Реферат

на тему: Електронна мікроскопія

План

1. Зародження електронної оптики

2. Роздільна здатність

3. Будова та принцип дії електронного мікроскопа

4. Застосування електронного мікроскопа в біології

Висновок

Список використаної літератури

1. Зародження електронної оптики

Зародження електронної оптики пов'язане із створенням в кінці 19 століття електронно-променевої трубки. У першій осцилографічній електронно-променевій трубці (німецький фізик К.Ф. Браун, 1897 р.) електронний пучок відхилявся магнітним полем. Відхилення заряджених частинок електростатичним полем разом з магнітним використовував англійський фізик Дж. Дж. Томсон в дослідах по визначенню відношення заряду електрона до його маси, пропускаючи пучок між пластинами плоского конденсатора, поміщеного усередині електронно-променевої трубки. У 1899 році німецький фізик І.Э. Віхерт застосував для фокусування електронного пучка в електронно-променевій трубці магнітне поле котушки із струмом. Проте лише в 1926 році німецький учений X. Буш теоретично розглянув рух заряджених частинок в магнітному полі такої котушки і показав, що вона придатна для отримання правильних електронно-оптичних зображень і, отже, є електронною лінзою. Подальша розробка електронних лінз (магнітних і електростатичних) відкрила шлях до створення електронного мікроскопа, електронно-оптичного перетворювача і інших приладів, в яких формуються електронно-оптичне зображення об'єктів, що випускають електрони, або тим або іншим чином впливають на електронні пучки. Конструювання спеціальної електронно-променевої трубки для телевізійної і радіолокаційної апаратури, для запису, зберігання і відтворення інформації і т.д. привело до подальшого розвитку розділів електронної оптики, пов'язаних з управлінням пучками заряджених частинок. Значний вплив на розвиток електронної оптики зробила розробка апаратури для аналізу потоків електронів (бета-спектрометрів і інших аналітичних приладів).

Електронна мікроскопія - сукупність методів дослідження за допомогою електронних мікроскопів мікроструктур тіл (аж до атомно-молекулярного рівня), їх локального складу і локалізованих на поверхнях або в мікрооб'ємах тіл електричних і магнітних полів («мікрополів»). Електронна мікроскопія включає також удосконалення і розробку нових електронних мікроскопів і інших корпускулярних мікроскопів (напр., протонного мікроскопа) і приставок до них; розробку методик підготовки зразків, досліджуваних в електронних мікроскопах; вивчення механізмів формування електронно-оптичних зображень; розробку способів аналізу одержуваної інформації.

Об'єкти дослідження в електронній мікроскопії - звичайно тверді тіла. У просвічуючих електронних мікроскопах електрони з енергіями від 1 кеВ до 5 МеВ проходять крізь об'єкт, тому вивчаються зразки у вигляді тонких плівок, фольги, зрізів і т.д. товщиною від 1 нм (від 10 Ǻ до 105 Ǻ). Мікрокристали, порошки, аерозолі і т.д. можна вивчати, нанісши їх заздалегідь на підкладку: тонку плівку для дослідження в просвічуючих електронних мікроскопах, або масивну підкладку для дослідження в растрових електронних мікроскопах. Поверхневу і приповерхневу структуру масивних тіл товщиною істотно більше 1 мкм досліджують за допомогою растрових електронних мікроскопів, відбивних, дзеркальних електронних мікроскопів, іонних проекторів і електронних проекторів. Поверхнева геометрична структура масивних тіл вивчається також і методом реплік: з поверхні такого тіла знімається відбиток в вигляді тонкої плівки вуглецю, колодія і т.д., що повторює рельєф поверхні і розглядається в електронних мікроскопах, що просвічують. Звичайно заздалегідь на репліку у вакуумі напилюється під ковзаючим (малим до поверхні) кутом шар сильно розсіюючого електрони важкого металу (наприклад, Pt), що відтіняє виступи і западини геометричного рельєфу - метод декорування. Цей метод дозволяє досліджувати не тільки геометричні. структури поверхонь, але і мікрополя, обумовлені дислокаціями, скупченнями точкових дефектів, ступенями зростання кристалічних граней, доменною структурою і т.д. В цьому випадку на поверхню зразка спочатку напилюється дуже тонкий шар декоруючих частинок (атоми Au, Pt, молекули напівпровідників або діелектриків), що осідають на ділянках зосередження мікрополів, а потім знімається репліка з включеннями декоруючих частинок.

