



PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

KATEDRA
EXPERIMENTÁLNÍ FYZIKY

Bakalářská práce

Měření nevodivých
a nestandardních vzorků pro SEM

Autor	Vítězslav Heger
Vedoucí práce	doc. RNDr. Roman Kubínek, CSc.
Studijní obor	Nanotechnologie
Forma studia	Prezenční
Rok	2019

Jméno a příjmení autora	Vítězslav Heger
Název práce	Měření nevodivých a nestandardních vzorků pro SEM
Typ práce	bakalářská
Pracoviště	Katedra experimentální fyziky
Vedoucí práce	doc. RNDr. Roman Kubínek, CSc.
Rok obhajoby práce	2019
Počet stran	45
Počet příloh	1
Jazyk	český
Abstrakt	Tato práce se zabývá skenovací elektronovou mikroskopií nevodivých a nestandardních vzorků. Popisuje základy elektronové mikroskopie a interakci elektronového svazku se vzorkem. Měření bylo prováděno na přístroji Tescan Vega 3 LMU. V experimentální části jsou na příkladech popsány závislosti parametrů mikroskopu a v příloze práce je umístěno několik snímků z měření.
Klíčová slova	skenovací elektronový mikroskop, nevodivé vzorky, nestandardní vzorky

BIBLIOGRAPHICAL IDENTIFICATION

Author's first name and surname	Vítězslav Heger
Title	Measurement of nonconductive and nonstandard samples using SEM
Type of thesis	bachelor
Department	Department of Experimental Physics
Supervisor	doc. RNDr. Roman Kubínek, CSc.
Year of presentation	2019
Number of pages	45
Number of appendices	1
Language	czech
Abstract	This bachelor thesis deals with scanning electron microscopy of non-conductive and non-standard samples. It describes fundamentals of electron microscopy and interaction of electron beam with sample. The measurement was performed on a Tescan Vega 3 LMU. The experimental part describes on the examples the dependence of the microscope parameters and the most successful pictures from the measurements are placed in the attachment.
Keywords	scanning electron microscopy, nonconductive samples, non-standard samples

Prohlašuji, že jsem předloženou bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením doc. RNDr. Romana Kubínka, CSc. a Mgr. Tomáše Ingra a že jsem použil zdrojů, které cituji a uvádím v seznamu použitých zdrojů.

V Olomouci dne

.....
podpis

Chtěl bych poděkovat doc. RNDr. Romanu Kubínkovi, CSc. za odborné vedení a pomoc při psaní bakalářské práce. Dále bych chtěl poděkovat Mgr. Tomáši Ingrovi za drahocenné rady během měření v laboratoři nanotechnologií KEF PřF UP.

Obsah

Úvod	7
1. Teoretická část	8
1.1. Elektronové dělo	10
1.2. Tubus elektronového mikroskopu	12
1.3. Interakce svazku elektronů se vzorkem	14
1.3.1. Rozptyl elektronů	14
1.4. Interakční objem	15
1.5. Signály z pružného rozptylu	16
1.5.1. Zpětně odražené elektrony (BSE - Backscattered Electrons)	16
1.6. Signály z nepružného rozptylu	18
1.6.1. Sekundární elektrony (SE - Secondary Electrons)	18
2. Současný stav problematiky elektronové mikroskopie	21
3. Experimentální část	22
4. Výsledky a diskuze	24
4.1. Kovový prášek CL 20ES	24
4.2. EDX	27
4.3. Pyly	28
4.4. Nabíjení vzorků	30
4.5. Porovnání skenovacího elektronového mikroskopu a optického mikroskopu	33
4.6. Uhlíkové nanotrubičky	34
Závěr	35
Seznam použitých zdrojů	36
Seznam použitých symbolů a zkratk	37
Příloha 1. Fotodokumentace	38

Úvod

Téma bakalářské práce jsem si vybral, protože mě vždy fascinovaly snímky z elektronového mikroskopu. Umožnilo mi to naučit se ovládat a pracovat s elektronovým mikroskopem a pořídít takové snímky sám. Jako studenta oboru nanotechnologií mě zajímala podoba nanostruktur a nanostrukturovaných povrchů, se kterými pracují kolegové, kteří se touto oblastí vědeckého výzkumu zabývají. Částečně mi skenovací elektronový mikroskop na katedře experimentální fyziky PřF UP pootevřel dveře ke studiu tohoto odvětví.

Skenovací elektronový mikroskop je univerzální analytický nástroj. Neslouží jen k zobrazování, ale má i spousty užitečných aplikací: podává informaci o prvkovém složení materiálu, zobrazuje materiálový kontrast nebo modifikuje povrch s využitím litografických technik. K zobrazování používá místo paprsků světla elektronový svazek, který na jednu stranu umožňuje dosažení mnohem lepší rozlišovací meze, na druhou stranu, při interakci s nestandardními (zejména nevodivými) vzorky způsobuje vedlejší efekty, které omezují rozlišení mikroskopie. Z tohoto důvodu jsem chtěl provést klasifikaci těchto vzorků a jejich vliv na dosažení kvalitního zobrazení, bez větší dodatečné úpravy povrchu, např. napařováním nebo napařováním těžkých kovů.

Cíle bakalářské práce

Práce spočívá v zobrazování nevodivých a nestandardních vzorků pomocí skenovacího elektronového mikroskopu. Pro řešení bakalářské práce jsem volil následující cíle:

1. Na základě rešerše odborné literatury zpracovat problematiku interakce primárního svazku se vzorkem, hlavně při pozorování nevodivých a nestandardních vzorků.
2. Seznámení se s rutinní obsluhou mikroskopu a napsat jeho základní popis.
3. Popsat a zdokumentovat analýzu nevodivých a nestandardních vzorků různých typů, podle dosavadních zkušeností a v návaznosti na analýzy prováděné v laboratoři nanotechnologií KEF PřF UP.

1. Teoretická část

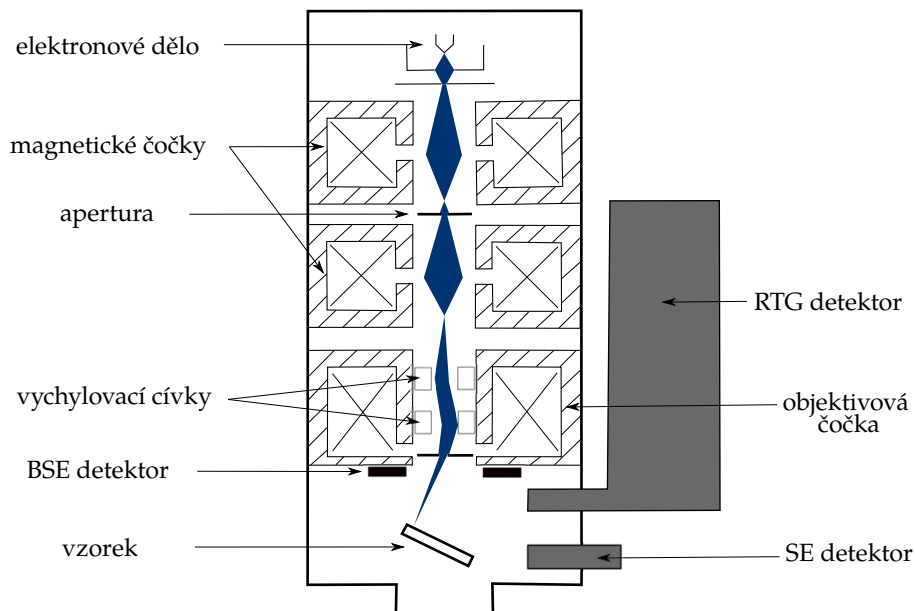
Světelná mikroskopie používá k zobrazení vzorku světlo, viditelnou část spektra elektromagnetického záření. Její rozlišení je však omezeno difrakčním limitem, který tvoří přibližně polovina vlnové délky použitého světla (390 – 780 nm). Tato technika je vhodná pro zkoumání mikrosvěta, ale s rozlišovací mezí 190 nm není vhodná pro nahlížení do nanosvěta. Je tedy potřeba záření s nižší vlnovou délkou. S elektromagnetickým zářením, které má požadovanou vlnovou délku (rentgenové záření, gama záření), se pracuje obtížně a nedá se pro mikroskopii použít. Cesta do nanosvěta se otevřela až s objevem Luis de Broglieho roku 1925. Přišel s tím, že jakékoliv rychle se pohybující částice vykazují kromě korpuskulárního chování, také vlnové a lze jim přiřadit odpovídající vlnovou délku:

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2m_0eU \left(1 + \frac{eU}{m_0c^2}\right)}}, \quad (1)$$

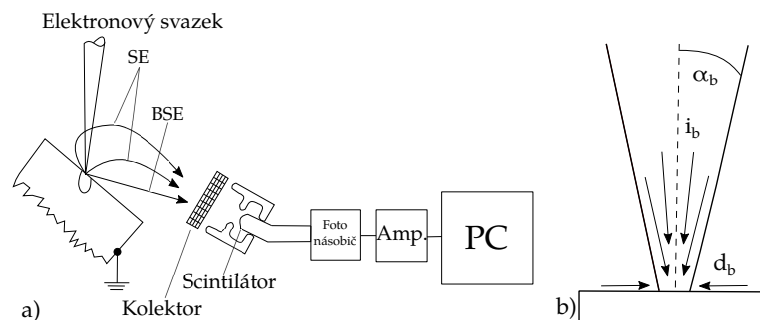
kde h je Planckova konstanta, m_0 klidová hmotnost částice, e náboj částice (elektronu), U urychlovací napětí a c rychlost světla. Při typickém urychlovacím napětí 10 kV je vlnová délka elektronu 12 pm. Ve skutečnosti je toto rozlišení horší, ale moderní transmisní mikroskopy mají rozlišení v desetinách nanometrů.

První transmisní elektronový mikroskop, jehož konstrukce je dosti podobná optickému mikroskopu, byl představen Maxem Knollem a Ernstem Ruskou v roce 1932 v Berlíně. První komerční skenovací elektronový mikroskop byl uveden na trh později roku 1965 firmou Cambridge Scientific Instruments. Vývojem a výrobou elektronových mikroskopů se v současné době zabývá několik firem: Tescan, Zeiss, Hitachi, FEI a JEOL. Česko přispělo také k vývoji elektronové mikroskopie, hlavně v Brně, kde sídlí firmy Tescan a DeLong Instruments.[1]

Mikroskop se skládá z elektronového děla, série vývěv, dvou a více magnetických čoček, držáku vzorků a detektorů (obrázek 1). Elektronové dělo je zdrojem elektronů a urychluje je na energii 1 - 40 keV. Takto generovaný svazek elektronů je příliš široký a rozbíhavý, než aby vytvořil ostrý obraz. K tomu jsou v mikroskopu umístěny elektromagnetické čočky, které svazek zfokusují do malého bodu. Svazek pak prochází do komory se vzorkem a dopadá na jeho povrch. Elektrony interagují s povrchem až do hloubky několika mikrometrů a generují signál, který se následně využívá k sestavení obrazu. Signál nese informaci o malém objemu, do kterého dopadají elektrony, a tedy pro určení struktury povrchu vzorku je potřeba proskenovat paprskem elektronů celý vzorek. K tomu slouží dvě magnetické vychylovací cívky (sloužící někdy k detekci signálu odražených elektronů), které vychýlí paprsek elektronů tak, že skenuje povrch po řádcích.



Obrázek 1 | Schéma elektronového mikroskopu zobrazující elektronové dělo, systém čoček a detektory (poupraveno z [2])



Obrázek 2 a) Schéma interakce elektronů se vzorkem a Everhart-Thornleyho detektor, b) Parametry dopadajícího svazku (poupraveno z [3])

Po dopadu elektronů a jejich interakci s povrchem vzorku jsou generovány signály, z nichž jsou nejčastěji používány sekundární elektrony (SE) a odražené elektrony (BSE). Velká část těchto elektronů je sbírána do Everhart-Thornleyho detektoru, který se skládá z nabitě klece, scintilátoru a fotonásobiče (obrázek 2a). Elektrony jsou přitahovány nabitou mřížkou umístěnou před detektorem (nabitá na +300 V) a po průchodu urychleny napětím +12 kV. Elektrony dopadnou na scintilátor, ten vyzáří fotony, které jsou vedeny k fotonásobiči, kde se signál zesílí a převede na elektrický signál. Je možné detekovat jen odražené elektrony změnou napětí klece na -100 V a odpuzovat sekundární elektrony. Zbytek odražených elektronů je detekován pomocí polovodičových nebo scintilačních detektorů umístěných v prostoru nad vzorkem.

Ostrost, kontrast a hloubka ostrosti závisí na třech důležitých parametrech: šířka dopadajícího svazku d_b , elektronový proud i_b a konvergentní úhel α_b (obrázek 2b). Pro dobré rozlišení obrazu získaného skenovací elektronovou mikroskopií (SEM) je potřeba co nejtenčího svazku elektronů dopadajícího na preparát. Pro mikroskopii se používá svazek tloušťky menší než 10 nm. Množství elektronů ve svazku určuje intenzitu emitovaného signálu (sekundární a odražené elektrony nebo rentgenové záření). Bohužel pokud je zvětšen proud částic, roste šířka svazku a pokud zmenšíme svazek nejsme schopni dodávat velký proud elektronů. Je tedy na operátorovi mikroskopu, aby vyladil hodnoty šířky svazku a proudu částic pro dané měření.[3]

Elektronový mikroskop pořizuje snímky z jinak neviditelného mikrosvěta a nanosvěta. Typicky poskytuje zvětšení $10\times$ až $300\,000\times$. Obrázky z elektronového mikroskopu jsou černobílé (barevnosti je dosaženo až následnou grafickou úpravou), vypadají trojrozměrně, kvůli velké hloubce ostrosti mikroskopu, a mapují pouze povrch vzorku, kvůli nízké prostupnosti elektronu materiálem.

V porovnání s klasickým optickým mikroskopem, který poskytuje rozlišení bodů do 200 nm, elektronová mikroskopie má rozlišení typicky 5 nm. Může tedy dosahovat daleko většího zvětšení. Další vlastností elektronové mikroskopie je její hloubka ostrosti. Má $300\times$ větší hloubku ostrosti než klasický optický mikroskop. To umožňuje získat dobrou informaci o topografii vzorku. Třetí nejdůležitější vlastností je možnost analýzy materiálového složení, analýzy chemických prvků, krystalografické, magnetické a elektrické charakteristiky.

Měřit je nutno jen ve vakuované komoře, protože elektrony nejsou schopny se efektivně šířit vzduchem. Vzorky, které jsou vlhké, mohou být vakuováním poničeny, stejně tak mikroskop. To omezuje okruh vzorků používaných k mikroskopii. Vzorek by měl být ideálně vodivý, aby nedocházelo k jeho nabíjení a zhoršení kvality obrazu. Většina vzorků je nevodivých, a proto je potřeba je pokrýt vodivou vrstvou. Mikroskop není schopen zobrazovat strukturu pod povrchem vzorku. Pro takové zobrazení musí být vrchní vrstva odstraněna, například pomocí FIB (focused ion beam) techniky. Taktéž není možné zobrazovat skrz vodu nebo jiné kapaliny.

Skenovací elektronová mikroskopie (SEM) je technika často využívaná ve vědě a průmyslu. Má využití v materiálových vědách, biologii, geologii, lékařství a forenzních vědách. V materiálových vědách se používá pro kontrolu kvality při výrobě, pro analýzu kovů, slitin, keramiky a polymerů. Využití má v leteckém průmyslu, elektronice a chemii. V biologii je studováno pomocí SEM od velkých vzorků hmyzu až po bakterie. Využití nachází v entomologii, archeologii a při výzkumu buněk. SEM se používá často při vyhodnocení půd a geologických vzorků. Používá se pro zjištění prvkového složení, a proto je důležitá v těžebním průmyslu. Mikroskopie našla využití i v medicíně, při zjišťování chorob a výrobě implantátů. Dále se používá ve forenzních vědách pro analýzu důkazů.[4]

1.1. Elektronové dělo

Elektrony jsou vázány v systému atomu energií E_v . K vystřelení elektronu je potřeba systému dodat energii větší než je E_v . Elektronová děla používají nejčastěji následující typy emise:

- Sekundární emise - Studené kovové vlákno je bombardováno urychlenými ionty, které vyřázejí elektrony z materiálu. Tento způsob se používal u dřívějších TEM.
- Termoemise - Zahříváním katody dodáváme energii systému, který vlivem dostatečné teploty emituje elektrony.
- Autoemise - Studený hrot v silném elektrickém poli. Elektrony jsou vytrhávány z povrchu hrotu. Potřeba velmi vysokého vakua (10^{-6} až 10^{-7} Pa).[1]

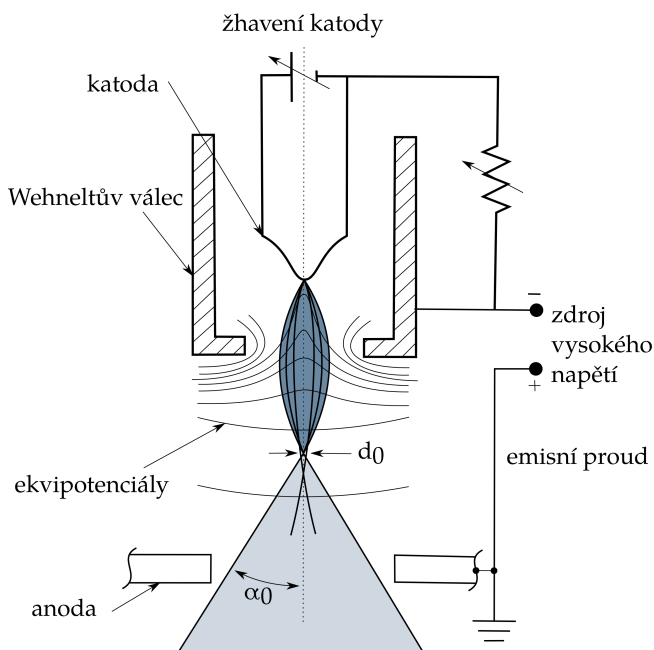
Cílem elektronového děla je vytvořit velký a stabilní proud elektronů v malé šířce svazku. Pro skenovací mikroskopii se využívá několik druhů elektronových děl s různou velikostí proudu, šířkou svazku, stabilitou a životností.

Termoemisní zdroje

Při zahřívání katody je dodávána energie elektronům vázaných v látce katody. Pokud je katoda zahřáta dostatečně, elektrony získají energii vyšší než je energie potřebná k odtržení elektronu E_v a elektron je vystřelen ven z materiálu. Hustota proudu elektronů J_c z rozžhavené katody je závislá na teplotě a lze vyjádřit pomocí Richardsonovy rovnice:

$$J_c = A_c T^2 e^{-\frac{E_v}{kT}}, \quad (2)$$

kde A_c je konstanta pro všechny termoemisní zdroje ($A_c=120 \text{ A cm}^{-2}\text{K}^{-2}$)[3], T teplota zdroje a k Boltzmannova konstanta. Je vidět, že proud závisí na teplotě zdroje a vazebné energii E_v . Z technických důvodů je potřeba využívat materiály s nízkou vazebnou energií, aby nebyly materiály tepelně namáhány. Wolframový drát je využíván pro jeho nízkou vazebnou energii (4,5 eV) a relativně vysokou teplotou tání $T_t=3695 \text{ K}$. [5] Při používané teplotě $T=2700 \text{ K}$ dosahuje wolfram katodového proudu (s využitím vzorce 2), $J_c=2,4 \text{ A cm}^{-2}$.



