



evropský  
sociální  
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost



Univerzita Palackého  
v Olomouci

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

*Milan Vůjtek, Roman Kubínek, Miroslav Mašláň*

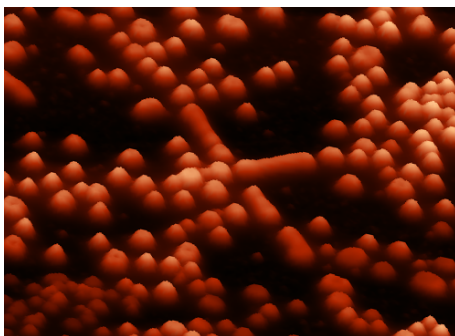
# Nanoskopie

*Rozvoj nanotechnologií byl mimo jiné umožněn rychlým vývojem v oblasti mikroskopických technik. Na druhou stranu požadavky kladené nanotechnologiemi na zobrazení struktur si vynutily vývoj zcela nových metod zobrazování, technik přípravy vzorků a také interpretace výsledků.*

*Tento text seznamuje s problematikou mikroskopických zobrazovacích technik na nanometrové úrovni – **nanoskopií**, včetně principiálního úvodu a ukázek aplikací.*

KATEDRA EXPERIMENTÁLNÍ FYZIKY

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI



Tento projekt je spolufinancován *Evropským sociálním fondem* a státním rozpočtem České republiky v rámci projektu *Vzdělávání výzkumných pracovníků v Regionálním centru pokročilých technologií a materiálů* (CZ.1.07/2.3.00/09.0042)

Oponenti: Mgr. Klára Šafářová, Ph.D.  
Ing. Oldřich Schneeweiss, DrSc.  
RNDr. Antonín Fejfar, CSc.

Grant CZ.1.07/2.3.00/09.0042 *Vzdělávání výzkumných pracovníků v Regionálním centru pokročilých technologií a materiálů*

1. vydání

© Milan Vůjtek, Roman Kubínek, Miroslav Mašláň, 2012

© Univerzita Palackého v Olomouci, 2012

Neoprávněné užití tohoto díla je porušením autorských práv a může zakládat občanskoprávní, správněprávní, popř. trestněprávní odpovědnost.

ISBN 978-80-244-3102-4

# Obsah

<b>1. Nanoskopie – mikroskopie pro nanosvět</b>	<b>5</b>
<b>2. Mikroskopie skenující sondou</b>	<b>7</b>
2.1. Skenovací tunelovací mikroskopie	8
2.1.1. Teorie STM	10
2.1.2. Princip měření	12
2.1.3. Hroty pro STM	14
2.1.4. Metody příbuzné STM	16
2.1.5. Aplikace STM	18
2.2. Mikroskopie atomárních sil	21
2.2.1. Kontaktní režim	22
2.2.2. Bezkontaktní režim	23
2.2.3. Pokleповý režim	25
2.2.4. Charakteristické síly	26
2.2.5. Spektroskopie sil	27
2.2.6. Mikroskopie příbuzné AFM	29
2.2.7. Detekce ohybu	34
2.2.8. Hroty a nosníky pro AFM	36
2.2.9. Testování hrotů	40
2.2.10. Kalibrace nosníku	42
2.2.11. Aplikace AFM	43
2.3. Optická mikroskopie v blízkém poli	47
2.4. Konstrukce mikroskopu	49
2.4.1. Hrubý pohyb	49
2.4.2. Skenování	50
2.4.3. Piezoprvky	50
2.4.4. Chyby skenerů a konstrukce	52
2.4.5. Korekce chyb	54
2.4.6. Kalibrace mikroskopu	55
2.4.7. Tlumení vibrací	56
2.4.8. Elektronika a zpětná vazba	57
2.5. Artefakty	59
2.6. Průběh měření AFM	66
2.7. Zpracování obrazu	67
2.7.1. Prokládání pozadí	70
2.7.2. Filtrace	72
2.7.3. Artefakty zpracování	73
<b>3. Elektronová mikroskopie</b>	<b>74</b>
3.1. Elektron jako vlna ve vakuu	75
3.2. Tubus elektronového mikroskopu	76
3.2.1. Vakuový systém	77
3.2.2. Elektronová tryska – zdroj elektronů	77
3.2.3. Pohyb elektronů v magnetickém poli	80

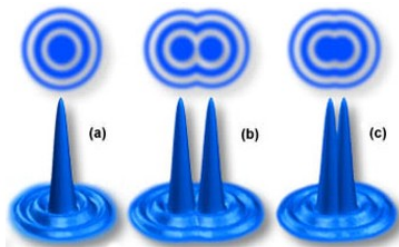
3.2.4.	Elektromagnetická čočka . . . . .	81
3.3.	Zobrazení elektronovým mikroskopem . . . . .	83
3.3.1.	Pozorování a záznam obrazu vytvořeného elektronovým mikroskopem . . . . .	84
3.3.2.	Interakce elektronů s preparátem . . . . .	85
3.4.	Základní pracovní režimy transmisního elektronového mikroskopu . . . . .	86
3.4.1.	TEM jako difraktograf . . . . .	86
3.4.2.	Vznik kontrastu v TEM . . . . .	87
3.4.3.	Elektronová holografie . . . . .	88
3.4.4.	Atomární rozlišení . . . . .	89
3.4.5.	Elektronová tomografie . . . . .	90
3.5.	Tvorba obrazu ve skenovacím elektronovém mikroskopu . . . . .	92
3.6.	Detekce rentgenového záření . . . . .	99
3.6.1.	EDS detektor rentgenového záření . . . . .	99
3.6.2.	WDS detektor rentgenového záření . . . . .	101
3.6.3.	Závislost velikosti excitačního objemu na urychlovacím napětí . . . . .	102
3.6.4.	Příprava vzorků pro elektronovou mikroanalýzu . . . . .	102
3.7.	Parametry zobrazení a úprava obrazu v SEM . . . . .	103
3.8.	Environmentální skenovací elektronová mikroskopie . . . . .	106
3.8.1.	Možnosti eSEM . . . . .	107
3.9.	Příprava vzorků pro TEM . . . . .	108
3.9.1.	Repliky . . . . .	110
3.9.2.	Stínování těžkými kovy . . . . .	111
3.9.3.	Metody mrazového sušení, lomu a odpařování . . . . .	112
3.10.	Příprava preparátů pro skenovací elektronovou mikroskopii . . . . .	112
3.11.	Příklady aplikací TEM a SEM . . . . .	112
3.11.1.	Využití TEM při charakterizaci magnetosomů . . . . .	114
3.11.2.	Studium kavitačního opotřebení materiálu . . . . .	119
3.11.3.	Využití SEM při studiu dendritické krystalizace . . . . .	120
4.	Závěr . . . . .	122
5.	Doporučená literatura . . . . .	122

# 1. Nanoskopie – mikroskopie pro nanosvět

V 80. letech minulého století pokročil rozvoj vědy a techniky na takovou úroveň, že začala být reálná možnost cílené a řízené manipulace s jednotlivými atomy a objekty poskládanými z malého počtu atomů. Tato možnost se stala jedním ze základů nové vědy, v současnosti nazývané **nanotechnologie**. Nanotechnologie se zabývají objekty, které jsou svou velikostí na pomezí mezi látkou v makroskopickém tvaru (např. krystaly) a jednotlivými atomy. Důvodem zájmu jsou zajímavé fyzikálně chemické vlastnosti, které látky vykazují, když jejich rozměry klesnou pod charakteristickou délku konkrétního fyzikálního jevu (např. je-li velikost částice menší než je střední volná dráha elektronu). Typická velikost charakteristických délek je okolo 100 nm a méně, proto se nanotechnologie často definují jako vědy zabývající se objekty s alespoň jedním rozměrem menším než 100 nm.

Uvedené rozměry jsou však menší než je vlnová délka viditelného světla, což s sebou nese jeden problém – takové objekty nelze pozorovat optickým mikroskopem. V něm totiž vlivem **difrakce** dochází ke zkreslení zobrazení objektů srovnatelných s vlnovou délkou  $\lambda$  použitého světla. V případě dvou bodových zdrojů světla, které navzájem přibližujeme, jsme schopni je ještě rozeznat jako oddělené právě tehdy, když se ohybové maximum jednoho obrazu bodu kryje s prvním ohybovým minimem druhého obrazu, což odpovídá přibližně 20% poklesu intenzity světla mezi maximy (obr. 1). Vzdálenost mezi středy maxim obrazů světelných bodů v tomto případě odpovídá rozlišovací mezi světelného mikroskopu, pro kterou odvodil ERNEST ABBÉ vztah

$$d_{\min} = 0,61 \frac{\lambda}{n \sin \alpha}.$$



**Obrázek 1:** Airyho disky a podmínka rozlišení dvou bodů v obraze: a) obraz jednoho bodového zdroje, b) obrazy dvou bodových zdrojů dobře rozlišitelných, c) obrazy dvou bodových zdrojů na hranici rozlišitelnosti (<http://micro.magnet.fsu.edu>).

Objekty menší než  $\approx \frac{1}{2}\lambda$  už vůbec nelze zobrazit. Jedinými objekty nanotechnologie, které lze optickou mikroskopií pozorovat, jsou tedy 2D nanostruktury, např. tenké filmy a grafeny, případně shluky nanostruktur.

---

Omezení optické mikroskopie platí jen ve směru kolmém k šíření světla, ve směru šíření omezení neexistuje. Proto je možné např. vyhodnocovat tloušťky tenkých vrstev až do nanometrů.

POZNÁMKA

Dále je třeba odlišit **mikroskopii**, tj. zobrazování objektů, od pouhé **lokalizace**, tj. určování polohy nebo přítomnosti objektu. Pro lokalizaci také neplatí difrakční omezení, proto je např. možno fluorescenční mikroskopii sledovat pohyb virů o rozměrech desítek nanometrů.

POZNÁMKA

Pro nanotechnologie je proto nutné používat jiné techniky, pro které dané omezení neplatí. První možností je využití záření s mnohem nižší vlnovou délkou – elektronová mikroskopie. Druhou používanou technikou je využití lokálních interakcí a principu skenování – mikroskopie skenující sondou.

Malé velikosti nanoobjektů vedou i k jednomu problému: sonda mikroskopu, která vzorek zobrazuje, má většinou tolik energie, že je schopna vzorek významným způsobem narušit – posunout jeho část, změnit jeho vnitřní uspořádání, vyrazit z něj atom apod.

Pro přesné „mikroskopování“ je proto třeba důsledně analyzovat proces zobrazování a vyhledávat možná ovlivnění. I tím se mikroskopie nanoobjektů začíná odlišovat od klasické mikroskopie a proto se v poslední době začíná používat spíše termín **nanoskopie**.

## 2. Mikroskopie skenující sondou

Mikroskopie skenující sondou (Scanning Probe Microscopy) je soubor mikroskopických technik, které využívají pohybu měřicí sondy v oblasti *blízkého pole* vzorku, tj. ve vzdálenostech do 100 nm. Tak malá vzdálenost dovoluje dosáhnout rozlišení lepší, než by u světla odpovídalo **difrakční mezi**, ovšem za cenu získání pouze lokální informace o vzorku. Pro charakterizaci celého povrchu vzorku je nutno provádět skenování sondou nad vzorkem, tj. postupná měření ve více bodech povrchu.

- Metody SPM zpravidla poskytují trojrozměrný obraz v přímém prostoru, narozdíl třeba od difrakčních technik.
- Velká blízkost sondy a vzorku umožňuje snížení energie určené k měření a tím snížení energetického zatížení vzorku (zvláště v porovnání s elektronovou mikroskopií).
- Naopak uvedená vzdálenost klade nároky na mechanickou stabilitu a řízení pohybu, protože může dojít k mechanickému poškození vzorku (i to lze využít, konkrétně k vytváření nanostruktur až na úrovni jednotlivých atomů).
- Metoda umožňuje zobrazovat výřezy vzorků ve velikostech od stovek mikrometrů do jednotek nanometrů, pro nejmenší oblasti až se subatomárním rozlišením. V nejlepších případech dosahují rozlišení hodnot setin až tisícín nanometrů. Techniky SPM tedy vhodně překrývají rozsahy dosažitelné pomocí optické a elektronové mikroskopie, čehož je možno využít k jejich vzájemným kombinacím.
- Z principu metody vyplývá jiné rozlišení v rovině skenování (povrchu vzorku) a ve směru k ní kolmém (označovaném jako osa z). První z nich je dáno především velikostí sondy a měřicích rozestupů, druhé závisí na charakteru interakce a mechanické stabilitě mikroskopu.
- Většina metod dovoluje určení parametrů pouze povrchových nebo těsně podpovrchových vrstev, nepracují v transmisním režimu.
- Metodu lze používat v řadě různých prostředí (vakuum, vysoký tlak, inertní plyny, kapaliny, nízké teploty, magnetická pole) a díky malým rozměrům lze mikroskop zabudovat i do řady jiných aparatur, např. pro přípravu vrstev.
- Kromě zobrazování povrchu lze určovat i mechanické a elektrické vlastnosti povrchu.
- Kvůli skenování je obraz sbírán postupně, takže měření je relativně pomalé. Běžná měření trvají pár minut, přesná měření i hodiny. Existují také mikroskopy s rychlým skenováním (cca 10 s na obrázek) a „video snímkovou frekvencí“.

Pro SPM techniky je charakteristická sonda (označovaná také jako hrot), která má velmi malé rozměry a pohybuje se řízeným způsobem nad vzorkem. Jednotlivé mikroskopické techniky se od sebe liší

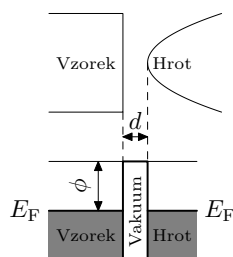
- využívanou fyzikální veličinou (proud, síla, teplota) a
- konstrukcí sondy.

## 2.1. Skenovací tunelovací mikroskopie

První úspěšnou realizací SPM byla mikroskopie tunelovacího proudu (Scanning Tunneling Microscopy – STM) v roce 1981. Její autoři o pět let později obdrželi Nobelovu cenu. Mikroskopie je založena na monitorování proudu, který protéká mezi vodivým hrotem a **vodivým** vzorkem, aniž by mezi nimi byl přímý mechanický kontakt. Protože je energie elektronů v kovu nižší, než energii ve vakuu (jinak by elektron v kovu nezůstával), vytváří se mezi hrotem a vzorkem energetická bariéra, která brání přímému průchodu proudu (obr. 2). Ale při dostatečně malé tloušťce bariéry může díky tunelovému jevu elektron přece jen projít, a to s pravděpodobností

$$T \sim \exp \left[ -\frac{2}{\hbar} \int_0^t \sqrt{2m[E - V(x)]} dx \right],$$

kde  $m$  je hmotnost elektronu,  $E$  jeho energie,  $V(x)$  průběh bariéry,  $\hbar$  Diracova konstanta a  $t$  je šířka bariéry. Integrál (vyjma konstant) v rovnici lze přibližně nahradit součinem efektivní výšky a šířky bariéry. Exponenciální závislost nabízí možnost vysokého rozlišení šířky bariéry a tedy vzdálenosti mezi sondou a vzorkem. Vzhledem k velikosti konstant změna vzdálenosti mezi sondou a hrotem o 0,1 nm (pro bariéru 4 eV s tloušťkou 0,5 nm) vyvolá řádový pokles pravděpodobnosti tunelování. Budeme-li schopni mapovat pravděpodobnost v různých místech, můžeme měřit topografii povrchu vzorku. Protože pravděpodobnost průchodu bariérou udává i pravděpodobnost přenosu náboje, souvisí s proudem, který soustavou prochází. Možnost praktického využití závisí nyní pouze na schopnosti měřit protékající proud, který má velikost nanoampéry a méně. Takové hodnoty jsme však schopni změřit relativně přesně, proto lze tunelování využít k mikroskopii. Vertikální rozlišení STM je určeno převážně mechanickou stabilitou šířky tunelovací mezery, protože změny v topografii menší než nestability jsou účinně potlačeny. Rozlišení bývá až 1 pm.



Obrázek 2: Tunelovací bariéra v STM.



**Laterální rozlišení STM** Exponenciální závislost proudu má velký vliv i na rozlišení v rovině skenování. Pro dosažení vysokého rozlišení v subnanometrových rozměrech je totiž zapotřebí mít co nejostřejší hrot (malý poloměr křivosti), nejlépe jen jeden vrcholový atom na špičce kužele, aby nedocházelo k superpozici jednotlivých interakcí. Takový hrot je však obtížné vyrobit, ale díky uvedené závislosti to ani není nutné, postačuje hrot s makroskopickým zaoblením, je-li jeden atom vyčnívající. Přes něj pak teče téměř veškerý proud a efektivní poloměr křivosti odpovídá velikosti atomu. Takový výčnělek vznikne na hrotu téměř vždy a je snadněji vyrobiteľný než vrchol kužele.

Pro atomární rozměry neexistuje nějaký základní limit rozlišení jako ve vlnové optice a lze se setkat s definicemi rozlišení založenými

- na velikosti „elektronového vlákna“ mezi hrotem a vzorkem,
- na zvlněnosti ploch konstantního proudu (pro periodické struktury, je-li vlnění menší než šum v tunelování, bylo dosaženo limitního rozlišení),
- na velikosti nejmenšího rozlišitelného detailu nalezeného v obraze,
- nebo na vlnových základech.

Pro parabolicky tvarovaný hrot s poloměrem  $R$  lze rozlišení dle prvního způsobu odhadovat následující úvahou: Je-li vrchol paraboly ve vzdálenosti  $d$  nad rovinným povrchem, je jeho atom v laterální poloze  $x$  od osy paraboly ve výšce  $d + \frac{x^2}{2R}$  a po dosazení do vztahu pro pravděpodobnost tunelování dostaneme gaussovský profil proudu

$$I(x) \sim \exp\left[-\frac{\kappa x^2}{R}\right],$$

kde  $\kappa$  je konstanta. Rozlišení lze uvažovat jako střední kvadratickou hodnotu, tedy

$$\text{rozlišení} = 0,7\sqrt{\frac{R}{\kappa}}.$$

Dosahovaná laterální rozlišení na atomárně hladkých površích bývají  $\sim 0,01$  nm.