За допомогою газових мікрокамер - приставок до просвічуючих електронних мікроскопів, або растрових електронних мікроскопів - можна вивчати рідкі і газоподібні об'єкти, нестійкі до дії високого вакууму, в т.ч. вологі біологічні препарати. Радіаційна дія опромінюючого електронного пучка досить велика, тому при дослідженні біологічних, напівпровідникових, полімерних і т.д. об'єктів необхідно ретельно вибирати режим роботи електронного мікроскопа, що забезпечує мінімальну дозу опромінювання.

Разом з дослідженням статичних, не змінних в часі об'єктів електронна мікроскопія дає можливість вивчати різні процеси в динаміці їх розвитку: зростання плівок, деформацію кристалів під дією змінного навантаження, зміну структури під впливом електронного або іонного опромінювання і т.д.

Завдяки малій інерційності електронів можна досліджувати періодичні в часі процеси, наприклад перемагнічування тонких магнітних плівок, зміна поляризації сегнетоелектриків, розповсюдження ультразвукових хвиль і т.д. Ці дослідження проводять методами стробоскопічної електронної мікроскопії: зразок «освітлюється» електронним пучком не безперервно, а імпульсами, синхронно з подачею імпульсної напруги на зразок, що забезпечує фіксацію на екрані приладу певної фази процесу точно так, як і це відбувається в світлооптичних стробоскопічних приладах. Гранична тимчасова роздільна здатність при цьому може у принципі складати близько 10-15 с для просвічуючих електронних мікроскопів.

Аморфні і квазіаморфні тіла, розміри частинок яких менше роздільної в електронних мікроскопах відстані, розсіюють електрони дифузно. Для їх дослідження використовуються прості методи амплітудної електронної мікроскопії. Наприклад, в електронних мікроскопах, що просвічують, контраст зображення, тобто перепад яскравості зображення сусідніх ділянок об'єкту, в першому наближенні пропорційний перепаду товщини цих ділянок. Для розрахунку контрасту зображень кристалічних тіл і вирішення зворотної задачі - розрахунку структури об'єкту по спостережуваному зображенню - притягуються методи фазової електронної мікроскопії: розв'язується завдання про дифракцію електронів на кристалічній решітці. При цьому додатково враховуються непружні взаємодії електронів з об'єктом: розсіювання на плазмонах, фононах і т.д.

У електронних мікроскопах, що просвічують, і растрових електронних мікроскопах високої роздільної здатності, одержують зображення окремих| молекул або атомів важких елементів; користуючись методами фазової електронної мікроскопії, відновлюють по зображеннях тривимірну структуру кристалів і біологічних макромолекул. Для вирішення подібних завдань застосовують, зокрема, методи голографії, а розрахунки проводять на ЕОМ.

Різновид фазової електронної мікроскопії - інтерференційна електронна мікроскопія, аналогічна оптичній інтерферометрії: електронний пучок розщеплюється за допомогою електронних призм, і в одному з плечей інтерферометра встановлюється зразок, що змінює фазу електронної хвилі, що проходить крізь нього. Цим методом можна виміряти, напруженість або потенціал зразка.

З допомогою лоренцової електронної мікроскопії, в якій вивчають явища, обумовлені силою Лоренца, досліджують внутрішні магнітні і електричні поля або зовнішні поля розсіювання, наприклад поля магнітних доменів в тонких плівках, сегнетоелектричних доменів, поля головок для магнітного запису інформації і т.д.

Склад об'єктів досліджується методами мікродифракції, тобто електронографії локальних ділянок об'єкту; методами рентгенівського і катодолюмінесцентного локального спектрального аналізу; реєструється рентгенівське випромінювання на характеристичних частотах або катодолюмінесценція, що виникають при бомбардуванні зразка сфокусованим пучком електронів (діаметр електронного «зонда» менше 1 мкм).

Крім того, вивчаються енергетичні спектри вторинних електронів, вибитих первинним електронним пучком з поверхні або з об'єму зразка.

Інтенсивно розробляються методи кількісної електронної мікроскопії - точного вимірювання різних параметрів зразка або досліджуваного процесу, наприклад, вимірювання локальних електричних потенціалів, магнітних полів, мікрогеометрії поверхневого рельєфу і т.д. Електронні мікроскопи використовуються і в технологічних цілях (наприклад, для виготовлення мікросхем методом електронолітографії|).