Obrázek 3 | Schéma termoemisního děla (poupraveno z [3])

Nejjednodušší elektronové dělo se skládá z wolframového drátu (katody), Wehneltova válce a anody, které je možné vidět na obrázku 3. Wolframový drát je žhaven vlivem průchodu elektrického proudu. Drát je vytvarován do písmene V, pro lepší koordinaci emise elektronů, a připojen ke zdroji vysokého napětí ($U=1-40 \text{ kV}$). Wehneltův válec je připojen k ještě vyššímu napětí,

usměrňuje elektrony a reguluje jejich počet. Válec vytváří elektrické pole. Záporný potenciál rozkládající se na povrchu válce odpuzuje elektrony. Emitované elektrony jsou vlivem nehomogenity pole fokusovány. Elektrony mají tendenci se pohybovat ve směru gradientu pole a jsou emitovány jen tam, kde se kladný potenciál dotýká drátu. Mimo válec se vytváří uzel o velikosti d_0 s konvergentním úhlem α_0 . Anoda je uzemněná a vytváří vysoký potenciál mezi katodou a anodou, který urychluje emitované elektrony. Kruhová díra v anodě umožňuje průchod části urychlených elektronů. Pro správné fungování elektronového mikroskopu je potřeba stálý elektronový proud. Po překročení určitého elektrického proudu se již elektronový proud nemění, dochází k saturaci. Dvě důležité hodnoty každého elektronového zdroje jsou: hustota elektronového proudu J_c a jas β . Hustota elektronového proudu je definována jako:

$$J_c = \frac{4i_c}{\pi d^2}, \quad (3)$$

kde i_c je elektronový proud a d průměr elektronového svazku. Při průchodu tubusem (skrz aperatury a čočky) je elektronový proud zeslabován. Druhou důležitou hodnotou elektronového zdroje je jas β . Ten je definován jako poměr mezi hustotou elektronového proudu a prostorovým úhlem α a je vyjádřen jako:

$$\beta = \frac{4i_c}{\pi^2 d^2 \alpha^2}. \quad (4)$$

Důležitou vlastností jasu je, že se při průchodu mikroskopem zachovává. Pokud je rozdíl napětí mezi drátem a válcem příliš velký, elektrony neprocházejí vlivem elektrického pole a vrací se zpět, pokud je napětí příliš malé, nedochází k fokusaci a většina elektronů naráží na anodu. Ke správnému fungování je potřeba vyladit rozdíl napětí, který je možný měnit vzdáleností nebo odporem.

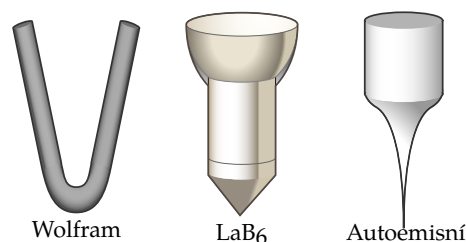
Nejdéle používaný a nejlépe popsáný zdroj elektronů pro elektronovou mikroskopii je wolframový drát. Drát o průměru 100 μm je ohnut do tvaru V a zahříván průchodem proudem. Výhodou wolframu je, že jako zdroj elektronů je levný a stabilní. Naopak vlivem velkého teplotního namáhání je životnost zdroje malá (40-100 hodin), má malý jas ($\beta = 10^5 \text{Acm}^{-2}\text{sr}^{-1}$ při napětí 20 kV) příliš velkou šířku svazku ($d_0 = 30-100 \mu\text{m}$) a je energeticky rozbíhavý ($\Delta E = 1-3 \text{eV}$). Pro jeho vlastnosti je wolframový zdroj elektronů používán pro zobrazování s malým zvětšením a rentgenovou mikroanalýzu kvůli velké stabilitě svazku.

Nejčastěji používaný zdroj elektronů s vysokým jasem je hexaborid lanthanu (LaB_6), pro jeho vyšší jas ($10^6 \text{Acm}^{-2}\text{sr}^{-1}$) a delší životnost (200-1000 hodin) v porovnání s wolframem. To je způsobeno nižší vazebnou energií $E_v=2,5 \text{eV}$. Na druhou stranu je LaB_6 daleko reaktivnější a proto je potřeba v komoře udržovat mnohem vyšší vakuum (10^{-5}Pa). Porovnání wolframového zdroje a LaB_6 je vidět v tabulce 1.[3]

Zvyšováním hodnoty proudu, který prochází wolframovým drátem, roste i emise elektronů. S rostoucím proudem dochází k saturaci, při které s větším proudem nedochází k růstu emise. Bod saturace je optimálním nastavením proudu, protože dochází k maximální emisi elektronů a minimální teplota zaručuje optimální životnost zdroje.

Autoemisní zdroje

Termoemisní zdroje mají tu nevýhodu, že nedosahují vysokých jasů a odpařuje se z nich materiál. Autoemisní zdroje takové nevýhody nemají. Zdrojem autoemisního elektronového děla je wolframový krystal s extrémně tenkým hrotem (100 nm a méně) vystavený vysokému napětí. Elektrické pole na hrotu wolframu je tak silné, že vytrhává elektrony z materiálu. To je způsobeno snížením a zúžením energetické bariéry natolik, že elektrony mohou tunelovat skrz energetickou bariéru. Schéma autoemisního zdroje je zobrazeno na obrázku 4. Proudová hustota závisí na při-



Obrázek 4 | Schéma několika druhů zdrojů pro elektronová děla (převzato z [4])

loženém napětí ($10^8 \text{ Acm}^{-2} \text{sr}^{-1}$ při 20 kV). Druhá anoda slouží k urychlení prošlých elektronů a dvojice anod se chová jako elektromagnetická čočka a fokusuje svazek. Výhodou autoemisního zdroje je vysoký jas, malé tepelné zatížení zdroje, dlouhá životnost, malá šířka svazku (menší než 5 nm) a malá energetická rozbíhavost. Nevýhodou je potřeba velmi vysokého vakua (10^{-8} Pa) a malá stabilita. Pokud je hrot zahříván, je zvýšena jeho stabilita, umožněno pracovat v o řád nižším vakuu a není potřeba tolik čistit elektronovou trysku. Taková tryska se nazývá Shottkyho zdroj.[3]

	Wolfram	LaB ₆	autoemisní
Průměr elektronového svazku u zdroje (nm)	30 000	10000	5
Jas ($\text{Acm}^{-2} \text{sr}^{-1}$)	10^6	10^7	10^9
Energetický rozptyl (eV)	1-5	0,5-3	0,2-0,3
Životnost	50 hodin	1000 hodin	více než 12 měsíců
Vakuum (Pa)	$10^{-2} - 10^{-3}$	$10^{-4} - 10^{-5}$	$10^{-7} - 10^{-8}$
Teplota katody (°C)	2330	1530	25

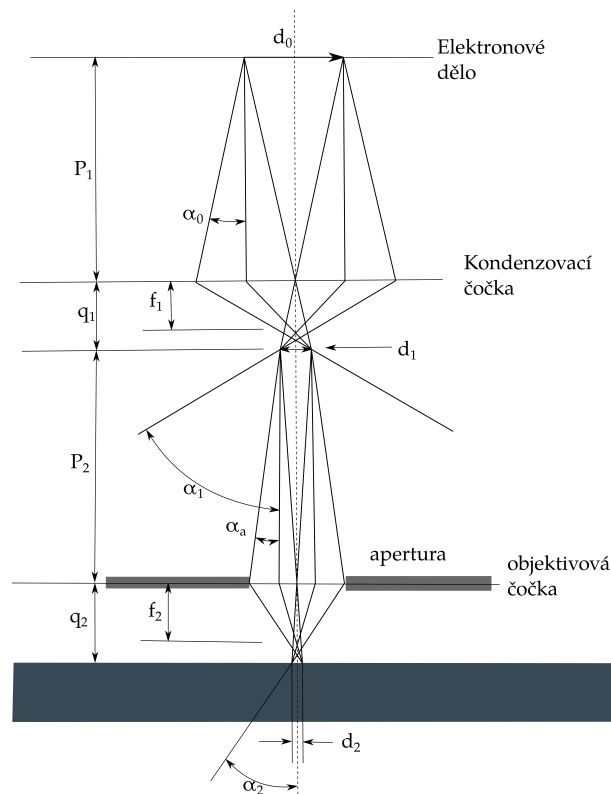
Tabulka 1 | Porovnání vlastností elektronových děl: wolframové, LaB₆ a autoemisní (převzato z [4])

Prostor kolem elektronové trysky musí být dostatečně vyvakuovaný, protože by mohlo docházet k elektrickému výboji vlivem toho, že vzduch není ideální izolant. Pro dosažení takového vakua se používá série vakuových pump: na začátku rotační olejová pumpa (do 10^{-1} Pa), dále difusní nebo turbomolekulární pumpa (do 10^{-3} Pa), nakonec iontová pumpa (do 10^{-7} Pa). Druhým důvodem pro vakuování prostoru je možnost kontaminace prostoru trysky nebo komory prachem nebo plyny kyslíku a dusíku. Vyšší tlak v komoře vede ke zhoršení rozlišení a není možné detekovat sekundární elektrony.

1.2. Tubus elektronového mikroskopu

Ke zmenšení šířky elektronového svazku vystupující z elektronového děla se používá soustava elektronových čoček, která zmenší šířku svazku pro termoemisní zdroj až $10\,000\times$ a pro autoemisní $10\times$ až $100\times$. [3] Termoemisní děla používají k fokusaci svazku elektrostatickou čočku, která se v soustavě čoček ale nepoužívá. Pro dodatečnou fokusaci svazku se používají elektromagnetické čočky, které tvoří solenoid s dostatečně homogenním magnetickým polem. Prostupující elektron je magnetickým polem fokusován spirálovým pohybem k ose čočky. Soustava zmenšovací čoček je tvořena ze dvou druhů: kondenzovací čočky, které předpřipraví svazek, zmenší šířku svazku a upraví intenzitu záření, a objektivové čočky, které fokusují svazek na povrch vzorku a upravují konečnou šířku svazku. V případě více nebo méně fokusovaného svazku dochází ke zhoršení rozlišení. Jelikož je objektivová čočka nejsilnější čočkou v mikroskopu, velký tok jde přes závity solenoidu a je potřeba čočku chladit. Objektivová čočka obsahuje skenovací cívkou, které mají za úkol pohybovat zfokusovaným svazkem ve směru souřadných os, stigmátor, snažící se doladit homogenitu magnetického pole, a korigující aperturu.

Existuje několik druhů objektivových čoček, asymetrické dírkové a kónické čočky, používané pro velké vzorky umístěné mimo čočku. Takové čočky jsou vhodné pro sběr sekundárních elektronů, protože nejsou rušeny magnetickým polem čočky. Mají výhodu v možnosti měřit velké vzorky a kvůli možnosti měnit pracovní vzdálenost, mají také velkou hloubku ostrosti. Druhou možností objektivové čočky je imerzní čočka, která vkládá vzorek přímo do čočky, tím snižuje ohniskovou vzdálenost, se kterou klesá i aberace čočky. Poskytuje nejmenší šířku svazku a nejvyšší rozlišení. Taková sestava je také schopna detekovat sekundární elektrony detektorem umístěným mimo čočku, do kterého sekundární elektrony doletí po spirálovité dráze kolem optické osy. Detektor měří jen sekundární elektrony, nikoliv zpětně odražené, které se nemají jak dostat do detektoru.



Obrázek 5 | Schéma soustavy čoček v elektronovém mikroskopu (poupraveno z [3])

Pro elektronovou optiku platí stejné zákonitosti jako pro světelnou. Například lze obdobným způsobem určit ohniskovou vzdálenost čočky pomocí vztahu:

$$D = \frac{1}{f} = \frac{1}{p} + \frac{1}{q}, \quad (5)$$

kde D je elektrooptická mohutnost čočky, f je ohnisková vzdálenost čočky, p vzdálenost objektu od středu čočky, a q vzdálenost obrazu od čočky. Obraz je obrácený, zmenšený a pro magnetické čočky zrotovaný.

Při průchodu čočkou se zmenší šířka svazku na $d = d_0/m$, kde $m = p/q$ je velikost zmenšení čočky. Tedy s rostoucí elektrooptickou mohutností po průchodu klesá šířka svazku, ale úhel svazku se zvyšuje s podobnou závislostí $\alpha_1 = \alpha_0 m$. Konvergentní úhel lze zmenšit aperturou umístěnou mezi kondenzovací a objektivovou čočku. Tato apertura redukuje výstupní úhel α_1 na α_a jak je vidět na obrázku 5. Apertura zmenšuje konvergentní úhel a s tím i spojené aberace čoček, kontroluje proud elektronového svazku a upravuje konvergentní úhel pro vyšší hloubku ostrosti. Další možnosti nastavení mikroskopu je pracovní vzdálenost WD , vzdálenost vzorku od objektivové čočky. S vyšší vzdáleností klesá rozlišení, ale roste hloubka ostrosti. Pro danou vzdálenost WD je potřeba nastavit proud protékající objektivovou čočkou. Zvýšením proudu v kondenzovací čočce zmenšíme velikost svazku a tím i proudu elektronů.

Vady čoček ovlivňují kontrast, hloubku ostrosti a rozlišení. V porovnání s klasickými skleněnými čočkami, ty používané v elektronovém mikroskopu nelze zbavit vady dodatečnými úpravami. Některé vady je potřeba brát v potaz při měření:

- Sférická aberace je jedna z vad čoček, která omezuje rozlišení elektronového mikroskopu. U této vady jsou elektrony vstupující dále od osy více fokusovány než ty, co prochází skrz osu čočky. Elektronový svazek pak není celý fokusován do jednoho bodu, ale do sférického aberačního disku. Jeho velikost je úměrná α^3 . Tuto vadu je možné korigovat zmenšením konvergentního úhlu α , který má za následek snížení proudu svazku.
- Aperturní difrakce je jev, ke kterému dochází průchodem elektronového svazku úzkou aperturou (k eliminování sférické aberace). Elektrony difraktují na šterbině podobně jako světlo. Svazek je zobrazen do Airyho disku o větším průměru než je šířka svazku. Šířka Airyho

disku je úměrná vlnové délce, ale nepřímo úměrná konvergentnímu úhlu α . Sférická aberace a aperturní difrakce jsou dva protichůdné efekty a je potřeba najít úhel α takový, který nejlépe eliminuje oba efekty.

- Chromatická aberace je jev, ke kterému dochází vlivem rozdílné energie elektronů ve svazku. To způsobuje různou fokusaci elektronů pro různé energie elektronů. Elektrony jsou pak fokusovány na disku o průměru úměrném konvergentnímu úhlu α a rozdílu energie a nepřímo střední energii elektronů. Tato chyba se koriguje zvolením adekvátního zdroje s vysokou energií elektronů a nízkým energetickým rozptylem nebo zmenšením konvergentního úhlu α .
- Astigmatismus je vada čočky, vlivem nesymetričnosti vzniklé při výrobě nebo používání mikroskopu. Tento efekt zvětšuje průměr a mění tvar zfokusovaného svazku na eliptický. Lze ji předcházet použitím stigmátoru (vložená cívka upravující magnetické pole) vloženým v tubusu elektronového mikroskopu.

1.3. Interakce svazku elektronů se vzorkem

Analytické možnosti elektronového mikroskopu jsou dány množstvím signálů, které vznikají při interakci svazku se vzorkem, díky kterým je možné měřit topografii, krystalografii, elektrický potenciál, magnetické vlastnosti a složení vzorku.[3] Interakce je možné rozdělit na dvě kategorie:

- Pružný rozptyl – Tento jev ovlivňuje trajektorii elektronu bez toho, aniž by výrazně změnil energii elektronu. Pružný rozptyl je zodpovědný za vznik zpětně odražených elektronů, využívaných při pozorování vzorku elektronovým mikroskopem.
- Nepružný rozptyl – Při srážkách elektronů se vzorkem dochází ke ztrátám energie, vedoucí ke vzniku sekundárních elektronů, Augerových elektronů, charakteristického a spojitého rentgenového záření a viditelného, infračerveného a ultrafialového záření.

1.3.1. Rozptyl elektronů

Rozptyl elektronů je interakce mezi elektronem a atomy vzorku za změny trajektorie nebo energie. Důležitou veličinou pro rozptyl je účinný průřez σ charakterizující pravděpodobnost interakce. Je definován jako:

$$\sigma = \frac{R}{NT}, \quad (6)$$

kde R je četnost interakcí, N je počet částic ve vzorku a T je tok ostřelujících částic. Účinný průřez má jednotku m^2 a charakterizuje plochu, kterou musí elektron proletět, aby došlo k interakci. Podobný význam má veličina, střední volná dráha λ , která charakterizuje průměrnou vzdálenost, po které dojde k interakci.

Pružný rozptyl

Pružný rozptyl mění směr šíření částice, ale nemění velikost rychlosti, a tedy i velikost energie. Elektron je vychýlen díky Coulombické interakci s nabitým jádrem. Vlivem interakce dvou nabitých těles se ztrácí energie menší než 1 eV, zanedbatelná k původní energii (řádově keV). Při pružném rozptylu se může elektron rozptýlit až o úhel 180° (průměrně o 2° až 5°). Účinný průřez pružného rozptylu lze popsat:

$$\sigma = 1,62 \cdot 10^{-20} \frac{Z^2}{E^2} \coth \frac{\Phi^2}{2}, \quad (7)$$

kde účinný průřez závisí na atomovém čísle atomu Z , na kterém dochází k rozptylu, energii E elektronu a úhlu rozptylu Φ . Střední volná dráha tedy roste s energií elektronu a klesá s atomovým číslem nebo úhlem rozptylu.

Nepružný rozptyl

Při nepružném rozptylu dochází k interakci s elektrony vázané v atomech vzorku. V závislosti na typu interakce dochází k úbytku energie od zanedbatelného množství (fononová excitace) až po celou energii elektronu (spojité rentgenové záření). I přes velké energetické ztráty dochází k vychýlení svazku o malý úhel (až $0,1^\circ$).

Docházet může hned k několika druhům interakcí:

- Fononová excitace - Dopad elektronů do pevné látky způsobí excitaci oscilace krystalové mřížky. Kvantum této energie je označováno jako fonon. Fononová excitace vede k zahřívání vzorku.
- Plasmonová excitace - V kovových vzorcích jsou elektrony sdíleny mezi atomy vzorku a tvoří „elektronový plyn“. Dopadající elektron vytváří vlny v elektronovém plynu. Vlivem pravidelného uspořádání atomů v kovech jsou energetické ztráty charakteristické pro dané kovy.
- Sekundární elektronové excitace - Dopadající urychlené elektrony mohou elektrony vázané ve valenčním pásu vystřelit do vodivostního pásu. Vystřelené elektrony se pak mohou pohybovat vodivým nebo polovodivým materiálem. Takové elektrony se mohou dostat na okraj vzorku, překonat povrchovou bariéru a vycestovat ven ze vzorku. Sekundární elektrony mají energii menší než 10 eV. Elektrony s energií menší než 50 eV jsou nazývány pomalé sekundární elektrony, ale elektrony s větší energií, rychlé sekundární elektrony, jsou daleko méně časté.
- Generace spojitěho rentgenového záření - Elektron může být zpomalen při průchodu Coulombickým polem a vlivem zpomalení vyzářit foton. Vyzářený foton může mít energii až celkové energie urychleného elektronu. Energetické spektrum je spojitě a nabývá hodnot od nuly do energie dopadajícího elektronu.
- Ionizace vnitřních slupek - Dopadající elektron může interagovat s elektrony ve vnitřních slupkách atomu a vystřelit elektron z atomu. Po sobě zanechá excitovaný atom s volným místem ve vnitřní slupce, která je zaplněna následně elektronem z vyšší slupky. To vede ke generaci charakteristického rentgenového záření nebo Augerovských elektronů.

Procesy pružného a nepružného rozptylu probíhají současně. Pružný rozptyl zapříčiňuje rozptyl elektronového svazku ve vzorku a nepružný rozptyl zpomaluje dopadající elektrony a limituje jejich dosah. Výsledný objem, do kterého elektronový svazek zasahuje, se nazývá interakční objem.

1.4. Interakční objem

Interakční objem lze změřit pomocí několika fyzikálně-chemických metod.[3] Například některé plasty, polymethylmethakrylát (PMMA), prochází chemickou změnou vlivem průchodu elektronového svazku. Interakční objem lze pak určit pomocí leptání, protože takto postižený materiál je k leptání náchylnější. Vlastnosti interakčního objemu:

- I přesto, že dopadající svazek má průměr menší než jeden mikrometr, dochází k interakci s materiálem v řádu několika mikrometrů.
- Intenzita ozáření svazkem je v interakčním objemu nehomogenní. Největší je v místě dopadu svazku.
- Interakční objem má charakteristický hruškovitý tvar.

Průchodem svazku materiálem dochází k útlumu energie elektronů a ke změně trajektorie. K pružnému rozptylu dochází častěji při nižších energiích elektronů, a to je důvodem hruškovitého tvaru.

