazovanje pod elektronskim mikroskopom, potrebujemo določeno energijo. Energijo uporabijo prosti elektroni v obliki izstopnega dela, ki je potrebno, da se sprostijo iz kovine. To energijo povzročimo lahko na različne načine.

a) S segrevanjem kovin — termično emisijo. S toplotnim valovanjem atomske rešetke posredujemo prostim elektronom toliko kinetične energije, da lahko premagajo izstopno delo in se sprostijo iz površine kovine.

b) Z močnim električnim poljem — poljsko emisijo. Pri tem načinu uporabljamo tako visoko električno poljsko jakost, da električno polje nekako potegne elektrone iz kovine.

c) S pomočjo bombardiranja — kovino bombardiramo z elementarnimi delci, bogatimi z energijo, n. pr. s svetlobnimi kvanti (foto emisija), z elektroni, ki imajo najmanjšo energijo okrog 100 eV (sekundarna emisija) ali pa s pospešenimi ioni.

Za presevalne ali transmissijske elektronske mikroskope, ki so ta čas tudi najbolj razširjeni, uporabljamo za sproščanje elektronov termično emisijo. Za to upo-

rabljamo posebno napravo, ki jo imenujemo elektronsko puško.

Elektronska puška opravlja dve nalogi. Proizvaja proste elektrone, t. j. sprošča jih iz kovine in jim daje veliko hitrost. Elektronska puška je sestavljena v glavnem iz treh elementov: volframove nitke K, ki predstavlja katodo, Wehneltovega valja W in anode A (sl. 3). Nekaj milimetrov dolgo žico iz volframa segrejemo z električnim tokom do temperature od 2500 do 3000 °C. Pri tem se sproščajo iz volframa elektroni. Te elektrone pospešimo na veliko hitrost tako, da nasproti žareči volframovi nitki — katodi — postavimo prevrtano kovinsko ploščo — anodo, ki ima napetost 40 do 100 kV nasproti katodi. S to napetostjo pospešimo elektrone na zelo velike hitrosti (n. pr. pri napetosti 50 kV doseže hitrost elektronov v vakuumu 140 000 km/s in s tem valovno dolžino njim pridruženega valovanja $\lambda = 0,05 \text{ \AA}$). Vročo katodo obdaja Wehneltov valj, katerega naloga je, da s primerno napetostjo, ki je na njem, koncentrira elektrone v ozek snop. Ta snop je usmerjen skozi odprtino v anodi na objekt.

3. Elektronske leče

Pri elektronskih lečah ustvarimo močno električno ali magnetno polje, ki je rotacijsko simetrično. Če vstopajo v tako lečo elektroni v smeri rotacijske osi, jim krivi električno ali magnetno polje pot, podobno kakor krivijo steklene leče svetlobne žarke. Po tem, kakšno je polje, razlikujemo v glavnem dve vrsti elektronskih leč:

- elektrostatične elektronske leče in
- magnetne elektronske leče.

a) Elektrostatične leče.

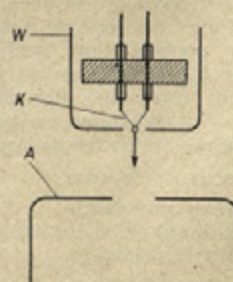
Elektrostatično elektronsko lečo sestavljajo v načelu tri okrogle kovinske plošče. Plošče so v sredini prevrtane in odmaknjene nekaj milimetrov druga od druge. Obe skrajni plošči imata enako napetost, srednja pa napetost več deset kV nasproti njima. Med srednjo in skrajnima ploščama nastane močno elektrostatično polje, ki deluje kot zbiralna elektronska leča. Žariščna razdalja take leče je odvisna od napetosti električnega polja in od oblike plošč ter jo je mogoče zvezno spreminjati.

b) Magnetne leče.

Tudi magnetno polje ima lastnost, da ukrivlja pot elektronom podobno kakor električno polje. Magnetno polje lahko ustvarjamo na dva načina. Z električnim tokom dobimo elektromagnetne elektronske leče ali pa s permanentnim magnetom — permanentno magnetne ali magnetostatične elektronske leče.

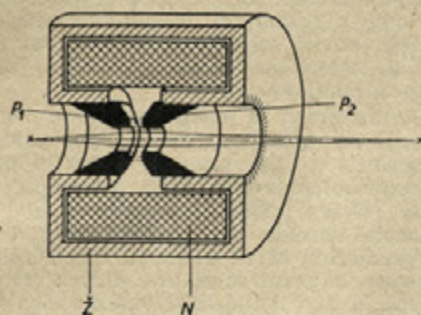
Pri gradnji modernih elektronskih mikroskopov uporabljamo zdaj pretežno elektromagnetne leče.