Rozlišení samozřejmě závisí i na velikosti skenovacího kroku, což je omezující parametr především v oblasti mikrometrových rozměrů. Velikost kroku nepřímo závisí na počtu měřicích bodů, který ovlivňuje dobu měření jednoho obrazu. Volba správného kroku je tedy kompromisem mezi maximálním rozlišením a délkou měření, což má význam především při studiu dynamických jevů. Kvůli velké blízkosti sondy je rozlišení v mikrometrových rozsazích ovlivňováno také makroskopickým tvarem hrotu, protože jednak všechny polohy sondy nenulové šířky nejsou fyzikálně možné (například není vůbec možné sledovat póry a hluboké zářezy), jednak se mění poloha bodu nejmenší vzdálenosti od vzorku a rozchází se s polohou středu hrotu (podle kterého obraz sestavujeme), ale v této oblasti je zpravidla možno určit tvar hrotu dostatečně přesně a pokusit se o korekci obrazu. Matematicky se uvedené zkreslení považuje za konvoluci tvaru hrotu a vzorku, inverzní dekonvolucí lze obraz v některých částech vylepšit. Rozlišení SPM je tedy nutno

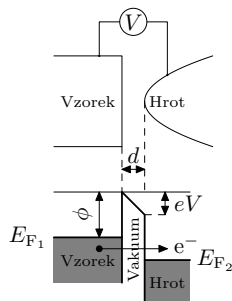
určovat vždy pro daný typ vzorku a detailu, často se bere přímo jako nejmenší detail rozlišitelný v získaném obraze.

Rozlišení je dále ovlivňováno konstrukčními parametry přístroje a prostředím. Jedná se především o přenos vibrací (velká citlivost je zvláště ve vertikálním směru, což je největší složka vibrace budov), tepelné drifty a proudy v okolí, ale také o stabilitu piezokeramiky.

V obecnějším smyslu je třeba v rozlišení vidět také závislost na chemické podstatě vzorku. Jak je známo ze simulací „elementárního STM“ pomocí dvou atomů na rovinných površích, získaný obraz závisí na druhu atomu. Rozdíly mohou být jak ve velikosti, tak i polaritě topografického signálu. Dále v textu bude ukázáno, že na některé povrchy (významné především pro adsorbáty) STM vůbec nereaguje, což lze chápat jako nulové rozlišení.

### 2.1.1. Teorie STM

Předchozí výklad byl pouze ilustrací principu STM. V prostoru vakua dochází sice po přiblížení k vytvoření energetické bariéry a překryvu vlnových funkcí atomů vzorku a hrotu, ale pro stejné materiály je bariéra symetrická a oběma směry teče stejně velký proud a celkový proud má nulovou střední hodnotu. Teprve po přiložení napětí  $V$  dojde k narušení symetrie a nenulovému proudu (obr. 3). Bude-li napětí malé, lze předpokládat příspěvek pouze jediné energetické hladiny a proud bude násobkem pravděpodobnosti tunelování.



Obrázek 3: Tunelovací bariéra po přiložení napětí.

Uvedený vztah pro pravděpodobnost  $T$  platí pro průchod částice, která je na obou stranách bariéry volná, což rozhodně nepopisuje elektron v hrotu či vzorku. Z toho plyne také problém nulového kontrastu na rovinném povrchu, což neodpovídá experimentům. Uvedené vztahy totiž nyní závisí na Fermiho energii, která je v celém kovu stejná (v rovnovážném stavu, což není přesně náš případ, protože systémem teče proud), ale proud je rovněž ovlivňován překryvem vlnových funkcí, který se může měnit od atomu k atomu. Dílčím zobecněním je pozměnění celkové pravděpodobnosti tunelování  $P$ . Ta totiž závisí nejen na pravděpodobnosti tunelování skrze bariéru, ale také na obsazení příslušných energetických hladin na obou stranách (elektron tuneluje bez ztráty energie, a to jen tehdy, je-li na jedné straně hladina obsazena a na druhé je prázdná). Je zřejmé, že tímto způsobem pravděpodobnost závisí na hustotě energetických stavů, tedy dostane-li

se na úroveň Fermiho energie hrotu maximum v hustotě stavů vzorku (změnou velikosti přiloženého napětí), dojde k nárůstu tunelového proudu. Příspěvek různých stavů však není stejný, protože vyšší stavy překonávají nižší bariéru a tunelují tedy s větší pravděpodobností.

Uvažujme tok elektronů, který dopadá ve směru osy  $z$  kolmo na bariéru a protuneluje se skrze ní. Počet takových elektronů je  $N_t = \frac{1}{m} \int_0^{E_M} n(v_z) T(E_z) dE_z$ , kde  $E_M$  je maximální energie,  $E_z$  složka energie v ose  $z$  a  $n(v_z) dv_z$  je hustota elektronů s  $v_z \in \langle v_z, v_z + dv_z \rangle$ . Budeme-li předpokládat, že elektrony mají Fermiho distribuci (odpovídá modelu volných elektronů) a zajímat se pouze o závislost v ose  $z$ , dostaneme  $n(v_z) = \frac{m^3}{4\pi^3\hbar^3} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(E) dv_x dv_y$ . Dosazením do vztahu pro počet elektronů, vyjádřením analogického počtu pro opačně tunelující elektrony, vynásobením nábojem elektronu a vzájemným odečtením pak dostaneme vzorec pro výslednou hustotu proudu

$$J = \frac{m^2}{4\pi^3\hbar^3} \int_0^{E_M} T(E_z) dE_z \times \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} [f(E) - f(E + eV)] dv_x dv_y.$$

Z této rovnice plyne pro pravouhlou bariéru a malé napětí ohmické chování tunelovacího přechodu. Pro větší napětí už se projevují nelinearity ( $\sim V^2$ ), které dále zvyšuje efekt zrcadlového náboje.

**Poruchová metoda** Předchozí model tunelování je sice názorný, ale lze jej použít jen (pro některé případy) u kovů. Nezahrnuje totiž závislost hustoty hladin na energii, což je obvyklé např. u polovodičů. Pro ně je nutno navrhnout model obecnější.

Běžnou metodou vyšetřování v kvantové mechanice je použití poruchové teorie. O podobnou analýzu se můžeme pokusit i v STM, ale aplikace zde není přímočará. Problémem je silná interakce mezi hrotem a vzorkem, která zabraňuje separaci hamiltoniánu systému. Proto se volí poněkud pozměněná metoda, která nesestavuje vlnovou funkci systému z řešení neporušeného systému, ale odvozuje je z neporušených podsystémů. Konkrétně se uvažuje vlastní funkce  $\psi_t$ , popisující hrot (tip), která je řešením Schrödingerovy rovnice v objemu hrotu, ale mimo něj (podél osy  $z$ ) exponenciálně klesá s koeficientem  $\kappa = \sqrt{2m(E - V_0)}/\hbar$ . Obdobně se uvažuje vlnová funkce  $\psi_s$  popisující vzorek (sample). Aplikujeme-li nyní standardní poruchový počet (hamiltonián systému obsahuje části popisující vzorek, hrot a člen popisující časově závislou interakci  $\hat{H}_t$ , výslednou funkci hledáme ve tvaru lineární superpozice  $\psi_{t,s}$  s časově proměnlivými amplitudami) a Fermiho zlaté pravidlo pro pravděpodobnost přechodu, obdržíme pro rychlost přechodu za jednotku času

$$w_{ts} = \frac{2\pi}{\hbar} \|M_{ts}\|^2 \delta(E_t - E_s),$$

kde  $\delta(\cdot)$  je Diracova funkce a  $M_{ts}$  je poruchový maticový element  $\langle \psi_t | \hat{H}_t | \psi_s \rangle$ , který lze psát ve tvaru

$$M_{ts} = \frac{-\hbar^2}{2m_e} \int_S (\psi_s^* \nabla \psi_t - \psi_t \nabla \psi_s^*) d\vec{S},$$

v němž se integruje přes libovolnou plochu v oblasti vakua mezi hrotem a vzorkem. Procházející proud kvůli němu není přímo úměrný hustotě stavů. Pro jeho celkovou hodnotu je totiž ještě nutno provést váženou sumaci přes všechny počáteční i konečné vlastní stavy, které však mají  $M_{ts}$  různé,

$$I = \frac{4\pi e}{\hbar} \sum_{t,s} [f(E_t) - f(E_s - eV)] n_t(E_t) n_s(E_s + eV) \|M_{ts}\|^2 \delta(E_t - E_s),$$

ve kterém už vystupují i hustoty stavů  $n$ . Uvedený vztah má především teoretický význam, protože vlnové funkce přesně neznáme a musíme používat pouze modely.

Prvním užitým modelem je TERSOFF–HAMANNŮV, který vlnovou funkci hrotu nahrazuje  $s$ -funkcí (směrově nezávislou), což je vhodná aproximace kovových hrotů s malými poloměry. Pro vodivost tunelovacího přechodu pak obdržíme úměru

$$\sigma \approx e^{2\kappa R} \sum_s \|\psi_s(\vec{r}_0)\|^2 \delta(E_s - E_F), \quad (\clubsuit)$$

kde  $\vec{r}_0$  je poloha středu křivosti hrotu a  $R$  je poloměr křivosti hrotu. Vodivost je tedy úměrná **celkové elektronové hustotě pro energii  $E_F$**  v bodě  $\vec{r}_0$  mimo vzorek a opět dostáváme ohmické chování pro malá napětí. Uvedený výsledek platí přesně pro malé přiložené napětí, ale často se jeho platnost předpokládá i pro větší napětí  $V$ . Budeme-li uvažovat exponenciální pokles vlnové funkce ve vakuu  $\|\psi_s(\vec{r}_0)\|^2 \sim e^{-2\kappa(R+d)}$  ( $d$  je vzdálenost hrot–vzorek), pak obdržíme intuitivně očekávaný exponenciální pokles  $\sigma \propto e^{-2\kappa d}$ .

Poslední model však stále vykazuje podstatné odlišnosti od některých experimentálních výsledků – někdy nesouhlasí teoretické rozložení hustoty v okolí  $E_F$ , někdy se objevuje mnohem pomalejší exponenciální pokles. Model je zcela neschopen vysvětlit často pozorovanou inverzi obrazu s růstem  $d$ . Proto byl model postupně vylepšován (a komplikován) zahrnováním ostatních stavů, např. u přechodových kovů v elektronové hustotě převládají stavy symetrie  $d$ . Ukazuje se, že zahrnutí dalších stavů zvyšuje výsledný kontrast obrazu a je důležité také z praktického hlediska, protože materiály nejčastěji používaných hrotů tyto stavy obsahují (např. wolfram).

Uvedené teorie jsou stále velmi jednoduché na vystižení celého tunelování. Díky Diracově funkci nejsou zahrnuty žádné neelastické procesy (rozptyl elektronů na excitacích akustických či elektronových – přechod může působit jako přijímací i vysílací anténa), silné elektrické pole způsobuje povytahování atomů z původních poloh a změny elektronové hustoty (v extrémních případech může dojít i k přenosu atomu – lze realizovat jednoatomový bistabilní obvod), dalekodosahové síly pak způsobují přitahování hrotu a vzorku, což způsobí neregistrovanou změnu šířky bariéry.

### 2.1.2. Princip měření

Vlastní měření probíhá tak, že se nejprve provede hrubý posuv vzorku ke hrotu (ve směru  $z$ ), tento může být čistě mechanický. Poté dojde k přiložení napětí mezi hrot a vzorek, aby mohl procházet proud  $I_0$  a nyní se jemným posuvem

(pomocí piezokeramiky) přiblíží vzorek ke hrotu tak, aby procházející proud nabyl měřitelných hodnot (velikost mezery bývá  $< 1$  nm, proud řádově nA, napětí mV až V). Během měření se provádí skenování po bodech na jednom řádku ve směru osy  $x$  (tzv. fast-scan) a na konci řádku sonda poskočí o jeden krok ve směru osy  $y$  (tzv. slow-scan).

Podle konkrétního způsobu sběru dat rozlišujeme dva způsoby měření:

1. v režimu **konstantní výšky** se během měření se sondou nehýbe ve směru nahoru/dolů a v každém bodě se do paměti počítače ukládá trojice  $(x, y, I)$ , kde  $I$  je velikost tunelovacího proudu v daném bodě. Přesnost je zde určena jednak stabilitou fixované polohy, jednak dynamickým rozsahem snímače proudu. Při relativně malých změnách se totiž proud mění v rozmezí několika řádů, což klade velké nároky na stejnosměrný vstup měřícího obvodu.
2. v režimu **konstantního proudu** se v každém bodě nad vzorkem nejprve změní proud  $I$  a pokud se liší od  $I_0$ , sonda se oddálí nebo přiblíží ke vzorku o takové posunutí  $\Delta z$ , aby zase platilo  $I = I_0$ . Do paměti počítače se pak ukládá trojice  $(x, y, \Delta z)$ . Udržování konstantního proudu se děje pomocí přídavného obvodu **zpětné vazby**. V praxi se často místo posunutí  $\Delta z$  ukládá jen odpovídající změna napětí na piezokeramice  $\Delta V_z$ . Přesnost v tomto režimu je určena především nastavením zpětné vazby.

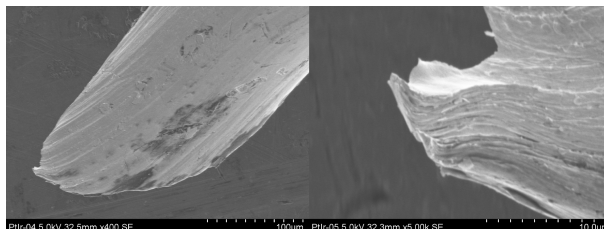
Protože se sonda při skenování zpravidla pohybuje v pravidelném rastru, není třeba si pamatovat souřadnice  $x$  a  $y$ , ale jenom jejich pořadí. Proto vystačíme s jedinou maticí  $a_{i,j}$ , do které uložíme buď hodnoty proudu, nebo změny napětí/posunutí.

Každá z variant má své výhody i nevýhody. Použití zpětné vazby vnáší možnost jejího nepřesného nastavení a měření zpomaluje, neboť je nutno realizovat mechanický pohyb. Naopak ale zvyšuje použitelný dynamický rozsah a snižuje nároky na konstrukci snímače proudu (ale zase přidá složitý obvod zpětné vazby). Je vhodnější pro měření topografie, protože stačí znát piezoelektrickou konstantu skeneru oproti druhému režimu, v němž musíme znát výšku bariéry. Další rozdíly lze nalézt v chování v oblastech nevodivých nečistot na povrchu. Při použití zpětné vazby hrozí zarytí hrotu do vzorku, neboť se zpětná vazba bude snažit dosáhnout nastavené hodnoty proudu, která ovšem nad izolantem není dosažitelná. Při konstantní výšce jsou zase nebezpečné vysoké výčnělky (i vodivé), protože sonda na ně může narazit a může dojít k poškození vzorku či sondy.

**Vliv vzorku** Kvalita a způsob zobrazení závisí výrazně na vodivých vlastnostech vzorku. Pro kovové povrchy je zpravidla dosahováno dobré rozlišení, ale kovy vykazují jen malé zvlnění, zvláště vzácné a přechodové kovy (stavy  $s$  a  $d$  orbitály nezasahují příliš do prostoru). U **polovodičů** je situace jiná, zde bývá velké zvlnění, vykazují silnou závislost hustoty stavů na energii, která se navíc nespojitě mění na hranách pásů. Existenci zakázaného pásu je také omezeno nejmenší smysluplné napětí, při kterém se dá měřit. Pro napětí  $V < 0$  proud tuneluje z valenčního pásu, pro kladná **do** vodivostního pásu. Interpretaci obrazu znesnadňují velké napěťové úbytky způsobené ohybem pásů, protože není známo, jak velké je skutečné tunelovací napětí.

### 2.1.3. Hroty pro STM

Ve své podstatě je STM hrot velmi jednoduchý, postačuje aby byl vodivý a ostrý. V prvních mikroskopech se proto používaly pouze rozstřížené dráty, se kterými se dalo dosáhnout rozlišení asi 1 nm. Pro vyšší rozlišení už začíná být nevýhodný nesymetrický tvar takovýchto hrotů a jejich neznámá elektronová struktura. Přesto se takto připravené hroty používají dodnes – hlavně díky jednoduchosti přípravy – a lze s nimi dosáhnout atomárního rozlišení na grafitu (obr. 4), ale ne s každým připraveným hrotem. Velká část takto připravených hrotů se ukáže jako nepoužitelná.

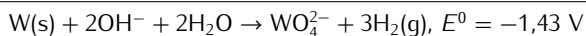
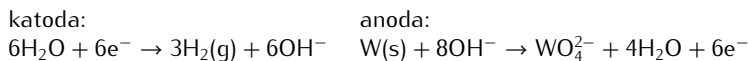


**Obrázek 4:** STM hrot připravený stříháním. Vlevo celkový tvar hrotu, vpravo detail ostrého konce.

Proto se začaly používat hroty připravované chemickým leptáním, které dávají reprodukovatelné tvary a hrot ještě zbaví nečistot (významné jsou především izolující nečistoty, které mohou způsobit nestabilitu zpětné vazby). Ideální hrot by tedy měl být čistý, zakončený jedním atomem, dostatečně tuhý (mechanické vlastnosti ovlivňují skenovací rychlost, vyhovují makroskopicky tupé hroty), s jednoduchou elektronovou strukturou. Pokud se takový hrot nezíská přímo leptáním, podstupuje řadu vylepšovacích operací – odstranění oxidických vrstev, mechanické nebo emisní zaostření, žíhání v elektrickém poli (zvláště monokrystaly).

Hroty z wolframu se připravují zpravidla elektrochemickým leptáním, což je metoda již dobře zaběhnutá v mikroskopích FIM, FES a jedná se o anodické rozpouštění. K leptání může být použit stejnosměrný či střídavý proud.

**Stejnoseměrné napětí** Drát je upevněný na mikroposuvném šroubu, je ponořený do elektrolytu a je zapojen jako anoda. Katodu tvoří cylinder z nerez oceli, elektrolytem je NaOH nebo KOH a leptání probíhá při napětí 13 V.



Tvar a poloměr hrotu je určen meniskem, který se vytvoří po vnoření hrotu do elektrolytu. Čím je meniskus kratší, tím je výsledný hrot tupější. Pro kvalitní hrot by měla být udržována poloha menisku konstantní (mění se se změnou plochy v průběhu reakce), proto je drát upevněn na polohovacím šroubu. Leptání probíhá rychleji po stranách než z čela, vytváří se současně dva hroty, protože odleptaná vrstva teče po drátě dolů a tím chrání ponořenou

část před rozleptáním. Kvalita hrotu závisí na rychlosti, s jakou je vypnuto napájení po přešleptání drátu a na délce ponořené části (čím je delší, tím je těžší a dříve upadne, tedy ještě před vyleptáním ostrého hrotu). Chceme-li použít horní konec jako hrot, musí se ihned po přetržení vytáhnout a opláchnout destilovanou vodou; při použití dolního konce je nutno nalít na dno vaničky ochrannou vrstvu, nemísivou s elektrolytem (př. trichlormetan). Při leptání je nutno doplňovat roztok, protože dochází k vyčerpání  $\text{OH}^-$ . Vyrobený hrot má tvar hyperboloidu, ale velmi ostrého, který je pokryt oxidovou vrstvou.

**Střídavé napětí** Mezi vnější válcovou elektrodu a drát je vloženo napětí cca 2 V, leptání je rychlejší než DC, vyrobený hrot je kónický, ale méně ostrý. Opět může být využita horní i dolní část drátu.