Vliv energie svazku na interakční objem

Po dopadu se elektron pohybuje hlouběji do vzorku a vlivem neustálých interakcí svou energii ztrácí. Účinný průřez pružného rozptylu závisí na energii $\sigma \propto 1/E^2$. Elektrony s nižší energií jsou proto náchylnější k pružnému rozptylu a začnou se šířit do všech směrů v materiálu. Energetické ztráty jsou nepřímo závislé na energii svazku $dE/ds \propto 1/E$, tedy rychlejší elektrony se dostávají hlouběji do vzorku. Interakční objem roste s energií, ale jeho tvar se značně nemění.

Vliv protonového čísla na interakční objem

Materiál, ze kterého je vzorek složen, má vliv na interakční objem. S rostoucím protonovým číslem klesá interakční objem, a to vlivem rostoucího účinného průřezu pružných srážek se závislostí $\sigma \propto Z^2$. Ve vzorcích s vyšším protonovým číslem dochází k více pružným rozptylům, elektrony se vychylují od původního směru a dochází k menší penetraci vzorku. Tvar interakčního objemu se s rostoucím protonovým číslem mění od hruškovitého k více kulovitému tvaru.

Vliv náklonu vzorku na interakční objem

Se zvětšujícím se náklonem vzorku dochází ke zmenšování interakčního objemu a jeho tvar se stává nesymetrickým. Při nulovém náklonu se většina elektronů pohybuje ve směru elektronového svazku a pronikají hlouběji do vzorku. Při náklonu se více elektronů láme směrem k povrchu vzorku a nedochází k tak hluboké penetraci vzorku. Interakční objem při náklonu není tak hluboký, ale je širší než interakční objem bez náklonu.

1.5. Signály z pružného rozptylu

Řada signálů je generována při různých jevech v interakčním objemu. Znalost těchto signálů je potřebná k práci s elektronovým mikroskopem. Signály lze řadit podle toho, zda vznikly kvůli pružnému nebo nepružnému rozptylu. Zpětně odražené elektrony vznikají hlavně kvůli pružnému rozptylu, ale jejich vlastnosti jsou ovlivněny i nepružným rozptylem.[3]

1.5.1. Zpětně odražené elektrony (BSE - Backscattered Electrons)

Zpětně odražené elektrony vznikají při pružných srážkách ve vzorku, do kterého dopadá elektronový svazek. Většina BSE vznikne při velkém počtu srážek vychylující elektron o malý úhel, ale někdy dochází i ke vzniku BSE již při jednom rozptylu s velkým úhlem. BSE jsou početným druhem vzniklých elektronů a odebírají značnou část proudu elektronů z dopadajícího svazku. Zastoupení jevu je popsáno koeficientem zpětného rozptylu η :

$$\eta = \frac{N_{BSE}}{N_b} = \frac{i_{BSE}}{i_b}, \quad (8)$$

kde N_{BSE} je počet zpětně odražených elektronů, N_b je počet elektronů ve svazku nebo i_{BSE} je proud zpětně odražených elektronů ze vzorku a i_b je proud elektronů dopadající do vzorku. Zpětně odražené elektrony nesou důležitou informaci o vlastnostech vzorku. Tyto elektrony mohou poskytnout informaci o složení vzorku, topografii, krystalografii nebo o vnitřním magnetickém poli.

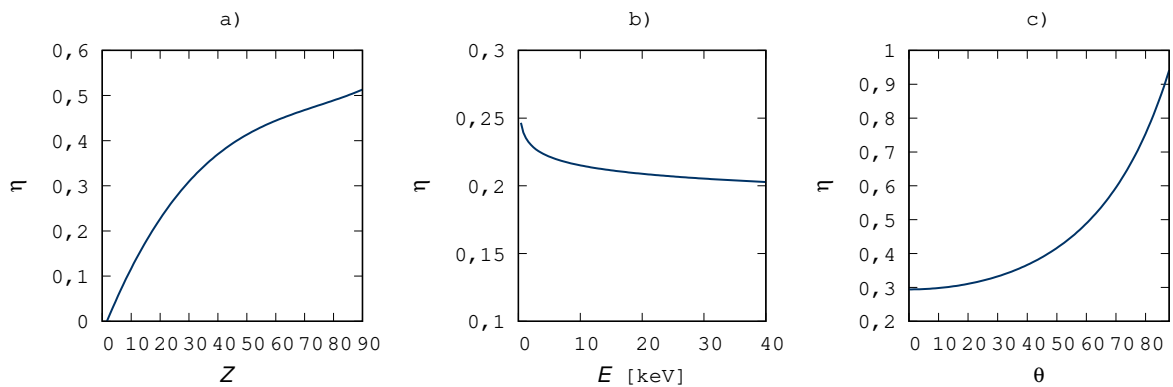
Vliv protonového čísla

S rostoucím protonovým číslem roste i počet zpětně odražených elektronů. Tato závislost je zobrazena v grafu 1a) a je z ní vidět, že tato závislost roste monotónně s protonovým číslem a způsobuje kontrast protonového čísla ve snímku (Z kontrast). Závislost je zpočátku strmá, ale s rostoucím protonovým číslem tato strmost klesá. Dochází k většímu kontrastu mezi lehčími atomy než mezi těžšími. Skutečně naměřená data neodpovídají vykreslené závislosti, hodnoty jsou více kolísavé. Vykreslená závislost v grafu 1 odpovídá nafitované rovnici:

$$\eta = -0,0254 + 0,016Z - 1,86 \cdot 10^{-4}Z^2 + 8,3 \cdot 10^{-7}Z^3. \quad (9)$$

Vliv energie svazku

Koeficient zpětného rozptylu η je téměř konstantní pro různé hodnoty energie. To je možné vidět v grafu 1b).



Graf 1

a) Závislost koeficientu zpětného rozptylu η na protonovém čísle Z vzorku podle rovnice (9) b) Závislost koeficientu zpětného rozptylu η na energii vstoupícího svazku E vykreslená pro železo c) Závislost koeficientu zpětného rozptylu η na úhlu náklonu vzorku θ vykreslená pro vzorek ze železa. (grafy vykresleny z rovnic v [3])

Vliv náklonu vzorku

Koeficient zpětného rozptylu η závisí na náklonu vzorku, závislost monotónně vzrůstá s úhlem náklonu vzorku, jak je vidět v grafu 1c). Vzrůst je zpočátku pomalý, ale roste s větším úhlem. To je zdůvodněno tím, že většina pružných rozptylů vzniká pod malým úhlem a pokud elektronový svazek vstupuje pod úhlem, je potřeba méně pružných interakcí k tomu, aby se elektron dostal ven ze vzorku.

Úhlové rozložení

Dosud bylo uvažováno o celkovém počtu elektronů vycházející ze vzorku. Dále je tedy potřeba uvažovat i o prostorovém šíření odražených elektronů. Pokud svazek dopadá kolmo na vzorek, pak v závislosti na úhlu měření je možné měřit koeficient zpětného rozptylu η :

$$\eta = \eta_n \cos \theta, \quad (10)$$

kde η_n je hodnota koeficientu zpětného rozptylu měřená ve směru normály povrchu. Pokud elektronový svazek dopadá pod velkým úhlem, rozptyl do prostoru je nesymetrický a má tendenci se šířit ve směru odrazu elektronového svazku pryč od dopadajícího svazku. Při dopadu pod malým úhlem se úhlové rozložení podobá tomu symetrickému dopadu pod nulovým úhlem.

Energetické rozložení

Elektrony při průchodu vzorkem vlivem nepružných srážek ztrácí energii okolo 10 eV/nm. Vlivem chaotických odrazů ve vzorku se jejich dráhy navzájem liší, a tedy i jejich energie. Energetický rozptyl pokrývá celé spektrum energie od nulové energie, kdy jsou elektrony zastaveny ve vzorku až po téměř energii dopadajícího svazku. Při dopadu do středně těžkých a těžkých vzorků se většina elektronů vrací s energií větší než 50 % původní energie a střední hodnota energie zpětně odražených elektronů roste s rostoucím protonovým číslem. Energetické rozložení je závislé i na dopadovém úhlu a to tak, že střední hodnota energie roste s velikostí dopadového úhlu, vlivem menšího počtu potřebných interakcí.

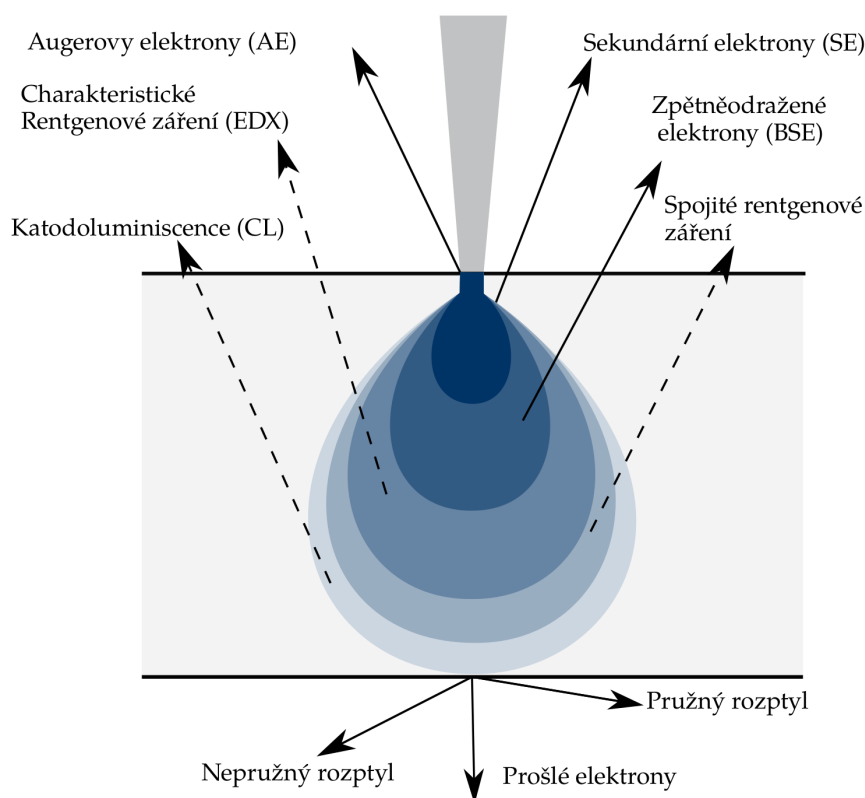
Prostorové rozložení

Elektrony podstoupí mnoho srážek předtím, než se dostanou na povrch. Vlivem toho se vynoří dále od místa dopadu. Nejvyšší pravděpodobnost výstupu elektronu je v okolí místa dopadu s tím, že pravděpodobnost se vzdáleností klesá k nule. Pro těžší prvky je rozdělení užší než pro lehké prvky. To, že elektrony mohou vystupovat dále od svazku, způsobuje nepřesnosti měření a šum. Elektrony jsou ovlivňovány průchodem skrz jednotlivé vrstvy a mohou podat informaci o jejich složení.

1.6. Signály z nepružného rozptylu

Energie, kterou elektronový svazek vnáší do vzorku, vede k vytvoření řady sekundárních procesů.[3] Některé signály důležité pro mikroskopii a analýzu (obrázek 6):

- Sekundární elektrony se spojitou energetickou distribucí
- Augerovy elektrony s charakteristickou energií
- Rentgenové záření se spojitou energetickou distribucí
- Rentgenové záření s charakteristickou energií
- Katodoluminiscence - vznik ultrafialového, viditelného nebo infračerveného záření
- Vibrace atomové mřížky (ohřívání vzorku)



Obrázek 6 | Druhy interakcí (poupraveno z <http://users.aber.ac.uk/ruw/teach/334/electron-interactions.png>)

1.6.1. Sekundární elektrony (SE - Secondary Electrons)

Sekundární elektrony jsou elektrony původem ze vzorku, které jsou vlivem nepružných srážek vystřeleny ven. Tyto elektrony mají několikanásobně menší energii než odražené elektrony (50 eV). Zastoupení sekundárních elektronů popisuje koeficient sekundárních elektronů δ :

$$\delta = \frac{N_{SE}}{N_B} = \frac{i_{SE}}{i_B}, \quad (11)$$

kde N_{SE} je počet sekundárních elektronů vystupujících ze vzorku, N_B je počet elektronů bombardujících vzorek a podobně i_{SE} je proud sekundárních elektronů vystupujících ze vzorku a i_B je proud elektronů do vzorku.

Energetické rozložení

Sekundární elektrony vznikají interakcí urychlených elektronů a slabě vázaných elektronů okupující vodivostní pás u kovů nebo valenční pás polovodičů a izolantů. I přes velký energetický rozdíl elektronů je předána jen malá část kinetické energie sekundárnímu elektronu. Energetická distribuce je kvůli tomu úzká a nabývá maxima při malých energiích, 2 – 5 eV.

Závislost na složení vzorku

V porovnání s odraženými elektrony, kdy jejich závislost na protonovém čísle vzorku Z byla monotónně rostoucí funkce, je závislost koeficientu sekundárních elektronů δ na protonovém čísle relativně neměnná funkce. Koeficient nabývá hodnoty při klasických podmínkách okolo 0,1, ale existují dvě zajímavé výjimky, a to uhlík s malou hodnotou 0,05 a zlato s velkou hodnotou 0,2. Ke změně koeficientu dochází při snížení intenzity svazku, dochází k výraznému růstu koeficientu sekundárních elektronů. Tuto závislost koeficientu SE ovlivňuje i mnoho dalších parametrů, a to například typ molekulových vazeb, příměsi v polovodičích nebo orientace krystalové mřížky.

Závislost na energii svazku

Koeficient sekundárních elektronů δ klesá s rostoucí energií svazku. To může být vysvětleno tím, že elektrony se s vyšší energií dostávají hlouběji do vzorku a s jejich nízkou energií nejsou schopné se dostat zpět na povrch. Pro popis veškerých emitovaných elektronů je použit koeficient $\eta + \delta$. Tento koeficient roste s klesající energií svazku do energie E_2 , kdy $\eta + \delta$ je roven jedné. Dále nabývá koeficient $\eta + \delta$ maxima. Jeho hodnota pro některé izolanty může dosahovat hodnoty 5 až 20. Hodnota koeficientu následně prudce klesá s klesající energií k energii E_1 , kde je $\eta + \delta$ znovu rovna 1. Znalost závislosti $\eta + \delta$ a energie E_2 je důležitá pro pozorování nevodivých vzorků.

Závislost na náklonu vzorku

Produkce sekundárních elektronů roste s rostoucím náklonem vzorku podle rovnice:

$$\delta = \frac{\delta_0}{\cos \theta}, \quad (12)$$

kde δ_0 je koeficient sekundárních elektronů při nulovém náklonu a θ úhel náklonu vzorku. Tato závislost lze popsat tím, že existuje vzdálenost R_0 od povrchu vzorku, ze které všechny sekundární elektrony uniknou ze vzorku. Náklonem se zvětšuje vzdálenost R , do které se elektrony mohou dostat, aby mohly uniknout ze vzorku k povrchu vzdálenost R_0 . R roste s úhlem se závislostí $\frac{R_0}{\cos \theta}$, generace sekundárních elektronů je úměrná vzdálenosti, kterou urazí a tedy s rostoucím úhlem roste koeficient sekundárních elektronů. Pro energie menší než E_2 rovnice 12 neplatí.

Úhlové rozložení

Úhlové rozložení sekundárních elektronů se podobá rozložení zpětně odražených elektronů. Je popsáno podobnou rovnicí jako pro odražené elektrony (10) :

$$\delta = \delta_n \cos \theta, \quad (13)$$

kde δ_n je koeficient sekundárních elektronů při měření výstupu elektronů ve směru normály povrchu. Chování sekundárních elektronů se však liší při náklonu vzorku. Na rozdíl od asymetrického chování pro odražené elektrony, úhlové rozložení sekundárních elektronů nezávisí na náklonu vzorku. Jediné co roste s náklonem vzorku, je tedy počet částic, nikoliv úhlové rozložení.

Dosah a úniková hloubka sekundárních elektronů

Charakteristickou vlastností sekundárních elektronů je mělká hloubka materiálu, o které podávají informaci. Ta je způsobena jejich malou energií. Sekundární elektrony jsou tlumeny nepružnými srážkami a pro průchod ven ze vzorku musí překonat povrchovou bariéru (řádově několik eV). Pravděpodobnost úniku ze vzorku p z hloubky z je popsána:

$$p = e^{-\frac{z}{\lambda}}, \quad (14)$$

kde λ je střední dráha sekundárního elektronu. Maximální hloubka, ze které je možné měřit, se udává 5λ (pro kovy 5 nm, pro izolanty 50 nm). Vyšší hodnota hloubky pro izolanty je způsobena tím, že sekundární elektrony jsou hlavně brzděny nepružnými interakcemi s vodivostními elektrony. Funkce pravděpodobnosti (14) má strmý průběh a v porovnání s funkcí pro odražené elektrony má asi stokrát menší hodnotu při klasickém napětí 10 - 30 kV.

Sekundární elektrony nejsou produkovány jen v objemu, o kterém podávají informaci, ale jsou tvořeny v celém interakčním objemu, ale jen ty vyprodukované v hloubce, ze které se dostanou na povrch, je možné měřit. Tyto elektrony mohou vznikat dvěma způsoby:

1. Sekundární elektron je vyprodukován v hloubce do 5λ . Tento elektron pochází z malého objemu a je nazýván SE_I .
2. Elektron prochází vzorkem jako zpětně odražený elektron a při vynořování vytvoří sekundární elektron v hloubce 5λ , SE_{II} elektrony. Tím že je vytvořen odraženým elektronem, má SE_{II} elektron obdobnou distribuci polohy výstupu elektronu ze vzorku nebo hloubky, do které se elektron dostal. Takový elektron pochází z daleko většího objemu.

Koeficient sekundárních elektronů δ lze zapsat jako příspěvek SE_I a SE_{II} elektronů:

$$\delta = \delta_I + \eta\delta_{II}, \quad (15)$$

kde δ_I a δ_{II} jsou koeficienty sekundárních elektronů pro SE_I a SE_{II} elektrony. Generace SE_I elektronů je oslabena vlivem ztrátivosti η . Koeficienty δ_I a δ_{II} nejsou stejně velké, podíl SE_I/SE_{II} se pohybuje kolem 3-4. To je způsobeno tím, že zpětně odražené elektrony jsou lepší v produkci sekundárních elektronů než ty přímo dopadající. SE_{II} elektrony jsou při klasickém napětí, 10 kV, a nulovém náklonu generovány jen ve vzdálenosti 5λ . Zpětně odražené elektrony se pohybují ve vzorku pod úhlem a tím i po delší dráze. To má za následek vyšší generaci sekundárních elektronů. Také odražené elektrony mají nižší energii než ty, co vstupují do vzorku, a to má za následek jednodušší předání kinetické energie mezi elektrony a větší množství vygenerovaných sekundárních elektronů. Ve vzorcích s nízkou atomovou hmotností, jako uhlík a hliník, převládá generace SE_I elektronů, pro středně těžké prvky je generace vyrovnaná a pro těžké prvky, například zlato, převládá SE_{II} generace.

2. Současný stav problematiky elektronové mikroskopie

Kromě klasických technik elektronové mikroskopie využívající sekundární elektrony k zobrazení topografie vzorku, zpětně odražených elektronů ke zjištění prvkového kontrastu nebo charakteristické rentgenové záření pro získání informace o prvkovém složení, jsou používány specializované techniky, které využívají jiný signál z interakce elektronů, speciální podmínky v komoře nebo jiných částic než elektronů.

Pro maximální zvětšení je používán transmisní elektronový mikroskop s ultravysokým rozlišením (UHRTEM)[6] s vysokým, pro TEM typickým, napětím (200 kV) a autoemisní tryskou. UHRTEM je schopen subangstromových rozlišení, až 50 pm,[7] a je vhodný pro studium vlastností materiálu na atomární úrovni, například tranzistorů nebo nanočástic.