. Роздільна здатність

Роздільна здатність оптичних приладів, характеризує здатність цих приладів давати роздільне зображення двох близьких одна до одної точок об'єкта. Найменша лінійна (або кутова) відстань між двома точками, починаючи з якої їх зображення зливаються і перестають бути різними, називається лінійною (або кутовою) межею роздільності. Зворотна йому величина служить кількісною мірою роздільної здатності оптичних приладів. Ідеальне зображення точки, як елемента предмету, може бути одержано від хвильової сферичної поверхні. Завдяки дифракції світла навіть за відсутності аберації і недоліків виготовлення оптична система зображає точку в монохроматичному світлі у вигляді світлої плями, оточеної поперемінно темними і світлими кільцями. Користуючись теорією дифракції, можна обчислити найменшу відстань, що розділяється оптичною системою, якщо відомо, при яких розподілах освітленості приймач (око, фотошар) сприймає зображення роздільно. Відповідно до умови, введеної англійським ученим Дж. У. Релеєм (1879 р.), зображення двох точок можна бачити роздільно, якщо центр дифракційної плями кожного з них перетинається з краєм першого темного кільця іншого (рис. 1).

Розподіл освітленості Е в зображенні двох точкових джерел світла, розташованих так, що кутова відстань між максимумами освітленості Dj рівна кутовій величині радіусу центральної дифракційної плями Dq (Dj=Dq - умова Релея).



Рис. 1

Якщо точки предмету самосвітні і випромінюють некогерентні промені, виконання критерію Релея відповідає тому, що найменша освітленість між зображеннями розділяючих точок складе 74% від освітленості в центрі плями, а кутова відстань між центрами дифракційних плям (максимумами освітленості) визначиться виразом Dj=1,21l/D, де l - довжина хвилі світла, D - діаметр вхідного окуляра оптичної системи.

Якщо оптична система має фокусну відстань f, то лінійна величина межі Роздільної здатності d=l,21lf/D. Межу Роздільної здатності телескопів і зорових труб виражають в кутових секундах і визначають по формулі d=140/D (при l=560 нм і D в мм). Приведені формули справедливі для точок, що знаходяться на осі ідеальних оптичних приладів. Наявність аберації і помилок виготовлення знижує роздільну здатність реальних оптичних систем. Роздільна здатність реальної оптичної системи падає також при переході від центру поля зору до його країв. Роздільна здатність оптичного приладу Rоп, що включає комбінацію оптичної системи і приймача (фотошар, катод електронно-оптичного перетворювача і ін.), пов'язана з роздільною здатністю оптичної системи приладу Rос і приймача Rп обчислюється за наближеною формулою 1/Rоп=1/Rос+1/Rп, з якої виходить, що доцільно застосування лише таких поєднань, коли Rос і Rп одного порядку.

3. Будова та принцип дії електронного мікроскопа

Електронний мікроскоп, прилад для спостереження і фотографування збільшеного зображення об'єктів, в якому замість світлових променів використовуються пучки електронів, прискорених до великих енергій (30-100 кеВ і більше) в умовах глибокого вакууму. Фізичні основи електронно-оптичних приладів були закладені майже за сто років до появи електронного мікроскопу ірл|андським математиком У.Р. Гамільтоном, що встановив існування аналогії між проходженням світлових променів в оптично неоднорідних середовищах і траєкторіями частинок в силових полях. Доцільність створення електронного мікроскопу стала очевидною після висунення в 1924 році гіпотези про хвилі де Бройля, а технічні передумови були створені німецьким фізиком X. Бушем, який досліджував фокусуючі властивості осесиметричних полів і розробив магнітну електронну лінзу (1926 р.). У 1928 році німецькі учені М. Кнолль і Е. Руска приступили до створення першого магнітного просвічуючого електронного мікроскопу і через три роки одержали зображення об'єкту, сформоване пучками електронів. Надалі (М. фон Арденне, Німеччина, 1938 р.; В.К. Зворикін, США, 1942) були побудовані перші растрові електронні мікроскопи, працюючі за принципом сканування (розгортання), тобто послідовного від точки до точки переміщення тонкого електронного пучка (зонда) по об'єкту. До середини 1960-х рр. растрові електронні мікроскопи досягли високої технічної досконалості, і з того часу почалося їх широке застосування в наукових дослідженнях. Просвічуючі електронні мікроскопи володіють найвищою роздільною здатністю, перевершуючи по цьому параметру світлові мікроскопи в декілька тисяч разів. Роздільна здатність, що характеризує здатність приладу відобразити роздільно дрібні, максимально близько розташовані деталі об'єкту, у просвічуючих електронних мікроскопах складає 2-3 Ǻ. При сприятливих умовах можна сфотографувати окремі важкі атоми. При фотографуванні періодичних структур, наприклад, кристалографічних, вдається реалізувати роздільну здатність близько 1 Ǻ. Такі високі показники досягаються завдяки надзвичайно малій довжині хвилі електронів. Оптимальним діафрагмуванням вдається знижувати сферичну аберацію об'єктиву, яка погіршує роздільну здатність мікроскопу. Ефективних методів корекції аберації в електронних мікроскопах не знайдено, тому магнітні електронні лінзи, що володіють меншою аберацією, повністю витіснили електростатичні. Просвічуючі електронні мікроскопи можна розділити на три групи: електронні мікроскопи високої роздільної здатності, спрощені просвічуючі електронні мікроскопи і електронні мікроскопи з підвищеною прискорюючою напругою.