Elektromagnetna leča je v bistvu tuljava — svitek izolirane bakrene žice N — skozi katerega teče električni tok. Taka elektromagnetna leča ima lastnost, da ukrivi elektrone podobno kakor svetlobne zbiralne leče. Goriščna razdalja take leče je odvisna od jakosti



Slika 3

W — Wehneltov valj, K — katoda, A — anoda



Slika 4

N — električno navitje (tuljava), Z — železni oklep,
P₁, P₂ — polovi čevlji

elektromagnetnega polja. Zaradi tega v praksi gradijo elektromagnetne leče tako, da leže svitki bakrene žice v železnih oklepih Z. S tem so zvečali elektromagnetno polje in zmanjšali goriščno razdaljo, kar je v elektronski mikroskopiji zelo velikega pomena. Razen tega vtaknemo v notranjost svitka še posebno skrbno oblikovane dele iz specialnega jekla, ki jih imenujemo **polove čevlji** P₁ in P₂. Naloga polovih čevljev je, da koncentrirajo magnetno polje v neposredno bližino elektronskega snopa. Po tej poti dosežemo kratke goriščne razdalje (pod 0,5 cm). Tudi pri teh elektronskih lečah lahko zvezno spreminjamo goriščno razdaljo, in to v precej širokih mejah. S spreminjanjem goriščne razdalje lahko — kadar jih uporabljamo za objektivne leče — naravnavamo ostrino slike, kadar pa za projekтивne leče, pa povečavo slike.

Permanentno magnetno ali magnetostatično lečo dobimo tako, da uporabimo namesto tuljave močan permanentni magnet. Prednost takih leč je ta, da ne potrebujejo električnega toka. Mikroskopi s takimi lečami se šele razvijajo. Doslej so bile elektronske leče s permanentno magnetnim poljem v rabi samo pri elektronskih mikroskopih z manjšimi povečavami.

c) **Napake elektronskih leč.** Zakoni za izračunavanje elektronskih leč veljajo kakor pri elektrostatičnih tako tudi pri magnetnih lečah le za poti elektronov, ki so v neposredni bližini osi leče. Čim bolj pa so poti elektronov oddaljene od simetrične optične osi leč, tem bolj so izpostavljene napakam. Napake so podobne kakor pri navadnih svetlobnih lečah. Oglejmo si le nekaj najizrazitejših!

Sferična aberacija je napaka, katere posledica je, da elektroni, ki lete v lečo pod velikim kotom, močnejše spreminjajo svojo smer kakor pa elektroni, ki lete v lečo pod manjšim kotom. Posledica sferične aberacije je, da slika točke ni točka, ampak okrogla ploskvica. Če hočemo dobiti ostre slike, moramo upoštevati, da sferična aberacija elektronskih leč s kotom tako močno narašča, da je dopustni kot, pod katerim letijo elektroni v lečo, manjši od 0,1°. Elektronski snopi so zato v nasprotju z razmerami pri svetlobnem mikroskopu zelo ozki.

Pri **kromatični aberaciji** počasnejši elektroni v elektronskih lečah bolj spreminjajo svojo smer kakor pa hitrejši elektroni. Posledica tega je, da se taka dva elektrona — počasnejši in hitrejši — na drugi strani leče — ne znajeta v isti točki kakor bi se morala teoretično. Tako dobimo neostro sliko. Zato morajo naprave, ki proizvajajo visoko napetost za pospeševanje elektronov v elektronski puški, proizvajati čim bolj konstantno napetost. Če hočemo dobiti ostro sliko, se sme pospeševalna napetost n. pr. pri 50 kV spremeniti le za nekaj voltov. Ker pomenijo različne hitrosti elektronov različne njim prirejene valovne dolžine — te bi pa v svetlobni optiki pomenile različne barve — je upravi-

čen izraz za to vrsto napake tudi v elektronski optiki barvna napaka ali kromatična aberacija.

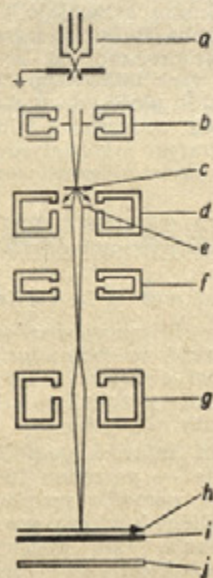
Astigmatizem obstaja v elektronski optiki v tem, da slika točke ni točka, ker ne znamo delati elektronskih leč, ki bi bile povsem osno simetrične. Vzrok temu je deloma nenatančnost pri izdelavi, deloma pa umazanija, ki se sčasoma nabere v notranjosti leč in se pod bombardiranjem elektronov električno nabije, s tem pa moti delovanje leč.

Medtem ko sferične in kromatične aberacije ta čas ne znamo povsem odpraviti, kompenziramo astigmatizem z majhnimi dodatnimi lečami, ki korigirajo napake objektiv; imenujemo jih **stigmatorje**.

Tako sferična kakor tudi kromatična aberacija in astigmatizem postanejo zelo škodljivi, če elektronski snop ne gre natančno skozi optično os leč. To velja še zlasti za objektiv. Zaradi tega imajo vsi elektronski mikroskopi naprave, s pomočjo katerih lahko nagibamo elektronsko puško tako, da je elektronski snop v optični osi objektiv. Tudi ostale leče je treba po navadi centrirati podobno.