Pro pozorování nevodivých a nestandardních vzorků lze použít například skenovací elektronový mikroskop FEI NanoSEM [6] využívající technologii nízkého vakua zabraňující nabíjení vzorků a Schottkyho diodu [8], který poskytuje vysoké rozlišení i při nízkém urychlovacím napětí, a je ideální pro měření nanočástic a prášků, nanotrubiček, nanodrátů a organických vzorků. Organické vzorky mohou být pozorovány v jejich přirozeném stavu tak, že je v komoře možné měnit teplotu a vlhkost. Tímto lze pozorovat dynamické procesy tavení, krystalizace materiálu nebo klíčení semínek rostlin. [4]

Další technikou pro pozorování biologických vzorků je Cryo-SEM. Umožňuje pozorovat vzorky ve zmrzlém (stabilním) stavu. Vhodné pro měření vlhkých vzorků, tuků, vosků, léčiv nebo nanočástic. [4]

Pro simultánní zpracování vzorku a jeho pozorování je použito FIB-SEM elektronového mikroskopu, který používá iontový (FIB - focused ion beam) a elektronový svazek (SEM). Klasický SEM poskytuje informaci ve vysokém rozlišení o stavu vzorku a iontový svazek umožňuje modifikaci nebo snímání vzorku. Při zobrazování vznikají sekundární elektrony, které nesou informaci o krystalografické orientaci, a sekundární ionty, zobrazující rozdílné chemické složení. Ionty s vyšší energií odpráskávají atomy z povrchu vzorku a nahrazují je iontem. Tato metoda se používá k cílenému fyzikálnímu leptání. FIB je možné použít například pro testování integrovaných obvodů, k přerušování nebo znovu navazování vodivých spojů pomocí iontové depozice, kdy iontový svazek rozloží plyn obsahující kov a kovová vrstva ulpí na vzorku v místě skenování.[9] FIB je často používán k přípravě vzorků pro transmisivní elektronový mikroskop. Díky jeho přesnosti je možné zaměřit se jen na hranu zrna nebo defekt materiálu, například při analýze chyb integrovaných obvodů. Jsou používány galliové ionty, které poskytují velkou přesnost požadovaného procesu, nebo xenonová plasma, která je vhodná pro rychlé a nepřesné procesy.[10] FIB je možné použít také k určení 3D struktury vzorku do větší než mikronové hloubky. Iontový svazek postupně odstraňuje tenké vrstvy vzorku, to je pozorováno pomocí SEM a obraz je zrekonstruován do 3D modelu. Kryo-elektronová tomografie byla použita pro zkoumání viru eboly nebo procesu vzniku neurodegenerativních onemocnění, vzniklých akumulací proteinových agregátů. Možnost studie proteinů a virů v molekulárním rozlišení a 3D modelu, vrhlo na tyto onemocnění a jejich léčbu nové světlo.[11]

Skenovací elektronová mikroskopie je často používána pro charakterizaci nanočástic: jejich tvar, velikost a shlukování. Pro maximální rozlišení se používá skenovací elektronová mikroskopie s vysokým rozlišením (HRSEM) využívající autoemisní elektronový zdroj v ultravysokém vakuu a detektoru sekundárních elektronů uvnitř soustavy čoček pro velmi nízké pracovní vzdálenosti. Nová technika heliové iontové mikroskopie (HIM), využívající urychlené heliové ionty k produkci sekundárních elektronů a zpětně odražených helií, je výhodná kvůli jejímu vysokému rozlišení (0,29 nm). Pro zobrazení kovových jader nanočástic je vhodná SEM technika, ale pro pozorování obalových slupek je lepší HIM. Šířku slupky lze určit pomocí pořízených snímků sekundárních elektronů a zpětně odražených iontů. Šířku lze zjistit také z porovnání snímků SEM s vysokým a nízkým urychlovacím napětím. [12]

3. Experimentální část



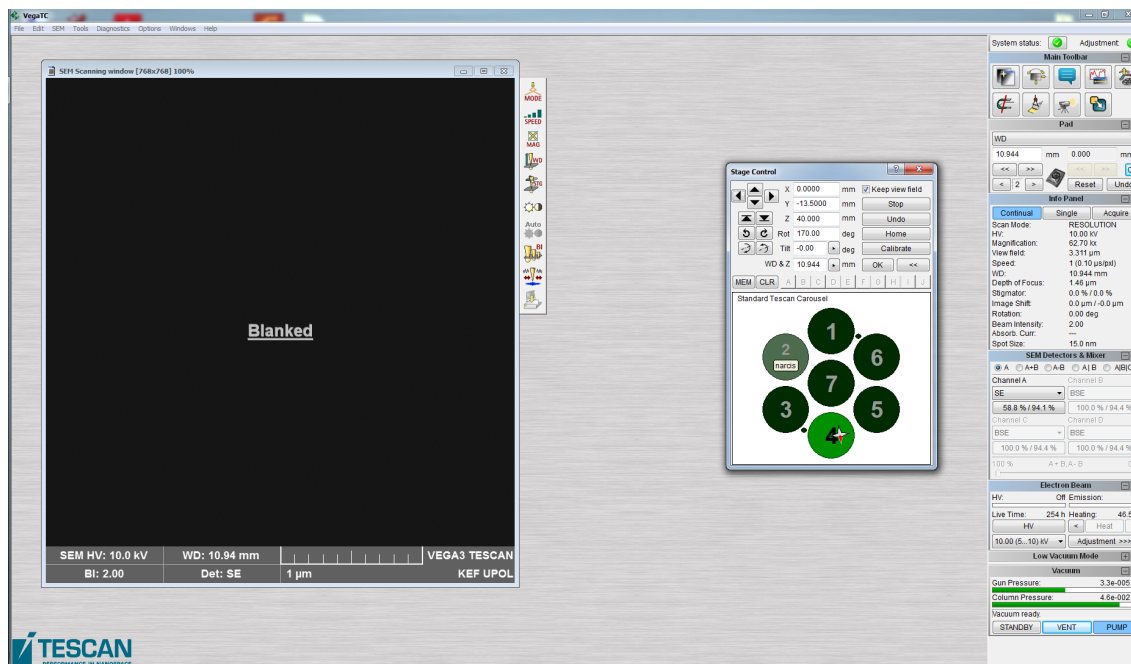
Obrázek 7 | Skenovací elektronový mikroskop Tescan Vega 3 LMU (převzato z https://www.tescan.com/getattachment/content/Gallery/Technology/SEM/VEGA3/VEGA3/N02_1918.jpg.aspx?width=1100)

Pro měření byl použit skenovací elektronový mikroskop Tescan Vega 3 LMU. Jeho snímek je zobrazen na obrázku 7. Jako zdroj může být použit LaB_6 nebo wolfram. Zpočátku mikroskop používal LaB_6 , ale kvůli nestabilitě a poruchovosti zařízení byl namontován wolframový termoemisní zdroj. Systém disponuje zabudovaným SE detektorem, vysunovatelným BSE detektorem a přídatným detektorem charakteristického rentgenového záření Brucker XFlash Detector 410-M. Dále obsahuje pikoampérmetr pro měření absorbovaného proudu, TouchAlarm signalizující dotyk stolku nebo vzorku se stěnou komory a infrakameru pro náhled do komory. Vzduch je odčerpáván sérií vývěv. Začíná rotační olejovou vývěvou, pokračuje turbomolekulární a končí iontovou vývěvou, která se stará o vakuum pro katodu a udržuje ho na hodnotě kolem $3,3 \cdot 10^{-5}$ Pa. Prostor v komoře mikroskopu je udržován na hodnotě tlaku $4,6 \cdot 10^{-2}$ Pa. Tělo mikroskopu je pneumaticky chráněno před vibracemi z okolí. Mikroskop je ovládán programem VegaTC běžícím na počítači s Windows. Mikroskop je ovládán klávesnicí, myší nebo trackballem.[13]

Vzorek byl přilepen ke kovovému nosiči pomocí adhezivní a vodivé uhlíkové pásky a pro dosažení nižší pracovní vzdálenosti byl použit nástavec pro vyvýšení vzorku.

Mikroskop byl ovládán ze studentského účtu, který má omezené možnosti nastavení, ale i z účtu supervisor s maximální možností ovládání mikroskopu, pro výměnu stolku nebo jiné studentovi nedostupné funkce. Ovládání běží ve dvou režimech: EasySEM™, kompletně zjednodušený režim ovládání mikroskopu vhodný pro prvotní práce s mikroskopem, a manuální režim s možností plného ovládání (prostředí programu na obrázku 8). Mikroskop umožňuje několik módů, vhodných pro různé aplikace. Mód WIDE FIELD umožňuje zobrazit velké pole, téměř celý stojan vzorků a je vhodný pro rychlou orientaci mezi vzorky. Mód Resolution nabízí nastavení pro maximální možné rozlišení a mód Depth je vhodný pro zobrazení větších vzorků s velkou hloubkou ostrosti. Dalšími důležitými nastavitelnými parametry jsou: urychlovací napětí HV, udávající energii elektronů, zvětšení, nastavitelné od $50\times$ do $500\,000\times$, pracovní vzdálenost WD, rychlost měření, intenzita svazku BI, parametry posuvu a rotace stolku a nastavení stigmátorů pro korekci vad.

Pro prvotní analýzu vzorku byl použit optický mikroskop Keyence VHX-5000 se zvětšením od $500\times$ do $5000\times$. Digitální mikroskop má velkou hloubku ostrosti díky následnému zpracování obrazu v programu a možnost vytvoření 3D modelu pozorovaného vzorku.[14]



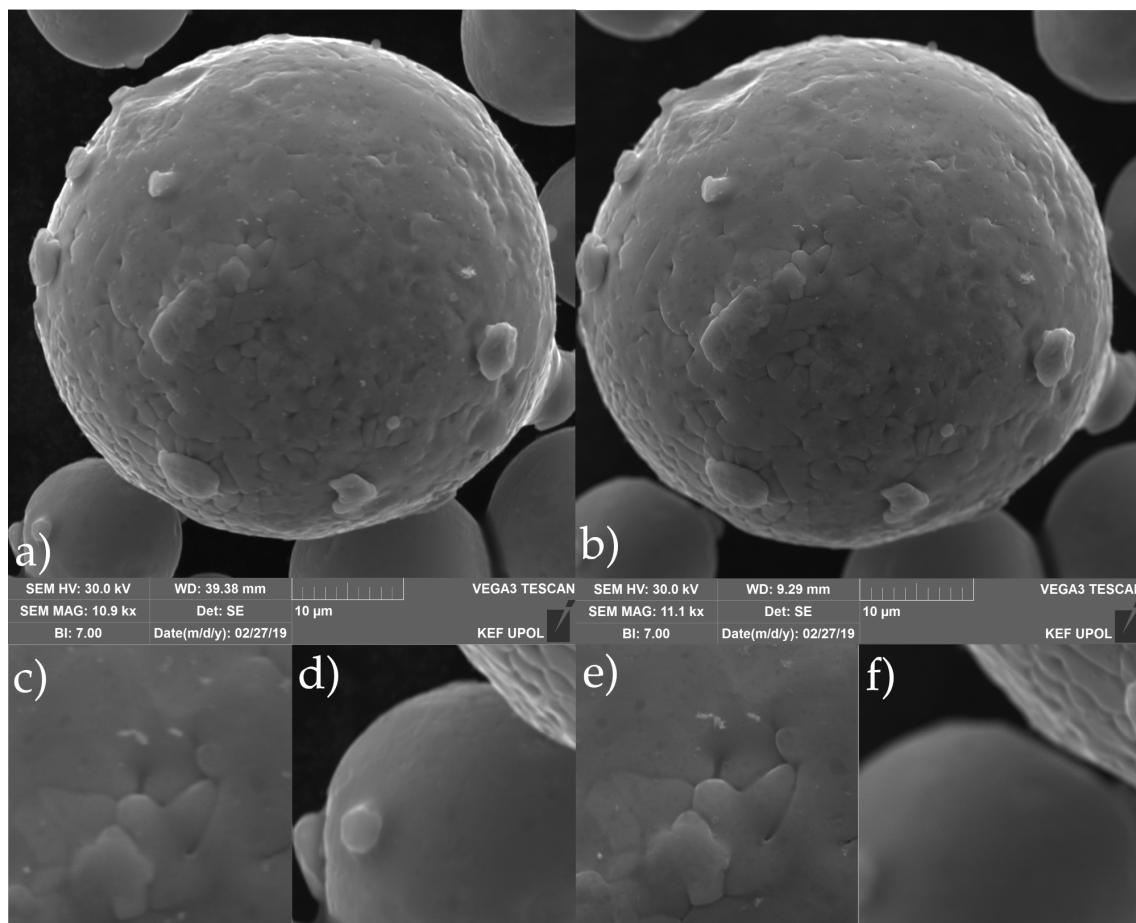
Obrázek 8 | Prostředí programu VegaTC ovládající skenovací elektronový mikroskop Tescan Vega 3 LMU

Jako vzorky byly použity:

- vodivý kovový prášek CL 20ES - Kovová slitina používaná pro laserový 3D tisk kovových modelů.
- NaCl - Pomletá kuchyňská sůl byla použita pro demonstraci použití EDX detektoru právě kvůli jejímu jednoduchému chemickému složení.
- kancelářský papír - Použitý pro ukázkou nabíjení vzorku v oblasti skenování.
- pyly - Ze zástupců nevodivých biologických vzorků byly použity pyly ze smetánky lékařské, sedmikrásky chudobky, narcisu žlutého, tulipánu a prvosenky bezlodyžné.
- semeno máku setého - Mák byl použit při měření za nízkého urychlovacího napětí.
- hmyz - Jako další biologický vzorek byly použity šupinky z křídel a hlava zavíječe moučného, svlečka třesavky sekáčovitě, křídlo a noha mouchy domácí a i celé tělo vosy obecné pokryté tenkou vrstvou zlata.
- nanočástice - Byly pozorovány uhlíkové nanotrubičky, vzniklé vstříkáním kapalných uhlodíků do rozehřáté pece za přítomnosti katalyzátoru.

4. Výsledky a diskuze

4.1. Kovový prášek CL 20ES

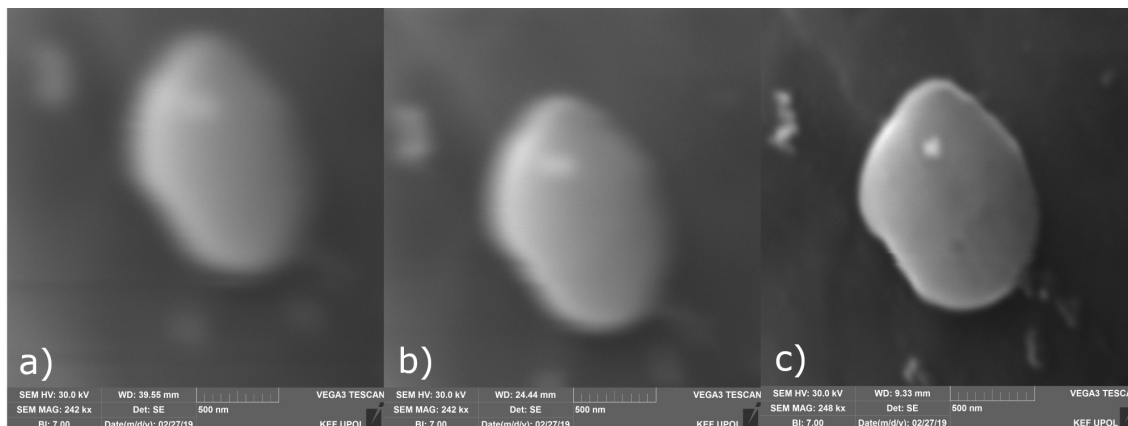


Obrázek 9 | Porovnání dvou snímků kovového prášku CL 20ES při dvou různých pracovních vzdálenostech a) pracovní vzdálenost 39,38 mm b) pracovní vzdálenost 9,29 mm c) detail popředí prvního obrázku d) detail pozadí prvního obrázku e) detail popředí druhého obrázku f) detail pozadí druhého obrázku

Snímek na obrázku 9 byl pořízen svazkem o intenzitě 7 elektrony urychlenými napětím 30 kV se zvětšením 11 000×. Obrázek 9a) byl pořízen s pracovní vzdáleností 39,38 mm a snímek b) se vzdáleností 9,29 mm.

Obrázek 9 je jasným příkladem závislosti pracovní vzdálenosti na rozlišení a hloubce ostrosti. Pro nejlepší rozlišení je potřeba udržovat nízkou pracovní vzdálenost, a to asi od 3 do 6 mm. Při nižší pracovní vzdálenosti by byly vystupující elektrony stíněny a signál by byl slabý. Příliš velká pracovní vzdálenost vede k rozšíření šířky stopy a zhoršení rozlišení. Na obrázku 9a) je zobrazen kovový prášek CL 20ES s pracovní vzdáleností 39,38 mm. Tato velká vzdálenost vedla k šířce stopy 157 nm a tím i zhoršení rozlišení. Detail povrchu částice je vidět na obrázku 9c). Na obrázku 9b) je ta stejná částice nasnímána s pracovní vzdáleností 9,29 mm. Šířka stopy 54,4 nm vedla k daleko lepšímu rozlišení, jak je vidět na obrázku 9e).

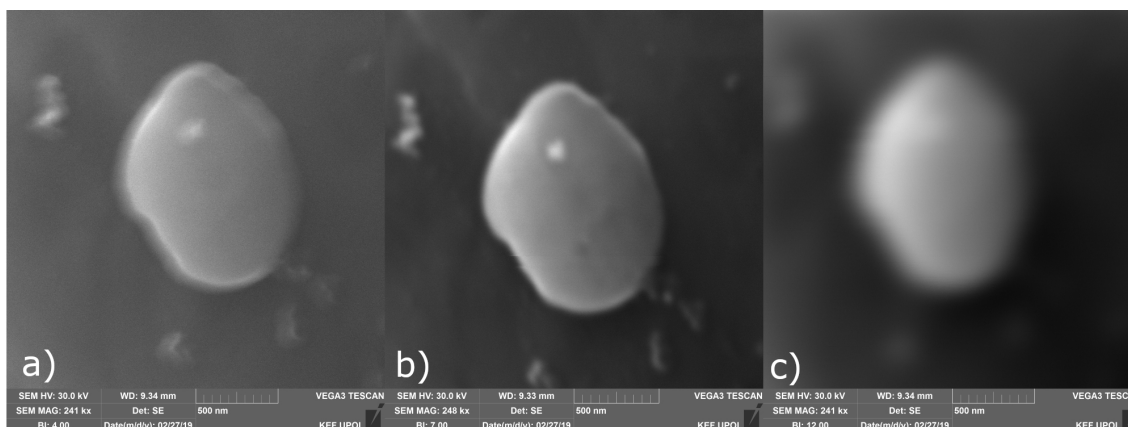
Opačný vliv má pracovní vzdálenost na hloubku ostrosti obrázku. Velká pracovní vzdálenost znamená velkou hloubku ostrosti a obrázek se pak jeví zaostřený celý. To je vidět na pozadí snímku, které je na obrázku 9d). S nízkou pracovní vzdáleností se pozadí jeví rozmazané vlivem velkého konvergentního úhlu svazku dopadajícího na vzorek. Šířka stopy se pak s rostoucí hloubkou zvětšuje rychle a způsobuje rozmazané pozadí, jak je vidět na obrázku 9f).



Obrázek 10 | Závislost kvality obrazu na pracovní vzdálenosti při měření CL 20ES (zvětšení 242 000 \times , HV 30 kV, BI 7) a) pracovní vzdálenost 39,55 mm b) pracovní vzdálenost 24,44 mm c) pracovní vzdálenost 9,33 mm

Snímek na obrázku 10 byl pořízen svazkem o intenzitě 7 a urychlený napětím 30 kV se zvětšením 242 000 \times . Obrázek 10a) byl pořízen s pracovní vzdáleností 39,55 mm vedoucí k šířce stopy 157,9 nm a absorbovanému proudu 108,4 pA. Snímek b) byl vytvořen ve vzdálenosti 24,44 mm, která vedla k šířce stopy 106,1 nm a proudu 112,5 pA. Poslední měření bylo provedeno v pracovní vzdálenosti 9,33 mm. To vedlo k šířce stopy 54,5 nm a absorbovanému proudu 106 pA.