Просвічуючі електронні мікроскопи з високою роздільною здатністю (2-3 Ǻ) - як правило, універсальні прилади багатоцільового призначення. З допомогою додаткових пристроїв і приставок в них можна нахиляти об'єкт в різних площинах на великі кути до оптичної осі, нагрівати, охолоджувати, деформувати його, здійснювати рентгенівський структурний аналіз, електронографічні дослідження і ін. Прискорююча електрони напруга досягає 100 кВ, регулюється ступенеподібно і відрізняється високою стабільністю: за 1-3 хв. вона змінюється не більше ніж на 1 - 2 мільйонних долі від початкового значення. Величина прискорюючої напруги визначає товщину об'єкту, яку можна «просвітити» електронним пучком. У 100-кіловольтних електронних мікроскопах вивчають об'єкти товщиною від 10 до декількох тисяч астер.

Зображення типового просвічуючого електронного мікроскопу з високою роздільною здатністю приведене на рис. 1. У його оптич|ній системі з допомогою спеціальної вакуумної системи створюється глибокий вакуум [тиск до 10-6 мм рт. ст. (10-4 Па)]. Схема оптичної системи просвічуючого електронного мікроскопу зображена на рис. 2. Пучок електронів, джерелом яких служить розжарений катод 1, формується в електронній гарматі і потім двічі фокусується першим 4 і другим 5 конденсорами, що створюють на об'єкті електронну «пляму» малих розмірів (при регулюванні діаметр плями може мінятися від 1 до 20 мкм). Після проходження крізь об'єкт 6 частина електронів розсіюється і затримується апертурною діафрагмою 7. Нерозсіяні електрони проходять через отвір діафрагми і фокусуються об'єктивом 8 в наочній площині проміжної лінзи. Тут формується перше збільшене зображення. Подальші лінзи створюють друге, третє і т.д. зображення. Остання проекційна лінза 11 формує зображення на флуоресціюючому екрані 12, який світиться під впливом електронів. Збільшення електронного мікроскопу дорівнює добутку збільшень всіх лінз. Ступінь і характер розсіювання електронів неоднакові в різних точках об'єкту, оскільки товщина, щільність і хімічний склад об'єкту міняються від точки до точки. Відповідно змінюється число електронів, що пройшли через апертурну діафрагму, а отже, і щільність струму на зображенні. Виникає амплітудний контраст, який перетвориться в світловий контраст на екрані. У разі тонких об'єктів переважає фазовий контраст, що викликається зміною фаз хвиль де Бройля, розсіяних в об'єкті і таких, що інтерферують в площині зображення. Під екраном електронного мікроскопу розташований магазин з фотопластинами; при фотографуванні екран забирається і електрони впливають на фотоемульсивний шар. Зображення фокусується плавною зміною струму, збудливого магнітного поля об'єктиву.

Спрощені просвічуючі електронні мікроскопи призначені для наукових досліджень, в яких не потрібна висока роздільна здатність, а також при попередніх прогляданнях об'єктів, в рутинних дослідженнях, з учбовою метою і т.д. Вони простіші по конструкції (один конденсор і 2-3 лінзи для збільшення зображення об'єкту), їх відрізняють менша (60-80 кВ) прискорююча напруга і нижча стабільність. Роздільна здатність цих приладів - від 6 до 15 Ǻ.

Просвічуючі електронні мікроскопи з підвищеною прискорюючою напругою (до 200 кВ) призначені для дослідження порівняно товстіших об'єктів. Ці прилади відрізняються конструкцією електронної гармати: у ній для забезпечення електричної міцності і стабільності застосовують високовольтні прискорювачі з декількома ступенями прискорення. Магніторушійна сила лінз більше, ніж в 100-кіловольтних просвічуючих електронних мікроскопах, і самі лінзи мають більші габарити і вагу.



Рис. 2 Просвічуючий електронний мікроскоп: 1 - електронна гармата; 2 - конденсорні лінзи; 3 - лінза об'єктиву; 4 - проекційні лінзи; 5 - світловий мікроскоп, що додатково збільшує зображення, спостережуване на екрані; 6 - тубус з оглядовими вікнами; 7 - високовольтний кабель; 8 - вакуумна система; 9 - пульт управління; 10 - стенд; 11 - блок живлення; 12 - джерело живлення лінз.