**Platinové hroty** Dalším často užívaným materiálem na hroty je platina, z důvodu mechanické odolnosti ve slitině s iridiem. Hroty lze vyrábět mechanicky, ale lepších výsledků se opět dosahuje leptáním v různých roztocích ( $\text{NaCN}/\text{NaOH}$ ,  $\text{KCl}/\text{H}_2\text{O}/\text{HCl}$ ,  $\text{NaCN}/\text{KOH}$ ). Špičaté hroty s malým poloměrem se z Pt-Ir drátů připravují ve dvou krocích. Nejprve se provede leptání v objemovém rozpouštědle ( $60\text{CaCl}_2/36\text{H}_2\text{O}/4\text{HCl}$ ) při 25 mV AC po dobu cca 5 minut, čímž se na drátku vytvoří zúžená oblast. Ve druhém kroku se provede jemné leptání. V drátěné smyčce z Au drží povrchovým napětím tenká vrstva leptadla, pomocí stereomikroskopu se do vrstvy umístí zeslabená část drátu a ta se průchodem postupně zeslabuje a pak krátkým dotykem zaostří. Výsledkem je hrot s poloměrem pod 50 nm, hladkým povrchem a vrcholovým úhlem  $8^\circ$ . Při výrobě hrotů je nutno zabránit vzniku povrchové vrstvičky uhlíku (bývá tlustá až 10 nm). Lze toho dosáhnout výrobou v  $\text{N}_2$  atmosféře a používáním vody, která byla předtím vyvařena ( $\text{CO}_2$  má vyšší tlak par). Pokud je vrstva na hrotu obsažena, odstraňuje se iontově (což je ovšem pomalé, 30 minut na hrot) nebo redukcí v acetylenovém plameni (nesmí dojít k rekrystalizaci či roztavení, nutnost přesné teploty).

**Další materiály** Mezi další používané materiály patří molybden (leptá se střídavým proudem), wolfram z jednoho krystalu, zlato (leptá se v roztoku HCl, glycerinu a čistého etanolu při napětí 7 V DC, mívá zubatou morfologii, podle jiných bývá naopak hladký, je velmi měkký) nebo nikl (povrch srovnatelný s W, tvoří se oxidy).

Zvláštní kapitolou jsou hroty pro elektrochemii (studuje jevy na povrchu v přítomnosti elektrolytu). Pro správnou funkčnost je nutné zabránit tečení faradaických proudů mezi hrotem a vzorkem, což lze zajistit pokrytím hrotu nevodivou vrstvou vyjma samotné špičky. Používají se různé izolační materiály. Pt hrot se např. kryje sklem, které se roztaví a vnoří se do něj chemicky leptaný hrot, míru pokrytí lze kontrolovat teplotou tavení, odkrytá plocha mívá velikost pod  $1 \text{ nm}^2$ . Získaný hrot je však velmi křehký, navíc nelze použít sklo v alkáliích, proto je lepší způsob izolace hrotu voskem. Vosk se nanese nad zářez vyhřívané destičky a roztaví se. Do roztaveného vosku je pomalu zdola vnořen leptaný hrot a vyčká se ustavení rovnováhy, pak se hrot vytahuje nahoru, až přeruší vrchní vrstvu vosku. Protože vyříznutá štěrbina je na okraji chlazená, není vosk všude stejně tekutý. Na okraji je více tuhý a pokrývá tam celý hrot, uvnitř je roztavený a zcela steče. Někde uprostřed je oblast, v níž dochází k pokrytí tak akorát.

#### 2.1.4. Metody příbuzné STM

Rozvoj skenovací metody STM vedl ke vzniku celé řady odnoží, které jsou však již dost specializované. Zde je uveden krátký přehled několika z nich s velmi stručným popisem.

- **Skenovací kapacitní mikroskopie (SCM)** využívá kapacitu mezi sondou a (polo)vodivým vzorkem, která se mění v závislosti na topografii i materiálových vlastnostech dielektrik. Používá speciálních ostřených sond (drátů), případně ještě stíněných. Měří se derivace síly podle vzdálenosti při přiloženém stejnosměrném napětí, velikost rozladění rezonančního obvodu nebo vysokofrekvenční  $C-U$  závislosti. Vzhledem k využití dalekodosahových interakcí má metoda horší rozlišení, navíc je ovlivňována tunelujícími proudy. Metoda se používá především k mapování rozložení koncentrace dopantů v polovodičích.
- **Teplotní skenovací mikroskopie (SThM)** slouží k mapování teploty či teplotní vodivosti. Při měření se nad povrchem pohybuje mikrotermočlánek, který je tvořen spojením dvou kovů (např. W a Ni). Jeden z kovů je nosný a tvoří vnitřek hrotu, na něm je nanášena izolační vrstva, která hrot kryje vyjma špičky. Přes tuto vrstvu je nanášen druhý kov, takže ke spojení obou kovů dochází jen na vrcholku hrotu. Termočlánek je ohříván průchodem stejnosměrného proudu a rastruje blízko povrchu. Pokud má okolní vzduch značně menší tepelnou vodivost než vzorek, nastane při přiblížení k povrchu značný pokles termonapětí. Variace v termonapětí podél povrchu odpovídají změnám v tepelné vodivosti. Aby se zabránilo teplotním driftům a vlivu okolní teploty, kmitá hrot ve směru kolmém k povrchu, tím dochází ke změně tepelného odporu a změně ochlazování, takže při stejnosměrném vyhřívání dostáváme střídavý signál. Tato metoda poskytuje rozlišení asi 30 nm, reakční doby 1  $\mu$ s a citlivost na změnu teploty 1 mK. Je-li vzdálenost ke vzorku menší než střední volná dráha molekul vzduchu (66 nm), selhává modulace a zhorší se vlastnosti metody. Ale při vzdálenostech pod 10 nm nastává prudká změna v tepelné vodivosti (blízké navázání optických fononů nebo vyrovnání Fermiho hladin), jsou-li oba materiály kovové. Jsou-li různé, můžeme obdržet „tunelující“ termočlánek, v němž termonapětí slouží k měření variací v termonapětí při skenování a tunelující proud k řízení mezery. Citlivost metody je omezena tepelným šumem, k řízení mezery lze využít i šumovou mikroskopii. Při měření se stanovuje součin  $\frac{\partial \mu}{\partial T} \Delta T$ , kde  $T$  je teplota a  $\mu$  chemický potenciál. Lze tedy použít dvě metody: buď se vytvoří teplotní gradient a měří se variace potenciálu, nebo se měří teplotní změna, způsobená například absorpcí laserového záření.

Druhou variantou této metody je vytvoření senzoru ze dvou tepelně dilatujících pásků s různými koeficienty tepelné roztažnosti. Změna okolní teploty způsobí prohnutí nosníku, které lze detekovat opticky.

- **Mikroskopie iontovou sondou (SICM)** používá elektrolyt v nádobce (rezervoár), do které je ponořen zkoumaný vzorek (membrána apod.). Sondou je



mikropipeta s hrotovým otvorem, do níž byl nalit elektrolyt. Do roztoku v pipetě a rezervoáru jsou zavedeny elektrody a při skenování se měří iontová vodivost (resp. proud). Ta se mění v závislosti na topografii vzorku (přiblížením pipety klesne velikost mezery a tím i vodivost) a na velikosti iontového toku. Metodu lze použít pro nevodivé vzorky a je zvláště vhodná pro zobrazování pórů v membránách (přiblížením pipety k otvoru v jinak celistvé membráně prudce vzroste počet procházejících iontů). Pro rozlišení a kvalitu zobrazení je nejdůležitějším vlivem vytvoření dostatečně robustní pipety s malým vnitřním otvorem.

- **Skenovací tunelová potenciometrie (STP)** se od klasické STM liší dvěma elektrodami, které jsou přiloženy na protilehlé strany vzorku a mají potenciálový rozdíl  $\Delta V$ . Tunelovací napětí na hrotu je střídavé a měří se tunelový proud. K měření topografie se použije střídavá složka (vzhledem k zaměření metody je vždy nutné volit režim konstantního proudu), zatímco stejnosměrná se pomocným napětím  $V_R$  vyrovnává na nulu (můstková metoda). V okamžiku vyrovnání udává napětí  $V_R$  okamžitou hodnotu potenciálu v daném měřicím bodě. Metodou je tedy možno stanovit rozložení potenciálu podél povrchu, což je vhodné např. pro měření PN přechodů, zkoušení polovodičových součástek, měření zrnitých materiálů či malých napěťových variací.

- **Inverzní fotoemisní mikroskopie** využívá tunelujících elektronů ke stimulaci emise fotonů z oblasti tunelové mezery, jde o vybuzení povrchových plazmonů neelastickým tunelováním a jejich následný rozpad. Spektra lze měřit dvěma způsoby. Buď se volí pevná frekvence analyzovaného světla a sleduje se závislost emise na tunelovacím napětí (získaná spektra odpovídají rysům v hustotě stavů, získané  $I-V$  charakteristikou), nebo je napětí konstantní a proměňuje se frekvenční spektrum.

Metoda má svou inverzi, ve které je přechod, působící jako přijímací anténa, ozařován světlem (laseru), které vyvolává proud, který je nelinearitou přechodu usměrňován a může sloužit ke kontrole vzdálenosti mezi vzorkem a hrotem. Podobně lze v mikroskopii využít tunelovací přechod k nelineárnímu směšování dvou světelných paprsků, přičemž přechod vyzařuje rozdílový signál, sloužící ke kontrole šířky bariéry – měření se obejde bez elektrických kontaktů k přechodu.

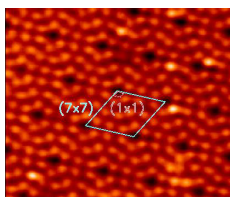
- **Mikroskopie fotonapětí** měří variace ve fotonapětí generovaném ozářením laserem. Jsou použity dvě nezávislé zpětné vazby, jedna sledující kmitání nosníku na frekvenci buzení piezokeramiky  $\omega_t$ , druhá na frekvenci střídavého napětí mezi nosníkem a vzorkem  $\omega_p$ . Měření je založeno na indukované elektrické síle, která závisí na  $V^2$  a tato síla (a tedy i vibrace s frekvencí  $\omega_p$  způsobená tímto napětím) bude nulová právě tehdy, bude-li potenciál vzorku totožný s potenciálem hrotu.
- **Mikroskopie šumového napětí (SNM)** se využívá pro vzorky, které vyžadují co nejmenší proud. V každém STM se objevuje šum, který pochází buď z elektroniky, nebo přímo z diskretního tunelování elektronů. První druh

šumu lze snižovat vhodnou volbou konstrukce, druhý lze využít k měření. Hrot a vzorek se ponechají bez napětí a měří se pouze kvadrát šumového tepelného napětí (výjimečně se neměří proud) v širokém frekvenčním pásmu, který je úměrný odporu tunelovací bariéry. Zpravidla se měří v režimu konstantní vodivosti. Metoda je vhodná i k nezávislému řízení mezery při jiných metodách. Metoda má nízký poměr signálu k šumu, protože měřené pásmo šumu je omezeno vlastní kapacitou přechodu.

Metoda může pracovat také jako šumová potenciometrie. Budeme měřit šum v úzkém pásmu na nižších frekvencích a udržovat jeho hodnotu konstantní. Obdobně budeme měřit pásmo na vyšší frekvenci a budeme určovat jejich poměr, který je v případě bílého šumu jednotkový. Je-li přítomen šum typu  $1/f$ , poměr není jednotka, přidáme-li však malé předpětí, lze bílého šumu docílit. V tom případě je předpětí až na znaménko přesně rovné potenciálu v místě na povrchu. Metoda je schopná měřit potenciály na úrovni  $\mu\text{V}$ .

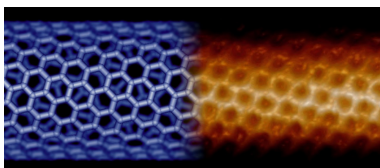
### 2.1.5. Aplikace STM

Mezi aplikacemi, ke kterým byla použita technika STM, nelze neuvést strukturu rekonstruovaného povrchu  $\text{Si}(111)7 \times 7$ , protože to byl první povrch, na němž byla metoda aplikována a kde přispěla k vyřešení dlouhodobého teoretického problému. Už dlouho bylo známo, že rekonstrukce je typu  $7 \times 7$ , ale nebyla známá detailní struktura. Bylo navrženo několik teoretických modelů, ale nebylo možno mezi nimi rozhodnout pomocí nelokálních metod. Teprve zobrazení pomocí STM (obr. 5) umožnilo definitivně potvrdit jeden z modelů.



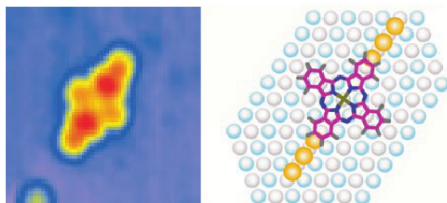
**Obrázek 5:** Povrch rekonstrukce  $\text{Si}(111)7 \times 7$ , zobrazený pomocí STM s vyznačenou elementární buňkou (<http://www.desy.de/hasunihh/poster/bilds/img1.jpg>).

Rozložení atomů lze pozorovat nejen na površích monokrystalů, ale také na méně rozsáhlých strukturách. Kupříkladu často se pozoruje struktura uhlíkových nanotrubiček (obr. 6).



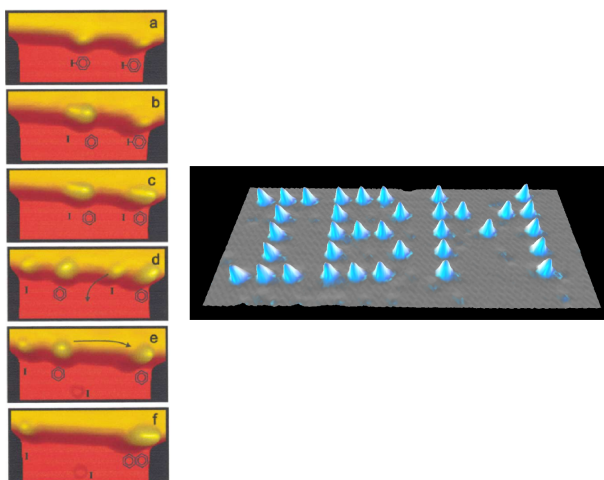
**Obrázek 6:** Uhlíková nanotrubička: vlevo model, vpravo STM atomární zobrazení povrchu ([http://www.phys-chemie.uni-wuerzburg.de/fileadmin/08050200/user\\_upload/STM\\_ball\\_stick.jpg](http://www.phys-chemie.uni-wuerzburg.de/fileadmin/08050200/user_upload/STM_ball_stick.jpg)).

Kromě toho lze studovat také molekuly, adsorbované na povrchu látek. Na příklad na obr. 7 je zobrazena molekula phthalocyaninu, navázaná na dva zlaté řetězky na povrchu NiAl. Všimněte si, že na molekule není dosaženo atomárního rozlišení, ale lze dobře odlišit jednotlivé části molekuly.



**Obrázek 7:** Zobrazení molekuly na povrchu (vlevo) a příslušný model (vpravo) (doi:10.1126/science.1088971).

Technika STM se kromě zobrazování povrchů dá použít i k manipulacím na atomární úrovni. Už v roce 1990 tak tým z firmy IBM zapsal její logo nejmenším možným písmem (obr. 8 vpravo). Dalším mezníkem pak bylo provedení řízené chemické reakce na úrovni jednotlivých molekul, konkrétně sloučení iodobenzenu na difenyl (obr. 8 vlevo). K tomu bylo využito přenosu energie od elektronů, které tunelují mezi hrotem a vzorkem<sup>1</sup>. Nejprve se díky tunelování nechají rozpadnout dvě molekuly iodobenzenu, jejich zbytky se pak tažením přitáhnou k sobě a dalším tunelováním se jim dodá energie, nutná ke sloučení obou molekul.

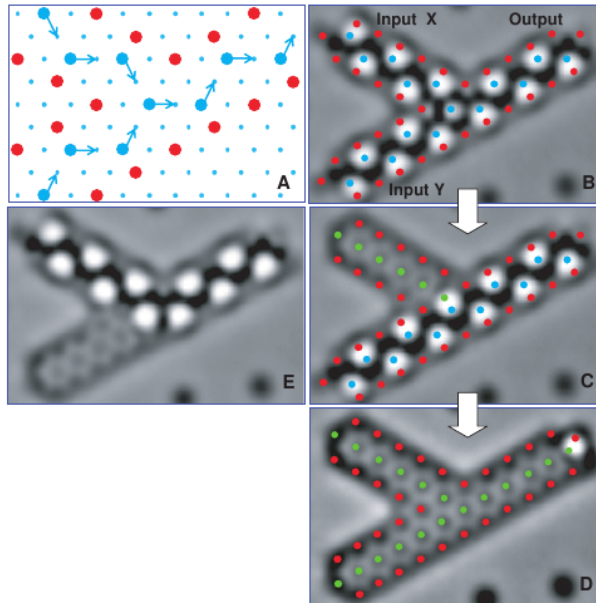


**Obrázek 8:** Manipulace pomocí STM: provedení chemické reakce (vlevo, Hla et al, Phys. Rev. Lett. 85(13), 2000, 2777) a zápis loga firmy IBM (vpravo, <http://www.almaden.ibm.com/vis/stm/images/ibm.tif>).

Kromě těchto „pasivních“ manipulací lze STM využít i k realizaci funkčních zařízení, např. logických hradel. To je příklad molekulových kaskád (obr. 9). Na povrchu se hrotem do dobře definovaných poloh rozmístí molekuly CO, které ná-

<sup>1</sup>Tento režim nelze popsat modely, které jsme si uváděli v předchozích kapitolách.

sledně vzájemnou interakcí začnou přeskakovat až do konečného stavu. V případě hradla AND se informace zpracovává na výstup pouze tehdy, bylo-li na začátku posunuto molekulami v obou vstupních větvích. STM zde nejen vytváří strukturu, ale slouží i k zadání vstupní informace a také k přečtení výsledku.



**Obrázek 9:** Hradlo AND realizované molekulární kaskádou (doi:10.1126/science.1076768).

## 2.2. Mikroskopie atomárních sil

Při měřeních tunelovacím mikroskopem byly pozorovány systematické odchylky, které se daly vysvětlit silovým působením mezi hrotem a vzorkem. Vznikla myšlenka na využití těchto sil přímo k měření, zvláště z důvodu potřeby měřit nevodivé vzorky – vznikla mikroskopie atomárních sil (Atomic Force Microscopy, 1986), která se stala nejrozšířenější odnoží SPM.