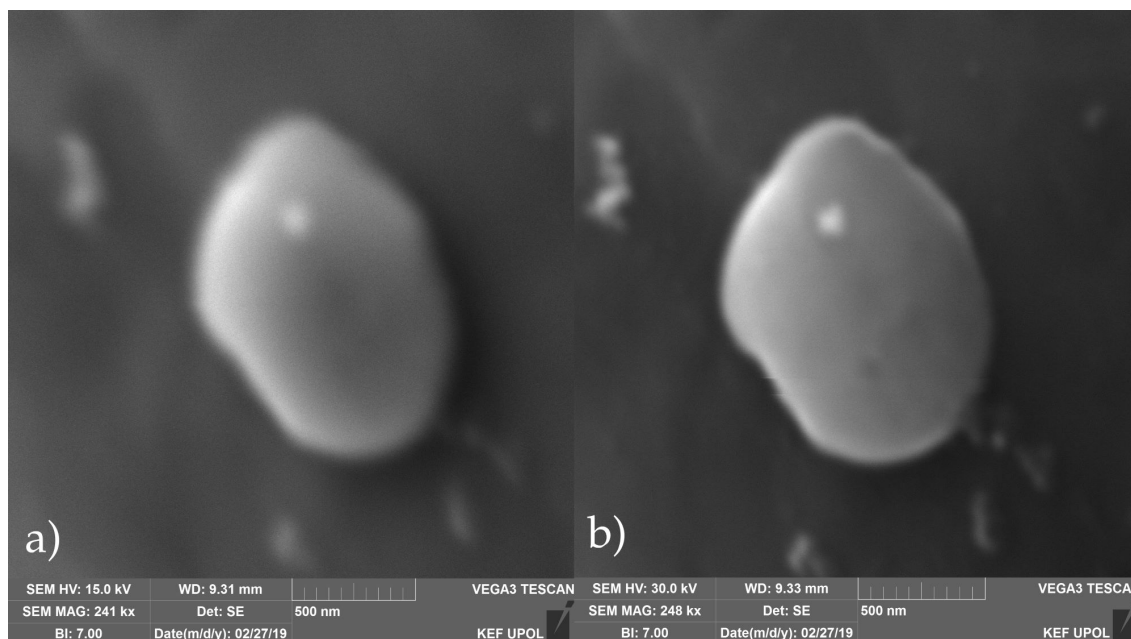
Velký rozdíl zobrazení viditelný na obrázku 10 je způsoben různou velikostí pracovní vzdálenosti. První snímek pořízený při pracovní vzdálenosti 39,55 mm se jeví nepřehledný a rozmazaný. To je způsobeno použitím příliš velké pracovní vzdálenosti, vedoucí k velké šířce stopy 157,9 nm. Taková šířka je nevhodná k pozorování objektu velikosti řádově 500 nm. Na druhém obrázku je objekt podobně rozmazaný vlivem použité velké pracovní vzdálenosti 24,44 mm. Při takové vzdálenosti nedokáže soustava čoček zfokusovat svazek do tenkého svazku a vytváří stopu na vzorku o velikosti 106,1 nm. Při měření s pracovní vzdáleností 9,33 mm je obraz nejostřejší díky nejnižší šířce stopy 54,5 nm. Pro ještě lepší rozlišení mohl být vzorek pozorován s pracovní vzdáleností 4 - 6 mm, která by přinesla ještě nižší šířku stopy v kombinaci s dostatečným množstvím detekovaných elektronů.



Obrázek 11 | Závislost kvality obrazu na intenzitě svazku při měření CL 20ES (zvětšení 241 000 \times , HV 30 kV, WD 9,34 mm) a) intenzita svazku 4 b) intenzita svazku 7 c) intenzita svazku 12

Snímek na obrázku 11 byl pořízen svazkem urychlujícím napětím 30 kV při pracovní vzdálenosti 9,34 mm se zvětšením 241 000 \times . Obrázek 11a) byl pořízen intenzitou svazku 4 vedoucí k šířce stopy 21,5 nm a absorbovanému proudu 18,7 pA. Snímek b) byl vytvořen s intenzitou 7, což vedlo k šířce stopy 54,5 nm a proudu 106 pA. Poslední měření bylo provedeno s intenzitou 12. To vedlo k šířce stopy 167,9 nm, ale absorbovanému proudu 1356 pA.

Rozdílná kvalita obrázku 11 je způsobena různou hodnotou intenzity svazku. Snímek 11a) je rozostřený vlivem nízkého detekčního signálu, způsobeného nízkou intenzitou svazku 4. Nízká



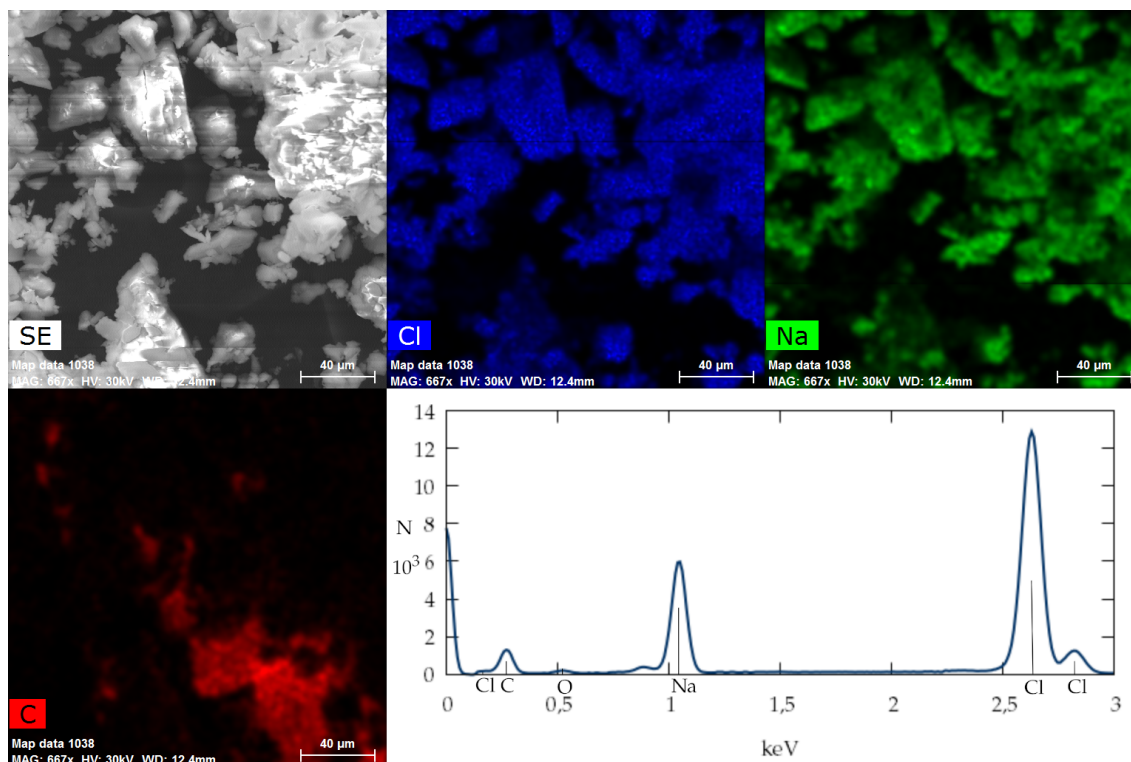
Obrázek 12 | Závislost rozlišení obrazu vzorku kovového prášku CL 20ES na urychlujícím napětí a) urychlující napětí 15 kV b) urychlující napětí 30 kV

intenzita vedla k nejnižší šířce stopy 21,5 nm, ale vlivem nízkého detekovaného signálu se jeví zašuměný. Pro lepší snímek při nízkých intenzitách nebo slabém detekovaném signálu je potřeba použít delší čas detekce. Pomalé měření může být vlivem teploty nebo elektrostatického pole narušeno. Obrázek 11c) je nejvíce rozmazaný a není z něj poznat, co je pozorováno. Příliš velká intenzita svazku 12 má za následek vysokou hodnotu šířky stopy 167,9 nm, kterým nelze pozorovat objekt velikosti 500 nm. Takové nastavení intenzity svazku není vhodné pro daný typ vzorku. Obrázek 11b) se jeví nejostřejší z měřených vzorků, a to vlivem dobré kombinace úzké stopy svazku 54,5 nm a dostatečného množství detekovaného signálu. Je tedy vždy na operátorovi mikroskopu, aby našel správnou kombinaci intenzity svazku a doby měření k dosažení nejlepšího výsledku.

Snímek na obrázku 12 byl pořízen svazkem o intenzitě 7. Obrázek 12a) byl pořízen pomocí urychlujícího napětí 15 kV při pracovní vzdálenosti 9,31 mm se zvětšením 241 000 \times a snímek b) s napětím 30 kV při pracovní vzdálenosti 9,33 mm a zvětšením 248 000 \times .

Rozdílnost obrazů je způsobena různým urychlujícím napětím a to 15 kV a 30 kV. Materiál CL 20ES je vodivým materiálem, tedy nedochází k nabíjení vzorku. Proto bylo použito i vysoké napětí 30 kV, které bychom pro nevodivé vzorky nemohli použít. Oba snímky byly zobrazeny při srovnatelné pracovní vzdálenosti. Pro lepší rozlišení mohla být použita nižší pracovní vzdálenost, 4 - 6 mm. Viditelný rozdíl kvality obrazu je způsoben různým urychlujícím napětím, které mělo za následek změnu šířky svazku dopadajícího na vzorek. Urychlující napětí 30 kV vytvořilo šířku stopy 54,54 nm, ale nižší napětí 15 kV mělo šířku stopy nepatrně větší, 59 nm, což vedlo k nepatrnému zhoršení kvality obrazu. Hlavní příčinou zhoršení kvality bylo různé množství detekovaného signálu. Absorbovaný proud při nízkém napětí dosahoval hodnoty 19 pA, ale vyšší napětí 30 kV produkovalo proud 106 pA. To je způsobeno vyšší energií elektronů, ty se dostávají hlouběji do vzorku a nejsou schopny se vrátit na povrch.

4.2. EDX



Obrázek 13 | Mapa prvkového složení a spektrum kuchyňské soli (NaCl) na uhlíkové podložce (měřeno pomocí EDX)

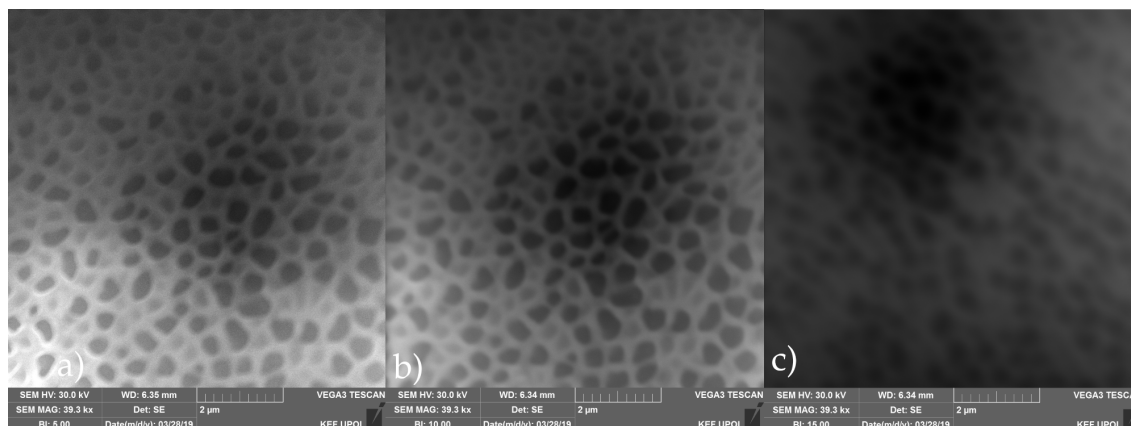
Snímek na obrázku 13 byl pořízen detektorem sekundárních elektronů a externím detektorem EDX Brucker pro prvkovou analýzu při pracovní vzdálenosti 12,4 mm svazkem o intenzitě 14 se zvětšením 667 \times . První snímek SE zobrazuje náhled na vzorek pomocí klasického zobrazení elektronovým mikroskopem. Z něho je patrné nabíjení vzorku, který je dielektrikem. Snímky C, Cl a Na pořízené pomocí detektoru EDX zobrazují mapu prvkového složení uhlíku, chlóru a sodíku. Z rozboru spektra vyplynulo složení zobrazené oblasti: 54,1 % uhlíku, 5,7 % kyslíku, 19,4 % sodíku a 20,8 % chlóru. Naměřené údaje označují hmotnostní zastoupení.

Při měření detektorem EDX pro prvkovou analýzu se používá jiné nastavení mikroskopu než pro klasické zobrazování. Je potřeba vyšší pracovní vzdálenost, aby mohlo docházet k efektivní detekci signálu detektorem umístěným v horní části komory. Dále je potřeba použít urychlovací napětí větší než 5 kV (pro těžší prvky vyšší napětí)[15] a větší intenzitu svazku k dostatečnému množství detekovaného signálu. IR kamera, umožňující pohled do komory, musí být při měření vypnutá. Příliš ovlivňuje detekci rentgenového záření. Pro měření je potřeba externího programu ovládající EDX detektor, ve kterém je potřeba změřit spektrum záření vystupující ze zobrazované oblasti (spektrum na obrázku 13). Z píků naměřeného spektra je možné určit nejčastější prvky obsažené ve vzorku. Nejčastější nebo hledané prvky je následně možné zobrazit mapovacím režimem zobrazující plošné rozložení prvků.

Na obrázku 13 SE jsou vidět nadrcené krystalky kuchyňské soli (NaCl) nalepené na uhlíkové podložce. Snímek C zobrazuje prosvítající stopu uhlíkové pásky, která není pokryta solí. Na pásce překryté solí téměř nedochází k produkci rentgenového záření vlivem stínění krystaly. Na snímku Cl a Na jsou viditelné signály chlóru a sodíku vycházející z krystalků soli, prozrazující chemické složení zobrazovaných krystalů. Krystaly kuchyňské soli byly vybrány kvůli jejich relativní chemické čistotě a absenci uhlíku v tomto vzorku.

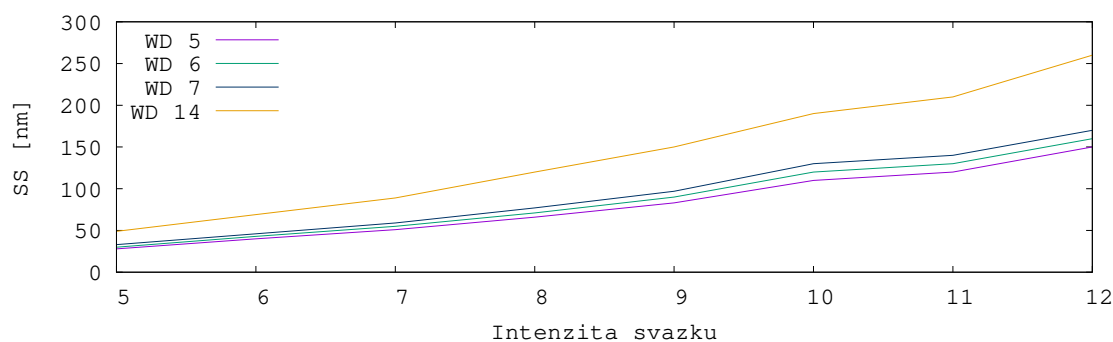
Již ze spektra z měřené oblasti je patrné zastoupení jednotlivých prvků ve vzorku. Pro velké množství naměřených hodnot v oblasti chlóru a sodíku je potřeba ale uvažovat korekci na protonové číslo, absorpci a fluorescenci. A tedy i přes malý pík uhlíku, je nejvíce zastoupeným prvkem ve vzorku.

4.3. Pyly



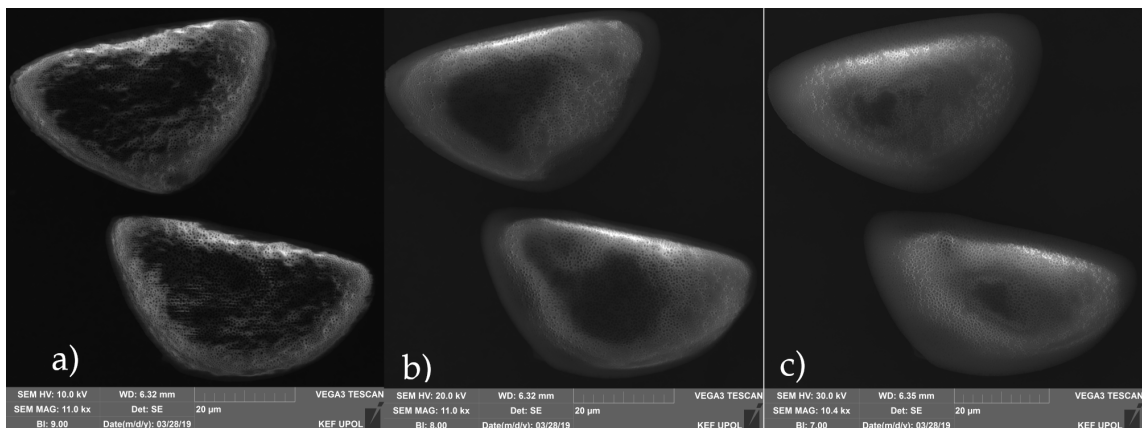
Obrázek 14 | Vliv intenzity svazku na kvalitu snímku při měření nevodivého vzorku pylu narcisu žlutého (zvětšení 39 300 \times , HV 30 kV, WD 6,34 mm) a) intenzita svazku 5 b) intenzita svazku 10 c) intenzita svazku 15

Snímek na obrázku 14 byl pořízen při pracovní vzdálenosti 6,34 mm svazkem urychlený napětím 30 kV se zvětšením 39 300 \times . Obrázek 14a) byl pořízen intenzitou svazku 5, absorboval proud 57 pA a šířka stopy byla 23,6 nm. Snímek b) byl pořízen intenzitou svazku 10, která způsobila šířku stopy 104,6 nm, a absorboval proud 786 pA. Nakonec snímek c) byl pořízen intenzitou svazku 15, absorboval proud 12 nA a šířka stopy byla 243,4 nm. Na obrázku 14 je vidět závislost kvality obrazu na intenzitě svazku pro nevodivé biologické vzorky. Snímek a) má dobrou kvalitu, ale při bližším pohledu je zašuměný vlivem nízkého signálu. Díky nejnižší intenzitě 5 využívá nejmenší šířku stopy 23,6 nm, vhodnou pro vysoké rozlišení. Nízký signál lze kompenzovat časem měření, ale pak může docházet k nabíjení vzorku nebo k jeho pohybu. Snímek b) využívá vyšší množství zaznamenaného signálu vlivem vyšší intenzity svazku 10 a širší stopy 104 nm. Šířka stopy je sice velká, ale přináší dostatečně silný signál. Snímek c) byl pořízen s intenzitou svazku 15 vedoucí k velmi vysoké šířce stopy 243,4 nm, která není vhodná pro pozorování oblasti velikosti 9 μm . Velké množství detekovaných elektronů je v tomto případě zbytečné.



Graf 2 | Závislost velikosti stopy SS na intenzitě svazku a na pracovní vzdálenosti WD.

Na vzorku pylu narcisu byla proměřena řada nastavení intenzit svazku a pracovních vzdáleností. Výsledná závislost je zobrazena v grafu 2. Z této závislosti je vidět, že pro nejlepší rozlišení je vhodná nízká pracovní vzdálenost a intenzita svazku. Pro měření na obrázku 14 bylo vhodné použít ještě o trochu nižší pracovní vzdálenost a intenzitu nižší než 10 pro nižší šířku stopy nebo intenzitu 5 a prodloužit čas měření. Tato možnost zvyšuje nabíjení vzorku, které lze zmírnit změnou urychlovacího napětí.



Obrázek 15 | Vliv urychlovacího napětí na kvalitu snímku při měření nevodivého vzorku pylu narcisu žlutého (zvětšení 11 000×, WD 6,32 mm) a) urychlovací napětí 10 kV b) urychlovací napětí 20 kV c) urychlovací napětí 30 kV

Snímky na obrázku 15 byly pořízeny při pracovní vzdálenosti 6,32 mm a se zvětšením 11 000×. Obrázek 15a) byl pořízen pomocí urychlovacího napětí 10 kV, intenzitou svazku 9 vedoucí k šířce stopy 91,7 nm. Snímek 15b) byl pořízen s urychlovacím napětím 20 kV a intenzitou svazku 8 produkující šířku stopy 58,8 nm. Fotografie 15c) byla pořízena intenzitou svazku 7 a urychlovacího napětí 30 kV vedoucí k šířce stopy 44,5 nm. Velikost zrnka pylu je $56 \mu\text{m} \times 34 \mu\text{m}$.

