



- **EBSD:** sklon vzorku 70°
 - v každém bodě skenování je vyhodnocen obrazec Kikuchiho linií
 - Kikuchiho linie jsou analyzovány pomocí Houghovy transformace-určení kryst. rovin
 - EBSD mapy-strukturní informace, orientace zrn pomocí Eulerových úhlů
- **EDX, WDX**
 - vznik charakteristického RTG záření
 - EDX detektor-princip (obráceně polarizovaná PIN dioda, Si(Li), chlazení)
 - WDX detektor-princip (monokrystalový detektor, Braggova podmínka)
 - srovnání EDX/WDX
 - metody vyhodnocení: ZAF, Φ , ALCHEMI
- **FIB:** zdroje iontů Ga, plazmový zdroj Xe iontů, srovnání s elektrony
 - příprava lamel pro TEM
 - FIB-SEM tomografie
- **EREM:** při vysokých tlacích (až 3000Pa)
 - výhody: lze pozorovat biologické materiály, silně těkavé vzorky, bez nabíjecích artefaktů na povrchu
 - nevýhody: rozptyl e. primárního svazku=> větší svazek, vyšší šum, horší rozlišení

In-situ elektronová mikroskopie



- pro poznání vlastností materiálů je vhodné znát nejen počáteční a konečný stav, ale i možnost sledovat změny přímo
- využívá se pro sledování odezvy vzorku na podnět v reálném čase
- elektronový mikroskop musí snímat dostatečně rychle
- EM je nutno doplnit o dodatečné moduly tj. držák vzorků schopný aplikovat vnější podněty
 - ohřev / chlazení
 - elektrické napětí
 - mechanické namáhání
 - reaktivní prostředí (kapalinové nebo plynové reakční články)
 - ozařování vzorků fotony
- využívá se automatické vyhodnocování výsledků

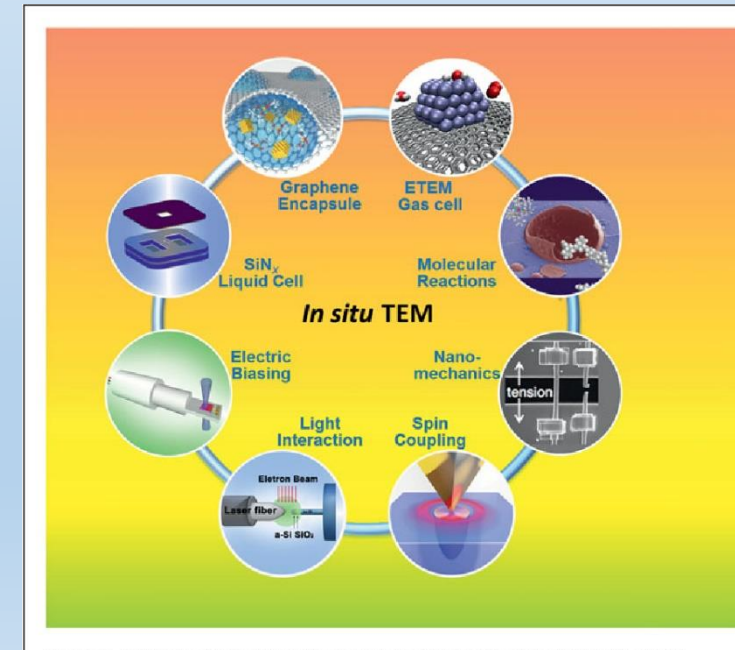
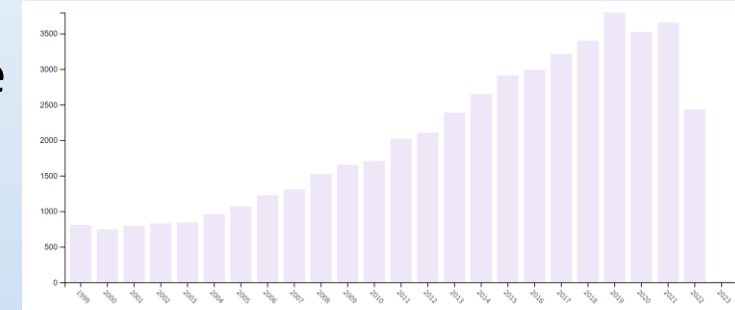


Figure 2. Future in-situ electron microscopy: a) Electrochemical TEM of a material

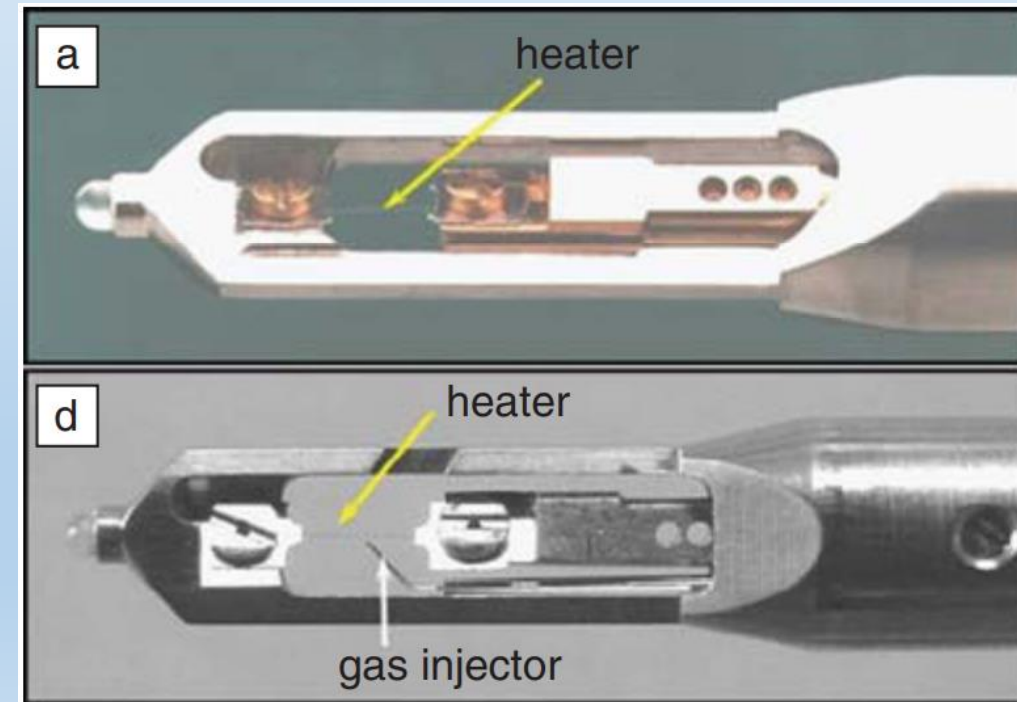
Držáky se změnou teploty

Ohřev vzorku

- většina držáků TEM pro ohřev vzorků má válcovou miniaturní pec (topnou spirálu), na (ve) které je umístěn vzorek o průměru 3 mm
- okolí pece je chlazeno vodou – minimalizace sálání tepla do prostoru mikroskopu, omezení driftu vzorku (speciálně pro teploty nad 800°C)
- tento design umožňuje ohřev až do 1300 °C