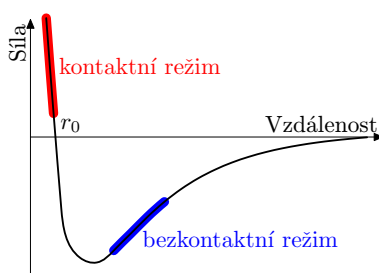
Metoda využívá sil atomárního původu, které působí mezi atomy hrotu a vzorku, a mohou být blízko i dalekodosaňové. Princip metody je stejně jednoduchý jako u STM – velmi ostrý hrot se pohybuje nad vzorkem či v dotyku s ním a je odpuzován či přitahován vzorkem. Hrot, který interakci snímá, je kolmo upevněn na tenkém pružném pásku – **nosníku**. Nosník svým ohybem zprostředkovává informaci o velikosti interakce do okolního světa.

Síly, které nosník ohýbají, mohou mít různý původ, nejčastěji se jedná o van der Waalovu sílu a repulzivní sílu plynoucí z Pauliho principu. První z nich působí při větších vzdálenostech od vzorku, druhá pouze v dotyku, je-li vzdálenost menší než součet atomových poloměrů. Vzhledem k charakteru těchto sil se AFM liší od STM mapováním stavů **nad** Fermiho energií, což lépe odpovídá představě topografie. Dále mohou působit síly adhezní, vazebné, třecí, deformační a kapilární, z nichž nejvýznamnější je poslední uvedená, která má zvláštní projevy a mnohdy měření ztěžuje. V přítomnosti kondenzátu působí sice vždy, ale projevuje se jen při přechodu přes rozhraní kapalina–vzduch. Speciální využití mají případné síly elektrostatické či magnetické. Při všech měřeních působí jedna síla signálově a všechny ostatní pak šumově.

Typická závislost působících sil na vzdálenosti vykazuje jak oblasti přitažlivosti, tak odpuzování. Bývá modelována nejčastěji odvozením z LENNARD–JONESOVA potenciálu „6–12“

$$U(r) = \varepsilon \left[ \left( \frac{r_0}{r} \right)^{12} - \left( \frac{r_0}{r} \right)^6 \right],$$

kde  $\varepsilon$  je konstanta a  $r_0$  konečná poloha, v níž je potenciál nulový. Z oblastí vyznačených na obrázku 10 se odvozují jednotlivé režimy měření.



Obrázek 10: Průběh meziatomárních sil.

Přestože jde o mikroskopii silovou, není určení síly přímočaré. Metody se zpětnou vazbou obecně umožňují spíše mapování topografie nebo určitých ekviploch, zatímco bez zpětné vazby je nutno provádět kalibrace nosníku.

### 2.2.1. Kontaktní režim

Je-li vzdálenost mezi hrotem a vzorkem tak malá, že působí odpudivé síly, dostáváme kontaktní (dotykový) režim měření. Síla (řádově  $10^{-7}$  N) se snaží ohnout nosník směrem od povrchu a pokud je tuhost nosníku menší než odpovídající tuhost, kterou drží atomy vzorku pohromadě, tak se jí to podaří a velikost ohnutí je mírou síly (pro velké ohyby není závislost lineární). V opačném případě bohužel dojde k poškození vzorku.

Analogicky metodě STM můžeme měření provádět ve dvou režimech:

1. s **konstantní výškou**, při níž je udržována určená hodnota výšky  $z_0$  (poloha základny nosníku) a měří se ohnutí nosníku. Správně jsou zde zobrazeny struktury s frekvencí (mysl se časová, ta závisí na prostorové a rychlosti skenování) menší než je rezonanční frekvence nosníku. Přesnost závisí na kalibraci nosníku a stabilitě polohy.
2. s **konstantní silou**, kdy se udržuje konstantní ohnutí nosníku a ke skenovacímu pohybu se přidává posun vzorkem (či hrotem) ve směru osy  $z$ . Tato modifikace se používá častěji, protože se vyvarujeme závislosti prohnutí nosníku (a tím i signálu) na kapilárních silách (tedy působí-li v celé skenované ploše rovnoměrně) a pružnosti nosníku (nelinearita narušující vztah  $F = k\Delta z$ ), je ovšem pomalejší (potřeba pohybu vzorku, závisí na odezvě zpětné vazby), pro vyšší časové frekvence zpětná vazba nestačí a vzniká nenulový chybový signál (což lze využít např. u biologických vzorků, kde je konst. síla nutná). Přesnost je určena přesností kalibrace piezokeramiky a vlastnostmi zpětné vazby.
3. zřídka se používá **kombinovaný** režim, který používá zpětnou vazbu jen k do-rovnávání výšek s nízkou frekvencí (náklon povrchu vzorku) a zbylou informaci získává z ohybu nosníku. Výhodou je rychlejší sběr dat než s konstantní silou, ale větší rozsah než u konstantní výšky.

Při přibližování hrotu k povrchu na něj nejprve nepůsobí nic, pak přitažlivé síly, které nosník jen mírně ohýbají. V bodě  $d_0$ , kde gradient sil překročí hodnotu tuhosti nosníku, dojde k nestabilitě a velmi rychlému přiskočení nosníku k povrchu, až do oblasti odpudivých sil. Dalším přibližováním pouze narůstají odpudivé síly. Při oddalování odpudivé síly pozvolna klesají, až do bodu  $d_1$  dosažení rovnosti gradientu a tuhosti a nosník je opět nestabilní a odskočí pryč. Vlivem minima v závislosti  $F-d$  body nestabilit nesplyvají a cyklus přiblížení–oddálení vykazuje hysterezi v oblasti kontaktu.

Signál, odpovídající topografii, se získává z prohnutí nosníku směrem nahoru nebo dolů. Bohužel prohnutí nosníku může vznikat i z jiných důvodů. Jedním z nich je setrvačnost nosníku. Skenuje-li nosník ve směru své podélné osy, může při změně rychlosti docházet k jeho ohybu, který bude interpretován jako změna výšky. Je zřejmé, že takový artefakt se projevuje především na okrajích skenovacího pole a vymizí při změně úhlu skenování o  $90^\circ$ . Projevy artefaktu budou vzájemně inverzní v dopředném a zpětném směru.

Přídavné ohyby mohou vznikat i ze sil, které působí podél povrchu. Tyto primárně nosník zkrucují a způsobují při skenovacím směru kolmém na osu nosníku

jeho ohyb ve směru kolmém k ohybu „topografickému“ (při skenování ve směru rovnoběžném s nosníkem se zkrut projevuje stejně jako topografie). Protože nosník má nenulovou šířku, dochází při zkrutu k poklesu jedné a zdvihu druhé podélné poloviny nosníku a záleží jen na detektoru a na symetrii upevnění hrotu, v jaké míře se zkrut projeví v signálu topografie. Obdobný artefakt může nastat i na topografických rysech, kde na hranách vznikají přídavné ohyby vlivem mechanického zkrucování nosníku. Podrobnější analýza, která modeluje nosník s hrotem jako dvě vzájemně kolmé úsečky délky  $l_1$  a  $l_2$  a udává velikost vlivu při skenování nakloněné roviny s úhlem  $\Theta$ , ukazuje, že příspěvek mění své znaménko v bodě splňujícím podmínku  $\tan \Theta > \frac{3}{2} \frac{l_2}{l_1}$ . Názorně je to vidět při skenování trojúhelníkového profilu, na jehož vrcholu se vytváří nespojitost.

Další forma uvedeného artefaktu se projevuje při měření v kapalném prostředí. Pohybem nosníku vzniká viskózní tření, závislé na směru pohybu. Projevuje se například vznikem hystereze v daleké části cyklu přiblížení–oddálení (velikost samozřejmě závisí na viskozitě kapaliny).

### 2.2.2. Bezkontaktní režim

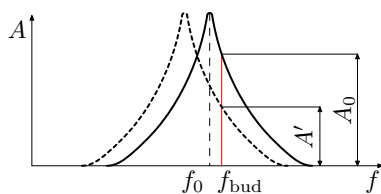
Možnost poškození vzorku či kontaminace vzorku z hrotu v dotykové metodě vedla k vývoji metody bezkontaktní (bezdotykové). Využívá van der Waalsových sil delšího dosahu (na interakci se podílí velké množství atomů, ale charakter interakce je zde dobře znám) a proto se může hrot pohybovat ve vzdálenosti 1–10 nm od povrchu. V uvedené oblasti jsou však síly slabé (celková působící síla bývá řádu  $10^{-12}$  N), což vyžaduje použití pružného nosníku. Ten ale musí být zároveň tuhý, aby nedošlo k jeho zachycení na povrchu (především v kapkách vody). Proto se častěji používá střídavá technika s nosníkem kmitajícím s frekvencí  $f$ , což vede ke zvýšení odstupů signálu od šumu.

Nosník je zde rozkmitáván v okolí své první rezonanční frekvence (zpravidla v rozsahu 100–400 kHz), ovšem s amplitudou vhodně volenou tak, aby nedošlo ke kontaktu se vzorkem. Kvalitní nosník by měl vykazovat pouze jednu ostře ohraničenou rezonanci, v praxi však může frekvenční křivka obsahovat rezonančních píků několik. Je to způsobeno především interakcí s okolním prostředím (vzduchem) a vybuzením mechanických oscilací ve zbytku mikroskopu.

Má-li volný nosník hmotnosti  $m$  rezonanční frekvenci  $\omega_0$  a tuhost  $k$ , změní se jeho rezonance v oblasti silového působení v „pružinové aproximaci“ na hodnotu

$$\omega_r = \sqrt{\frac{k_{\text{eff}}}{m}} = \sqrt{\frac{k - \partial_i F_j(\vec{r})}{m}} \approx \omega_0 \left( 1 - \frac{\partial_i F_j(\vec{r})}{2k} \right),$$

kde  $\partial_i F_j \ll k$  je gradient složky  $j$  síly ve směru  $i$ . Vstupem do oblasti gradientu sil tedy dojde ke změně rezonance, což se (v případě buzení s konstantní frekvencí) projeví poklesem amplitudy kmitů (obr. 11). Budeme-li pomocí zpětné vazby měnit výšku nosníku tak, aby amplituda kmitů zůstávala konstantní, budeme sledovat křivku konstantního gradientu sil (nikoliv sílu samotnou). Alternativně můžeme zpětnou vazbu vyřadit a sledovat poklesy amplitudy. Jiným využitím může být sledování změn fázového posuvu mezi budícím a detekovaným signálem.



**Obrázek 11:** Rezonanční frekvence nosníku.

Vertikální rozlišení bezkontaktní metody je dáno jednak schopností detektoru, jednak tepelným pohybem nosníku, jehož amplituda (resp. příspěvek prvního módu) v přítomnosti silového gradientu je přibližně dána vztahem

$$A \approx \sqrt{\frac{k_B T}{k - F'}}. \quad (\spadesuit)$$

Dynamický pohyb se zpravidla popisuje v „pružinové“ aproximaci, v níž se nosník uvažuje jako jednorozměrný prvek popsaný efektivní hmotností a tuhostí. Pak můžeme psát pohybovou rovnici

$$m\ddot{z} + \alpha\dot{z} + kz + F(z) = F_{\text{bud}}(t),$$

kde  $F_{\text{bud}}(t)$  je budicí síla,  $F(z)$  síla interakční a  $z$  vzdálenost hrotu od vzorku. Koeficient tlumení  $\alpha$  je uvažován jako nezávislý na  $z$ , což je opodstatněné, pokud předpokládáme elastické výchylky a největší tlumení hydrodynamického původu, které lze v oblastech jednotek nm uvažovat konstantní. Interakční síla je časově nezávislá, protože předpokládáme relaxační časy materiálů značně menší než je perioda oscilací. Můžeme-li ji linearizovat  $F(z) = -F'(z)z$ , dostaneme rovnici pružiny s efektivní tuhostí  $k_{\text{eff}} = k - F'(z)$ .

Systém, popsaný výše uvedenou rovnicí, vykazuje rezonanční charakter a amplituda kmitů je tudíž silně závislá na frekvenci buzení  $\Omega$ ,

$$A = -\frac{F_0}{m} \frac{1}{\sqrt{(\omega^2 - \Omega^2)^2 + (\omega\alpha/m)^2}},$$

kde  $F_0$  je amplituda budicí síly. V praxi se používá buzení i detekce s konstantní frekvencí  $\Omega$ . Vstoupí-li nosník do oblasti s gradientem síly, dojde ke změně rezonanční frekvence a celá křivka se posune. Tím se znatelně změní amplituda, která je detekována, a pokles lze využít buď k mapování sil (topografie), nebo k řízení zpětné vazby, nevýhodou je nejednoznačnost amplitudy. Alternativní metodou je sledování přímo změn rezonanční frekvence, použijeme-li nosník jako frekvenci určující prvek oscilátoru (tzv. FM-AFM). Předchozí analýza platí v případě, že je rozkmitávána přímo špička nosníku, ale většina AFM přístrojů dosahuje kmitání buzením místa upevnění nosníku (s amplitudou  $a_0$ ). V takovém případě (pokud je nosník schopen danou frekvenci přenést) je nutno analyzovat oscilace ohnutí  $\Delta z(t) = z(t) - a_0 \sin \Omega t$ , což řešení mírně komplikuje.

Vzhled obrazu bude záviset na umístění budicí frekvence vzhledem k rezonanci. Uvažujme, že přibližováním ke vzorku bude narůstat přitažlivá síla, která způsobuje pokles rezonanční frekvence. Bude-li budicí frekvence přesně na rezonanci



nebo nad ní, způsobí nárůst síly posun křivky směrem k nižším frekvencím a pokles amplitudy, takže silněji ovlivňující místa (např. vyvýšeniny při konstantní výšce) se budou jevit světlá (je-li obraz inverzí amplitudy). Pokud ale bude budicí frekvence blízko pod rezonancí, nastane nejprve nárůst amplitudy a po přechodu přes rezonanci pokles. Pravděpodobně také dojde k nestabilitě a dotyku se vzorkem.

### 2.2.3. Pokleповý režim

Hybridní kombinací předchozích režimů je pokleповý (tapping, semicontact) režim. Jeho zavedení plyne ze snahy o optimalizaci rozlišení a vlivu na vzorek. Té se dosáhne v oblasti několika desetin nm nad vzorkem, kde se však výrazně projevují dříve zmíněné nestability nosníku. Možností, která nesnáž obchází, je použití kmitání s takovou amplitudou, že je po krátký čas v dotyku se vzorkem. Bude-li systém nastaven tak, aby laterální posun hrotu nastával jen v době, kdy je dál od vzorku, získáme výhody obou metod – nepoškození vzorku (stále však může docházet ke kontaminaci) i vyšší rozlišení, dotkne-li se povrchu několikrát než se laterálně posune o svůj průměr.

Teoretická analýza pokleповého režimu je však znatelně složitější, protože rozsah sil, kterými hrot prochází, je mnohem větší a přechází od přitažlivé do odpudivé části. Vlivem konečné poddajnosti vzorku se nedá očekávat pohyb přesně harmonický, ale experimenty ukazují, že harmonická aproximace je v mnoha případech dostačující. Při interakci se vzorkem samozřejmě dochází k disipaci energie. V rovnovážném stavu musí být dodaný výkon roven disipovanému, který lze rozepsat do dvou částí: první odpovídá disipaci celým nosníkem vlivem viskózního tlumení, druhá pak vlastní interakci se vzorkem. Střední dodaný výkon při sinusovém buzení s amplitudou  $A_d$  je dán vztahem  $\bar{P}_{in} = \frac{1}{2}kA_dA\Omega \sin \phi$ , kde  $\phi$  je fázový posuv a  $A$  je amplituda ustáleného téměř sinusového signálu. Výkon, ztrácený pohybem nosníku vlivem tření  $F_{tlum} = b\dot{z}$ , lze psát jako  $\bar{P}_0 = \frac{1}{2}bA^2\Omega^2$ . Uvážíme-li činitel kvality  $Q = \frac{k}{b\omega_0}$ , dostaneme výkon ztrácený vlivem interakce

$$\bar{P}_{int} = \frac{1}{2} \frac{kA^2\Omega}{Q} \left( \frac{QA_d \sin \phi}{A} - \frac{\Omega}{\omega_0} \right).$$

Uvažujeme-li povrch vzorku pokrytý vrstvou kapaliny, dochází při kontaktu k jejímu rozrušení a viskóznímu tlumení. To si vyžaduje energii, kterou získá od kmitajícího hrotu. Následkem toho poklesne amplituda a hrot se přestane dotýkat povrchu (pracuje v bezdotykovém režimu). V dalších kmitech získává hrot energii z budicího zdroje a po čase  $\tau = \frac{2Q}{\omega_0}$  dosáhne opět amplitudy, umožňující dotek s povrchem. Je tedy amplituda kmitů v pokleповém režimu modulovaná. Zadržením hrotu dojde ke zvětšení interakčního času a tím ke změně fázového posuvu vzhledem k buzení, což jednak sníží účinnost buzení, jednak sníží signál z detektoru, který je fázově citlivý – vzniknou výškové artefakty.

Důvod, proč se nepoužívá výhradně pokleповý režim místo bezdotykového, spočívá jednak v těžší teoretické interpretaci, jednak ve větší interakci. Hrot se totiž při každém doteku „zaryje“ do povrchu měkkého vzorku (např. polymery) a je obtížné následně určit pravý povrch vzorku.

## 2.2.4. Charakteristické síly

Během AFM měření může působit celá řada sil různých fyzikálních podstat. Abychom mohli stanovit jejich vliv na výsledný obraz, musíme znát jejich základní vlastnosti. Většina sil má původ v atomárních interakcích a před použitím v AFM modelech musíme zohlednit skutečný tvar hrotu a vzorku, nejčastěji pomocí integrace přes objem tělesa nebo sumaci přes jednotlivé atomy (u aditivních párových interakcí). Hodně často se model hrotu dělí na dvě části – mezoskopickou část, kterou uvažujeme ve spojitě aproximaci, a mikroskopickou, v níž sumaci zohledňujeme diskrétní atomovou strukturu. Konkrétní poměr mezi mezo/mikroskopickou částí závisí na dosahu a charakteru uvažované interakce. Korektní analýza problému měření by vyžadovala i zahrnutí jeho dynamického charakteru, vlivu mechanické poddajnosti hrotu a vzorku či atomových relaxací, které zde nebudou uvažovány.

Charakteristiky nejvýznamnějších sil jsou uvedeny v následujícím přehledu:

- van der Waalsovy síly mají elektromagnetickou podstatu, působí vždy, jsou charakterizovány silovým zákonem typu  $-6C_{vdW}r^{-7}$ , jsou (slabě) anizotropní a mají slabé orientující účinky. Projevují se ve vzdálenostech 0,1 až 100 nm, ale vlivem „atomární rozmazanosti“ neumožňují vznik atomárního kontrastu, maximální rozlišení je v řádu nanometrů.