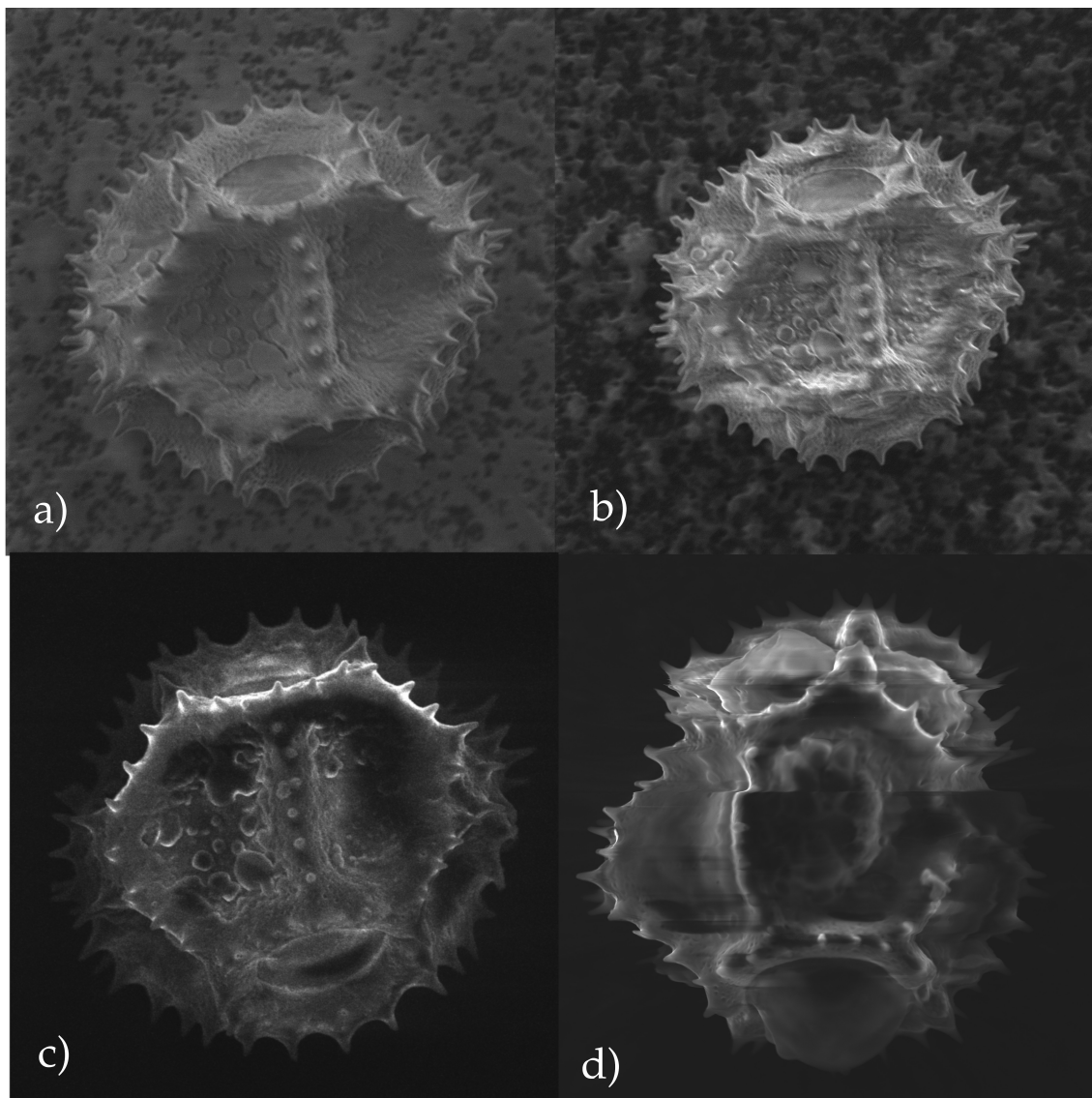
Snímek 15a) byl pořízen pomocí urychlovacího napětí 30 kV a intenzity 9. Tato kombinace vedla k nejvyšší šířce stopy 91,7 nm. Ke zhoršení rozlišení nedošlo vlivem malého zvětšení vzorku. Nižší napětí mělo za následek to, že se vzorek tolik nenabíjel, jak je vidět na dalších snímcích. Obrázek b) byl vytvořen urychlovacím napětím 20 kV a intenzitou 8 vedoucí k šířce stopy 58,8 nm. Vyšší napětí vedlo k nabíjení vzorku v některých částech, ale i k nižší šířce stopy. Šířka stopy na obrázku 15 byla sice nejnižší, 44,5 nm, vhodná pro dobré rozlišení, ale vysoké napětí způsobilo nabíjení vzorku, které má za následek zhoršení rozlišení.

Nabíjení vzorku a šířka stopy jsou pro nevodivé vzorky v závislosti na urychlujícím napětí dva protichůdné parametry, které je potřeba vhodným způsobem vyřešit.

Snímky na obrázku 16 byly pořízeny v pracovní vzdálenosti 6,16 mm se zvětšením 16 700×. Obrázek 16a) byl pořízen urychlovacím napětím 1,5 kV s intenzitou svazku 6 vedoucí k šířce elektronové stopy 81 nm. Snímek 16b) využil urychlovacího napětí 3 kV a intenzitu 5, která měla za následek šířku stopy 49 nm. Pro obrázek 16c) bylo použito napětí 6 kV, intenzita svazku 6 a šířka stopy 53 nm. Snímek 16d) byl pořízen s urychlovacím napětím 10 kV, intenzitou svazku 6 a šířkou stopy 42,8 nm.

Snímky na obrázku 16 byly vytvořeny urychlovacím napětím nižším než 10 kV, aby nedocházelo k nabíjení vzorku. Snímek a) byl pořízen při urychlovacím napětí 1,5 kV, které vzorek nenabíjí, ale šířka stopy je pak vysoká (81 nm) a signál sekundárních elektronů je slabý. To bylo možné nahradit delší dobou detekce, protože se vzorek nenabíjel a nepohyboval. Snímek b) byl vytvořen s urychlovacím napětím 3 kV. Vyšší napětí přineslo užší stopu a silnější signál. Vlivem nabíjení už nebyla na některých místech vidět jemná struktura povrchu. Naopak nabíjení způsobilo větší kontrast v topografii vzorku. Snímek c) byl pořízen urychlovacím napětím 6 kV. Úzká šířka stopy a silnější signál začal být přehlušován nabíjením vzorku, které se projevuje na hranách vzorku. Vlivem nabíjení došlo dokonce k pohybu vzorku. Proto byl snímek vytvořen s daleko větší rychlostí, aby nedocházelo k jeho rozmazání nebo k chybám způsobených nabíjením. Snímek d) nebylo málem možné ani vytvořit, právě kvůli vysokému urychlovacímu napětí 10 kV. Nejmenší šířka stopy 42,8 nm neměla vliv na dobré rozlišení, vlivem přílišného nabíjení vzorku. Při měření s malou rychlostí byl obraz vždy rozmazaný vlivem pohybu vzorku, proto byl měřen s velkou rychlostí. Jemná struktura povrchu viditelná na obrázku 16a) je přehlušena nabíjením vzorku.

Malé vzorky, které se rychle nabíjejí, je tedy dobré měřit s velmi nízkým urychlovacím napětím. Je potřebné vyhnout se nabíjení i přes vyšší šířku stopy. S tímto napětím, ale nelze provádět spektrální prvkovou analýzu.

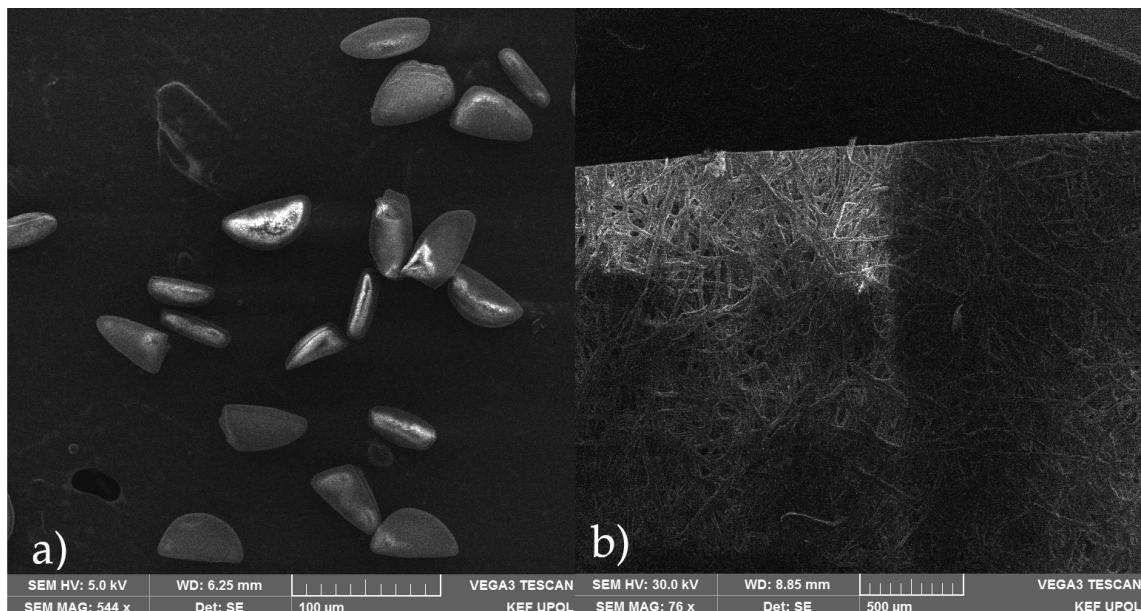


Obrázek 16 | Vliv urychlovacího napětí na kvalitu snímku při měření nevodivého vzorku pylu smetánky lékařské (zvětšení 16 700 \times , WD 6,16 mm) a) urychlovací napětí 1,5 kV b) urychlovací napětí 3 kV c) urychlovací napětí 6 kV d) urychlovací napětí 10 kV

4.4. Nabíjení vzorků

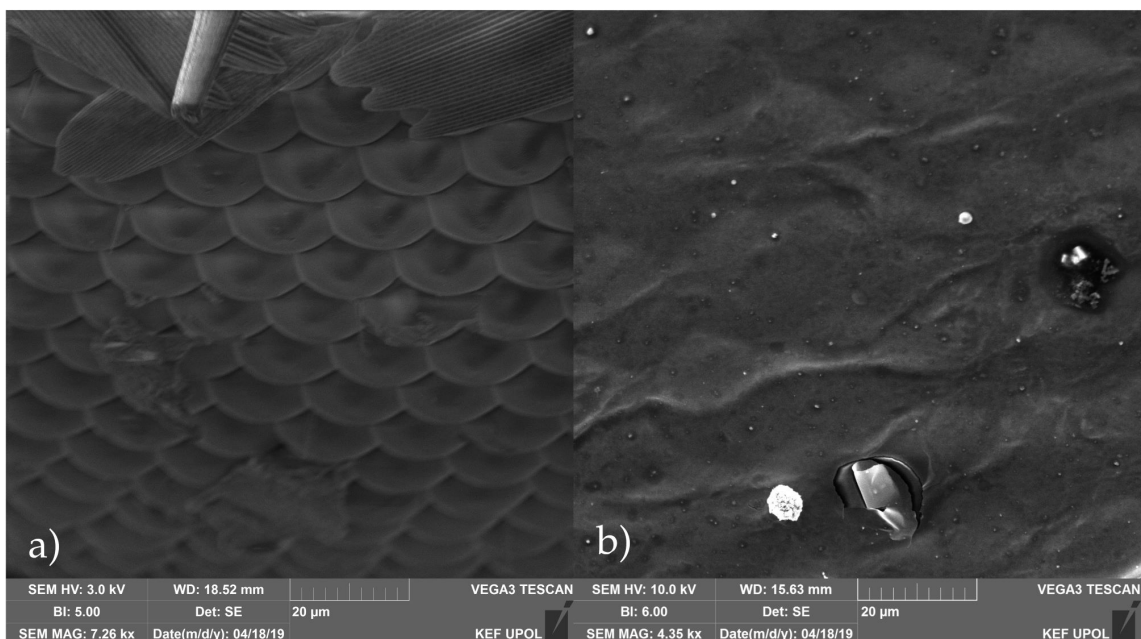
Snímek nabíjecího se pylu narcisu (obrázek 17a)) byl pořízen v pracovní vzdálenosti 6,25 mm urychlovacím napětím 5 kV s intenzitou svazku 6 a se zvětšením 544 \times . Obrázek papíru byl pořízen elektronovým svazkem o intenzitě 4 v pracovní vzdálenosti 8,85 mm urychlený napětím 30 kV.

Snímky na obrázku 17b) byly pořízeny tak, že po měření v dané oblasti urychlovacím napětím, které způsobovalo nabíjení vzorku, bylo měření pozastaveno (přepnuto do režimu single, který proskenuje danou oblast jen jednou) a obraz byl oddálen, jak to bylo v případě prvního vzorku, nebo byl vzorek papíru posunut o kousek doleva. Snímek byl pak okamžitě vytvořen, aby nedošlo k vybití vzorku. Je vidět, že nabitě části vzorku vypadají na snímcích z elektronového mikroskopu jinak než nenabitě. Nabíjení přehlušuje jemné detaily v topografii vzorku a někdy znemožňuje měření vlivem pohybu částí vzorku. Náboj se ve vzorku hromadí na hranách, a proto vlivem nabíjení dochází ke zvýraznění topografie vzorku. Příliš velký náboj vytvoří zář kolem vzorku a je znatelný jen jeho obrys.



Obrázek 17 | Nabíjení nevodivých vzorků a) Zářící zrnka pylu narcisu nacházející se v oblasti mikroskopie b) Ozářená oblast listu papíru

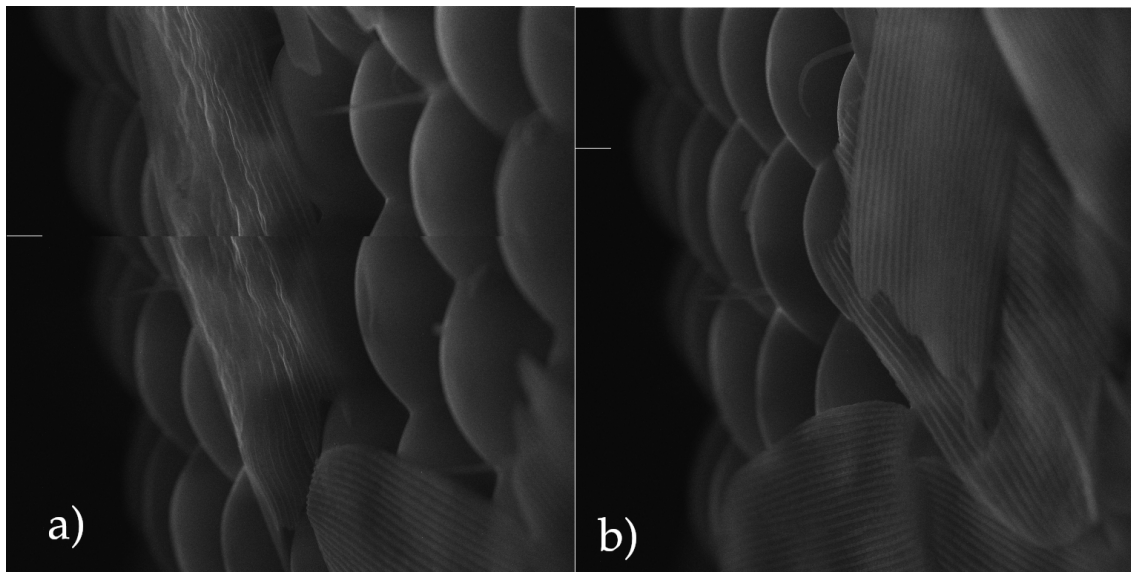
Detail oka zavíječe moučného na obrázku 18a) byl pořízen elektronovým svazkem urychlený napětím 3 kV o intenzitě 5 ve vzdálenosti 18,52 mm. Šířka elektronové stopy byla 96 nm. Obraz je zvětšen 7 260 \times . Obrázek vosy 18b) byl pořízen urychlovacím napětím 10 kV intenzitou 6 ve vzdálenosti 15,63 mm se zvětšením 4 350 \times . Toto nastavení vedlo k šířce stopy 74 nm. Vosa je potažena asi 10 nm tlustou vrstvou zlata, která byla vytvořena plazmovou naprašovačkou. Pro vyšší hloubku ostrosti snímku byla použita vyšší pracovní vzdálenost.



Obrázek 18 | Porovnání snímků: a) nepokovených očí zavíječe moučného a b) pozlacené očí vosy obecné

Na snímku 18a) je dobře znatelná šestiúhelníková struktura oka zavíječe moučného. Pro jeho zobrazení bylo použito nízké urychlovací napětí, aby se zabránilo nabíjení vzorku nebo elektrostatickým pohybům (takové pohyby jsou zaznamenány na obrázku 19). Nízké napětí vedlo k vyšší šířce stopy svazku. Oko vosy na obrázku 18b) bylo pozlacené, aby se zabránilo nabíjení vzorku. Díky tomu mohlo být použito vyšší napětí při zobrazování vzorku, a tedy i nižší šířka stopy. Další

výhodou pozlaceného vzorku bylo to, že nebyl kontaminován šupinkami z křídel zavíječe, které se při měření lepily na zobrazovanou oblast. Oko vosy není tak prostorově členité, natožpak s nanesenou zlatou vrstvou. Je viditelné zvlnění povrchu a na některých místech vrstva i chybí (světlé části vlivem nabíjení).



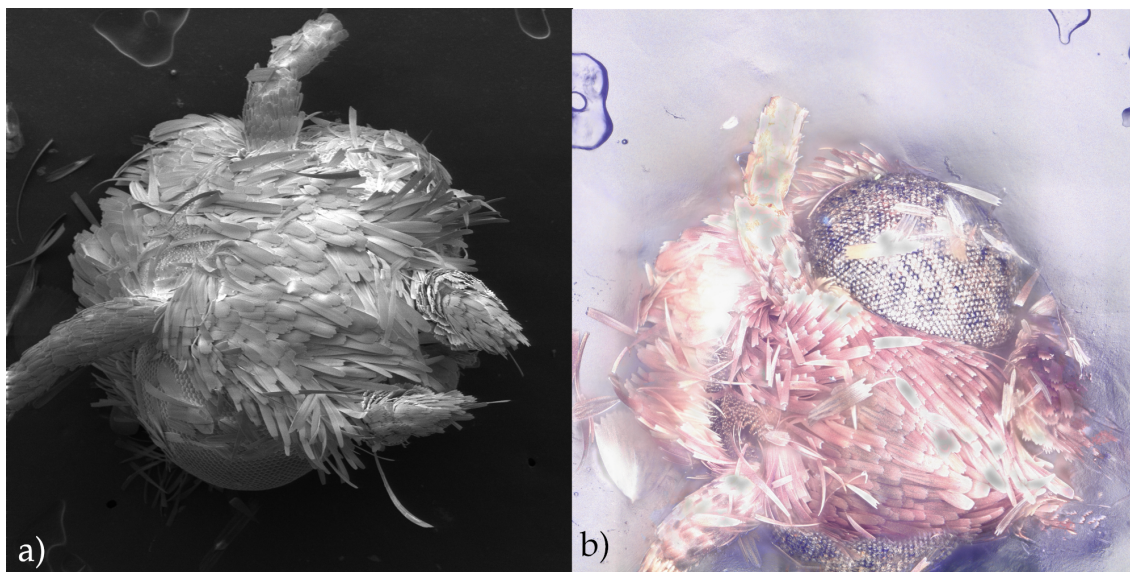
Obrázek 19 | Detail oka zavíječe moučného a) Vzorek zachycený při počátku měření
b) Vzorek zachycený po delší době měření

Vzorek na obrázku 19 byl pořízen vysokým napětím 30 kV v pracovní vzdálenosti 9,3 mm s intenzitou svazku 4. Šířka stopy dosahovala velikosti 21,5 nm. Obraz je zvětšen 4660 \times .