Chlazení vzorku

- pomocí Peltierova článku (viz následující slide)
- pomocí kapalného N₂
- chladí se pouze vzorek, nikoli celý prostor komory



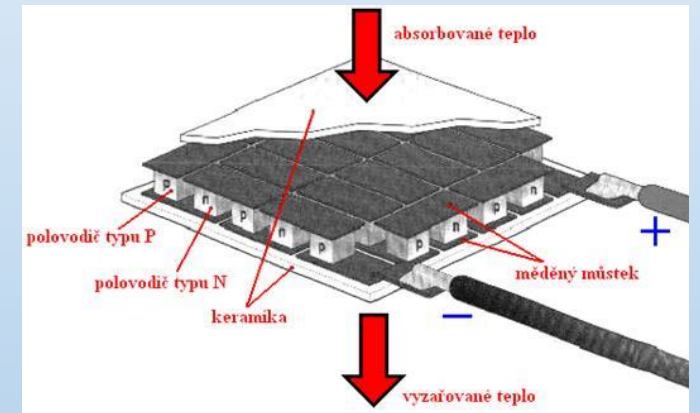
- funguje na principu tzv. Peltierova jevu: když prochází proud obvodem se dvěma rozdílnými vodiči zapojenými v sérii (bismut a tellur, polovodiče), jejich spojené konce se ochlazují a jejich opačné konce zahřívají
- Maximální chladicí výkon se pohybuje od desetiny wattu až po stovky wattů. Maximální rozdíl teplot může dosahovat 60 až 75 °C
- lze zapojit i obráceně: změnou teplot lze generovat proud

Výhody:

- Malé rozměry
- Okamžitý efekt chlazení/topení
- Dosažení nízkých teplot až -20 °C
- Snadná regulace výkonu
- Absolutně tichý provoz (žádné pohyblivé části)
- Dlouhá životnost (teoreticky neomezená)
- Možnost usměrnit chlazení na velmi malou plochu (lze chladit i 10x10 mm preparát na podložním sklíčku mikroskopu)
- Snadná změna směru toku tepla (změna studené a teplé strany článku) - pouze změnou směru elektrického proudu

Nevýhody:

- Přehřívání
- Velká spotřeba proudu
- Vyšší cena v případě potřeby velkého chladicího výkonu
- Malý rozdíl teplot mezi studenou a teplou stranou článku
- Nižší účinnost v porovnání s kompresorovým chlazením





Gas cell EM

- konvenční TEM pracuje za podmínek vysokého vakua
- pro získání informací o chování materiál v reálném prostředí je vhodné studovat vzorky i v odlišné atmosféře
- existují dvě základní platformy
 - konfigurace s otevřenými buňkami-omezuje plynnou atmosféru v blízkosti vzorku pomocí tlaku. Otvory omezující tlak jsou umístěny v čočce objektivu v těsné blízkosti vzorku a diferenciální čerpací systém je vybaven tak, aby se zabránilo difúzi molekul plynu z komory směrem k jiným částem TEM, zejména k elektronovému dělu.
 - uzavřené plynové/kapalinové komůrky – uzavření vzorku a vysokotlakého plynu do malého prostoru
 - reakční objem a vzorek jsou ohraničeny elektronově průhledným horním a dolním oknem, které umožňuje zavedení a utěsnění plynné atmosféry
- vhodné zejména pro: (de)hydrogeační procesy, interakce mezi pevnou a plynnou fází, potlačení odpařování vzorku, oxidace a redukce kovů, růst nanostruktur oxidů kovů, reakce s ionizovaným plynem.

Leptání nanočástic PbSe

https://www.youtube.com/watch?v=7sX7B0RSDWw&ab_channel=ScienceX%3APhys.org%2CMedicalXpress%2CTechXplore

Kombinovaný držák TEM vzorků

https://www.youtube.com/watch?v=QWtM8zpCUu0&ab_channel=Protochips

Liquid cell EM

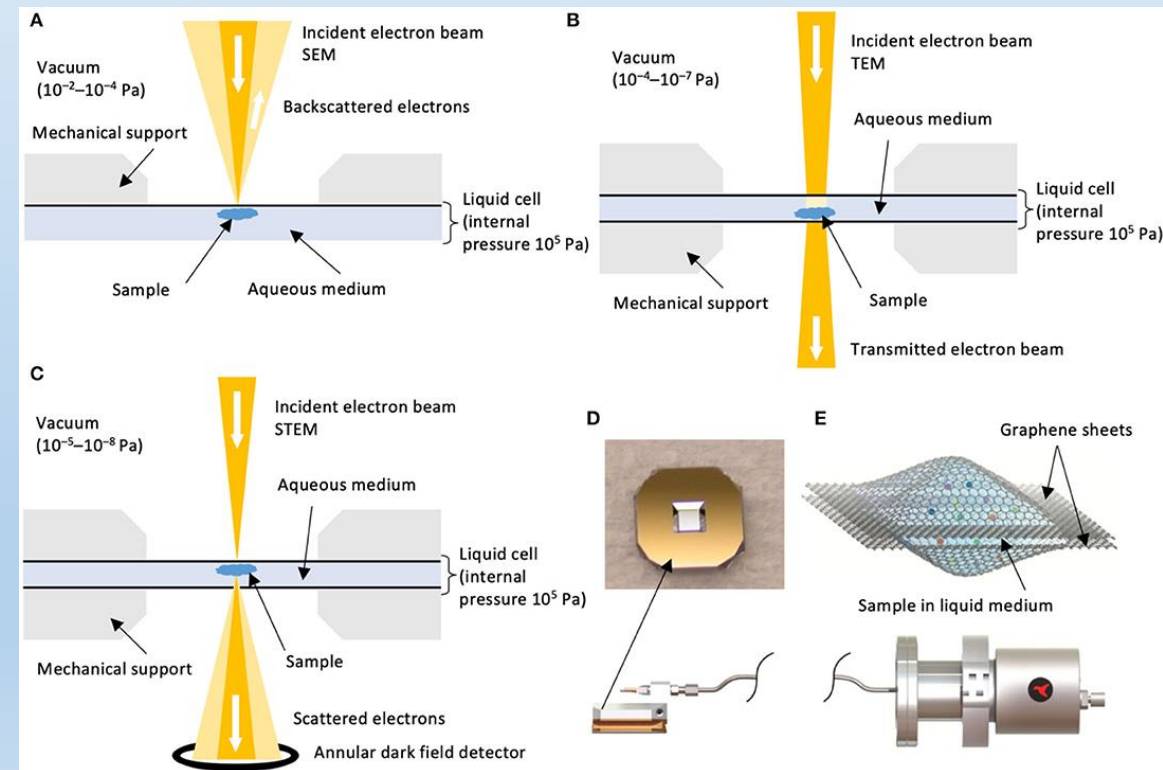
- reakce probíhá v kapalném prostředí
- LC se typicky skládá ze dvou membrán které zapouzdřují vzorek v kapalném prostředí
- lze využít pro pozorování v SEM (A), TEM (B), STEM (C)
- materiál membrány musí být vhodně zvolený
 - průhlednost pro elektrony
 - homogenita tloušťky
 - stabilita ve vysokém vakuu
 - bez nabíjecích efektů
 - omezení ohřevu při interakci s elektrony
 - např: Si_3N_4 o $d=10-50$ nm, (D)
 - vícevrstvý grafen nebo oxid grafenu $d < 10$ nm (E)