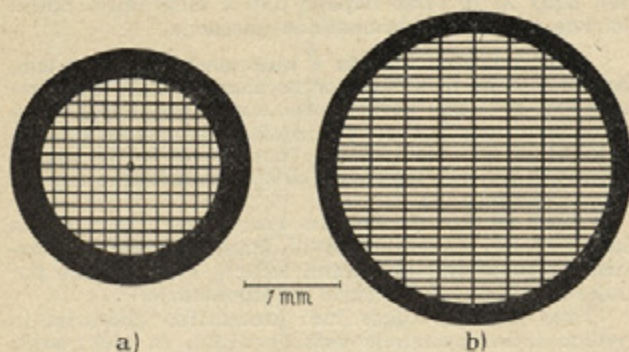
4. Shematični prikaz presevnega elektronskega mikroskopa

Na vrhu vsakega presevnega elektronskega mikroskopa je elektronska puška (sl. 5). (Vsi presevni ali transmisijski elektronski mikroskopi, ki imajo elektrostatične, elektromagnetne ali permanentno magnetne leče, uporabljajo za proizvodnjo prostih elektronov elektronske puške.) Elektroni lete v rahlo divergentnem snopu navzdol. Pod elektronsko puško leži prva elektronska leča — **kondenzor** — ki koncentrira elektrone tako, da močno osvetljuje objekt. Tik pod objektom je prva povečevalna elektronska leča — **objektiv**. Objektiv poveča približno 40- do 100-krat. V notranjosti objektivna leži majhna zaslonka, ki ima premer odprtine $d \approx 50 \mu$. Naloga zaslonke je, da prestreže tiste elektrone, ki jim je objekt preveč spremenil smer. Ker zaslonka s tem poveča kontrast slike, jo imenujemo tudi **kontrastna zaslonka**. V primerni razdalji od objektivna leži druga povečevalna elektronska leča — **projektiv**. Projektiv poveča pač glede na svojo goriščno razdaljo in na razdaljo do dna mikroskopa od 50- do



Slika 5

a — elektronska puška, b — kondenzor, c — objekt, d — objektivna leča, e — kontrastna zaslonka ($d = 50 \mu$), f — vmesna leča, g — projektivna leča, h — končna slika, i — fluorescenčni zaslon, j — fotografska kamera



Sl. 6. Dva primerka objektivnih nosivcev, ki se največ uporabljata

300-krat. Celotna povečava elektronskega mikroskopa je zmnožek povečav objektiv in projektiva.

Elektroni, ki so preleteli vse povečevalne leče, padejo slednjic na fluorescenčni zaslon, ki je premazan s snovjo, katere atomi oddajajo vidno svetlobo, če jih zadenejo elektroni. Sliko, ki je po tej poti postala vidna človeškemu očesu, sedaj lahko izostrimo. Pod ali nad fluorescenčnim zaslonom je fotografska kamera s primernim številom plošč ali filmom. Elektroni delujejo na fotografski material direktno (enako kakor rentgenski žarki).

V novejšem času gradijo elektronske mikroskope, ki imajo med objektivom in projektivom še eno vmesno lečo. S to lečo je mogoče povečavo elektronskega mikroskopa kot celote povečati v zelo širokem obsegu, n. pr. od 1000... 30 000-krat. Nekateri elektronski mikroskopi imajo celo dve vmesni leči. To so moderni vrhunski elektronski mikroskopi, ki dosegajo direktno povečavo od 1 000... 150 000-krat in več.

Za neovirano gibanje elektronov je neogibno potrebno, da je v notranjosti mikroskopa vakuum. Računi kažejo, da je za to potreben vakuum približno 10^{-4} mm Hg. Za slab vakuum je še posebno občutljiva žareča volframova nitka — katoda, ki v tem primeru preneglo zgori. Vakuum ustvarjajo posebne difuzijske črpavke in ga je treba stalno nadzirati. Da to zagotovimo in obenem preprečimo, da ne vdre zrak skozi špranje, ki jih ima vsak mikroskop (tudi pri izmenjavi objekta in fotografskih plošč vdre nekaj zraka v mikroskop, nadalje žareča volframova nitka, stene mikroskopa in tudi fotografski material oddajajo pline ipd.), morajo motorne črpavke delovati stalno.

B. PREPARATIVNA TEHNIKA PRI ELEKTRONSKI MIKROSKOPIJI

1. Objektivni nosilci in nosilne folije

Preparate, ki jih opazujemo pod elektronskim mikroskopom, je treba primerno pripraviti. Preparativna tehnika se pri elektronski mikroskopiji znatno razlikuje od preparativne tehnike, kakršne smo vajeni pri navadnih optičnih mikroskopih.