Mikroskop byl zaostřen na čistou část oka zavíječe. Kvůli nabíjení pozorované části vzorku docházelo k pohybu šupinek (velikost 250 μm) vlivem elektrostatických sil. V kontinuálním režimu měření bylo vidět, jak se šupinky pomalu pohybovaly ve směru ozářené oblasti. Šupinky zakryly pozorovanou oblast a zabránily měření. Nebylo možné měřit dlouho na jednom místě, obraz byl pak rozmazaný.

Nízké urychlovací napětí zabránilo pohybu šupinek (použité pro snímek 18), nedocházelo tolik k nabíjení vzorku. Další možností je šupinky odstranit stlačeným dusíkem, který se používá k vyvakuování komory nebo k její čišťení. Tato metoda by byla vhodná jen pro pozorování očí, protože by byl zbytek vzorku poničen. Možností je také vzorek pokovit. Zabrání se tak nabíjení vzorku a šupinky jsou vrstvou upevněny na místě.

4.5. Porovnání skenovacího elektronového mikroskopu a optického mikroskopu



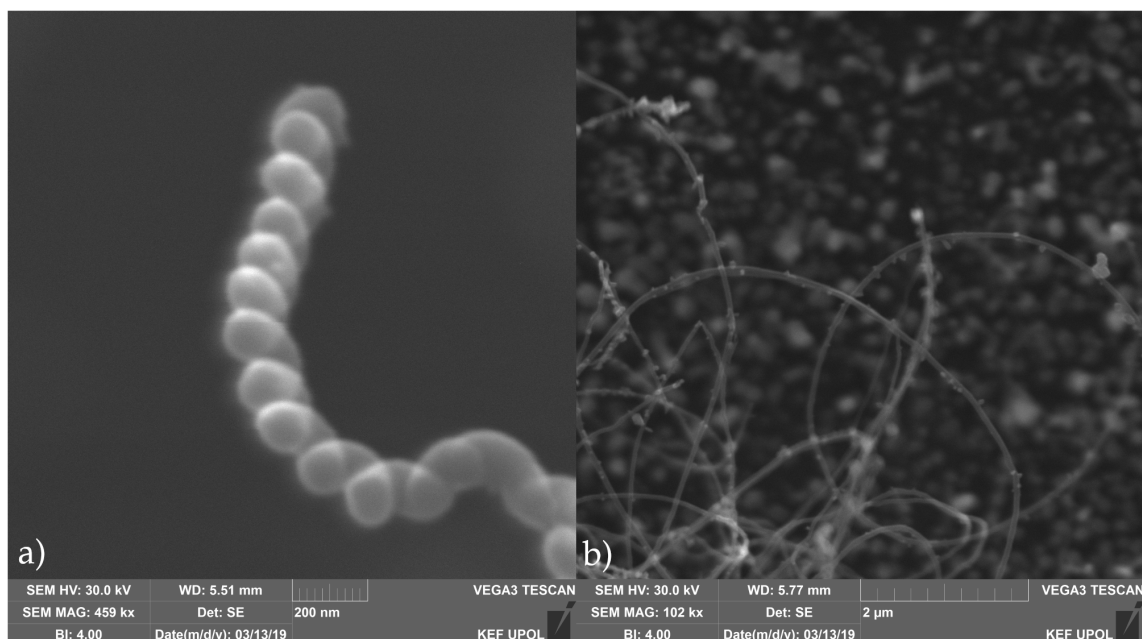
Obrázek 20 | Porovnání snímku hlavy zavíječe moučného a) snímek z elektronového mikroskopu b) snímek z optického mikroskopu

Snímek zavíječe byl vytvořen elektronovým svazkem urychlený napětím 3 kV při pracovní vzdálenosti 17,9 mm s intenzitou 8. Šířka dopadajícího svazku byla 645 nm. Snímek je zvětšen 280 \times . Druhý snímek je z optického mikroskopu Keyence. Ten byl vytvořen pomocí režimu s velkou hloubkou ostrosti, díky několikanásobnému nasnímání vzorku s různou pracovní vzdáleností.

První rozdíl mezi elektronovou a světelnou mikroskopií je zřejmý. Světelná mikroskopie zobrazuje barvy, tak jak je vidí lidské oko, naopak snímky z elektronového mikroskopu jsou černobílé. Světelný mikroskop byl jednodušší na ovládání a práce s ním byla daleko rychlejší. U elektronového mikroskopu bylo potřeba nastavit mnoho vzájemně provázaných parametrů. Většinou bylo pořízeno několik testovacích snímků před hlavním měřením, které občas dopadlo ještě hůře. Optická mikroskopie se zkomplikovala a zpomalila při vytváření 3D modelu vzorku, kdy mikroskop vytvářel snímky pro několik ohniskových vzdáleností a dále je spojoval pro zmapování větší oblasti. Vlivem tohoto komplikovaného procesu je snímek také trojrozměrný, ale jeho kvalita a ostrost je horší než z elektronového mikroskopu. To je způsobeno tím, že elektronový mikroskop má velkou hloubku ostrosti a stačí mu na fotografii jeden snímek. Optická mikroskopie kompenzuje malou hloubku ostrosti vytvořením mnoha snímků a jejich zkombinováním. Vytvoření jednoho snímku je rychlé, ale u elektronového mikroskopu lze rychlostí nastavit kvalitu pořizovaného snímku. To je způsobeno tím, že elektronová mikroskopie detekuje v jednom okamžiku informaci o malém kousku vzorku a optická detekuje v jednom okamžiku informaci o celém vzorku.

Pro měření elektronovým mikroskopem jsou kladeny speciální podmínky. Vzorek je třeba vystavit vakuu a měl by být ideálně vodivý. Vzorek pro optickou mikroskopii takové požadavky splňovat nemusí. Vzorek může být kompletně nevodivý a může být vlhký nebo být přímo umístěn v roztoku. Limitem optického mikroskopu je jeho maximální zvětšení. Optický mikroskop Keyence měl rozsah zvětšení od 500 \times do 5000 \times . Skenovací elektronový mikroskop Vega 3 má však zvětšení až 500 000 \times .

4.6. Uhlíkové nanotrubičky



Obrázek 21 | Uhlíkové nanotrubičky a) zakroucená trubička vzniklá za teploty 700 °C a tlaku 1 bar b) nanotrubičky vzniklé za teploty 800 °C a tlaku 0,5 bar

Uhlíkové nanotrubičky zobrazené na obrázku 21 byly vytvořeny kolegyní v rámci její bakalářské práce. Syntéza kapalných uhlovodíků s železo obsahujícím katalyzátorem byla prováděna v peci za vysokých teplot a různých tlaků. Na obrázku 21a) je spirálovitě zkroucená uhlíková nanotrubička připravená při 700 °C a tlaku 1 bar. Její snímek byl vytvořen urychlovacím napětím 30 kV v pracovní vzdálenosti 5,51 mm intenzitou svazku 4 se zvětšením 459 000×. Šířka stopy byla 16 nm. Průměr této trubičky se pohybuje kolem (156 ± 9) nm. Nanotrubičky na obrázku 21b) byly připraveny za teploty 800 °C a tlaku 0,5 bar. Snímek byl pořízen intenzitou svazku 4 při pracovní vzdálenosti 5,77 mm urychlovacím napětím 30 kV se zvětšením 102 000×. Šířka stopy byla 17 nm. Trubičky mají průměr (55 ± 5) nm.

Pro pozorování nanočástic nebo nanotrubiček je potřeba jiného nastavení mikroskopu než pro biologické vzorky. Pro tento mikroskop není jednoduché zobrazovat nanočástice, a proto je potřeba vyladit nastavení mikroskopu pro maximální rozlišení (minimální šířku stopy). Mikroskop musí být v režimu RESOLUTION, urychlovací napětí je potřeba vysoké, i přes možnost nabíjení vzorků. Pracovní vzdálenost je potřeba nízká, ale tak aby nebyla zacláněna detekce, a intenzita svazku co nejmenší. Intenzita a rychlost měření musí být v dobrém poměru, aby obraz nebyl zašuměný nebo rozmazaný.

Na snímku a) se povedlo zobrazit s téměř maximálním zvětšením mikroskopu konec jedné z nanotrubiček. Při dané teplotě 700 °C a tlaku 1 bar vznikly, narozdíl od ostatních vzorků, trubičky zakroucené.

Na obrázku b) je zobrazen shluk uhlíkových nanotrubiček z dávky za teploty 800 °C a tlaku 0,5 bar. Ty jsou naopak tenké a dlouhé. Navíc je na jejich povrchu, a hlavně na koncích nanotrubiček, možno vidět zbytky železoobsahujícího katalyzátoru.

Závěr

Cílem bakalářské práce bylo naučit se ovládat skenovací elektronový mikroskop Tescan Vega 3 LMU a v experimentální části práce se zaměřit zejména na analýzy nevodivých a nestandardních vzorků. Součástí toho byla teoretická příprava zaměřená na popis interakce primárního svazku se vzorkem a obsluhu skenovacího elektronového mikroskopu.

V teoretické části je popsána stavba skenovacího elektronového mikroskopu a jeho komponent, dále jsou uvedeny vzniklé signály po dopadu elektronového svazku a detailně popsán vznik sekundárních elektronů a zpětně odražených elektronů. V experimentální části jsou uvedeny parametry mikroskopu Tescan Vega 3 LMU, popsány funkce programu VegaTC ovládající mikroskop a vypsány všechny vzorky, které byly použity pro měření. V části výsledky a diskuze jsou naměřené snímky diskutovány a na příkladech porovnány vlivy vstupních parametrů na kvalitu snímku.

Pracovní vzdálenost WD (vzdálenost mezi zaostřenou rovinou vzorku a objektivovou čočkou) má velký vliv na rozlišení mikroskopie. Nízké pracovní vzdálenosti jsou vždy používány pro vyšší rozlišení (větší parametr konvergentního úhlu), naopak větší pracovní vzdálenosti umožňují vyšší hloubku ostrosti a zobrazení celého vzorku. Dalším důležitým parametrem je urychlovací napětí HV, které udává energii elektronovému svazku, a tím i ovlivňuje interakční objem nebo nabíjení vzorku. Vysoká urychlovací napětí vedou k malým šířkám elektronového svazku potřebných pro dobré rozlišení. Při nízkých napětích nedochází tolik k zachytávání elektronu ve vzorku a tím i jeho nabíjení. Intenzita svazku BI určuje množství dopadajících elektronů. Pro vznik kvalitního obrazu je potřeba dostatečný počet elektronů, ale jejich velký počet vede k vyšší šířce stopy a většímu nabíjení vzorku. Naopak nízká intenzita vede k nedostatečné detekci a obraz je zašuměný. V neposlední řadě nastavení os stigmátorů upravující tvar svazku vede ke zlepšení kvality snímku.

I přes jednoduché vztahy mezi jednotlivými veličinami, je kvůli jejich velké provázanosti a propletenosti nemožné sestavit univerzální pracovní postup pro používání skenovacího elektronového mikroskopu, hlavně pro nevodivé vzorky, kvůli nabíjení, nebo příliš malé vzorky, typu nanočástic, u kterých byl mikroskop použit na hraně svých možností. A proto pro jednotlivé aplikace, je potřeba použít speciální nastavení mikroskopu.

Zobrazování vodivých vzorků je nejjednodušší. Může být nastavena libovolná hodnota urychlovacího napětí, intenzity nebo pracovní vzdálenosti. Pro maximální rozlišení bylo použito při měření kovového prášku CL 20ES vysoké urychlovací napětí, malá pracovní vzdálenost a středně velká intenzita svazku.

Pro prvkovou analýzu je naopak potřeba vyšší pracovní vzdálenosti, aby docházelo k efektivní detekci, a IR kamera, sloužící k náhledu do komory, musí být vypnutá. Urychlovací napětí musí být vyšší, aby energie dopadajících elektronů byla $2\times$ až $3\times$ větší než charakteristická energie rentgenového záření měřených prvků.

Při měření nevodivých vzorků je potřeba vyladit efekt nabíjení vzorku, šířku stopy a intenzitu signálu. Pro minimalizaci efektu nabíjení je třeba volit nízké urychlovací napětí (elektrony se nedostávají hluboko do vzorku a mohou uniknout) a nízkou intenzitou svazku (dopadá méně elektronů, které mohou způsobit nabíjení). Nabíjení také způsobuje dlouhý čas měření. Výsledné nastavení vede ke slabému signálu a je tedy potřeba najít optimální nastavení urychlovacího napětí, intenzity svazku a rychlosti měření.

Pro pozorování nanočástic bylo potřebné nastavení vedoucí k nejnižší šířce stopy. To bylo docíleno nastavením vysokého urychlovacího napětí, malé pracovní vzdálenosti a nízké intenzity svazku. Tímto nastavením bylo docíleno šířky stopy 16 nm.

Snímky v kapitole výsledků byly pořízeny pro demonstraci závislosti parametrů na kvalitu snímku. Vzorky byly měřeny ale i pro maximální kvalitu snímku a z celkového počtu 103 naměřených snímků bylo vybráno 8 nejlepších, které jsou zařazeny v příloze: Fotodokumentace.

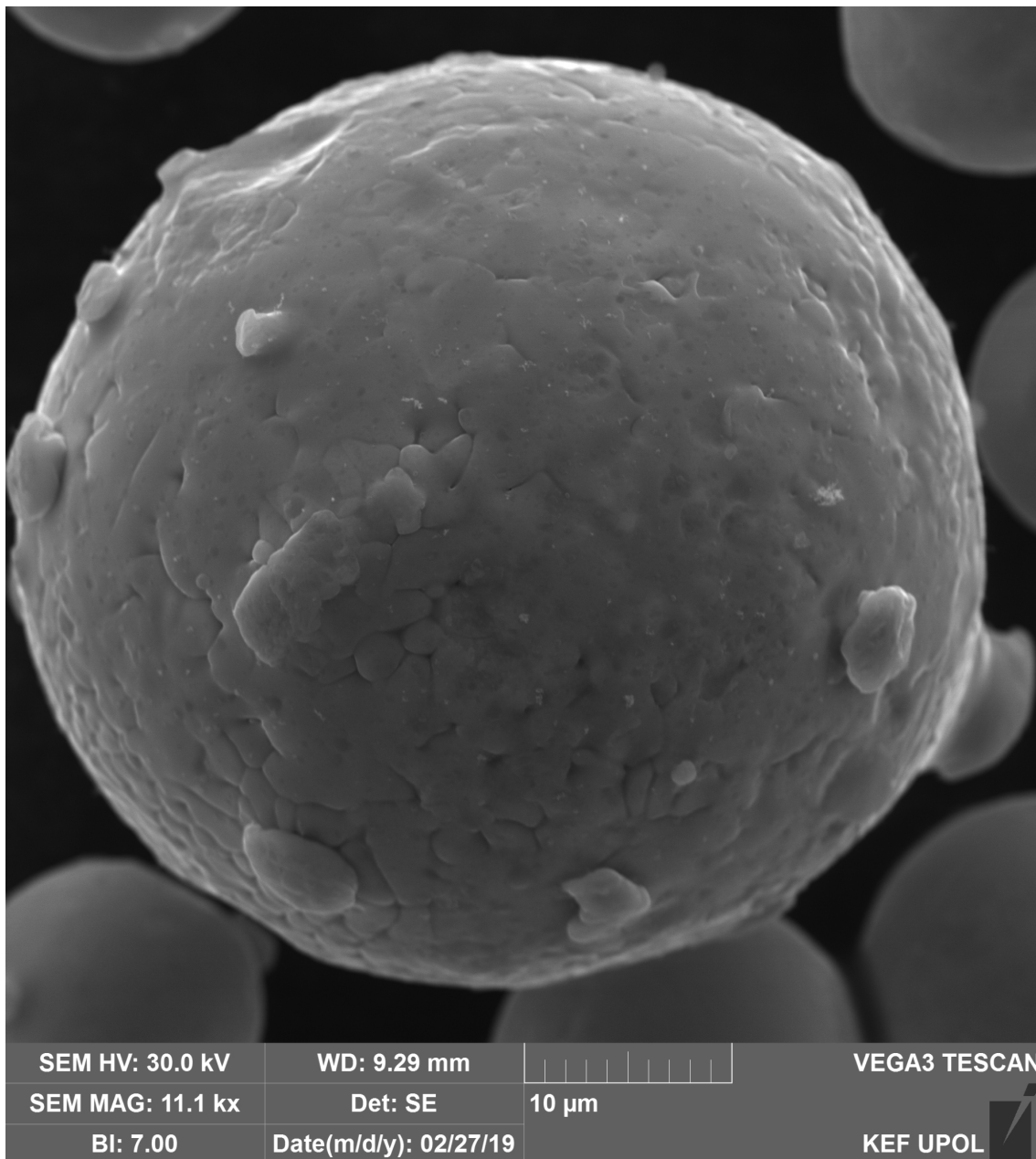
Seznam použitých zdrojů

- [1] Milan VŮJTEK, Roman KUBÍNEK a Miroslav MAŠLÁŇ. Nanoskopie. V Olomouci: Univerzita Palackého, 2012, 122 s. Monografie. ISBN 978-80-244-3102-4.
- [2] Scanning electron microscope. In: Wikipedia: the free encyclopedia [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2019-03-05]. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/Scanning_electron_microscope
- [3] Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis. 2nd ed. New York: Plenum, 1992. ISBN 0-306-44175-6.
- [4] MyScope [online]. [cit. 2019-03-06]. Dostupné z: <https://myscope.training/#/SEM>
- [5] Tungsten. In: Wikipedia: the free encyclopedia [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2018-11-01]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Tungsten>
- [6] SEM for nonconductive samples, Materials Today, Volume 8, Issue 5, Supplement 1, 2005, Page 55, ISSN 1369-7021, [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(05\)00910-7](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(05)00910-7).
- [7] Kisielowski, C., Freitag, B., Bischoff, M., Van Lin, H., Lazar, S., Knippels, G., . . . Dahmen, U. (2008). Detection of Single Atoms and Buried Defects in Three Dimensions by Aberration-Corrected Electron Microscope with 0.5-Å Information Limit. Microscopy and Microanalysis, 14(5), 469-477. <https://doi.org/10.1017/S1431927608080902>.
- [8] Nova NanoSEM 50 Series. In: ThermoFisher Scientific [online]. Hillsboro, Oregon, USA: FEI, 2013 [cit. 2019-04-15]. Dostupné z: http://www.fei.co.jp/_documents/NovaNanoSEMDatasheet.pdf
- [9] Focused ion beam. In: Wikipedia: the free encyclopedia [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2019-04-15]. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/Focused_ion_beam
- [10] FIB-SEM. Tescan [online]. Brno, Česká republika [cit. 2019-04-15]. Dostupné z: <https://www.tescan.com/en-us/technology/fib-sem>
- [11] Microscopy and Analysis [online]. 2018, (39) [cit. 2019-04-15]. ISSN 2049-4424. Dostupné z: <https://www.microscopyebooks.com/Europe/2018/November/>
- [12] Gregor Hlawacek, Imtiaz Ahmad, Mark A. Smithers, E. Stefan Kooij, To see or not to see: Imaging surfactant coated nano-particles using HIM and SEM, Ultramicroscopy, Volume 135, 2013, Pages 89-94, ISSN 0304-3991, <https://doi.org/10.1016/j.ultramicro.2013.07.010>.
- [13] VEGA3 Brochure. In: Tescan [online]. Brno, Česká republika [cit. 2019-04-17]. Dostupné z: <https://www.tescan.com/Tescan/media/content/pdf/technology/VEGA3-brochure.pdf?ext=.pdf>
- [14] Digitální mikroskop Keyence VHX-5000. Afnet.upol.cz [online]. Olomouc [cit. 2019-05-09]. Dostupné z: <http://afnet.upol.cz/kef/cs/digitalni%20mikroskop%20keyence>
- [15] Periodic Table for EDS Analysis. jeolusa.com [online]. [cit. 15.5.2019]. Dostupné z: <https://www.jeolusa.com/DesktopModules/LiveContent/API/Image/Get?mid=4725&eid=1&Type=View&PortalId=2>