Leptání nanočástic PbSe v k

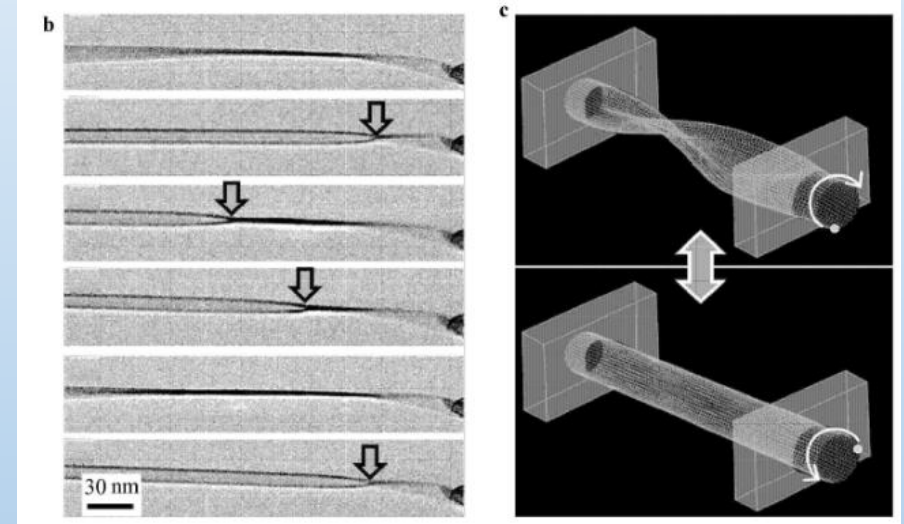
https://www.youtube.com/watch?v=7sX7B0RSDWw&ab_channel=ScienceX%3APhys.org%2CMedicalXpress%2CTechXplore

Kombinovaný držák TEM vzorků

https://www.youtube.com/watch?v=zoSWBStFBrY&ab_channel=Protochips



- v prostoru komory je umístěno zařízení pro studium mechanického namáhání vzorků
- zóna změny geometrie vzorku je snímána pomocí EM
- s využitím EBSD je možné určit vliv namáhání na zrna o různé orientaci
- zařízení může být doplněno o ohřev vzorku
- možné zkoušky:
 - tahové zkoušky (viz videa od T. Krumla)
 - Cyklické zkoušky (tah – tlak)
 - deformační zkouška kroucením
 - Nanoindentace – in-situ měření tvrdosti
 - Mikrokoprese pilířků – tlaková zkouška plochým hrotem



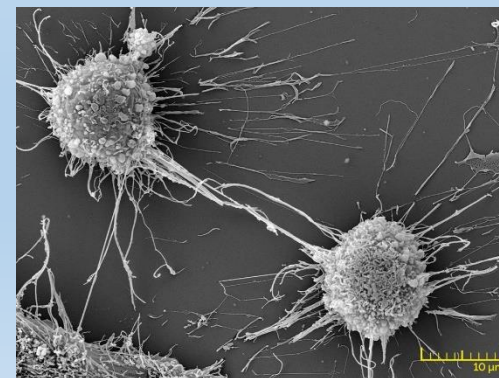
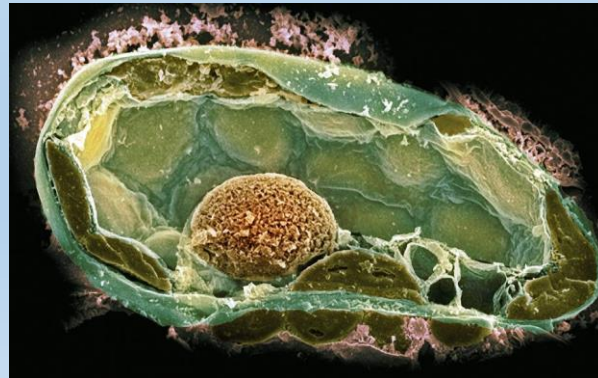
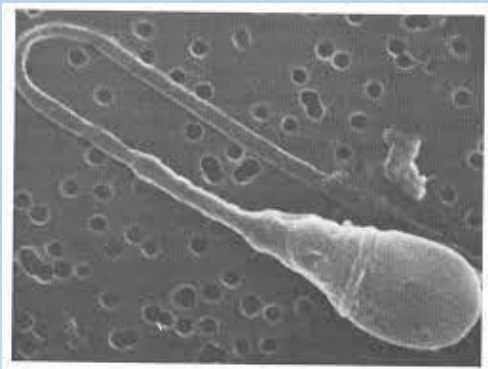
Tahová zkouška-animace

https://www.youtube.com/watch?v=qCMGoktXSF4&ab_channel=ZEISSMicroscopy

Particle compression

https://www.youtube.com/watch?v=mBa7iNbhjPM&ab_channel=MingwenBai

- biologické vzorky obsahují vodu – problém se stabilitou ve vakuu
 - pro vysokovakuové SEM **suché**
 - pro nízkovakuové-**do 70 % vody**
 - pro environmentální -**zavodněné**
- stabilita při ozáření primárními elektrony
- dostatečná produkce detekovaných signálů
- zastavení změn souvisejících s posmrtným rozkladem po odebrání vzorku



a) Tradiční příprava preparátu:

1. fixace: glycerinaldehyd, formaldehyd, OsO_4
2. dehydratace: aceton, ethanol
3. sušení: CPD(critical point drying), t-butanol, sušení na vzduchu
4. lepení na terče
5. zvýšení povrchové vodivosti (pokovení Pt, Au)
 - zvyšuje produkci SE a BSE
 - snižuje tepelné poškození a nabíjení povrchu vzorku



b) vitrifikace-transfomace látky na sklo

krystalický led:

nižší hustotu a větší objem než kapalná voda

vitřifikovaný led:

zhruba stejnou hustotu i objem jako voda

bez segregace rozpouštědla a rozpuštěných látek

Způsob přípravy vitřifikovaného ledu:

- 1) rychlým zamrazením ($>5 \cdot 10^5$)
- 2) mrazení při vysokém tlaku
- 3) použití kryoprotektantu během mrazení

Chladivo:

kapalný dusík: bod varu -196°C , bod tuhnutí -210°C

nízká teplotní kapacita, chlazený materiál je obklopen vrstvou plynného N_2 =izolátor

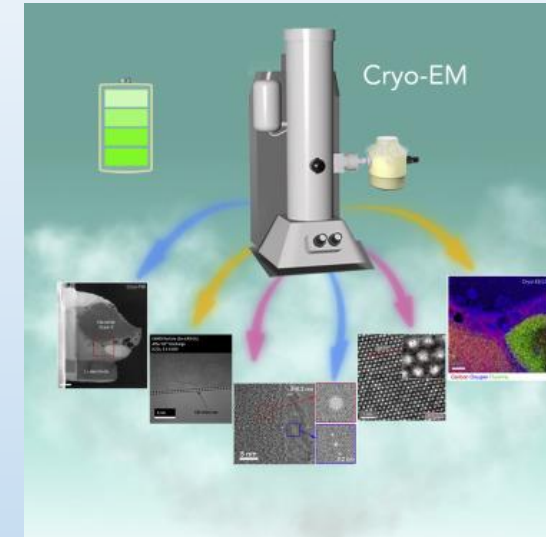
kapalný etan: bod varu -88°C , bod tuhnutí -182°C

vyšší teplotní kapacita



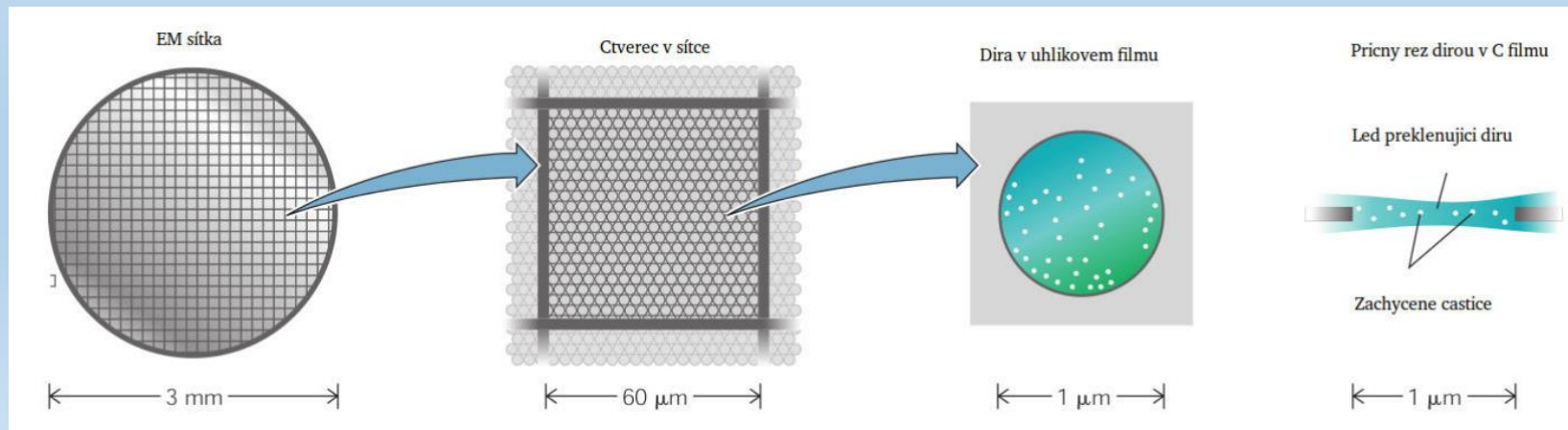
Kryoelektronová mikroskopie

- využívá se především v biochemii a biologii
- umožňuje studovat struktury buněk, virů atd. téměř v atomovém rozlišení
- bývá spojena s vytvářením 3D modelů
- celá komora se vzorkem musí být neustále chlazená kapalným dusíkem, aby nedošlo ke ztrátě vitrifikovaného ledu