Надвисоковольтні електронні мікроскопи - крупногабаритні прилади висотою від 5 до 15 м, з прискорюючою напругою 0,5-0,65; 1-1,5 і 3 MB. Для них будують спеціальні приміщення. Надвисоковольтні електронні мікроскопи призначені для дослідження об'єктів товщиною до 1-10 мкм (104-105 Ǻ). Електрони| прискорюються в електростатичному прискорювачі прямої дії, розташованому в баку, заповненому електроізоляційним газом під тиском. Ведуться роботи із створення надвисоковольтних електронних мікроскопів з лінійним прискорювачем, в якому електрони прискорюються до енергій вище 3 МеВ. У разітовстих об'єктів роздільна здатність надвисоковольтних електронних мікроскопів в 10-20 разів перевершує роздільну здатність 100-кіловольтних просвічуючих електронних мікроскопів.



Рис. 3 Оптична схема просвічуючого електронного мікроскопа: 1 - катод; 2 - фокусуючий циліндр; 3 - анод; 4 - перший (короткофокусний) конденсор, що створює зменшене зображення джерела електронів; 5 - другий (довгофокусний) конденсор, який переносить зменшене зображення джерела електронів на об'єкт; 6 - об'єкт; 7 - апертурна діафрагма; 8 - об'єктив; 9, 10, 11 - система проекційних лінз; 12 - катодолюмінесцентний екран.

Растрові електронні мікроскопи з розжарюючим катодом призначені для дослідження масивних об'єктів з роздільною здатністю, істотно нижчою, ніж у просвічуючих електронних мікроскопах, - від 50 до 200 А. Прискорюючу напругу в растрових електронних мікроскопах можна регулювати в межах від 1 до 30-50 кВ. Пристрій растрових електронних мікроскопів показано на рис. 3. За допомогою двох або трьох електронних лінз| на поверхню зразка фокусується вузький електронний зонд. Магнітні відхиляючі котушки розгортають зонд за заданою площею на об'єкті. При взаємодії електронів зонда з об'єктом виникає декілька видів випромінювань (рис. 4) - вторинні і відбиті електрони; електрони, що пройшли крізь об'єкт (якщо він тонкий); рентгенівське випромінювання (гальмівне і характеристичне); світлове випромінювання і т.д. Будь-яке з цих випромінювань може реєструватися відповідним детектором, що перетворює випромінювання в електричні сигнали, які після посилення подаються на електронно-променеву трубку і модулюють її пучок. Розгортка пучка проводиться синхронно з розгорткою електронного зонда в растровому електронному мікроскопі, і на екрані спостерігається збільшене зображення об'єкту (збільшення рівне відношенню висоти кадру на екрані до ширини сканованої поверхні об'єкту). Фотографують зображення безпосередньо з екрану електронно променевої трубки. Основною позитивною відмінністю растрового електронного мікроскопу є висока інформативність приладу, обумовлена можливістю спостерігати зображення, використовуючи сигнали різних детекторів. З його допомогою можна досліджувати мікрорельєф, розподіл хімічного складу по об'єкту, р-n - переходи, проводити рентгенівський структурний аналіз і багато іншого. Растровий електронний мікроскоп| застосовується і в технологічних процесах (контроль дефектів мікросхем і ін.).

Висока роздільна здатність для растрових електронних мікроскопів реалізується при формуванні зображення з використанням вторинних електронів. Вона знаходиться в зворотній залежності від діаметру зони, з якої ці електрони емітуються. Розмір зони залежить від діаметру зонда, властивостей об'єкту, швидкості електронів первинного пучка і т.д. При великій глибині проникнення первинних електронів вторинні процеси, що розвиваються в усіх напрямках збільшують діаметр зони і роздільна здатність падає. Детектор вторинних електронів складається з фотоелектронного помножувача і електронно-фотонного перетворювача, осн|овним елементом якого є сцинтилятор. Число спалахів сцинтилятора пропорційне числу вторинних електронів, вибитих в даній точці об'єкту. Величина сигналу залежить від топографії зразка, наявності локальних електричних і магнітних мікрополів, величини коефіцієнта вторинної електронної емісії, який, у свою чергу, залежить від хімічного складу зразка в даній точці.