Z elektronskim mikroskopom lahko opazujemo predmete — objekte — posredno in neposredno. Posredno opazujemo s pomočjo površinskih odtisov ali replik predvsem različne kovinske površine, neposredno pa organske molekule, fino dispergirane materiale (prah, dim), nadalje bakterije in viruse, tanke kovinske filme, majhne kristale ipd. Materiali, ki jih opazujemo pod elektronskim mikroskopom, morajo biti tako tanki, da prepuščajo večji del elektronov. Propustnost je odvisna od pospeševalne hitrosti in debeline preparata (veča se s pospeševalno hitrostjo, manjša pa z debelino preparata). Zaradi tega je smiselno pregledovati z

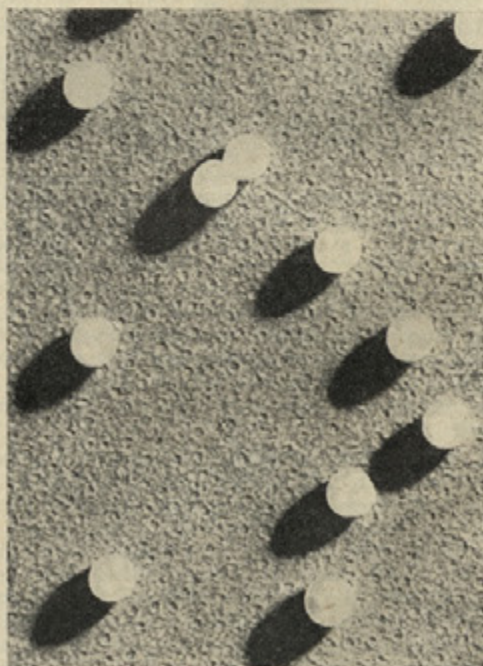
elektronskim mikroskopom le take objekte, katerih ni mogoče videti z navadnim svetlobnim mikroskopom. V tehnologiji kovin velja to še posebej za raziskavo strukture, za katero je ločilna sposobnost navadnega mikroskopa premajhna.

Ker so preparati, ki jih opazujemo z elektronskim mikroskopom zelo tanki in drobni, jih polagamo na posebne nosilce, ki jim pravimo objektivni nosilci. V splošnem uporabljamo dve vrsti objektivnih nosilcev. Prva vrsta takega objektivnega nosilca je približno 0,1 mm debela okrogla ploščica, ki ima eno ali več luknjic s premerom 25 do 100 μ (sl. 6b). Ploščice so iz žlahtne kovine, navadno iz platine. Druga vrsta objektivnega nosilca je fino tkana kovinska mrežica (približno 200 zank na mm²) in je navadno iz niklja ali brona (sl. 6a). Objektivne nosilce druge vrste (kovinske mrežice) uporabljamo čedalje pogosteje, ker so za rutinsko delo primernejši kakor platinske ploščice.

Vseh preparatov pa kratko malo ni mogoče položiti na objektivni nosilce, temveč potrebujemo še posebne nosilne folije, ki prekrijejo objektivni nosilec. Taka nosilna folija mora predvsem kazati čimmanj lastne strukture, mora biti amorfná in obstojna pri bombardiranju z elektroni. Poznamo organske in anorganske nosilne folije. Med organskimi so se dobro obnesle folije iz formvara in ogljikove nosilne folije izmed anorganskih folij, ki so čedalje bolj v rabi posebno v zadnjem času. Ogljikove nosilne folije dobimo z napanjem spektralno čistega ogljika. Pri njih ne nahajamo niti pri največjih povečavah nikake lastne strukture. Razen naštetih poznamo še nosilne folije iz raznih kovinskih oksidov. Tu so važni predvsem filmi iz silicijevega in aluminijevega oksida. Slednji so še zlasti priporočljivi, kadar opazujemo preparate pod posebnimi okoliščinami — n. pr. pri višjih temperaturah. Dobimo jih prav tako z napanjem na objektivne nosilce.

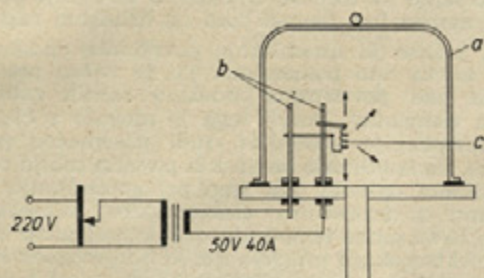
2. Senčenje

Ko smo tako pripravili nosilec z nosilno folijo, položimo nanj objekt, ki ga opazujemo v elektronskem mikroskopu. Na fluorescenčnem zaslonu bomo opazili



Slika 7

(Naravna velikost kroglice znaša $\approx 2540 \text{ \AA}$)



Slika 8

a — stekleni zvon, b — elektrodi iz bakra, c — žica iz volframa

sliko. Če pa na ta preparat v vakuumski napravi posevno naparimo n. pr. paladij, bo postala slika precej drugačna. Zaradi poševnega napanjanja se na sliki pojavijo sence. Tako dobimo trodimenzionalno sliko, ki je plastična in mnogo bolj kontrastna (sl. 7). Iz dolžine senc in iz znanega kota pri napanjanju je mogoče izračunati tudi višino delcev. Tehnika senčenja se je uveljavila kot ena najbolj uporabljenih metod pri pripravi preparatov.