Tato interakce zahrnuje tři různé typy interakcí, které ovšem mají stejnou závislost na  $r$ , takže lze psát  $C_{vdW} = (C_{ind} + C_{orient} + C_{disp})/(4\pi\epsilon_0)^2$ :

- indukovaná složka je způsobena polarizací jednoho atomu v přítomnosti druhého atomu s vlastním dipólovým momentem  $p_1$ , interakce působí i opačně a proto platí  $C_{ind} = p_1^2\alpha_{02} + p_2^2\alpha_{01}$ , kde  $\alpha_0$  je polarizovatelnost atomu (v jednoduchém Bohrově modelu vodíku je  $\alpha_0 = 4\pi\epsilon_0 a_0^3$ , kde  $a_0$  je Bohrov poloměr atomu)
- orientační složka působí jen mezi dvěma atomy s vlastními dipólovými momenty a platí  $C_{orient} = \frac{p_1^2 p_2^2}{3k_B T}$
- disperzní složka je přítomna vždy a je způsobena existencí *okamžitého* dipólového momentu, který se vyskytuje i u atomů bez vlastního dipólového momentu (v případě vodíkového atomu je okamžitý dipólový moment  $p_i = ea_0$ ). Příslušná konstanta je vyjádřena pomocí Londonova vztahu  $C_{disp} = \frac{3\alpha_{01}\alpha_{02}h\nu_1\nu_2}{2(\nu_1+\nu_2)}$ , kde  $\nu_{1,2}$  jsou absorpční frekvence atomů (frekvence oběhu elektronu).

Z uvedených složek převládá na krátkých vzdálenostech disperzní složka, jejíž energie je přibližně  $1k_B T$ . Při větších vzdálenostech (nad 10 nm) se začíná projevovat vliv konečné rychlosti světla a síla začíná klesat jako  $r^{-8}$ . Je to způsobeno rozfázováním vektorů okamžitého dipólového momentu a jím vyvolané polarizace atomu, čímž se sníží efektivnost interakce. Pro velké vzdálenosti je proto disipační složka zanedbatelná.

Významnou vlastností van der Waalsových sil je **neaditivnost**, tedy síla v přítomnosti více atomů není dána součtem párových interakcí. Působí-li totiž atom A na atom B v přítomnosti atomu C, indukuje atom A pole v atomu

C, které se přičte k původnímu poli od atomu A a výsledná interakce mezi atomy A a B bude vyšší. Navíc přítomnost atomu C může ovlivnit i polarizovatelnost atomu B. Celá teorie se stane komplikovanější, začneme-li uvažovat interakci v jiném prostředí než je vakuum.

Zmíněná neaditivnost komplikuje výpočet působící síly mezi tělesy. Výpočty určené prostou integrací nedávají správné hodnoty, ale musí se provádět korekce. Jedním z přístupů k tomuto problému je Lifšicova teorie, která přechází od polarizovatelností diskretních atomů k popisům pomocí spojitě permitivity prostředí. Výsledky těchto přístupů lze shrnout do následujících závěrů. Interakci mezi tělesy charakterizuje tzv. **Hamakerova konstanta**  $H = \pi^2 C_{\text{vdW}} \rho_1 \rho_2$ , kde  $\rho_{1,2}$  jsou hustoty obou prostředí, a závislost interakce na vzdálenosti nemusí být mocninná. Pro tělesa z různých materiálů, která interagují v jiném prostředí než vakuum, může být výsledná síla odpudivá. Na závěr uvedme interakci mezi koulí s poloměrem  $R$  a rovinou, která je charakterizována silou  $W = -\frac{HR}{6D^2}$ , kde  $D$  je nejmenší vzdálenost koule od roviny.

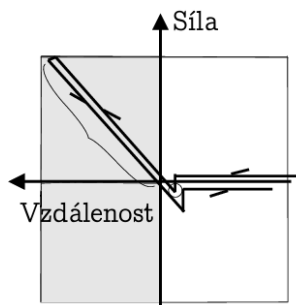
- odpudivé síly krátkého dosahu, které vznikají jednak „aplikací“ Pauliho principu, jednak coulombovským odpuzováním mezi jádry atomu, protože při velkém přiblížení nedochází k úplnému odstínění jejich nábojů. Uvedené síly lze modelovat mocninným zákonem  $r^{-n}$ , kde  $n > 8$ , nebo exponenciálním.
- další síly krátkého dosahu, jako je fyziosorpce a chemisorpce (tvorba vazeb mezi hrotem a vzorkem), kovová adheze (těsné přiblížení dvou kovů, při kterém dojde k překrytí vlnových funkcí, vede k přitažlivé síle), plastické deformace, tření či elastické deformace.
- kapilární síly vznikají buď z již přítomných kapek, nebo hrot působí jako zárodek kondenzace kapaliny. Síla má velikost  $F = \frac{4\pi R\gamma \cos \Theta}{1+d/(R(1-\cos \phi))}$ , kde  $\Theta$  je kontaktní úhel,  $\phi$  úhel menisku,  $\gamma$  povrchové napětí. Celková síla působící mezi parabolickým hrotem a rovinným vzorkem je  $F_{\text{kap}} = \gamma\pi \left( \frac{1}{r_1} + \frac{1}{r_2} \right) x^2$ , kde  $r_{1,2}$  jsou hlavní poloměry křivosti menisku a  $x$  je poloměr vytvořeného vodního „sloupce“.
- dlouhodobé magnetické a elektrostatické síly.

### 2.2.5. Spektroskopie sil

Před měřením v režimu kontaktní AFM se provádí přiblížení hrotu, při kterém se monitoruje, kdy velikost ohnutí nosníku dosáhne žádané hodnoty. Ale v principu můžeme zaznamenávat informaci o ohnutí nosníku během přiblížování a získat tak informaci o výškové závislosti působících sil, resp. závislost ohnutí nosníku na prodloužení piezokeramiky. Po provedení kalibrace tuhosti nosníku a senzoru pak můžeme získat tzv.  $F-d$  křivku. Tato metoda je základem silové spektroskopie.

Je zřejmé, že v daleké oblasti, kde není interakční síla, bude graf závislosti rovnoběžný s osou prodloužení (vyjma náhodných fluktuací původu tepelného nebo

setrvačností, obr. 12), přibližováním se začnou projevovat dalekodosahové přitažlivé síly (např. elektrostatické) a přímka se začne zaoblovat dolů (předpokládáme, že přitažlivost se projeví „záporným“ ohnutím). V okamžiku přiblížení na takovou vzdálenost, že začnou působit i silnější síly krátkého dosahu, získá křivka strmější sklon a v určitém okamžiku se projeví nestabilita a nosník přiskočí k povrchu. Jsou-li obě tělesa z dokonale tuhých materiálů, začnou se od této chvíle pohybovat společně a dalším přibližováním vzniká přímka se sklonem 1, rostoucí ke kladným ohnutím (přeruší ji až ulomení nosníku, ale to už není o spektroskopii). Pro běžná tělesa vypovídá sklon křivky o elastických vlastnostech.



**Obrázek 12:** Spektroskopie sil: typický průběh.

Ve fázi oddalování bude nejprve závislost sledovat svou přibližovací část, ale pak bude pokračovat dále do oblasti přitažlivých sil, takže na křivce vznikne hystereze. Ta je způsobena držením hrotu např. ve vrstvě kapaliny, kterou je vzorek pokryt a která se táhne za vzorkem. Dá se tudíž očekávat, že hystereze čistého a pevného vzorku bude nejnižší ve vakuu. K odskočení nosníku od povrchu dojde náhle, po přetržení sloupce vody, ale ve větší vzdálenosti než k přiskočení. Při dalším odtahování bude závislost opět sledovat svoji přibližovací část.

Zmíněná hystereze nemusí vykazovat jen jeden odskok. Bude-li povrch pokryt zkondenzovanou vodou, na níž je ještě vrstvička oleje, objeví se na křivce odskoky dva. Totéž se může projevit v atomárním měřítku, kde je možno pozorovat přerušování jednotlivých vazeb mezi hrotem a vzorkem, popř. přetrhávání molekulárních řetězců. Interpretace je však mírně ztížena dynamickým charakterem měření.

Při realizaci spektroskopie si musíme uvědomit, že měříme signál fotodiody, nikoliv ohnutí nosníku. Vzájemně je lze převést jen tehdy, bylo-li dosaženo oblasti lineární stlačitelnosti (zde je každá změna posuvu piezokeramiky rovna změně ohnutí).

**Poznámka:** Pohledem na  $F-d$  křivku lze lehce určit oblasti jednotlivých režimů. Bezkontaktní měření se provádí napravo od prvního přískoku, kontaktní měření se provádí buď v lineární části v oblasti odpudivých sil (jak vyplývá z její definice), nebo i v lineární části před odskokem, kde působí síla přitažlivá. Poslední možnost se používá především pro velmi měkké vzorky.

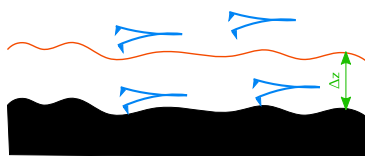
## 2.2.6. Mikroskopie příbuzné AFM

Myšlenka použití nosníku k detekci sil, použitá v AFM, se po jejím zavedení začala používat i v jiných modifikacích. Šlo například o modifikace nosníku, nebo o změnu způsobu detekce. V této kapitole představíme některé z nich.

**Magnetická mikroskopie** Bylo uvedeno, že mezi vzorkem a hrotem působí také síly dalekého dosahu. Nabízí se možnost využít i je k měření. Mikroskopie magnetických sil (Magnetic Force Microscopy) využívá působení magnetických sil, probíhá výhradně v bezkontaktním režimu a využívá rozptylové pole  $\vec{H}$  vzorku, které vytváří sílu působící na hrot (s momentem  $\vec{m}$ ), v dipólové aproximaci hrotu  $\vec{F}_{\text{mag}} = \nabla(\vec{m}\vec{H})$ , pro hrot konečných rozměrů se určuje integrací. Pro aplikace je důležitá reakce pouze na sílu, nikoliv na magnetické pole. Bohužel neexistuje jednoznačný převod ve směru síla  $\rightarrow$  magnetizace.

Vlastní měření může být prováděno staticky (citlivost asi  $10^{-11}$  N, úměrná  $\vec{F}_{\text{mag}}\vec{n}$ , kde  $\vec{n}$  je normála k nosníku) nebo střídavě (citlivost  $10^{-13}$  N, sleduje derivaci  $F'_{\text{mag}}$ ). Do magnetického obrazu se parazitně promítá i topografie vzorku (to je problém všech metod odvozených od AFM). K eliminaci lze použít několik technik:

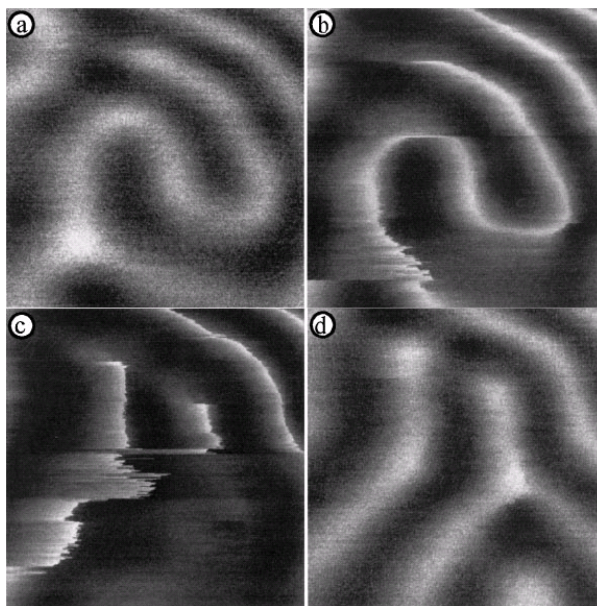
- Často se při nekontaktním měření měří dvojprůchodově (obr. 13):
  1. Nejprve se technikou, citlivou převážně na topografii (pokleповý režim), změní povrch vzorku a data se uloží do paměti. Toto měření probíhá za standardních podmínek s použitím zpětné vazby.
  2. Poté se nosník oddálí o definovanou vzdálenost  $\Delta z$  (např. 100 nm), vypne se zpětná vazba a začne se skenovat tentýž řádek, jako v prvním bodě. Výška nosníku se však moduluje pomocí uložených dat o výšce. Díky tomu je zaručena konstantní vzdálenost nosníku od vzorku a přibližně stejný příspěvek od topografie, takže většina změn v signálu může být přisouzena magnetické interakci.



Obrázek 13: Schéma dvojprůchodového měření MFM.

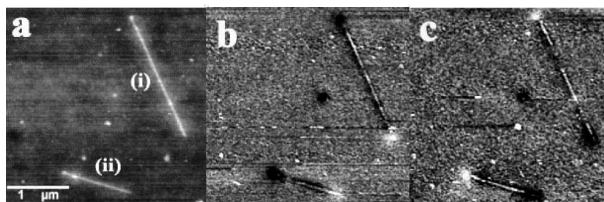
- Další možností je provádět MFM ve velmi velké vzdálenosti od vzorku, cca 1  $\mu\text{m}$ . Nevýhodou je ovšem nižší rozlišení.
- Máme-li možnost ovlivňovat magnetické pole hrotu, můžeme měřit při dvou hodnotách (nebo polaritách) pole a výsledky odečíst.

Nevýhodou dvojprůchodového měření (a obecně opakovaného pohybu magnetického hrotu nad vzorkem) je možnost ovlivnění magnetického stavu vzorku při prvním průchodu. To je vidět např. při měření YSmBiGaFe filmu (obr. 14), kde se provedla postupně čtyři měření – nejprve daleko od vzorku, pak se hrot dvakrát přiblížil a poté vrátil do původní vzdálenosti. Obrázky a) a d) by proto měly být shodné, ale ze srovnání je vidět, že došlo k narušení původní struktury (nejpravděpodobněji při měření c), protože vykazuje projevy nestability).



**Obrázek 14:** Změna doménové struktury při měření MFM. Vzdálenost hrotu od vzorku byla postupně a) 910 nm, b) 520 nm, c) 390 nm a d) opět 910 nm (Hartmann, Annu. Rev. Mater. Sci. 29, 1999, 53).

Možnost měřit při dvou polaritách magnetizace hrotu je velmi vhodnou také pro možnost posouzení, jestli je kontrast v obraze opravdu magnetické povahy. To je případ na obr. 15, kde jsou změřeny dva Fe<sub>3</sub>B nanodrátky. MFM obrázky b) a c) se liší polaritou magnetizace hrotu, což se projeví opačnou barvou konců. Světlé a tmavé oblasti na koncích drátků jsou také důkazem, že se nanodrátk chová jako tyčový magnet.

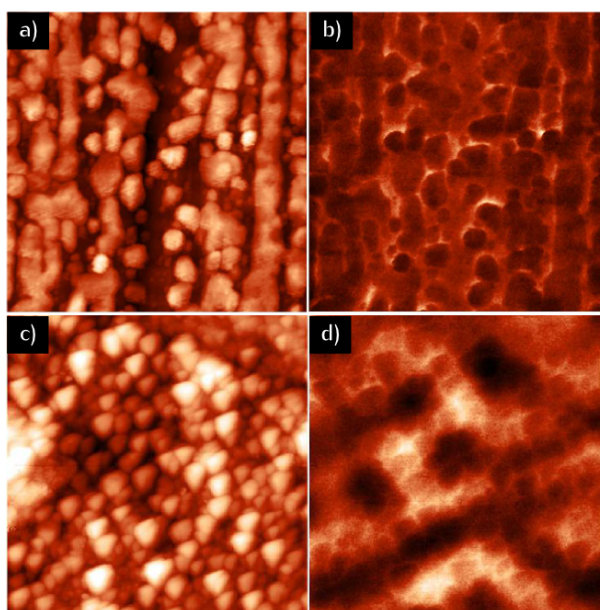


**Obrázek 15:** Měření a) AFM, b) a c) MFM při dvou polaritách (doi:10.1021/cm060068z).

Teoretické zpracování působících sil může být provedeno dvěma způsoby: buď se určí interakce mezi dipóly a provede se integrace přes všechny dipóly vzorku i hrotu, nebo se určí pole vzorku, z něho se určí působící síla na dipól v hrotu a pak se sčítá přes všechny dipóly. Výstup z teoretické analýzy je komplikovaný vztah, do kterého se navíc promítá vzájemné ovlivňování magnetizací vzorku a hrotu. Zanedbáme-li jej a omezíme se na hrot aproximovaný bodovým dipólem s normálou v ose  $z$ , dostaneme zjednodušené rovnice

$$F_{\text{mag}} = m_x \frac{\partial H_x}{\partial z} + m_y \frac{\partial H_y}{\partial z} + m_z \frac{\partial H_z}{\partial z}, \quad F'_{\text{mag}} = m_x \frac{\partial^2 H_x}{\partial z^2} + m_y \frac{\partial^2 H_y}{\partial z^2} + m_z \frac{\partial^2 H_z}{\partial z^2}.$$

**Aplikace MFM** Ukázkou aplikace techniky MFM je měření na magnetické slitině  $\text{Fe}_{90}\text{Zr}_7\text{B}_3$  (obr. 16). Jedná se o slitinu ve formě kovového amorfního skla, připraveného metodou rychlého schlazení. Měřená struktura je zachycena ve stavu, v jakém byla připravena. Informace z MFM vesměs kopíruje topografii jednotlivých zrn a nepřináší žádnou novou informaci. Poté je slitina podrobena tepelnému žíhání a sledují se změny způsobené krystalizací. Na MFM obrázku po žíhání je jasně vidět předávná magnetická struktura.



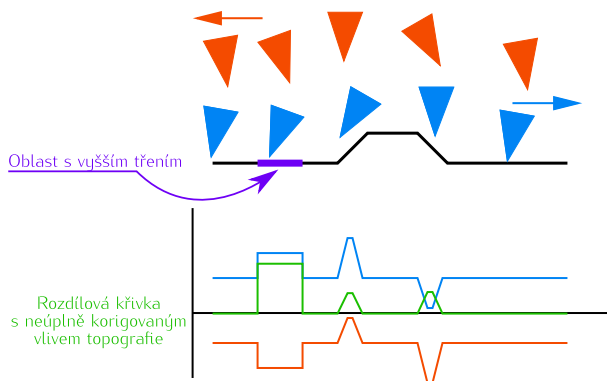
Obrázek 16: Magnetická slitina  $\text{Fe}_{90}\text{Zr}_7\text{B}_3$  měřená pomocí: a) AFM po přípravě, b) MFM po přípravě, c) AFM po žíhání, d) MFM po žíhání (Miglierini et al, Acta Phys. Polonica 118, 2010, 840).