Рис. 3. Растровий електронний мікроскоп: 1 - ізолятор електронної гармати; 2 - розжарюваний V-образний катод; 3 - фокусуючий електрод; 4 - анод; 5 - конденсорні лінзи; 6- діафрагма; 7- двох'ярусна відхиляюча система; 8 - об'єктив; 9 - діафрагма; 10 - об'єкт; 11 - детектор вторинних електронів; 12 - кристалічний спектрометр; 13 - пропорційний лічильник; 14 - попередній підсилювач; 15 - блок посилення; 16, 17 - апаратура для реєстрації рентгенівського випромінювання; 18 - блок посилення; 19 - блок регулювання збільшення; 20, 21 - блоки горизонтальної і вертикальної розгорток; 22, 23 - електронно-променеві трубки.

Схема реєстрації інформації про об'єкт, одержуваної РЕМ:



Рис. 4. 1 - первинний пучок електронів; 2 - детектор вторинних електронів; 3 - детектор рентгенівського випромінювання; 4 - детектор відбитих електронів; 5 - детектор світлового випромінювання; 6 - детектор електронів що пройшли; 7 - прилад для вимірювання наведеного на об'єкті електричного потенціалу; 8 - прилад для реєстрації струму електронів, що пройшли через об’єкт; 9 - прилад для реєстрації струму поглинених в об'єкті електронів.

Відбиті електрони захоплюються напівпровідниковим (кремнієвим) детектором. Контраст зображення обумовлений залежністю коефіцієнта віддзеркалення від кута падіння первинного пучка і атомного номера елемента. Роздільна здатність в зображенні, що одержується «у відбитих електронах», нижче, ніж в одержуваної| за допомогою вторинних електронів (іноді на порядок її величини). Із-за прямолінійності польоту електронів до колектора інформація про окремі ділянки, від яких| немає прямого шляху до колектора, втрачається (виникають тіні).

Рентгенівське характеристичне випромінювання виділяється або рентг|енівським кристалічним спектрометром, або енергодисперсійним датчиком - детектором (звичайно з чистого кремнію, легованого Li). У першому випадку рентгенівські кванти після віддзеркалення кристалом спектрометра реєструються газовим пропорційним лічильником, а в другому - сигнал, що знімається з пластини, посилюється малошумливою системою посилення. Сигнал модулює пучок електронно променевої трубки, і на екрані виникає картина розподілу того або іншого хімічного елементу по поверхні об'єкту. На растрових електронних мікроскопах проводять локальний рентгенівських кількісний аналіз: реєструють число імпульсів рентгенівських квантів від ділянки, на якій зупинений зонд, і порівнюють це число з еталонним. Енергодисперсійний датчик реєструє всі елементи від Na до U при високій чутливості. Кристалічний спектрометр з набором кристалів з різними міжплощинними відстанями може ідентифікувати елементи від Be до U. Істотний недолік растрових електронних мікроскопів - велика тривалість процесу «зняття» інформації при дослідженні об'єктів. Порівняно високу роздільну здатність можна одержати, використовуючи електронний зонд досить малого діаметру. Але при цьому, щоб відношення сигнал/шум не падало нижче заданого рівня, необхідно уповільнити, швидкість сканування для накопичення в кожній точці об'єкту досить великого числа первинних електронів (і відповідної кількості вторинних). В результаті висока роздільна здатність реалізується лише при малих швидкостях розгортки. Іноді один кадр формується протягом 10-15 хвилин. Растрові електронні мікроскопи з автоемісійною гарматою володіють високою роздільною здатністю (до 30 Ǻ). У автоемісійній гарматі (як і в електронному проекторі) використовується катод у формі вістря, у вершині якого виникає сильне електричне поле, що вириває електрони з катода. Електронна яскравість гармати з автоемісійним катодом в 103-104 рази вища, ніж яскравість гармати з розжареним катодом. Відповідно збільшується струм електронного зонда. Тому в растрових електронних мікроскопах з автоемісійною гарматою здійснюють швидкі розгортки, а діаметр зонда зменшують для підвищення роздільної здатності. Проте автоемісійний катод працює стійко лише при надвисокому вакуумі (10-7-10-9 Па), що ускладнює конструкцію таких мікроскопів.

Растрові просвічуючі електронні мікроскопи володіють такою ж високою роздільною здатністю, як і просвічуючі мікроскопи. У цих приладах застосовуються автоемісійні гармати, що забезпечують достатньо великий струм в зонді малого діаметру (2-3 Ǻ). Діаметр зонда зменшують дві магнітні лінзи (рис. 5). Нижче за об'єкт розташовані детектори - центральний і кільцевий. У цих мікроскопах можна досліджувати товщі об'єкти, ніж в просвічуючих електронних мікроскопах, оскільки зростання числа непружно розсіяних електронів з товщиною не впливає на роздільну здатність. За допомогою аналізатора енергії електрони, що пройшли крізь об'єкт, розділяються на пружно і непружно розсіяні пучки. Кожен пучок потрапляє на свій детектор, і на ЕПТ спостерігається відповідне зображення, що містить додаткову інформацію про розсіюючі властивості об'єкту. Висока Роздільна здатність в растрових просвічуючих електронних мікроскопах досягається при повільних розгортках, оскільки в зонді діаметром всього 2-3 Ǻ струм виходить дуже малим.