Za senčenje potrebujemo posebno napravo za vakuumsko napanjanje (sl. 8). Pod steklenim zvonom je med bakrenimi elektrodami razpeta volframska žica s premerom približno 1 mm, na katero navijemo tanko žico, n. pr. iz zlata s premerom 0,1–0,4 mm. S tokom primerne jakosti (≈ 40 A) segrevamo volframovo žico, pri čemer se stali žica iz zlata. Z nadaljnjim segrevanjem se razprše kapljice iz zlata na vse strani. Na foliji s preparatom dobimo tako tanko plast napanjenega zlata. Da preprečimo trčenje atomov, n. pr. zlata z molekulami ostalih plinov, ki sestavljajo zrak, napanjamo v vakuumu. Zato uporabljamo vakuum do 10^{-4} mm Hg.

3. Površinski odtisi — replike

Za raziskavo površin in strukture uporabljamo pogosto indirektno metode, kar prihaja še posebno v poštev pri kovinah. Normalni transmisijski tip elektronskega mikroskopa ni primeren za preiskave vzorcev, ki niso prepustni za elektrone. Površine takih vzorcev je mogoče pregledati posredno z odtisi ali replikami. Replike so odtisi reliefov površin. Narejene so iz materialov, ki jih lahko nanašamo na površine v tako tankih plasteh, da prepuščajo elektrone. Povrh tega morajo imeti materiali, ki jih uporabljamo za replike, še naslednje lastnosti:

- da imajo čim finejšo lastno strukturo,
- da ne smejo kemijsko reagirati s preiskovano površino,
- da imajo take mehanske lastnosti, ob katerih je mogoče repliko enostavno odstraniti s površine.

Glede na original razlikujemo negativne in pozitivne replike.

Negativna ali enostopenjska replika je taka, ki ima obrnjen relief glede na original (sl. 9). Pripravimo jo n. pr. tako, da nalijemo na površino, ki jo preiskujemo, tekočo plastično snov, nato pa jo sušimo. Za take replike uporabljamo najpogosteje 0,2...0,5% raztopino formvara v kloroformu ali dioksanu ali pa raztopino nitroceluloze v amilacetatu. Razen teh pa prihaja za negativne replike v poštev tudi vsaka snov, ki se da napaniti na objekt v zelo tanki plasti in nima preveč izrazite lastne strukture. Pri slednjih imajo še posebno pomembno vlogo tanki filmi iz ogljika. Ti ogljeni filmi so tolikanj brez lastne strukture, da je z njimi mogoče izrabljati tudi ločilne sposobnosti vrhunskih elektronskih mikroskopov. Pripravimo jih tako, da spustimo v vakuumu skozi dve palici iz spektralno čistega ogljika močan električni tok (sl. 10). Pri tem postane lokalno

gretje ob konicah tako močno, da izpareva ogljik (sl. 10). Poleg električnih priključkov je na palici pritrjena tudi vzmet, ki skrbi, da ostaneta konici v primernem stiku. Debelina ogljenega filma uporabne replike znaša od 50...100 Å, debelina plastične replike pa okrog 200...500 Å.

Pri pozitivnih ali dvostopenjskih replikah pa napravimo najprej vmesno — negativno — repliko, ki rabi kot matrica. Končna replika je pozitivna glede na relief površine, ki jo študiramo (sl. 11).

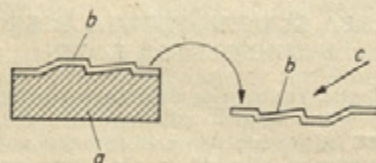
Da dosežemo večjo ostrino replike, jo tudi senčimo, kar velja zlasti še za plastične replike.

4. Ostale metode za pripravo objektov

Tu naj omenimo predvsem metode za pripravljavanje preparatov iz masivnih kovinskih objektov. Z uporabo posebnih diamantnih rezil je mogoče pripraviti dovolj tanke reze, da jih lahko študiramo v presevnem elektronskem mikroskopu. To velja zlasti še za mehkejšje kovine. Drug način tanjšanja preparatov (kovinskih) je tanjšanje z elektrolizo. Kovinsko ploščico v velikosti objektnega nosilca elektronično jedkamo tako dolgo, da se na njej že pojavijo luknjice. Ob robovih teh luknjic je kovinska plast tako tanka, da jo lahko opazujemo pod presevnim mikroskopom.

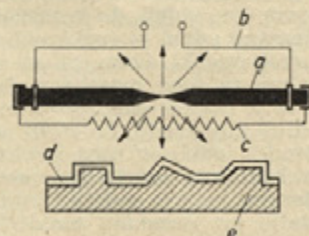
Pri nekaterih kovinah je mogoče posneti njihovo oksidno kožico in jo direktno opazovati pod elektronskim mikroskopom. Ta način je bil preizkušen najprej na aluminiju in niklju. Zdaj si pomagamo pri takih kovinah s tako imenovano anodno oksidacijo. Za pripravo drobnih delcev, izolirano ležečih na gladki površini (virusov, makromolekul ipd.), uporabljamo psevdoreplike ipd.