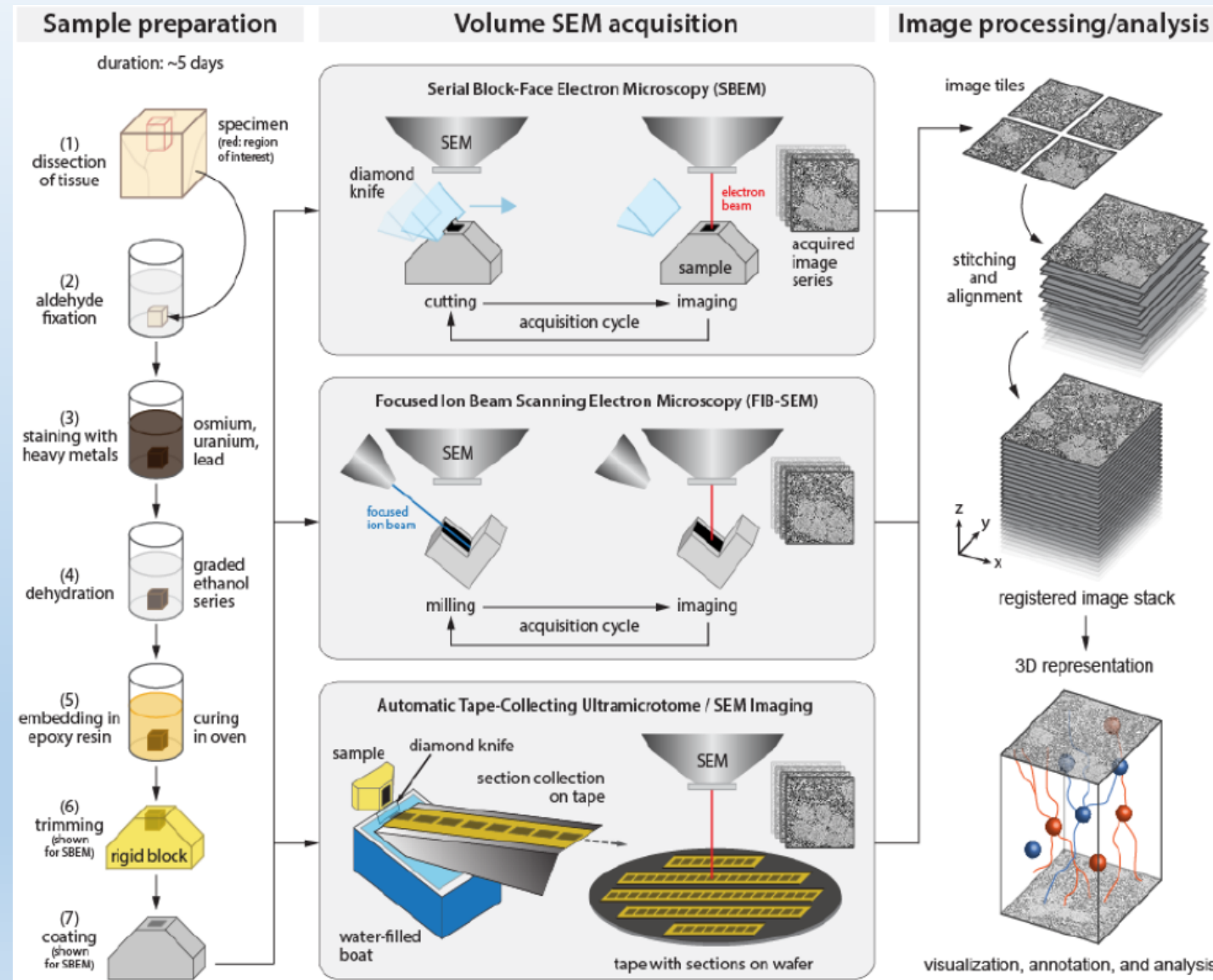


https://www.youtube.com/watch?v=6G550DfY75Q&ab_channel=MRCLaboratoryofMolecularBiology

https://www.youtube.com/watch?v=L-65mpdKLzQ&t=117s&ab_channel=ThermoScientificEM%26Spectroscopy

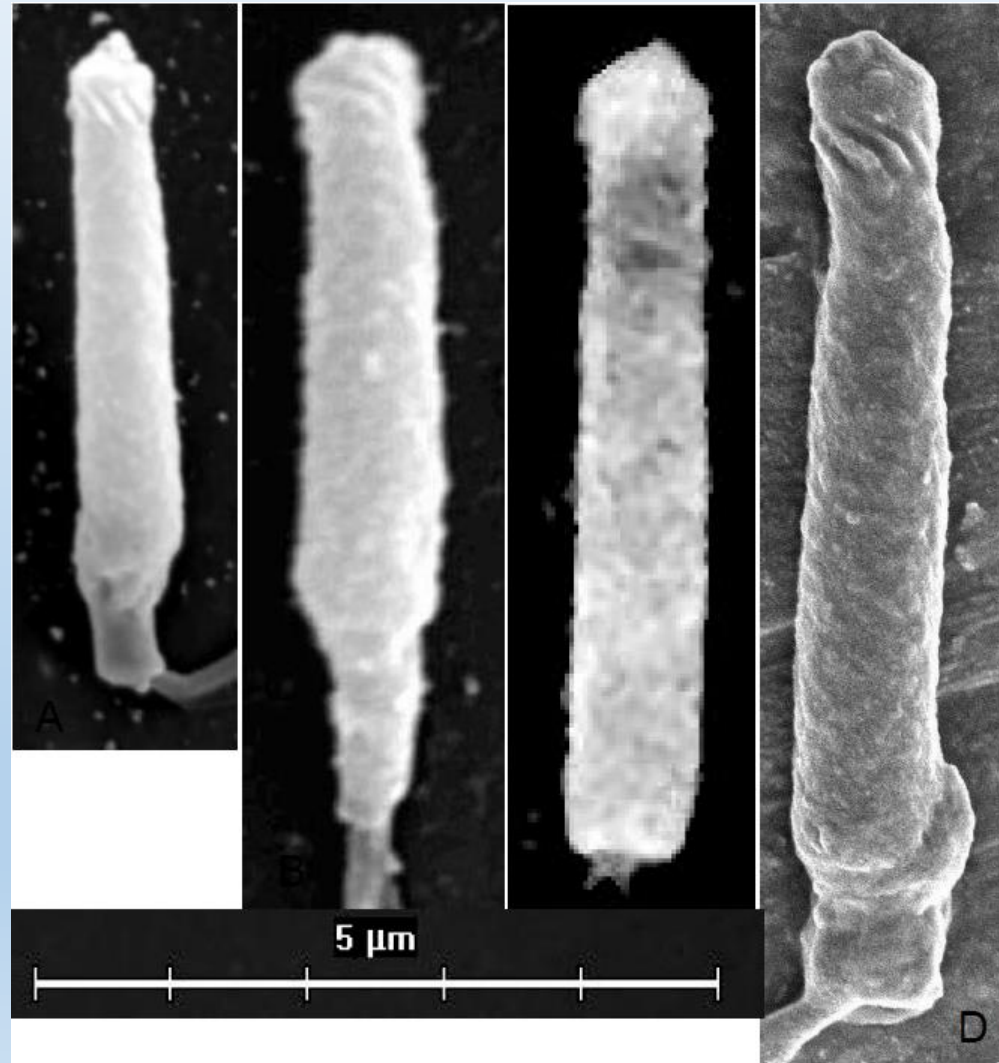


3D rekonstrukce biologických vzorků



Distribuce velikosti hlavičky spermie jesetera v závislosti na metodě přípravy preparátu