Електронні мікроскопи для аналітичних досліджень. Поєднання в одному приладі принципів формування зображення з нерухомим пучком і сканування тонкого зонда по об'єкту дозволило реалізувати в такому електронному мікроскопі переваги всіх інших видів мікроскопів і забезпечити проведення широкого кола аналітичних досліджень. У той же час в багатьох просвічуючих електронних мікроскопах передбачена можливість спостереження об'єктів в растровому режимі (за допомогою конденсорних лінз і об'єктиву, що створює зменшене зображення джерела електронів, сканується по об'єкту відхиляючими системами). Окрім зображення з нерухомим пучком на екрані електронного мікроскопу, одержують растрові зображення на екранах електронно променевих трубок з використанням електронів, що пройшли і вторинних електронів|, характеристичні рентгенівські спектри і т.д. Оптична система такого просвічуючого електронного мікроскопу, розташована після об'єкту, і дає можливість працювати в режимах, неможливих в інших приладах.



Рис. 5 Принципова схема растрового просвічуючого електронного мікроскопа: 1- автоемісійний| катод; 2 - проміжний анод; 3 - анод; 4 - відхиляюча система для фокусування пучка; 5 - діафрагма «освітлювача»; 6, 8 - відхиляючі системи для розгортки електронного зонда; 7 - магнітна довгофокусна лінза; 9 - апертурна діафрагма; 10 - магнітний об'єктив;11 - об'єкт; 12, 14 - відхиляючі системи; 13 - кільцевий колектор розсіяних електронів; 15 - колектор не розсіяних електронів; 16 - магнітний спектрометр; 17 - відхиляюча система для відбору електронів з різними втратами енергії; 18 - щілина спектрометра; 19 - колектор;

Емісійні електроні мікроскопи створюють зображення об'єкту електронами емітують сам об'єкт при нагріванні, бомбардуванні первинним пучком електронів, освітленні і при накладенні сильного електричного поля, що вириває електрони з об'єкту. Ці прилади звичайно мають вузьке цільове призначення.

Дзеркальні електронні мікроскопи служать головним чином для візуалізації електричного «потенціального рельєфу» і магнітних мікрополів на поверхні об'єкту. Основним електронно-оптичним елементом приладу є електронне дзеркало, причому одним з електродів служить сам об'єкт, який знаходиться під невеликим від’ємним потенціалом щодо катода гармати. Електронний пучок прямує в дзеркало і відображається полем в безпосередній близькості від поверхні об'єкту. Дзеркало формує на екрані зображення «у відбитих пучках». Мікрополя біля поверхні об'єкту перерозподіляють електрони| відбитих пучків, створюючи контраст на зображенні, що візуалізує ці мікрополя.

. Застосування електронного мікроскопа в біології

Вживання електронної мікроскопії в біології дозволило вивчити надтонку структуру клітки позаклітинних компонентів тканин. На підставі результатів, отриманих за допомогою цього методу (максимальний дозвіл яких для біологічних об'єктів 12 - 6А, а збільшення - до 800 - 1200 тис.), починаючи з 40-х рр. було описано тонку будову мембран, мітохондрій, рибосом і інших клітинних, а також позаклітинних структур, виявлені деякі макромолекули, наприклад ДНК(дезоксирибонуклеїнова кислота). Растрова (скануюча) електронна мікроскопія дає можливість вивчати тонку будову поверхні кліток і тканинних структур не лише фіксованих об'єктів, але і живих тварин з твердим хітиновим покривом, наприклад ряду членистоногих.