Poglavje o pripravi objektov za študij pod elektronskim mikroskopom je zelo obširno. Navedli smo le nekaj najbolj navadnih priprav, ki so večidel v rabi pri študiranju odnosov v strukturi kovin in njihovih



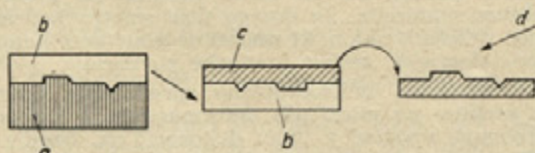
Slika 9

a — objekt, b — replika, c — senčenje



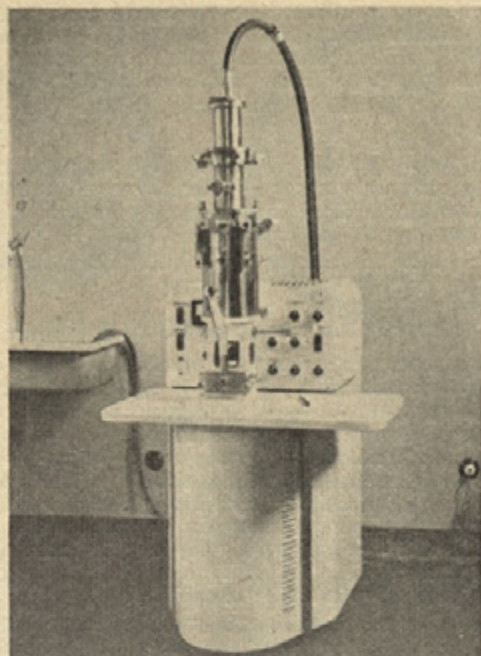
Slika 10

a — elektrodi iz ogljika, b — priključek električnega toka, c — vzmet, d — ogljena plast-replika, e — objekt



Slika 11

a — objekt, b — matrica, c — končna replika, d — senčenje



Sl. 12. Elektronski mikroskop LEM-2

zlitin. Vsaka veja znanosti pa najsi bo medicina, biologija, tehnologija vlaknin, metalurgija ali katera koli druga, zahteva zase specifično pripravo. Namen našega sestavka je le, da na kratko prikažemo elektronsko mikroskopijo kot eno izmed novih metod za raziskovanje na najrazličnejših področjih znanosti in tehnike.

C. UPORABA ELEKTRONSKEGA MIKROSKOPA V TEHNOLOGIJI KOVIN

Tehnologija kovin sega deloma v kemijsko, deloma v mehansko tehnologijo in združuje vse postopke v zvezi s kovinami od pridobivanja in preizkušanja do obdelave brez uporabe sile ali z njo. Sem spadata tudi površinska zaščita kovin in delno tudi varjenje. Vse to ogromno področje odpira dovolj možnosti za raziskovanje, kjer že zdaj težko pogrešamo elektronski mikroskop. Če pri pripravi objektov za gledanje pod elektronskim mikroskopom smo videli, da je mogoče raziskovati kovine s površinskimi odtisi — replikami. Dolgo je prevladoval med strokovnjaki dvom, ali so replike dovolj verne in uporabne za take preiskave. Šele ko je bil dvom razpršen, se je razširil elektronski mikroskop tudi na področju tehnologije kovin. Še zlasti se je uveljavil na področjih študija odnosov med strukturo kovin in zlitin, njihovih lastnosti, površinskih efektov v zvezi s plastično deformacijo, pri obdelavi njihovih površin in obrabe, nadalje pri raziskavi tankih plasti, ki jih uporabljamo za površinsko zaščito kovin, pri preiskavah v zvezi s korozijo ipd.

Pri študiju odnosov med strukturo kovin in njihovih zlitin je zdaj še vedno problem, kako pripraviti površino kovine, da bo verno prikazovala globinsko strukturo materiala. Za doseg tega smotra je v veliko pomoč refleksi uklon, ki posreduje podatke o kemijski in kristalografski sestavi kovinske površine.

Elektronsko mikroskopično spremljanje površinskih efektov po plastičnih deformacijah je omogočilo podrobnejši vpogled v vpliv dislokacij na drsenje. Na posebej pripravljenih kovinskih filmih je mogoče študirati gibanja dislokacij tako, da spreminjamo obremenitev kovinskih filmov. Znano je, da dislokacije ne

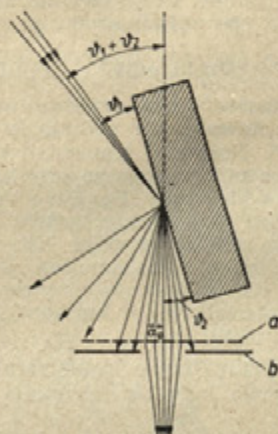
vplivajo samo na trdnost, žilavost in utrujanje kristaliziranih materialov, temveč tudi na kristalno rast.