- a) CPD drying
- b) t-butylalkohol
- c) ESEM
- d) cryo-SEM

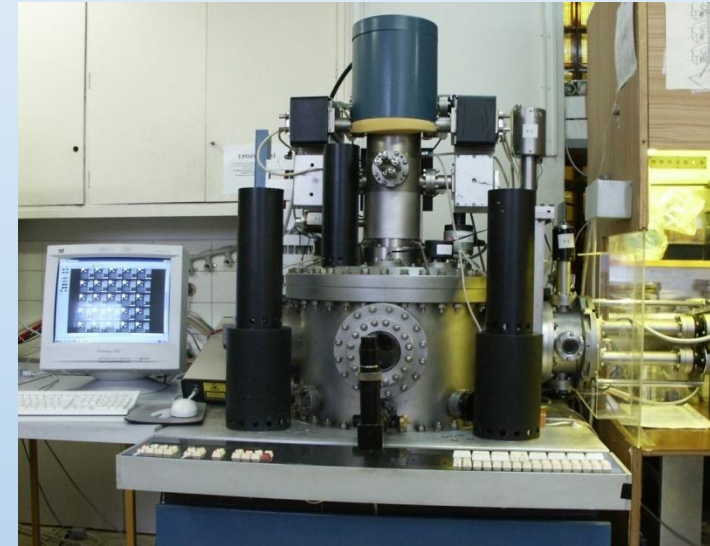
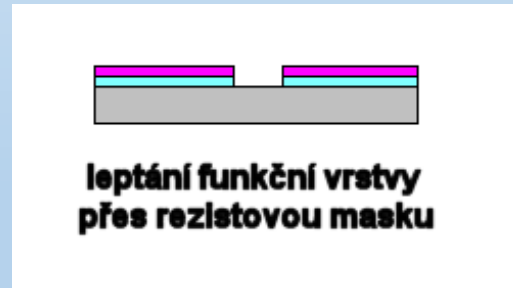
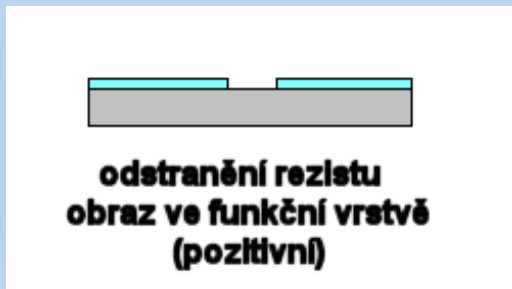
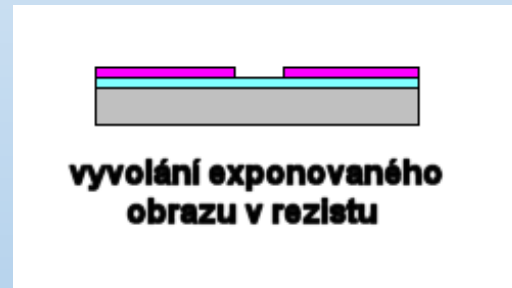
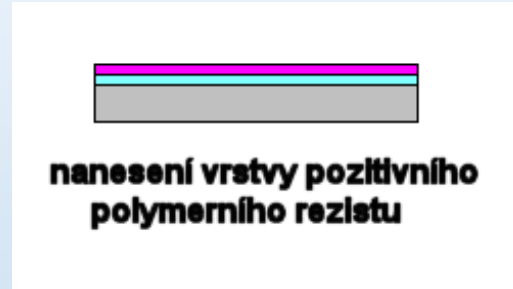
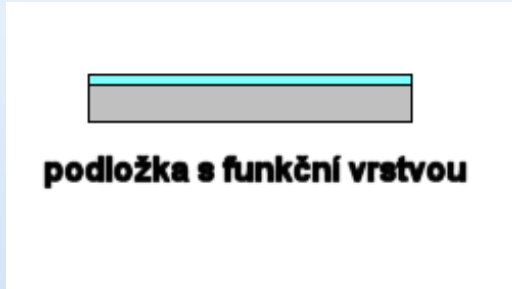


Pšenička et.al.: Micron, 41(5), 2010

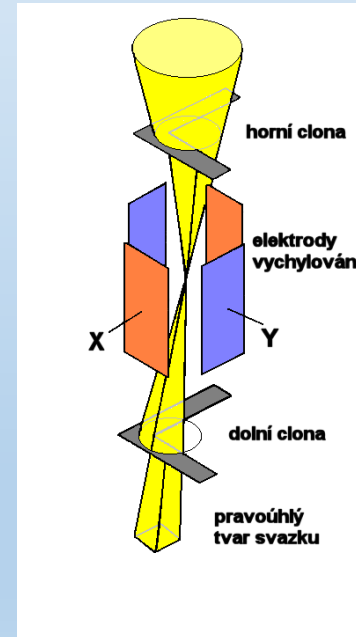


- technika umožňující zápis elektronovým svazkem
- svazek lze vychylovat
 - a) v pravidelném rastru (rastrový zápis)
 - b) na libovolnou pozici vychylovacího pole (vektorový zápis)
- využívá se netermické (tzn. nic se nevypaluje) interakce svazku energetických (urychlených) elektronů s vrstvou vhodné látky – tzv. elektronového rezistu
- elektronový rezist: obvykle makromolekulární látka senzitivní na elmag. záření – působením energie PE dochází k chemické změně polymeru (síťování-negativní rezist) nebo k degradaci (pozitivní rezist)
- Při průchodu elektronů vrstvou rezistu dochází k elastickým a neelastickým kolizím elektronů s molekulami případně atomy rezistu a při těchto interakcích předávají elektrony svoji energii ozařovanému materiálu
- V elektronovém rezistu tak vzniká latentní obraz, který je nutné nějakým způsobem následně vyvolat