**Přímé měření pole** lze realizovat oklikou. Uvažujeme-li hrot jako bodový dipól v ose  $z$ , pak pro gradient síly platí  $F'_z = m_z \frac{\partial^2 H_z}{\partial z^2}$  a předpokládejme, že pole je natolik slabé, aby neměnilo magnetizaci vzorku. Přidáme-li nyní homogenní pole  $H_a$ , bude celkové pole dáno součtem  $H_a + H_{\text{vzorek}}$ . Popíšeme-li hrot Langevinovou funkcí  $m_z = m_0 \tanh\left(\frac{H_a + H_{\text{vzorek}}}{H_w}\right)$ , kde  $H_w$  je charakteristická hodnota, pak

dosáhneme přesně nulové hodnoty, bude-li platit  $H_a = -H_{\text{vzorek}}$ . Uvažujeme-li střídavou složku přiloženého pole  $H_a = H_{DC} + H_{AC} \sin \omega t$ , dostáváme pro gradient výraz (v limitě malého pole)  $F'_z = (A_{DC} + A_\omega \sin \omega t + A_{2\omega} \cos 2\omega t + \dots) m_0 H'_z$ , kde  $A_i$  jsou příslušné amplitudy. Ukazuje se, že je-li celkové pole téměř nulové, dosahuje složka  $A_\omega$  svého maxima. Při měření lze tedy měnit velikost aplikovaného pole  $H_{DC}$  a sledovat na frekvenci  $\omega$  amplitudu odezvy. V okamžiku, kdy dosáhne svého maxima, určíme hodnotu pole  $H_{\text{vzorek}}$  ze vztahu  $H_{\text{vzorek}} = -H_{DC}$ .

**Mikroskopie laterálních sil (LFM)** měří síly, které vznikají při tažení hrotu po povrchu vzorku a způsobují zkroucení nosníku (pro správnou interpretaci je nutné, aby se zkroucení projevilo nezávisle na ohybu). Zpravidla se jedná o síly tření, které dovolují mapování mechanických vlastností a často i rozlišení mezi materiálově různými oblastmi. I když je teoreticky možné určit koeficienty tření, zpravidla se z důvodu jednoduchosti technika používá jenom jako kvalitativní.

Do bočních sil se nežádoucím způsobem promítají i sklony na povrchu, které užitečný signál zkreslují (obr. 17). Vyznačená oblast s vyšším třením se projeví vyšší hodnotou signálu v absolutní hodnotě, ale stejné intenzity může signál dosáhnout i na náběžných hranách (modrý a červený průběh). Na sestupných hranách bude naopak signál nižší, hrot se může vrátit až do vertikální polohy. Zpravidla se předpokládá, že změna vlivem materiálu nezávisí na směru skenování, kdežto změna vlivem topografie závisí. Odečtením obrazů v inverzních směrech se proto vliv topografie odstraní, což ale neplatí zcela, protože hrot je při stejném normálovém zatížení (daném nastavení zpětné vazby) vystaven různým silám při stoupání a klesání a při vzestupu působí ještě „kolizní“ síla (hrot do povrchu může narážet). Při odečtení obrazů proto nedojde k úplnému odstranění topografie, ale jen ke korekci (zelený průběh).



**Obrázek 17:** Průběhy signálů v LFM a jejich rozdíl.

Při velkých zvětšeních s atomárním rozlišením se občas v signále objevují nesymetrie, které by tam dle očekávání neměly být, zvláště v případě dobře uspořádaných hrotů. Mechanismem, který nesymetrie způsobuje, může být „přilepování“. Ačkoliv se nosník posouvá ve směru skenování, hrot zůstává v místě energeticky výhodném a boční síla narůstá. Až dosáhne kritické hodnoty, dojde k odtržení a přeskoku do nové polohy, *stick-slip proces*.



**Mikroskopie modulovaných sil** (FMM) používá modulační techniku v dotykovém režimu s konstantní silou. Necháme-li vzorek vibrovat se stálou amplitudou a frekvencí nad mezní frekvencí zpětné vazby, bude s toutéž frekvencí kmitat i hrot, který je s ním v kontaktu. Amplituda jeho kmitů však bude záviset na elastických vlastnostech vzorku v místě doteku. Měření je možno provádět současně s AFM, jejíž obraz se získává z napětí na piezokeramice. Díky tomu, že „vlnění“ prochází objemem vzorku, není tato technika pouze povrchová, ale může vidět částečně i do hloubky.

**Vibrační techniky** Zatím jsme vždy předpokládali, že u vibračních technik (bezkontaktní AFM, FMM atd.) sledujeme amplitudu signálu. Ve skutečnosti můžeme vyhodnocovat také fázové zpoždění  $\varphi$  mezi budícím signálem a skutečnými kmity nosníku. Získáváme tak obraz, který je místo ve výškových jednotkách ve stupních. Typickou aplikací **fázového zobrazování** je mikroskopie magnetických sil. Výhodou fáze je totiž větší citlivost na detaily.

Kromě měření fáze můžeme vibrační techniky modifikovat ještě tím, že nebudeme sledovat odezvu nosníku na stejné frekvenci, s jakou ho budíme, ale na jeho  $n$ -té harmonické. Tyto obrazy obecně přinášejí jiné formy informace.

**Mikroskopie elektrostatických sil** (EFM) je obdobou magnetické mikroskopie, mapuje sílu vzniklou po přiložení napětí  $V$  mezi vzorek a hrot, jejíž velikost je  $V^2 \frac{\partial C}{\partial z}$ , kde  $C$  je kapacita systému, zahrnující i vcelku nevyužitelnou kapacitu mezi vzorkem a nosníkem (která je sice větší, ale má malý gradient). Do obrazu se promítají nehomogenity topografie, permitivity či nábojové hustoty.

**Vodivostní mikroskopie** používá kontaktní režim AFM s vodivým nosníkem, na který je přivedeno napětí. Proud, který soustavou teče, bude záviset na lokální vodivosti vzorku v místě kontaktu.

**Kelvinova mikroskopie** je technika, která slouží k získání distribuce povrchových potenciálů. Využívá vodivého nosníku, na který je přivedena superpozice střídavého a stejnosměrného napětí. Frekvence střídavého napětí je volena tak, aby souhlasila s rezonanční frekvencí nosníku a ten proto kmitá. Velikost kmitů však závisí i na povrchovém potenciálu  $\phi$  a přiloženém stejnosměrném napětí  $U_0$ . Budeme-li měnit napětí  $U_0$  a sledovat amplitudů kmitů, zjistíme, že v určitém okamžiku kmitání vymizí – tehdy platí  $\phi = U_0$ . Provedením této kompenzace v každém bodě rastru můžeme získat celou distribuci  $\phi(x, y)$ .

**Mikroskopie příčných sil** (TDFM) využívá nosník, upevněný kolmo ke vzorku a rozkmitávaný v rovině rovnoběžné se vzorkem. Interakcí se vzorkem se mění koeficient tlumení a tím i amplituda a rezonanční frekvence, jejichž variace lze použít k sestavení obrazu.

**Mikroskopie disipativních sil** (DFM) mapuje výkon, který nosník ztrácí interakcí se vzorkem. Disipace vzniká následkem hystereze v adhezi mezi vzorkem a hrotem, ale projevují se i jiné principy, protože DFM je možno realizovat s atomárním rozlišením. Výhodou metody je možnost mapovat rozložení hustoty fononů vzorku podél povrchu (v přiblížení obraz závisí jen na vlastnostech vzorku, nikoliv hrotu, což je jistá analogie k STM).

**Mikroskopie piezoodezvy** je ukázka speciální techniky, která slouží k vyhodnocování orientace piezokrystalických domén. Principem je sledování, jak moc hrot kmitá v daném místě, je-li mezi něj a vzorek přiloženo střídavé elektrické napětí.

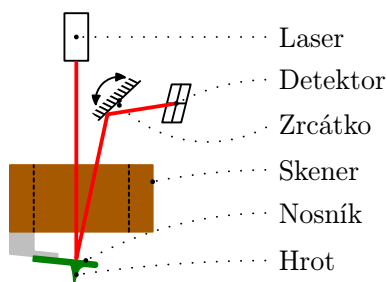
**Mikroskopie ultrazvukových sil** (UFM) využívá ultrazvukové excitace vzorku, především pro mapování materiálových vlastností. Druhým důvodem může být větší citlivost k silovým gradientům pro vyšší ohybové řády nosníku. Klasická mikroskopie využívá „lineární“ režim detekce, v němž je sledována amplituda a fáze pohybu nosníku. V UFM je použit „nelineární“ režim, při němž se detekuje vzorkem generovaná ultrazvuková síla. Při ultrazvukovém kmitání je modulována vzdálenost hrot–vzorek mezi maximální a minimální hodnotou, které jsou určeny amplitudou buzení a nastavením síly (setpoint). Je-li amplituda kmitů malá, vzdálenost se mění jen v lineární oblasti  $F$ – $s$  křivky a středovaná síla odpovídá přednastavené. Pro velké amplitudy se však už projeví nelinearita, středovaná síla obsahuje přídavnou sílu (ultrazvukovou) a tím přídavné ohnutí nosníku → lze provdět mikroskopii.

### 2.2.7. Detekce ohybu

Oproti STM přibývá v mikroskopu atomárních sil zvláštní detektor měřícího signálu, detektor ohybu. Historicky první konstrukce používaly „dvojitý“ mikroskop, v němž AFM nosník, pokovený z odvrácené strany, sledoval povrch vzorku a jeho pohyb byl snímán STM hrotem, takže v obvodu pracovaly dvě zpětné vazby. Nevýhoda uvedené konstrukce je zřejmá: nákladnost snímače, malá odolnost proti mechanickým otřesům, vliv nečistot na povrchu nosníku a především síla působící mezi STM hrotem a AFM nosníkem, zkreslující výsledky (i když při konstantním proudu by měla být konstantní). Výhodou je naopak nízký tepelný drift.

Další, méně často používanou metodou, je detekce ohybu pomocí kapacitního snímače. Na mikroskopu je jedna pevná elektroda, druhá je tvořena pokovením nosníku a dohromady vytvářejí kondenzátor, jehož kapacita se mění s ohnutím nosníku. Opět i zde je nosník ovlivňován elektrostatickou silou.

V současnosti nejběžnější detektor ohnutí (obr. 18) je tvořen laserovou diodou, která vytváří skvrnu konečné velikosti a ta dopadá na špičku nosníku a od něj se odráží. Odražené světlo dopadá na světelný detektor, který je rozdělen na dvě citlivé části. Před vlastním měřením se systém mechanicky vyváží tak, aby energie svazku dopadající do obou duantů byla stejná. Při měření se ohyb  $\delta$  nosníku délky  $l$  projeví posunem odrazu (úhlová změna  $2\delta/l$ ), takže energie v jednotlivých duantech už nebudou stejné a z jejich velikostí je možno určit vychýlení nosníku. V současné době se zpravidla využívá kvadrantní detektor, který je rozdělen na čtyři



**Obrázek 18:** Schéma detekce pomocí laserové páky.

stejně části a umožňuje detekovat pohyb skvrny v dalším kolmém směru – tedy zkrut nosníku. Před měřením je nutno mechanickým zařízením nastavit místo dopadu laseru na špičku nosníku. Toto nastavení se zpravidla děje ručně a nastavení je kontrolováno vizuálně optickým mikroskopem a měřením proudu z detektoru. U některých mikroskopů je nastavení laseru automatické. Konstrukce detektoru obsahuje kromě diody a detektoru ještě nastavovací prvky, kterými se svazek vyvažuje. Např. vystředění polohy svazku vzhledem ke svislým polovinám detektoru se provádí lineárním posuvem detektoru a vzhledem k vodorovným polovinám se k nastavení používá natáčení pomocného zrcátka.

Lepšího výsledku lze dosáhnout s polem  $n$  detektorů, alespoň v jednom směru (1D pole), protože duální detektor je vhodný jen pro svazky s gaussovským profilem, popř. svazky s jedním maximem. V případě pole detektorů je svazek čočkou rozšířen a na nezávislé detektory dopadá výkon  $P_i$ , zesílení detektoru  $g_i$  se mění s ohledem na charakter signálu a výsledkem je vážený součet. Ohne-li se nosník, změní se jednotlivé výkony o  $\Delta P_i$  (předpokládáme změnu mnohem menší než výkon samotný), celkový signál bude  $S = \sum_{i=1}^n g_i \Delta P_i$  (předpokládá se dokonalá odezva a byl odečten ofset  $\sum g_i P_i$ ). Vhodná volba koeficientů  $g_i$  závisí na šumu v obvodě, volí se tak, aby byl odstup signálu od šumu maximální. S tímto detektorem není třeba ani středování svazku. Vhodnou volbou vah  $g_i$  lze detektor zapojit jako předchozí duantový.

Většinou se používá laser červené barvy, ale v oblasti biologických AFM se používají i lasery mimo viditelné spektrum.

Citlivost vibračních měření je omezena teplotními fluktuacemi, které generují kmity s amplitudou  $N = \sqrt{\frac{4k_B T Q B}{k \omega}}$  ( $B$  šířka pásma, v němž se měří,  $k_B$  Boltzmannova konstanta). Platí  $\Delta k = F'$ ,  $\frac{\Delta \omega}{\omega} = \frac{\Delta k}{2k} = \frac{F'}{2k}$  a  $\frac{\Delta A}{A} = \frac{4}{3\sqrt{3}} Q \frac{\Delta \omega}{\omega}$ , z čehož plyne  $\Delta A = \frac{2QAF'}{3\sqrt{3}k}$ . Položíme-li  $\Delta A = N$ , obdržíme minimální měřitelný gradient síly

$$F'_{\min} = \frac{1}{A} \sqrt{\frac{27k k_B T B}{Q \omega}}$$

Provádí-li se měření na konstantní frekvenci  $\omega_m$ , je amplituda po změně rezo-

nanční frekvence na hodnotu  $\omega'_0$  dána vztahem

$$A(\omega'_0) = \frac{A_0(\omega'_0/\omega_m)}{\sqrt{1 + Q^2 (\omega_m/\omega'_0 - \omega'_0/\omega_m)^2}},$$

kde  $A_0$  je amplituda pro  $\omega'_0 = \omega_m$ . Největší citlivosti lze dosáhnout v oblasti největší strmosti křivky  $A(\omega'_0)$ , což je přibližně pro  $\omega_m \simeq \omega'_0 \left(1 \pm 1/\sqrt{8Q}\right)$ , pak platí  $\Delta A = \frac{2A_0Q}{3\sqrt{3k}} F'$ . Výhodou metody je značná citlivost, použije-li se nosník s vysokým  $Q$ . Nevýhodou nosníků s vysokou kvalitou je jejich doba odezvy. Budeme-li uvažovat tlumený systém s vynuceným kmitáním se silou, která se skokem změní, objeví se po změně přechodný člen s exponenciálním útlumem  $e^{-\frac{\delta}{2}t}$ , závislým na kvalitě nosníku.

Optickou metodou je i detekce diferenciálním interferometrem. Dva svazky vzájemně kolmé polarizace (referenční a měřicí) dopadají na nosník v různé vzdálenosti od místa jeho upnutí. Vzhledem k prohnutí nosníku oba svazky urazí rozdílnou dráhu a to se projeví na interferenci. Výhodou interferenčních metod je minimalizace vlivu narušení optické dráhy a nestability zdroje (oba svazky podstupují tutéž změnu) a menší citlivost na relativní pohyb mezi mechanickou a optickou částí, díky velkému průměru svazku nejsou citlivé na kvalitu povrchu, lze dosáhnout až tepelného limitu a dobré stejnosměrné stability, nevýhodou je nemožnost určení přímo kvantitativní hodnoty amplitudy.

### 2.2.8. Hroty a nosníky pro AFM

Pro mikroskopie založené na AFM nepostačuje zhotovit ostrý hrot, ale je nutné vytvořit také nosník, který svým ohybem bude indikovat velikost interakční síly. Po prvních pokusech se zahnutými hroty se začaly používat nosníky připravované litografickými technologiemi.

Nosník v AFM slouží jako senzor působící síly. Jsou na něj kladeny požadavky vysoké rezonanční frekvence (ovlivňuje dobu měření a závažnost tepelných driftů) a malé setrvačnosti, oba lze splnit zmenšením hmotnosti. Při vlastním měření se rezonanční frekvence zvětší, protože konec nosníku už není volný. Kvalita odezvy na náhlé změny však je stále určována hmotností a tuhostí, tedy závisí na původní rez. frekvenci. Aby byl senzor dostatečně citlivý na malé síly, musí být nosník snadno ohýbatelný, tedy mít malou tuhost. Její minimální hodnota je však omezena stabilitou měření (aby se hrot „nepřilepil“ k povrchu). Protože v dotykovém režimu působí velké boční síly, musí být nosník odolný proti zkroucení, nejvhodnější se jeví tvar V a X. Vzhledem k tomu, že působící síla je v daném místě stále stejná, je stejná i výchylka konce nosníku. Aby byla úhlová výchylka co největší (některé metody detekce jsou citlivé na úhel vychýlení), je nutno mít co nejkratší nosník. Pro frekvenční techniky je důležitý vysoký činitel kvality  $Q$ , v kontaktu není tak důležitý (přiblížení povrchu silně tlumí rezonanci, takže je obtížné ji vůbec pozorovat). Hrot by vždy měl být nejnižším místem celého nosníku. Vlastnosti nosníku závisí na jeho použití, pro dotykové režimy se používají pružné, pro bezdotykové naopak tvrdé. Hrot ani nosník AFM obecně nemusí být vodivý,

ale nosník musí být vhodně upraven k detekci (odrazná či vodivá strana odvrácená od vzorku). Velikost litografií vyrobeného nosníku bývá v rozmezí 100–200  $\mu\text{m}$  délka, šířka 10–40  $\mu\text{m}$  a tloušťka do 2  $\mu\text{m}$ .

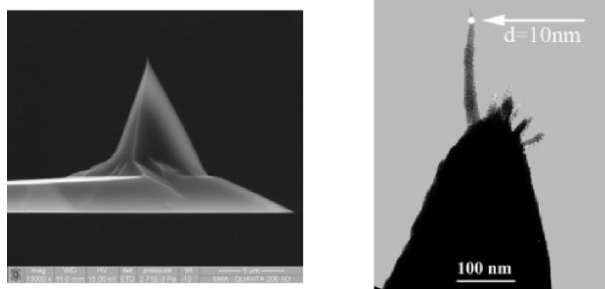
Pro velmi ploché povrchy bez požadavků na vysoké rozlišení není třeba vytvářet hrot, postačuje vyrobit obdélníkový nosník, který se upevní pod úhlem ke vzorku tak, aby jeden z jeho rohů byl nejbližší a působil jako hrot. Pro vyšší rozlišení lze na tento jednoduchý nosník přilepit zaostřený kousek diamantu, který bude hrot vytvářet. Uvedené nosníky se vyrábějí na destičce Si(100), na kterou se z obou stran metodou LPCVD nanese  $\text{Si}_3\text{N}_4$  nebo tepelně vytvoří vrstva  $\text{SiO}_2$ , jejíž tloušťka určuje tloušťku nosníku. Pak se na obě vrstvy litograficky vytvarují obdélníky v takové poloze, aby spojnice horních a dolních hran ležely v rovinách (111). Ve vrchním obdélníku se vynechá část odpovídající tvaru nosníku a objem Si se anizotropně vyleptá. Po odřezání zbylých částí křemíku získáme nosník přesahující do volného prostoru. Vzhledem k tvaru nosníku je velmi snadné určit jeho konstantu tuhosti  $k$  výpočtem.