Za prakso je spremljanje površinske obdelave in obrabe kovin zelo pomembno. Tu je važna predvsem kontrola nad površinsko obdelavo raznih zahtevnih strojnih elementov. Povrh tega je mogoče z elektronsko mikroskopijo spremljati tudi posamezne polirne postopke. Za študiranje kovinskih površin rabijo replike — predvsem ogljene. Žal smo pri spremljanju takih postopkov s presevnim elektronskim mikroskopom omejeni le na sobno temperaturo. Šele z uporabo emisijskega elektronskega mikroskopa je bilo mogoče spremljati posamezne procese neposredno pri visokih temperaturah. Dandanes lahko proučujemo prekristalizacijo in druge fazne spremembe, ki so odvisne od temperature, že pri temperaturi do 1200 °C.

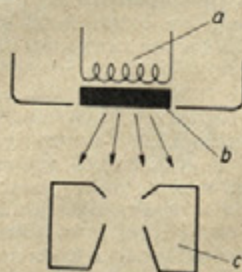
V zadnjem času so bile z elektronskim mikroskopom posnete celo mrežne ravnine v kristalih zlitin bakra (Cu) in zlitin platine (Pt).

Prav tako — ali še bolj kakor na področju tehnologije kovin in nekovinskih materialov — se je elektronski mikroskop razširil tudi na druga področja naravoslovja. V kemiji n. pr. je cela vrsta problemov, pri katerih so velikosti delcev odločilnega pomena. Od njih je odvisna vrsta fizikalnih in kemijskih lastnosti. Veliko vlogo imajo velikosti delcev pri polnilih v gumarski industriji. Od njih so odvisne mehanske in električne lastnosti kemičnih izdelkov.

Tudi v medicini in biologiji si zdaj že težko zamisljamo vidnejši napredek brez elektronskega mikroskopa. Pred kratkim smo lahko brali v našem dnevnem tisku, da je z elektronskim mikroskopom uspelo posneti prve posnetke živih bakterij. To je nedvomno ogromen uspeh elektronske mikroskopije.

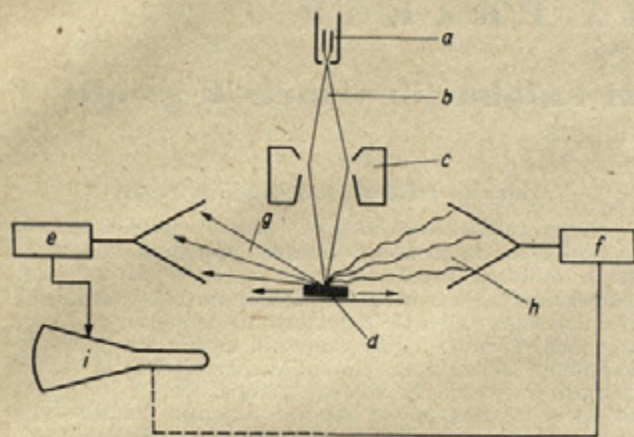


Sl. 13. Pot elektronov pri odbojnem mikroskopu



Slika 14

a — peč, b — preparat, c — objektiv



Slika 15

a — elektronska puška, b — elektronski snop, c — elektronska leča, d — ploščica, e — ojačevalnik, f — števec, g — elektroni, h — rentgenski žarki, i — katodna cev

D. VRSTE ELEKTRONSKIH MIKROSKOPOV

Vzporedno z razvojem elektronske mikroskopije so nastale tudi najrazličnejše vrste elektronskih mikroskopov. Že med razlago o osnovah elektronske mikroskopije kakor tudi pri preparativni tehniki smo slišali o transmisijskem ter emisijskem elektronskem mikroskopu. Ker omenjena elektronska mikroskopa nista edina, si na kratko ogledimo še nekaj vrst ta čas najbolj razširjenih elektronskih mikroskopov.

1. Presevni ali transmisijski elektronski mikroskop

Najbolj razširjen in najbolj znan je vsekakor presevni ali transmisijski elektronski mikroskop, ki je tudi najbolj podoben klasičnemu svetlobnemu mikroskopu. Pri njem gredo elektroni skozi preparat podobno kakor svetlobni žarki. Zaradi tega mora biti preparat — objekt tudi dovolj tenak. Najboljši elektronski mikroskopi te vrste dosegajo direktne povečave več ko stotisočkrat. Z njimi lahko razlikujemo dve točki, ki sta medsebojno oddaljeni $5 \dots 10 \text{ \AA}$. Vsi elektronski mikroskopi, kar jih imamo v Jugoslaviji, spadajo v to vrsto. Zaradi tega je bila prirejena večina razlage prav za presevni elektronski mikroskop (glej sl. 5). Sl. 12 prikazuje zunanji pogled na presevni elektronski mikroskop domače konstrukcije LEM 2.

2. Odbojni ali refleksni elektronski mikroskop

Slaba stran presevnega mikroskopa je vsekakor ta, da lahko opazujemo z njim samo objekte, ki so izredno tanki (od $50 \dots 1000 \text{ \AA}$), ne moremo pa neposredno opazovati površine večjih, debelejših objektov. Slišali smo že, da je to mogoče le s posrednimi metodami, t. j. s površinskimi odtisi. Da bi bilo mogoče opazovanje tudi neposredno, gradijo dandanes take elektronske mikroskope, pri katerih opazujemo površino kovine z odbojem, od česar izvira tudi ime: odbojni ali refleksni elektronski mikroskop (sl. 13).