Техніка приготування біологічних препаратів для електронної мікроскопії включає процедури, що зберігають тканину в умовах глибокого вакууму під пучком електронів і що реалізовують високий дозвіл. Зазвичай об'єкти фіксують хімічними реагентами (альдегідами, чотириокисом осмію або ін.), зневоднюють (спиртом, ацетоном), просочують епоксидними смолами і ріжуть на спеціальних мікротомах <http://vseslova.com.ua/word/%D0%9C%D1%96%D0%BA%D1%80%D0%BE%D1%82%D0%BE%D0%BC-65210u> на ультратонкі зрізи (завтовшки 100 - 600 ). Для підвищення контрасту зображення кліток їх обробляють «електронними фарбниками», сильно розсіюючими електрони (уранілацетатом гідроокисом свинцю і ін.). Щоб зменшити ушкоджувальну дію фіксатора на тканину, її можна заморозити, витісняючи потім воду ацетоном або спиртом при низькій температурі. Інколи застосовують методи, що виключають дію фіксатора на клітки, наприклад ліофілізацію <http://vseslova.com.ua/word/%D0%9B%D1%96%D0%BE%D1%84%D1%96%D0%BB%D1%96%D0%B7%D0%B0%D1%86%D1%96%D1%8F-58070u> : тканину швидко охолоджують до - 150 або - 196°c і зневоднюють у високому вакуумі при низькій температурі. Перспективним виявився метод заморожування з тим, що труїть, заснований на здобутті платіно-вуглецевої репліки з ськола замороженого об'єкту. Завдяки цьому методу внесені істотні зміни в уявлення про структуру клітинних мембран.

Для вивчення структури біологічних макромолекул і окремих клітинних органоїдів використовують негативне контрастування зразків. В цьому випадку досліджувані об'єкти виявляються у вигляді електроннопрозрачних елементів на темному фоні. Отримані зображення молекул можна аналізувати, застосовуючи методи, засновані на дифракція світла <http://vseslova.com.ua/word/%D0%94%D0%B8%D1%84%D1%80%D0%B0%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F\_%D1%81%D0%B2%D1%96%D1%82%D0%BB%D0%B0-32499u>.

Використання високовольтної електронної мікроскопії (до 3 Мв ) дозволяє отримати дані про 3-мірну структуру кліток.



Рис 6. Електронна мікрофотографія альвеолоцита ІІ

При підготовці до дослідження живих членистоногих їх обезводнюють за допомогою ефірного або хлороформного наркозу в дозах, що не викликають подальшої загибелі, і поміщають у вакуумну камеру.

Вживання електронного мікроскопа в біології істотно змінило і поглибило колишні уявлення про тонку будову клітини.



Рис 7. Лімфобласти лейкозу

електронний мікроскопія біологія

Висновок

Електронна мікроскопія принципово відрізняється від світловий як пристроєм електронного мікроскопа, так і його можливостями. В електронному мікроскопі замість світлових променів для побудови зображення використовується потік електронів у глибокому вакуумі. Як лінзи, фокусуючих електрони, служить магнітне поле, створюване електромагнітними котушками. Зображення в електронному мікроскопі спостерігають на флюоресцуючому екрані і фотографують. Як об'єкти використовують ультратонкі зрізи чи мікроорганізмів тканин товщиною 20- 50 нм, що значно менше товщини вірусних часток. Висока здатність сучасних електронних, що дозволяє, мікроскопів дозволяє одержати корисне збільшення в мільйони разів. За допомогою електронного мікроскопа вивчають ультратонка будівля мікроорганізмів і тканин, а також проводять імунну електронну мікроскопію.

Завдяки ЕМ розкрито субмікроскопіча структура клітин, відкритий ряд невідомих раніше клітинних органел, як-от лизосомы, рибосоми, эндоплазматический ретикулум, микротрубочки, цитоскелет, структури, специфічні окремих видів клітин. ЕМ дозволила зрозуміти багато тонкі механізми розвитку хвороб, зокрема на ранніх етапах їх виникненню, ще до його появи чіткої клінічної симптоматики. ЕМ дедалі ширше застосовується для ранньої діагностики захворювань, і навіть для виявлення етіології інформаційних процесів. Її використав онкології для визначення гистогенеза пухлин, що є важливого значення при лікуванні і прогнозі онкологічного захворювання. У нефрології дослідження з допомогою ЕМ матеріалу, отриманого при пункційної біопсії, дає змоги виявити раніше морфологічні зміни структур пачок, діагностувати форму гломерулонефриту тощо.

Список використаної літератури

1. Стоянов П.А. [и др.], Электронный микроскоп предельного разрешения ЭМВ-100Л, «Изв. АН СССР. Сер. физ.», 1970;

2. Xокс П., Электронная оптика и электронная микроскопия, пер. с англ., М., 1974;

. Деркач В.П., Кияшко Г. Ф., Кухарчук М.С., Электроннозондовые устройства, К., 1974;

. Стоянова И.Г., Анаскин И.Ф., Физические основы методов просвечивающей электронной микроскопии, М., 1972;

. Практическая растровая электронная микроскопия, под ред. Д. Гоулдстейна и X. Яковица, пер. с англ., М., 1978.