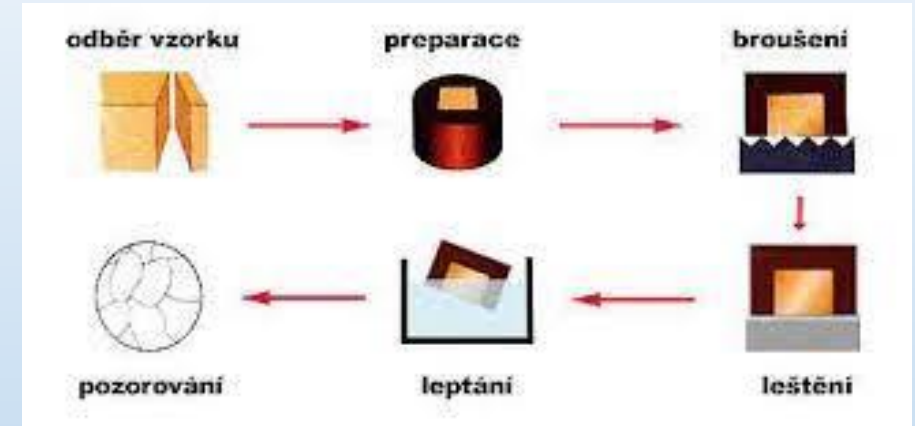
Elektronová litografie-postup



- Urychlovací napětí: 15 kV
- Tvarovaný svazek: 0.1 – 6 μm (po 100 nm)
- Proudová hustota ve svazku: 0.5 – 1 A/cm^2
- Krok vychylování svazku: 100 nm
- Max. velikost vychylování: 3 mm x 3 mm
- Krok interferometrů: 40nm ($\lambda/16$)
- Krok korekcí: 100 nm
- Mezní rozlišení: 100 nm
- Strategie zápisu (expozice): vektorové vychylování pravoúhle tvarovaného svazku proměnných rozměrů
- Maximální velikost substrátů: 4 x 4 inch^2



- **odběr**
charakteristické místo
bez ovlivnění materiálu
- **preparace**
zalisování za tepla – pozor na ovlivnění struktury teplem
zalití za studena
- **broušení**
od nejhrubšího papíru po nejjemnější
brousí se převážně pod vodou – chlazení a odvod třísek
minimální čas, minimální tlak
- **leštění**
diamantové suspenze s použitím smáčedla (nejčastěji etanol)
případně Al_2O_3 nebo SiO_2 suspenze; elektrolyticky
- **pozorování metalografického vzorku**
po leštění - inkluze, porozita, koroze, trhliny,....
po leptání - strukturní detaily





- **metalografická pila**

- určená k manuálnímu i automatickému přesnému dělení velmi malých i větších vzorků
- stůl pohyblivý v obou osách
- předdefinované programy - poloha stolu, počet řezů, úroveň citlivosti snímání rezného odporu apod
- krokový i diagonální řez - přičemž dělicí síla je závislá na rychlosti posuvu
- umožňuje také automatické pulzní dělení materiálu
- vzorky až do průměru 75 mm, nebo 125 x 75mm, či tyčovinu



Příprava vzorků SEM - preparace



- **automatický metalografický lis**

- vzorek se vloží na píst do lisovací komory
- po spuštění pístu do spodní polohu se vzorek zasype práškovou lisovací hmotou (vodivá nebo nevodivá - pryskyřice dopovaní mědí nebo grafitem)
- hmotu se vzorkem lisujeme při dané teplotě a tlaku - pozor na možné poškození vzorku (lisovací teplota je až 200 °C)

píst
piston



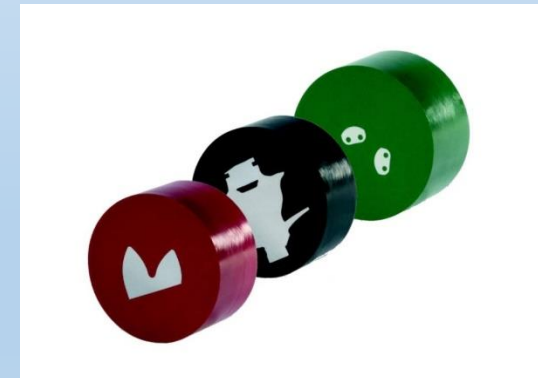
zamykání komory
chambre locking

ovládací panel
control panel

zapnout
switch on

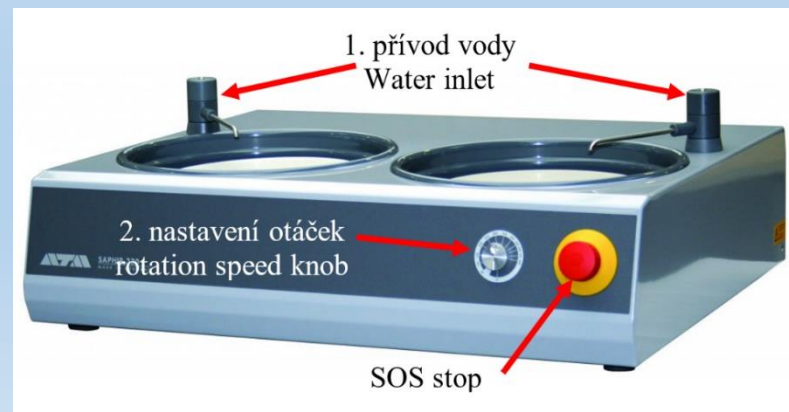
- **zalévání za studena**

- vzorek se vloží na dno zalévací formičky
- zalije se obvykle vícesložkovou zalévací směsí (pryskyřice)
- po ztuhnutí vyjmeme z formičky



- **metalografická bruska**

- manuální, semiautomatická, automatická
- malé vzorky je potřeba mít uchycené v pryskyřici nebo v čelistech
- brousí se za mokra (voda nebo Et-OH, isopropanol atd..)
- postupně na brusných papírech s klesající zrnitostí (označené číslem – počet zrn na cm^2 => čím větší, tím jemnější papír, do 1500-2000) s minimálním přitlakem
- brousí se pouze nezbytnou dobu – kdy už není možné rozeznat rýhy z předchozího broušení



metalografická bruska

- k leštění se nanáší leštící suspenze na nosné leštící plátno nebo leštící kotouč
- leští se též za mokra, ale plátno se jen kropí-nesmí být mokré
- diamantová pasta: velikost částic 1 μm
- suspenze OP-S (
 - dochází i k naleptání hranic zrn