Tudi pri odbojnem ali refleksnem elektronskem mikroskopu proizvajamo in pospešujemo elektrone v elektronski puški. Snop elektronov spustimo na objekt pod zelo majhnim kotom θ_1 . Tako usmerjeni elektroni se na objektu odbijejo na vse strani. Večina elektronov se zopet odbije z majhnim odbojnim kotom θ_2 , ki ni neogibno enak vpadnemu kotu θ_1 . Zaradi tega lahko uporabljamo za povečanje poljubno majhen kot θ_2 (navadno znaša θ_2 od $0 \dots 10^\circ$). Sliko na zaslonu oziroma na fotografski plošči dobimo popolnoma analogno kakor pri presevnem elektronskem mikroskopu. Ločilne spo-

sobnosti odbojnih mikroskopov so manjše in znašajo samo $200 \dots 500 \text{ \AA}$.

Zadnji čas ima večina presevnih elektronskih mikroskopov možnost, da jih z nekaj gibi preuredimo tako, da lahko opazujemo površine objektov s pomočjo elektronskega odboja. To dosežemo najbolj preprosto, če obrnemo izvir elektronov in kondenzor od vertikalne osi za kot $\theta = \theta_1 + \theta_2$ (sl. 13).

3. Emisijski elektronski mikroskop

Medtem ko je za opisane vrste elektronskih mikroskopov hitre elektrone proizvajala in pospeševala elektronska puška, je mogoče tudi kovino samo, ki jo študiramo, toliko segreti, da oddaja elektrone (sl. 14). Da jih oddaja še intenzivneje, naparimo nanjo snov, ki ima lastnost, da jih že pri nizkih temperaturah oddaja zadostno množino. To vrsto mikroskopa imenujemo emisijski elektronski mikroskop. Mikroskopi te vrste so postali v metalurgiji in strojništvu še zlasti priljubljeni, saj je vprašanje, kako se obnašajo kovine pri visokih temperaturah (plinske turbine, rakete, zvočni in toplotni zid pri letalih ipd.), čedalje zanimivejše.

4. Elektronska sonda

V metalurgiji so pozorno sprejeli elektronski mikroskop, ki mu pravimo **elektronska sonda**. Primerna elektronska leča (ali več leč) koncentrira snop elektronov na kovinsko ploščico v zelo ozkem snopu (premer snopa je 1μ ali še manj). Pri tem elektroni, ki zadevajo na ploščico, izbijajo iz nje elektrone, ki jih imenujemo drugotni ali sekundarni elektroni (sl. 15). Razen tega pa nastane na ploščici, kjer se elektroni ustavijo (kakor povsod, kjer se elektroni ustavljajo), rentgensko sevanje. Curek sekundarnih elektronov primerno ojačimo in z njimi krmilimo svetlobo žarka v poleg stoječi katodni cevi. Približno enako napravimo z rentgenskimi žarki. Če sedaj premikamo objekt ali elektronski mikroskop po ploščici, »otipuje« njeno celotno površino. Ker je površina ploščice sestavljena iz različnih snovi, ki oddajajo sekundarne elektrone in rentgenske žarke različno, je tudi lisa na zaslonu katodne cevi svetlejša in temnejša ter tako riše površino ploščice. S pomočjo rentgenskih žarkov in posebnih instrumentov je mogoče natančno ugotavljati prvine, ki sestavljajo površino ploščice.

V biologiji uporabljajo **rentgenski senčni mikroskop**, ki temelji podobno kakor elektronska sonda na prav tako produciranih elektronih in rentgenskih žarkih. Nadalje poznamo še **poljski elektronski mikroskop**, ki je po svoji izvedbi eden najpreprostejših.

Na koncu lahko na kratko zaključimo, da je elektronski mikroskop presegel vsa pričakovanja in se resnično uveljavil na raznih področjih, kjer si dandanes že ne moremo zamišljati vidnejšega napredka brez elektronskega mikroskopa.

Literatura:

- Elektronska mikroskopija, Ljubljana 1959.
 Strojnik: Fizikalne osnove elektronske mikroskopije, EV 1955.
 Reimer: Elektronenmikroskopische Untersuchungs- und Präparationsmethoden, Berlin 1959.
 Hall, Introduction to Electron Microscopy, New York 1953.
 Zworykin: Electron Optics and the Electron Microscope, New York 1953.
 Cosslett: Practical Electron Microscopy, London 1951.
 Delong-Drahoš: Praktická elektronova mikroskopie, Praha 1958.
 Wycoff: Electron Microscopy, New York 1949.
 Kay: Techniques for Electron Microscopy, London 1961.

Avtorjev naslov: ing. Polde Leskovar, Fakulteta za strojništvo v Ljubljani.