Pro hrubší povrchy či větší požadované rozlišení je nutno vyrobit nosník i s hrotem. V případě  $\text{Si}_3\text{N}_4$  se nejprve do (100)Si vyleptá pyramidální díra (povrch se pokryje vrstvou  $\text{SiO}_2$ , odkryje se čtvercové okno, anizotropně se vyleptá a odstraní se zbylý oxid), nanese se nitrid, vyžihá se a litograficky se vytvaruje. Hrot však nyní směřuje do materiálu, musíme jej tedy přenést na jiný substrát, například skleněnou destičku. Tento proces je však velmi náročný.

Vytvořený hrot je velmi symetrický, tvarem je pyramidou s vrcholovým úhlem 70° (úhel je omezen krystalografií křemíku) a má poloměr křivosti menší než 30 nm. Obdobné postupy byly vytvořeny i pro  $\text{SiO}_2$  a Si hroty se čtyřbokým či kuželovitým tvarem, výhodou křemíkových hrotů je možnost dopování (může být vodivý). Hroty z nitridu jsou proti  $\text{SiO}_2$  mechanicky odolnější a mají dobře definovaný hladký povrch, mohou však při tlustších vzorcích vznikat problémy s pnutím. Velmi malá hmotnost takových nosníků umožňuje dosažení vysokých rez. frekvencí (100 kHz) a detekci velmi malých sil ( $10^{-8}$  N).

Z důvodu vysoké náročnosti předchozího postupu byly vyvinuty metody, které vytvoří Si hrot ven z materiálu. Navíc je zde výhoda, že nosník a jeho báze jsou vyrobeny z jednoho materiálu, což je dobré vzhledem k teplotním vlivům a všechny části jsou z téhož monokrystalu. K výrobě se používá kombinace izotropního a anizotropního leptání, nosník je z  $\text{SiO}_2$ . Technologie je následující: vytvoří se 100 nm tlustá vrstva oxidu na Si(100), nanese se resist a vytvaruje se kruh o průměru 5  $\mu\text{m}$ , který určuje základnu hrotu a provede se anizotropní leptání do objemu křemíku. Po leptání se vytvoří válcovitý „zub“ s téměř svislými stěnami. Nyní se odstraní resist a provede se izotropní leptání, které zub zaostří do hrotu s vrcholovým bodem. Vytvoří se nová vrstva oxidu, která do sebe vloučí vytvořený hrot, aniž by příliš zhoršila jeho parametry (zoxiduje se samozřejmě i vlastní hrot, vše závisí na teplotě), pak se litograficky vytvaruje do nosníku. Tyto hroty jsou osově symetrické, mají poloměry lepší než 50 nm, poměr výšky k poloměru lze měnit volbou poměru anizo/izotropního leptání. Vadí-li špatné mechanické vlastnosti oxidu, lze vytvořený hrot zahrnout do vrstvy nitridu (vrstva oxidu z povrchu se odstraní vyjma malé plošky kolem hrotu, deponuje se nitrid a vytvaruje tak, aby vytvořil nosník a zmizel z hrotu, ponechá se malé překrytí obou vrstev v okolí hrotu).

V současné době jsou nosníky pro AFM standardizovanou záležitostí a dodává je, kromě výrobců mikroskopů, i řada dalších firem. Běžně jsou dostupné hroty s koncovými poloměry i 2 nm, standardem je asi 10 nm (obr. 19). Některé typy mikroskopů (určené především pro nespécializovanou obsluhu) používají „montované“ nosníky, které se dodávají ve speciálních úchytech, které se vyměňují jako celek. Výhodou je snazší nastavení laseru, nevýhodou je vyšší cena a menší škála typů nosníků.



**Obrázek 19:** Nosníky s hroty pro AFM: (vlevo) hrot pro nekontaktní režimy, (vpravo) ostrý hrot s DLC (diamond-like carbon) výstupkem ([www.ntmdt-tips.com](http://www.ntmdt-tips.com)).

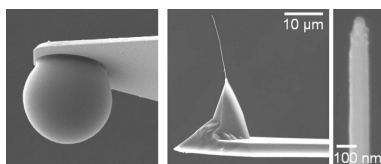
Nosníky pro speciální účely, vyžadující vysokou tvrdost, lze vyrábět přímo z diamantu, který je možno případně dotovat bórem pro dosažení vodivosti. Nosník lze vyrobit metodou CVD (rozkladem  $\text{CH}_4$  žhaveným vláknem) na nosném substrátu, který bývá ještě zdrsněn pro usnadnění nukleace v požadovaných místech. Diamantová vrstva se na základnu připevňuje přes pomocnou kovovou, která musí mít dostatečnou přilnavost k oběma materiálům.

**Aktivované hroty** Získané hroty lze samozřejmě ještě chemicky upravovat, buď s ohledem na snížení vlivu kapilárních sil, nebo pro tzv. funkčně citlivé zobrazování, při němž sledujeme rozložení vybraných chemicky aktivních skupin. První přístup používá hydrofobních hrotů, které se připravují nanášením organomerkaptanu na napařenou vrstvu zlata či třeba oktadecyltrichlorsilanu rozpuštěného v toluenu. Druhý způsob se používá především pro biologické vzorky a používané vrstvy zahrnují velkou třídu látek.

Speciálním případem aktivovaných hrotů mohou být hroty pro mikroskopii magnetických sil, které jsou často vytvářeny z původních AFM nosníků nanášením tenké magnetické vrstvy (Co, CoPtCr, NiFe), protože tenká vrstva zaručuje malé vlastní rozptylové pole (narozdíl od nosníků vytvářených z Ni fólií apod.). Obdobně lze AFM nosník s hrotem pokrýt vodivou vrstvou a provádět tzv. tunelující AFM k měření homogenity dielektrických vrstev. Pokrytí vrstvou však nevyhnutelně vede ke zvětšení koncového poloměru.

**Nanotrubičky** Protože kvalita hrotu je závislá na jeho poloměru křivosti, je snaha jej co nejvíce zmenšit. Jednou z cest je použití nanotrubiček, což jsou duté válcové útvary malého poloměru a relativně velké délky. Kromě štíhlosti vynikají také malou adhezí ke vzorkům (což se projeví hladším obrazem), ohebností (spíše se ohnou než zlomí při bočním nárazu na vzorek), přesnou stavbou (různé hroty lze považovat za identické) a možností naplnit trubičku chemicky či biologicky

aktivní látkou. Trubičky se vyskytují jako jednostěnné (poloměry až 0,5 nm) či mnohostěnné, z materiálů se používají uhlík či  $WS_2$ . Ostrost obrazu závisí i na zakončení trubičky, uhlíkové mají pětiúhelníkové,  $WS_2$  pak trojúhelníkové. Nanotrubičky se vyrábějí pomocí elektrických výbojů nebo CVD metodou. Ke měření se zpravidla nepoužívají samotné, ale přichycují se na otupenou část běžného AFM hrotu. I tyto hroty jsou komerčně dostupné, ale jejich cena je o hodně vyšší než klasických. Na obr. 20 je ukázka nanotrubičkového hrotu pro MFM.



**Obrázek 20:** Speciální typy nosníků: vlevo) nosník se sférou, uprostřed) hrot s uhlíkovou nanotrubičkou plněnou železem – určeno pro MFM, vpravo) detail nanotrubičky (<http://www.mpip-mainz.mpg.de/documents/akbu/media/cp.jpg>, <http://www.ifw-dresden.de/institutes/iff/research/Carbon/CNT/fecntcant1.jpg>).

**Piezorezistivní nosníky** Všechny uvedené nosníky byly uzpůsobeny pro světelnou detekci ohybu. Je-li nosník vyroben z piezorezistivního materiálu, může přímo sloužit jako detektor. Jeho ohybem dojde ke změně odporu piezorezistoru, která vytváří obraz. Pro nosník obdélníkového průřezu (tloušťka  $d$ , šířka  $b$ , délka  $l$ ) je relativní změna odporu po zatížení silou  $F$  rovna  $\frac{\Delta R_{t,l}}{R} = \pi_{t,l} \frac{6Fl}{bd^2}$ , kde  $\pi$  je piezorezistivní koeficient v podélném ( $l$ ) a příčném ( $t$ ) směru.

Nejjednodušší konstrukce používá nosník z křemíku, který obsahuje vysoce dotované oblasti vykazující piezorezistivitu, ovšem jen do poloviny tloušťky nosníku (v opačné polovině má namáhání opačný směr a signál by se blížil nule). Změny odporu se zpravidla měří můstkovou metodou. Složitější konstrukce mohou detekovat současně laterální i vertikální ohyby.

Piezorezistivní nosníky jsou výhodné v aplikacích, kde

- se používá najednou více nosníků, což je třeba v případě záznamových aplikací;
- se měří v prostředí, kterým laserový svazek neprochází, případně by vedl k nežádoucím změnám stavu vzorku.

**Aktivní nosníky** V některých případech není vhodné, aby nosník vystupoval jen jako pasivní člen mikroskopu. Aktivní nosníky se používají ke dvěma různým aplikacím. Jednou je buzení kmitů nosníku, protože standardní způsob rozkmitávání báze vyžaduje složitější teoretickou analýzu (přenos vibrací nosníkem), představuje větší mechanickou zátěž piezokeramiky a vytváří stejný pohyb všech nosníků při použití pole nosníků. Proto se nosníky upravují k přímému buzení za pomoci magnetického pole. Jedna z variant používá nosník z části magnetický (pokrytí vrstvou, připevnění magnetické částice) a buzení střídavým magnetickým polem, druhá používá vodivý hrot, kterým protéká proud, jímž vytvářené magnetické pole

interaguje se statickým magnetem. Druhá z metod je výhodnější, protože umožňuje nezávislé řízení kmitů jednotlivých nosníků.

Druhou aplikací aktivních nosníků je obcházení mechanického omezení zpětné vazby. Při rychlém skenování totiž piezokeramika nestačí vyrovnávat polohu nosníku, čímž omezuje rychlost sběru dat. Použijeme-li nosník, který je pokryt vrstvou z piezoelektrika, můžeme část ohybu dorovnávat přivedením napětí na tuto vrstvu. Výsledný obraz pak je kombinací napětí z piezokeramiky a uvedené vrstvy. Nevýhodou metody je náročnější detekční obvod, protože stejné výchylce konce nosníku odpovídá více možných prohnutí a tedy i poloh odraženého svazku na detektoru.

### Konstrukční poznámky

- Vyrobený nosník zpravidla zůstává připevněný na bázi, přes kterou se upevňuje do mikroskopu. Pro usnadnění manipulace může být báze připevněna k podložce. Do mikroskopu se zpravidla upíná mechanicky, nebo pomocí magnetu.
- Někdy se na jedné bázi v jednom výrobním procesu vytváří více nosníků, které se liší svými parametry, především délkou a šířkou (snáze ovlivnitelné volbou masky). Nosníky nejsou určeny k *současnému* skenování, ale jeden z nich se musí k měření vybrat, např. bočním sklonem nosníku v případě dvou nosníků.
- Nosníky stejného typu z různých výrobní šarží se od sebe mohou lišit a to především v tloušťce nosníku. Jak bylo vidět ze vztahu pro rezonanční frekvenci, je to parametr, na kterém lineárně závisí. Proto se hodnoty rezonančních frekvencí liší až o násobky.
- Pro optickou detekci je nosník potřeba ze zadní strany pokrýt odrazivou vrstvou kovu (např. Au). Vytvořená vrstva však způsobuje problém při změnách teploty, neboť má jinou tepelnou roztažnost než nosník a dochází k nežádoucímu ohybu.

**Inverzní AFM** Mikroskopie atomárních sil může pracovat i v tzv. inverzním režimu. V něm se nejprve vytvoří dvojrozměrné pole hrotů (na polovodičové destičce se vytvářejí pyramidy) a vzorek se upevní na plochý nosník. Bude-li vše zařízeno tak, aby vzorek na nosníku během skenování interagoval vždy jen s jedním hrotem, můžeme sestavovat obraz. Výhodou inverze je možnost různě chemicky (biologicky) aktivovat jednotlivé hroty a sledovat jejich interakce se vzorkem „na jednou“, nevýhodou je omezení na hmotnost a velikost vzorku. Vzorek se na nosník připevňuje přilepením epoxidem.

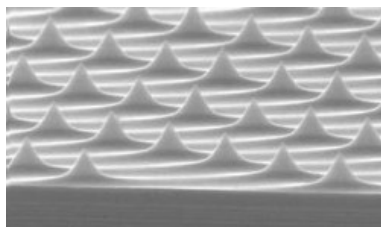
#### 2.2.9. Testování hrotů

Pro přesné aplikace AFM je nutno znát nejdůležitější charakteristiky použitého hrotu, především jeho poloměr křivosti. K charakterizaci se používají všechny



ostatní mikroskopie (EM, světelná, FIM), ale vždy je jejich použití spojeno s problémy (náročnost, zničení, ...). Druhou metodou charakterizace je vytvoření standardního vzorku a vypočítání tvaru hrotu ze získaného obrazu. Ideální by byl tenký a tuhý sloupec (charakteru  $\delta$ -funkce), přes který by sonda skenovala. Takový objekt je samozřejmě nemožno vyrobit, skutečné štíhlé objekty se navíc značně ohýbají. Geometrii hrotu by umožňoval takový vzorek stanovit s rozlišením daným vzorkovacím intervalem za předpokladu, že sonda není „podřezaná“.

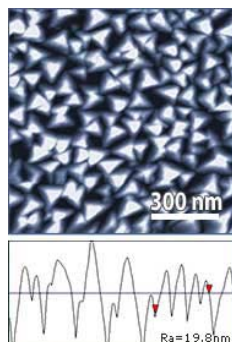
Vzhledem k pevnosti se raději používají jiné testovací struktury, např. podřezané a kuželovité. Druhé umožňují lehkou interpretaci obrazů, je-li znám poloměr hrotu a vrcholový úhel kužele, omezení citlivosti na poloměr je dáno rozměrem testovacího prvku, na úhel úhlem vzorku. Typickou testovací strukturou tohoto typu představuje např. pole „hrotů“ TGT1 (obr. 21). Uvedená struktura se zobrazí testovaným hrotem a výsledek se vyhodnotí např. pomocí dekonvoluce. Díky tomu, že ve struktuře je velké množství hrotů, je vysoká pravděpodobnost přesné charakterizace poloměru hrotu.



**Obrázek 21:** Testovací struktura TGT1

(<http://www.ntmdt-tips.com/cache/data/media/images/tgt1.d6b67f6611f7be67b2ad5c34dcfc7f20.jpg>).

Podřezané struktury dovolují určit jakékoliv úhly sondy, minimální určitelný poloměr omezuje konečná velikost hrany struktury a podřezaná část dodává struktuře vysokou odolnost proti zátěži skenováním. Jinou možností je zobrazení povrchu s náhodnými, ale ostrými strukturami. Příkladem mohou být struktury TipCheck nebo Nioprobe.



**Obrázek 22:** Testovací struktura TipCheck

([http://www.budgetsensors.com/img/tipcheck\\_sharp\\_big.jpg](http://www.budgetsensors.com/img/tipcheck_sharp_big.jpg)).

Kromě speciálních standardů můžeme k získání tvaru hrotu použít i koloidních částic, které lze vhodně použít k současné rekonstrukci s obrazem např. biomolekul – vhodně vybrané koloidní částice totiž mají sférický tvar. Částice a biomolekuly nanese na povrch současně a zobrazíme je. Obraz s koloidy použijeme k rekonstrukci tvaru hrotu, zbytek obrazu rekonstruujeme pomocí právě odhadnutého tvaru hrotu. Chyby, které se při této metodě projevují, jsou způsobeny především drsností povrchu kuliček, strukturami hrotu menšími než poloměr kuliček a zbytky média z přípravné fáze, které se drží kolem kuliček. Výhodou přístupu je skutečnost, že odhadujeme tvar hrotu v době měření. Při jiných postupech totiž nejprve změříme hrot a během měření vzorku už může být poškozený. Ani opakované zobrazení testovací struktury po měření vzorku nemusí stačit, protože nečistota, která se uchytlí na vzorek a deformuje jeho tvar, se může uvolnit.

K testování **nesymetrií** hrotu a podobných vad lze použít samozřejmě jakýkoliv vzorek, který známe dostatečně přesně. Může to být například kalibrační mřížka nebo stupeň, případně lze sledovat změny obrazu při změně úhlu skenování (u symetrického hrotu se změny nepozorují). Nesmíme se ovšem splést nesymetrie, způsobené dynamikou skenování.

### 2.2.10. Kalibrace nosníku

Signál, který se snímá z nosníku, umožňuje určit pouze jeho koncovou výchylku  $z$ . To postačuje pro mapování povrchu v režimu konstantní síly i pro kvalitativní spektroskopii sil. V případě potřeby kvantitativní charakterizace je nutno určovat i příslušnou sílu, proto je třeba nosník nakalibrovat – určit jeho konstantu tuhosti  $k$ . Z té pak lze určit sílu dle vztahu  $F = kz$ . Teoreticky je  $k$  dána rozměry a materiálovými vlastnostmi nosníku a měla by být stejná pro jeden typ nosníku, ale v praxi je obtížné dodržet stejné vlastnosti i u jedné sady nosníků, natož v typové řadě (především se liší tloušťka nosníků), proto je kalibrace nezbytná. Rozhodně se nedoporučuje spoléhat na nominální hodnoty udávané výrobcem.

Pro kalibraci nosníku se používá několik metod, využívajících různých principů i modelů nosníku:

- Nosník se aproximuje lineární pružinou a ze změřené rezonanční frekvence  $f_r$  se spočítá  $k = m(2\pi f_r)^2$ , kde  $m$  je hmotnost nosníku, kterou musíme znát velmi přesně (náročný požadavek).
- Obdobně jako v předchozím případě použijeme model pružiny, ale s efektivní hmotností závislou na tvaru (pro obdélníkový průřez  $m^* = 0,24m$ ). Přidáme-li na konec nosníku hmotnost  $M$ , je jeho rezonanční frekvence  $f_r = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{M+m^*}}$ , speciálně pro  $M = 0$  lze psát  $f_r \sim \frac{1}{2\pi l} \sqrt{\frac{E}{\rho}}$ , kde  $E$  je Youngův modul pružnosti,  $\rho$  je hustota nosníku a  $l$  jeho délka. Vztah lze dále přepsat do tvaru  $M = k(2\pi f_r)^{-2} - m^*$ . Z této lineární závislosti  $M-(2\pi f_r)^{-2}$  lze pak určit  $k$ .