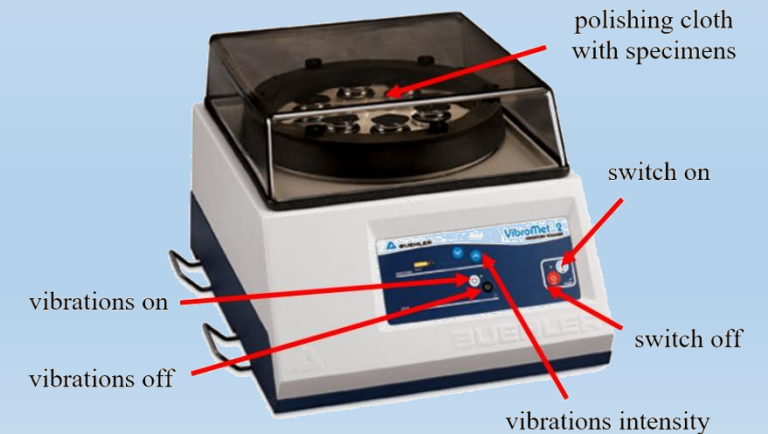
nastavení otáček
rotation speed knob



emergency stop

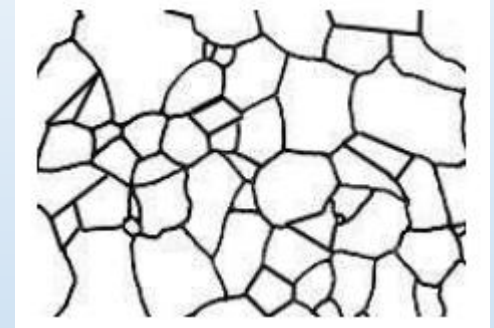
vibrační leštění

- k jemnému doleštění vzorků, které se nepovedlo vyleštit standardním postupem
- vzorky se položí na vibrační desku na které je ca. 3mm vrstva leštícího média
- pomocí jemných vibrací dochází k vyrovnání povrchu vzorku
- nevýhoda: je to pomalá metoda-leští se jednotky hodin

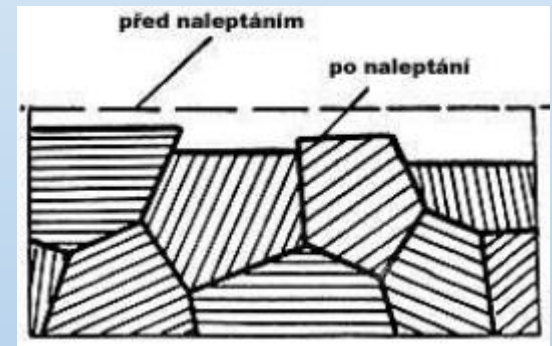


- základní metody
 1. **na hranice zrn:** leptání vzorku dochází primárně na hranicích zrn - tím se zvýrazní jednotlivá zrna
 2. **plošné leptání:** pro barevné rozlišení zrn různé orientace
 3. **selektivní leptání:** rozlišení zrn různých fází (rozdílná reaktivita)
- zpravidla ve směsi kyselin / zásad
- leptají se z pravidla čerstvě vyleštěné vzorky
- vhodná leptadla a způsob aplikace (ponoření, potírání, opakované leptání – doleptávání, použití více leptadel, teplota,...) jsou specifické pro různé materiály - lze dohledat v literatuře
- časy uvedené při leptání jsou pouze orientační – každý vzorek může (díky odlišnému lokálnímu chemickému složení, procesu výroby,...) reagovat odlišně
- někdy je možné / doporučené vícenásobné leptání – opakovaně v jednom leptadle, nebo v různých leptadlech

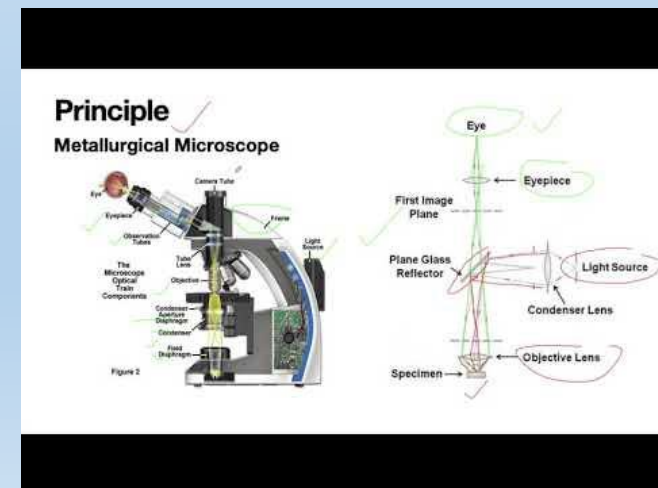
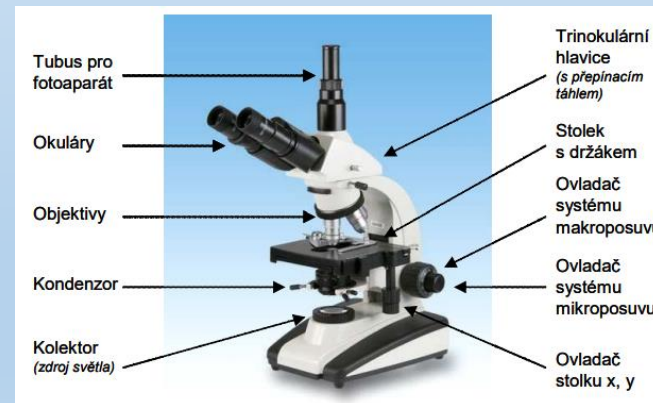
1)



2)



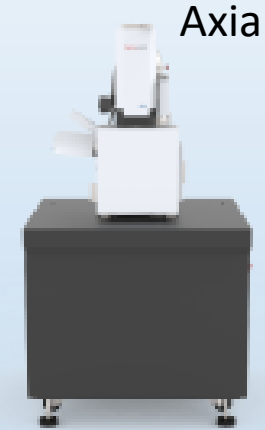
- výsledky jednotlivých kroků lze sledovat pomocí metalografického optického mikroskopu
- umožňuje pozorování v odraženém světle s aplikací polarizačního filtru
- obvykle vybaven možností připojit kameru/fotoaparát



- Materiálové vědy
 - TESCAN VEGA – W katoda
 - TESCAN MIRA – Schotky katoda
 - TESCAN CLARA – Schotky katoda + nízké kV
 - TESCAN MAGNA – Schotky katoda + imerzní mód + STEM
- Živá příroda
 - TESCAN CLARA CRYO
 - TESCAN MAGNA
- Geovědy
 - TESCAN TIMA-4 detektory EDS, automatická identifikace minerálů



- SEM
 - AXIA-simultánní EDS SEM analýza
 - Verios-při nízkém napětí (20eV-30 keV)
 - Quattro-FEG SEM, ESEM, in-situ
 - Prisma- ESEM, in-situ
 - Apreo-při nízkém napětí (20eV-30 keV)
 - VolumeScope-3D SEM with diamond knife
- Desktop SEM
 - Phenom-řada modelů dle specifikace, do 20 kV
- FIB-SEM
 - Helios (Ga nebo plasma)



- TEM
 - LVEM (DeLong's low-voltage electron microscopes)
 - nejmenší TEM

Talos