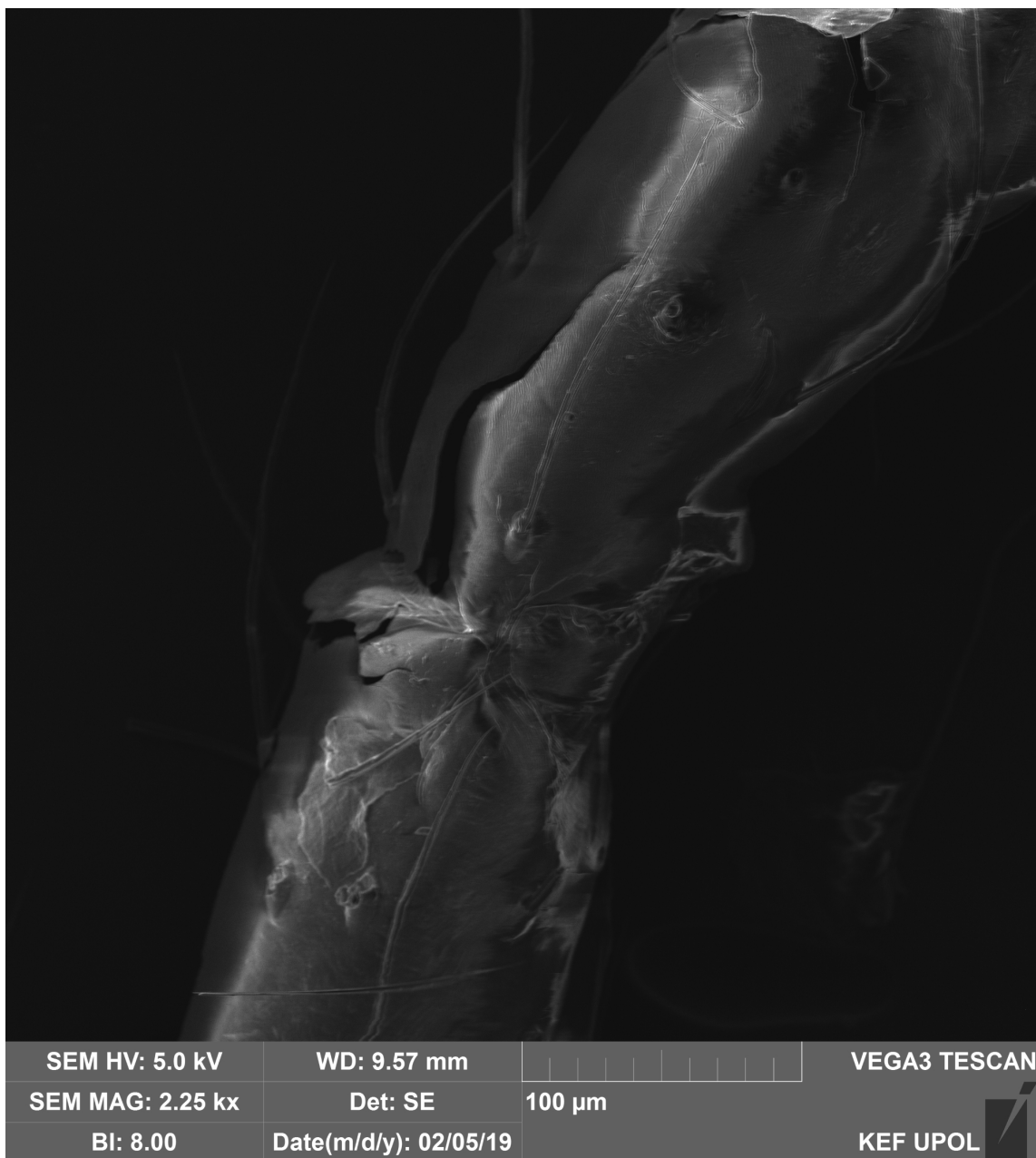
Seznam použitých symbolů a zkratek

SEM	Scanning Electron Microscope - skenovací elektronový mikroskop
BSE	Backscattered electrons - zpětně odražené elektrony
SE	Secondary electrons - sekundární elektrony
d_b	šířka svazku
i_b	proud svazku
α_b	konvergentní úhel svazku
E_v	vazebná energie
J_c	hustota proudu
β	jas
σ	účinný průřez
λ	střední volná dráha elektronu
η	koeficient zpětného rozptylu
δ	koeficient sekundárních elektronů
BI	beam intensity index - intenzita elektronového svazku
HV	high voltage - urychlovací napětí
SS	spot size - šířka stopy elektronového svazku v místě dopadu na vzorek
WD	working distance - pracovní vzdálenost

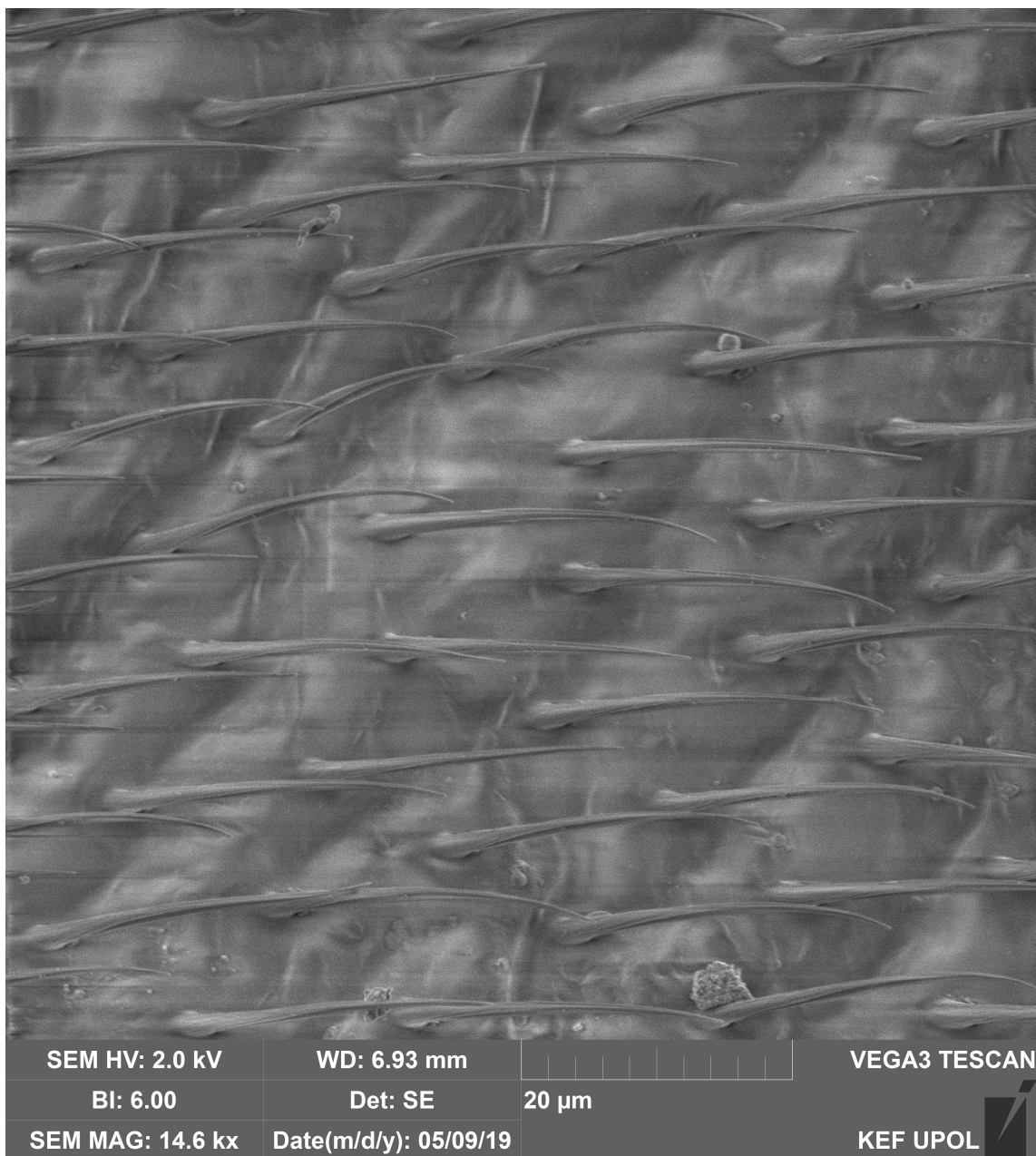
Příloha 1. Fotodokumentace



Obrázek 22 | Snímek kovového prášku CL 20ES užívaný pro kovový 3D tisk



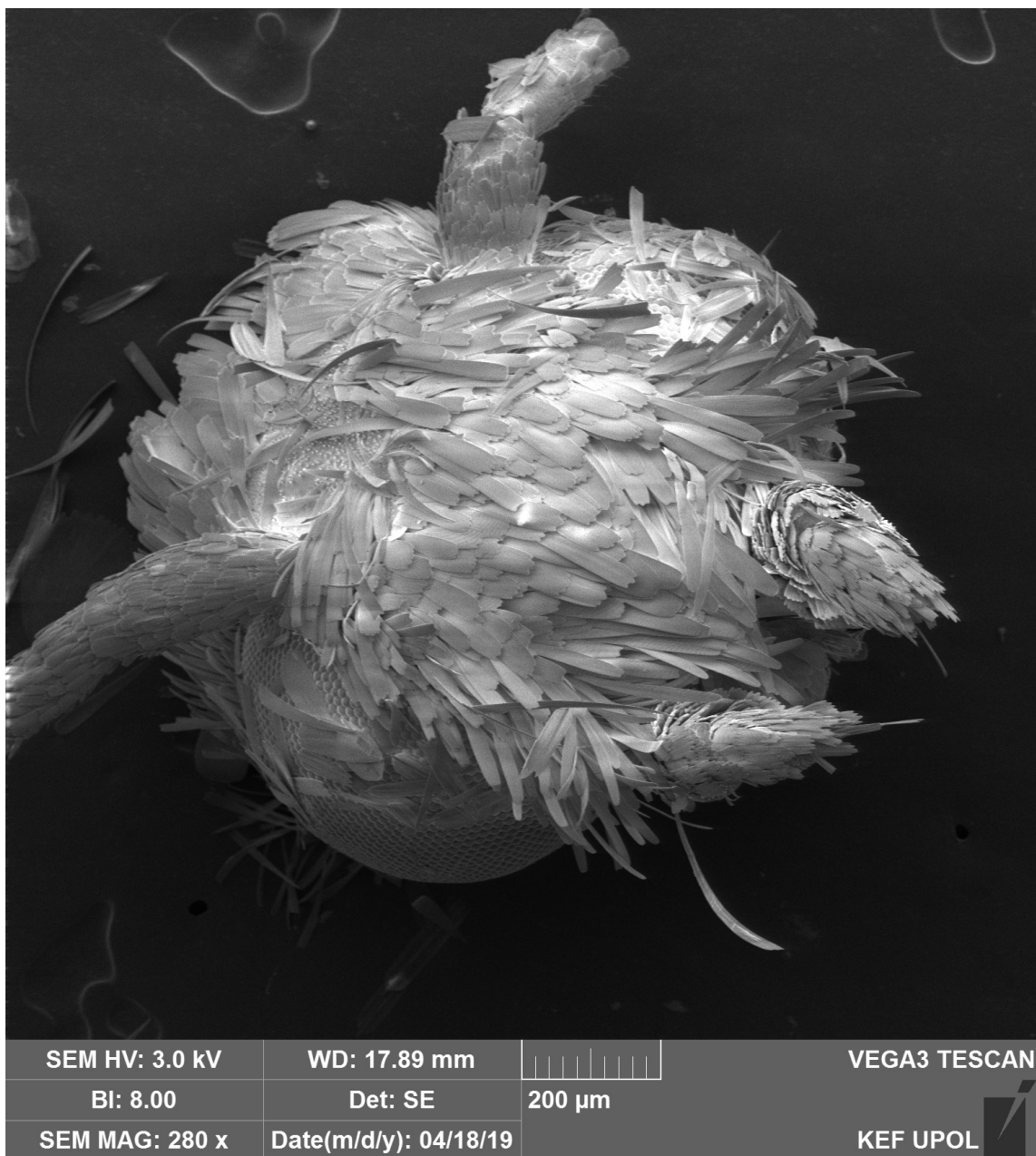
Obrázek 23 | Snímek nohy třesavky sekáčovitě (*Pholcus opilionoides*)



Obrázek 24 | Snímek křídla mouchy domácí (*Musca domestica*)



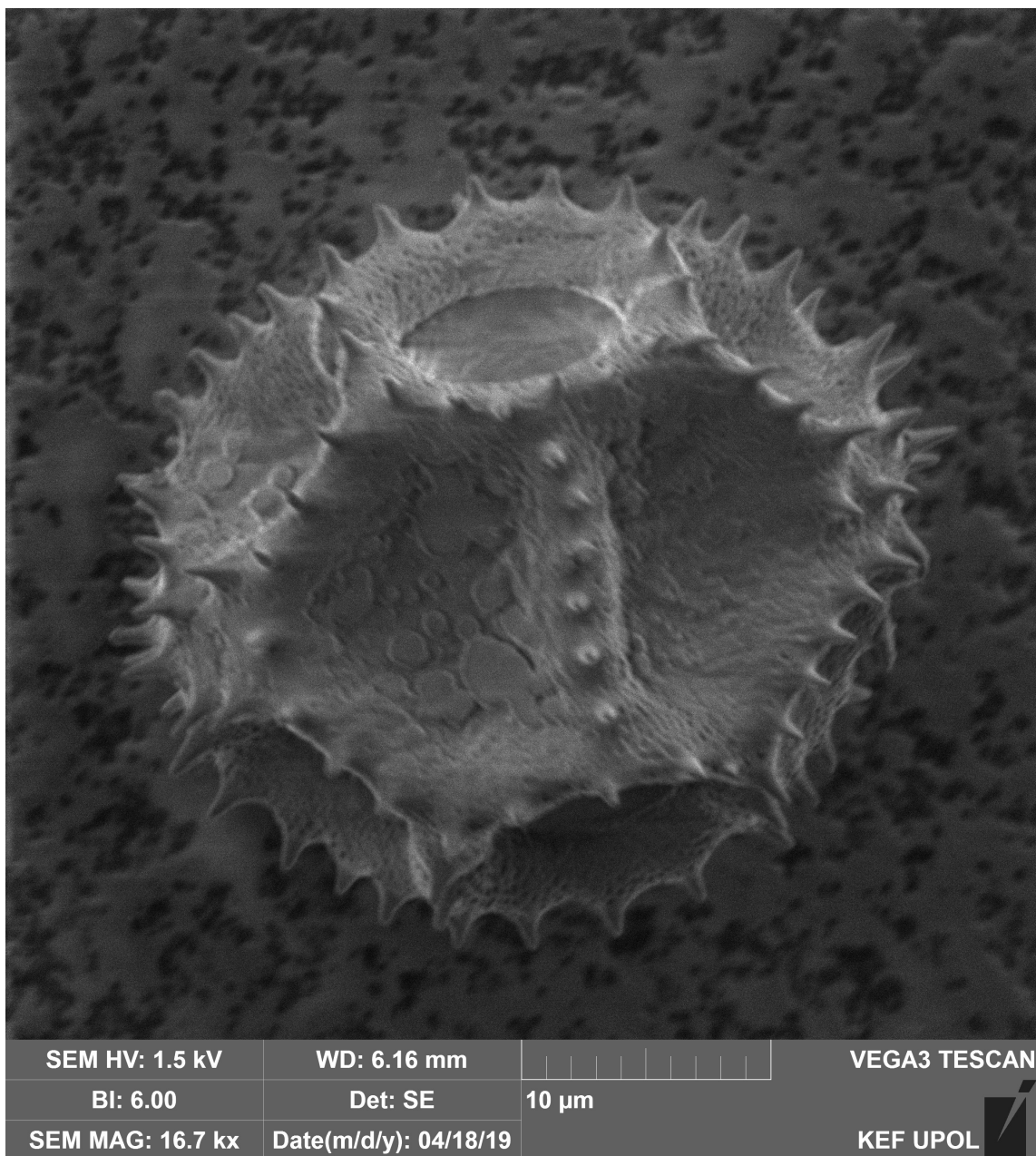
Obrázek 25 | Snímek šupinky zavíječe moučného (*Ephestia kuehniella*)



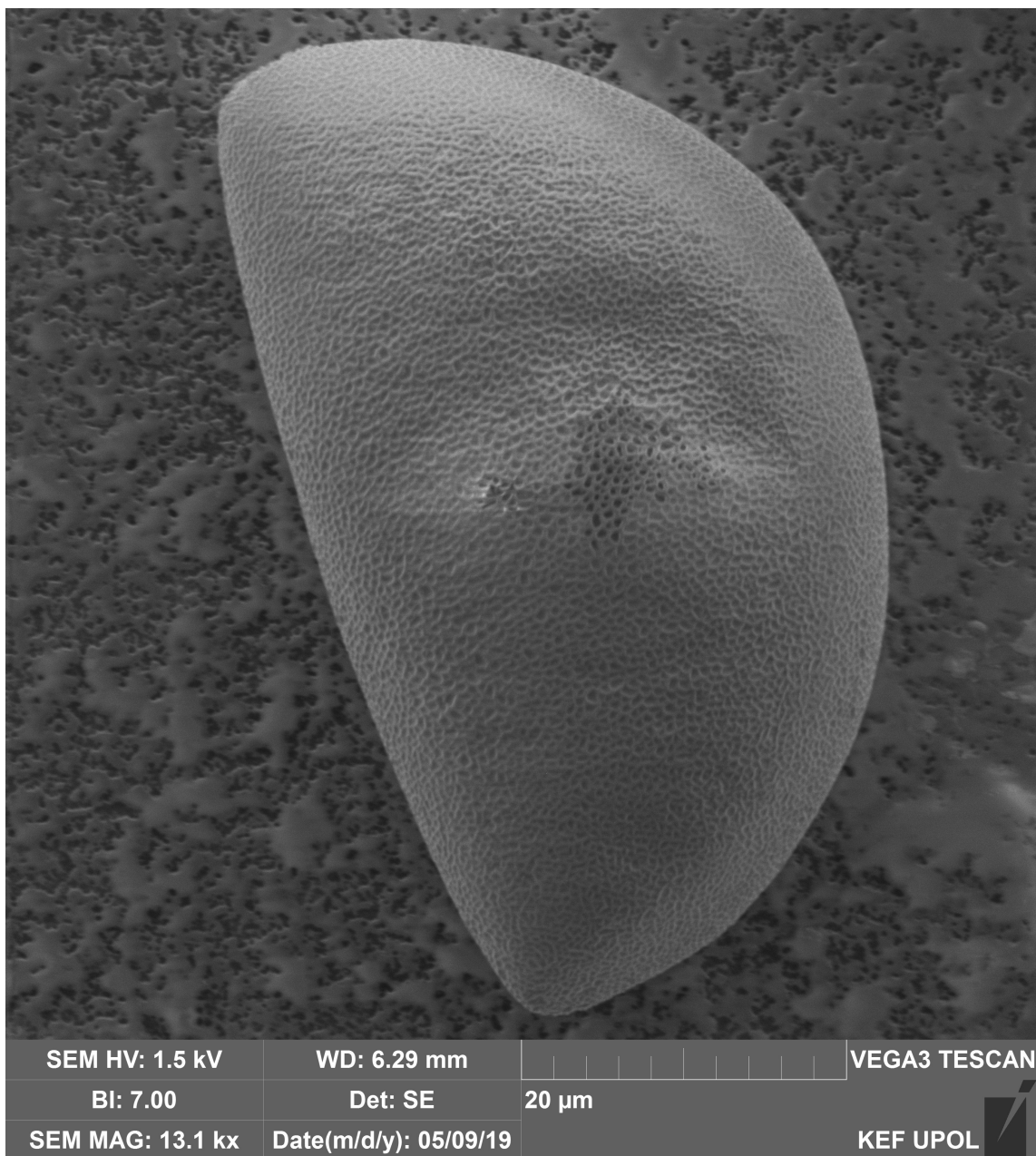
Obrázek 26 | Snímek hlavy zavíječe moučného (*Ephesia kuehniella*)



Obrázek 27 | Snímek semene máku setého (*Papaver somniferum*)



Obrázek 28 | Snímek pylu smetánky lékařské (*Taraxacum officinale*)



Obrázek 29 | Snímek pylu narcisu žlutého (*Narcissus pseudonarcissus*)