Experimentálně se měření provede přidáním malé kuličky (např. z wolframu) na stranu hrotu pomocí mikropipety, využívá se síly menisku nebo se kulička přilepí a započte se i hmotnost lepidla. K výpočtu hmotnosti se použije

hustota materiálu a poloměr kuličky, obojí má vliv na přesnost metody, další vliv má přesnost umístění kuličky. Při realizaci **nemusíme** znát hmotnost nosníku, ale metoda může být destruktivní.

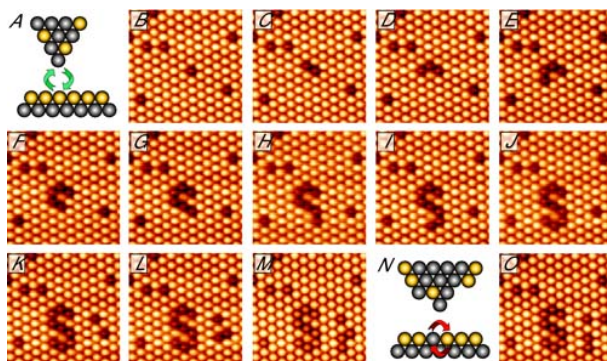
- Další možností je určení tuhosti z tepelného pohybu. Změřením střední amplitudy tepelného pohybu nosníku daleko od vzorku a využitím předpokladu o hodnotě střední energie lze  $k$  stanovit. Metoda je vhodná jen pro měkké nosníky ( $k < 0,05$  N/m), protože amplituda kmitů je jinak velmi malá. Problémem metody může být určení *lokální* teploty a zahrnutí vyšších modů kmitání (chyba až 30%). Dalším problémem může být citlivost optické detekce na ohyb  $\frac{dz}{dx}$ , který je závislý na tvaru módu. V případě přesných měření musíme zohlednit i okolní prostředí (hydrodynamika vzduchu).
- Tuhost se dá určit také pomocí statického zatížení. Na nosník zavěsíme kuličku a určíme ohybový signál vlivem její tíhy. Abychom odstranili neurčitost nezatížené polohy, nosník obrátíme a změříme ohnutí na druhou stranu, čímž získáme výchylku  $X$  (v nA). Známe-li hustotu  $\rho$  a poloměr  $R$  kuličky, lze určit tuhost pomocí  $k = \frac{8\pi}{3}\rho R^3 g \frac{c_n}{X}$ , kde  $g$  je tíhové zrychlení a  $c_n$  převodní koeficient senzoru.
- Kalibrovat lze i porovnáním se standardem, který působí proti nosníku. V případě aktivního standardu se používá přesný pohybový člen, který definovaným způsobem tlačí na nosník a ohýbá jej, v případě pasivním je hrot vtlačován buď proti pevnému povrchu, nebo proti druhému nosníku známých vlastností.
- Mezi kalibrace lze zařadit i matematické metody, které počítají tuhost nosníku např. pomocí metody konečných diferencí a udávají její závislost na geometrických rozměrech a modulu pružnosti  $E$ . Zde ovšem musíme uvažovat tvar nosníku. Nejjednodušší je případ obdélníkového nosníku, pro který máme  $k = \frac{Et^3w}{2l^3}$ , kde  $w$  je šířka nosníku a  $t$  jeho tloušťka. Nosníky tvaru  $V$  se zpravidla uvažují jako dva paralelní obdélníkové nosníky a zavádí se korekce pro úhel  $\Theta$  mezi rameny,  $k = \frac{Et^3w'}{2l^3} \frac{\cos\Theta}{1 + 4\left(\frac{w'}{b}\right)^3 (3\cos\Theta - 2)}$ , kde  $w'$  je šířka ramene rovnoběžně se základnou a  $b$  je šířka celého nosníku v základně.

V případě mikroskopie laterální síly je nutno kalibrovat i laterální konstantu tuhosti  $k_l$ , což je obecně složitější a provádí se pomocí řízeného zkrucování nosníku působením síly mimo podélnou osu nosníku. Postupovat lze rovněž matematicky, laterální tuhost obdélníkového nosníku je dána vztahem  $k_l = \frac{Gt^3w}{3lh^2}$ , kde torzní modul je  $G = \frac{E}{2(1+\nu)}$ .

### 2.2.11. Aplikace AFM

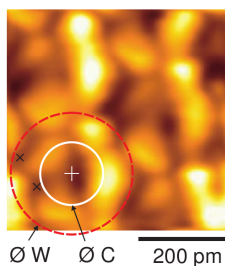
AFM je v oblasti nanotechnologií jednou z nejpoužívanějších variant SPM. Lze s ní provádět např. atomární manipulace, a to dokonce i za pokojové teploty. Příkladem je obr. 23, na kterém je s atomárním rozlišením zobrazena Si podložka s monoatomární vrstvou Sn. Cínová vrstva přirozeně obsahuje defekty v podobě

křemíku (tmavé oblasti). S defekty lze za pokojové teploty řízeně manipulovat, takže přibližně za 90 minut byla do cínové vrstvy atomárně zapsána chemická značka křemíku. Zápis trval tak dlouho kvůli tomu, že Si atomy nepřesunovaly přímo, ale vždy se skenovalo nad jedním místem tak dlouho, až se vzájemně prohodily atomy hrotu a vzorku.



Obrázek 23: Atomární manipulace pomocí AFM (doi:10.1126/science.1160601).

Nejlepší rozlišení, kterého bylo s AFM dosaženo, dosahuje 77 pm. Bylo získáno zvláštním způsobem: wolframový atom skenoval po grafitovém vzorku, ale cílem bylo zobrazení wolframové struktury pomocí uhlíkových atomů. V získaných datech (obr. 24) jsou vidět struktury, jejichž velikost je menší než průměr wolframového atomu (červený kruh), konkrétně je vzdálenost černých křížků 77 pm. Lze tedy říci, že AFM umožňuje subatomární rozlišení (zobrazení orbitalů).

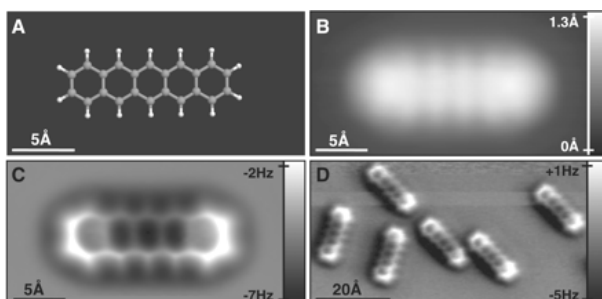


Obrázek 24: Subatomární rozlišení AFM (doi:10.1126/science.1099730).

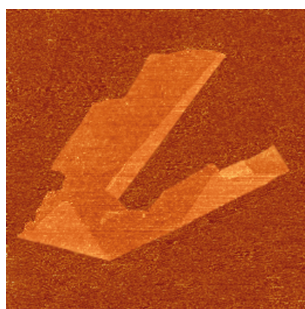
Obě uvedené aplikace sice dosahují atomárního rozlišení, ale jen na dobře uspořádaném krystalickém povrchu. Dosáhnout rozlišení atomů v molekule, či jen struktury atomů, byl dlouho neřešitelný problém. Poprvé toho bylo dosaženo při zobrazení molekuly pentacenu (obr. 25). V obrázku je zřetelně vidět pětice benzenových kruhů a méně zřetelně vyčnívající vazby.

Velmi často se AFM používá k hodnocení grafenů (obr. 26), zvláště proto, že umožňuje vyhodnotit jejich výšku a posoudit tak, zda se skutečně jedná o jednu vrstvu grafenu, nebo o kus grafitu.

AFM se často využívá k charakterizaci velikosti, tvaru, uspořádání či chování nanočástic. Na obr. 27 je zachycena povlakovaná nanočástice, od které se prav-

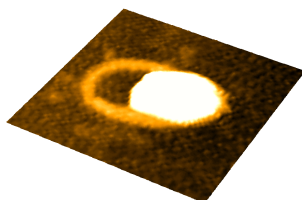


**Obrázek 25:** Molekula pentacenu zobrazená pomocí AFM a STM. A) struktura molekuly, B) zobrazení v STM, C, D) zobrazení v AFM (doi:10.1126/science.1176210).



**Obrázek 26:** Grafeny ([http://www.condmat.physics.manchester.ac.uk/images/pictures/graphene\\_flake.jpg](http://www.condmat.physics.manchester.ac.uk/images/pictures/graphene_flake.jpg)).

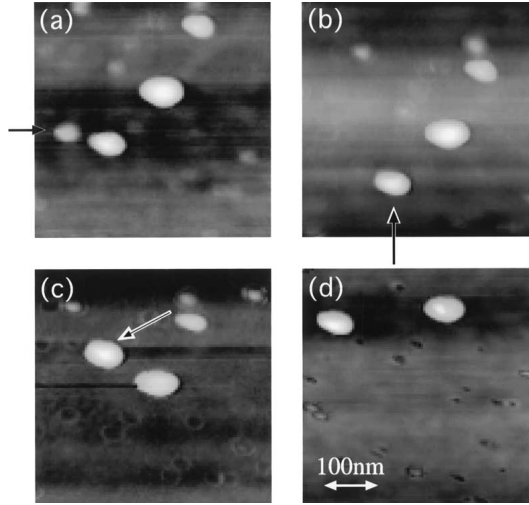
děpodobně částečně odloupl její povlak. Na obr. 28 je zachyceno kapalně chování



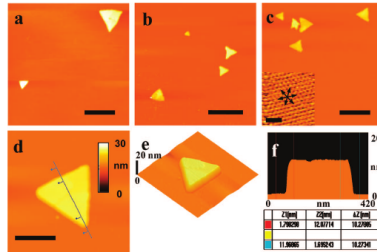
**Obrázek 27:** Povlakovaná nanočástice  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ .

nanočástic. Bod tání klesá s klesajícím rozměrem nanočástice. Proto mohou být malé nanočástice za pokojové teploty kapalně a když k sobě dvě přiblížíme, slíjí se do jedné. V okamžiku, kdy velikost částice překročí určitou mez, stane se tuhou a pozorované chování vymizí. Ve variantě „dip-pen“ nanolitografie umožňuje AFM studovat i proces epitaxního růstu nanočástic, v případě obr. 29 nanočástic CdS.

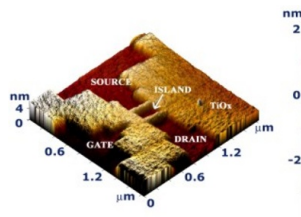
AFM nachází uplatnění také při zobrazování různých funkčních struktur, například v nanoelektronice. Příkladem může být zobrazení jednoelektronového tranzistoru (obr. 30).



**Obrázek 28:** Kapalně chování nanočástic (Ismail et al, J. Nanopart. Res. 4(4), 2002, 351).

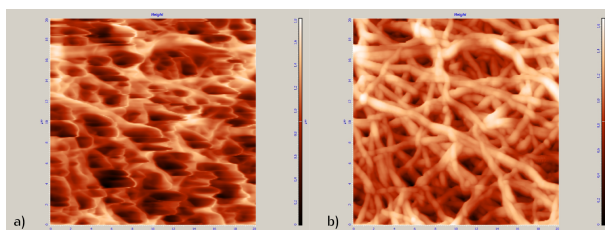


**Obrázek 29:** Epitaxně rostlé nanočástice CdS (doi:10.1021/jp807746g).



**Obrázek 30:** Jednoelektronový tranzistor zobrazený pomocí AFM ([http://www.dep.fmph.uniba.sk/mambo/images/stories/laboratories/tunneling\\_microscopy/set.jpg](http://www.dep.fmph.uniba.sk/mambo/images/stories/laboratories/tunneling_microscopy/set.jpg)).

Poslední ukázka zobrazuje netkanou nanotextilii (obr. 31), zobrazenou pomocí kontaktního (a) a semikontaktního (b) režimu. Na první pohled je vidět, že kontaktní režim výrazným způsobem deformuje povrch a je pro tuto aplikaci nevhodný.



**Obrázek 31:** Netkaná nanotextilie: a) kontaktní režim, b) semikontaktní režim.

### 2.3. Optická mikroskopie v blízkém poli

V klasické optické mikroskopii dalekého pole se k zobrazování používají optické prvky, které vnášejí omezení rozlišení vlivem difrakčních jevů. Maximální rozlišení je rovno vlnové délce použitého záření. Na toto omezení můžeme nahlížet skrz přenosovou funkci vlného prostoru

$$\mathcal{H}(f_x, f_y) = e^{-2\pi i \sqrt{\frac{1}{\lambda^2} - f_x^2 - f_y^2} d},$$

kteřá má jednotkovou absolutní velikost pro prostorové frekvence, pro něž platí  $f_x^2 + f_y^2 \leq 1/\lambda^2$  (zde tedy dochází pouze ke změně fáze) a pak se přemění ve funkci exponenciálně klesající se vzdáleností  $d$  od zdroje obrazu, přičemž charakteristická délka tlumení je přibližně  $\lambda$ . Protože klasická mikroskopie pracuje ve velké vzdálenosti, nedokáže zobrazit frekvence nad danou mezí. Budeme-li obraz snímat ve vzdálenosti menší než  $\lambda$  od vzorku (v blízké oblasti), frekvence se přenesou a dosáhneme rozlišení pod difrakčním limitem. V principu vždy stačí použít stínítko s otvorem (aperturou), které se pohybuje v těsné blízkosti povrchu vzorku. Osvětlení může být například z druhé strany v transmisním uspořádání a je homogenní po celém povrchu.

Také jakékoliv rozhraní mezi různými prostředími ovlivňuje rozložení elektromagnetického pole (např. koncentrace pole na hrotu, vymizení pole na dokonale vodivém povrchu apod) a toto narušení je zpravidla patrné na vzdálenost srovnatelnou s velikostí struktury, která jej vyvolala. Při vysokých frekvencích se každá nehomogenita vystavená poli sama stane zdrojem záření – anténou. Může tedy být pro účely mikroskopie sonda s otvorem nahrazena ostrým hrotem.

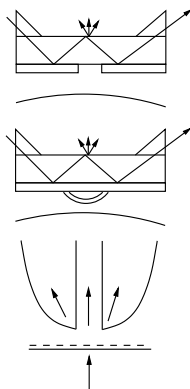
**Rozlišení NFSOM** se definuje obdobně jako v klasické optice jako první nulový bod přenosové funkce. Budeme-li uvažovat kruhovou aperturu položenou na vzorku, bude funkce rozšíření kvadrátem aperturní funkce. Funkce frekvenčního přenosu pak bude mít tvar  $\frac{2J_1(2\pi Rf)}{2\pi Rf}$ , kde  $R$  je rozměr apertury. Z polohy nulového bodu pak plyne rozlišení  $f = \frac{0,61}{R}$ , které je **nezávislé** na  $\lambda$ . Lepšího rozlišení lze

tedy dosáhnout menší aperturou, v čemž jsme však omezeni jednak technologií výroby, jednak účinností přenosu energie, která klesá jako  $\left(\frac{R}{\lambda}\right)^6$ . Další omezení rozlišení plyne z vnějšího průměru sondy, zvláště na hrubých površích, kde dochází k mechanické interakci se vzorkem.

Základní uspořádání mikroskopů v blízkém poli je tvořeno stínítkem s aperturou, zdrojem světla a detektorem. Je možno použít aperturu v blízkosti stínítka a detektor v dalekém poli (osvětlení je ze strany otvoru a je homogenní, po průchodu štěrbinou je v blízké oblasti ještě kolimováno a prochází vzorkem, po výstupu z otvoru má svazek průměr daný průměrem otvoru, za vzorkem se rozšíří, ale to již dosažené rozlišení neovlivní), detektor v blízkém poli a otvor dále (nebo vůbec ne) či použít hrot jako světelný zdroj. Metoda může pracovat na průchod či na odraz, vznik kontrastu je podmíněn variacemi v odrazu či lomu, absorpci, polarizaci nebo fluorescenci.

Mezi základní uspořádání metody patří:

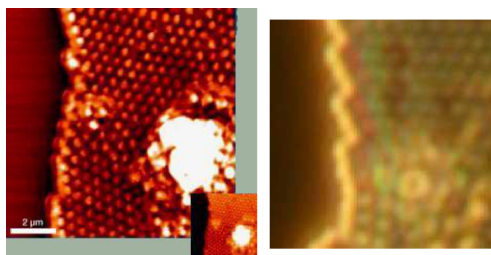
- **transmisní otvorové** (obr. 32 dole), při níž světlo laseru prochází otvorem, pak vzorkem (např. polopropustným filmem) a z druhé strany je detektor, lze použít např. i mikropipetu zvenčí pokovenou, ozařuje se buď široký konec pipety nebo se záření sbírá ostrým koncem pipety (nevýhodou plošného ozáření vzorku je možnost nežádoucích fotochemických reakcí a vliv speklů);
- **otvorové odrazové** (obr. 32 uprostřed), kdy je sonda tvořena vlnovodem a má na povrchu otvor, ve vlnovodu se šíří světlo podél vzorku za podmínky totálního odrazu a v místě otvoru uniká ven, odráží se od vzorku a prochází sondou kolmo na rovinu otvoru;
- **odrazové rozptylové** (obr. 32 nahoře), které má podobné uspořádání jako předchozí, ale místo otvoru je na sondě výstupek, z něhož světlo uniká – umožňuje lepší přístup k povrchu;



Obrázek 32: Vybrané režimy NSOM.

Obrázek 33 je ukázkou možností NSOM. Zobrazen je standardní vzorek, tvořený z polystyrenových kuliček se jmenovitým průměrem 500 nm. Vlevo je obraz NSOM mikroskopu (vložený obrázek ukazuje současně snímaný obraz smykových sil), vpravo běžného optického mikroskopu při zvětšení 50×. Oba obrázky jsou získány v odrazném uspořádání.





**Obrázek 33:** Srovnání optické mikroskopie optické (vpravo) a v blízkém poli (vlevo) ([http://www.snom.omicron.de/pic/HiRes-SNOM\\_1.jpg](http://www.snom.omicron.de/pic/HiRes-SNOM_1.jpg), [http://www.snom.omicron.de/pic/HiRes-SNOM\\_3.jpg](http://www.snom.omicron.de/pic/HiRes-SNOM_3.jpg)).

## 2.4. Konstrukce mikroskopu

V další části textu se budeme stručně zabývat konstrukcí jednotlivých částí mikroskopu, především obecnými záležitostmi, platnými pro všechny variace SPM. Celková stavba mikroskopu může být realizována několika způsoby. Některé konstrukce používají tělo mikroskopu ve tvaru písmene „C“, při kterém je držák vzorku pevně spojen se skenerem a držákem hrotu. Jiné konstrukce používají spíše volně měřicí hlavy, která se pokládá nad měřený vzorek. Vybrané typy mikroskopů jsou na obr. 34.



**Obrázek 34:** Ukázky skenovacích mikroskopů: zleva doprava NTEGRA (NT-MDT), Bio-Scope Catalyst (Bruker), Cypher AFM (Asylum Research), NanoWizard (JPK Instruments) (stránky výrobců).

Původní konstrukce byly určeny pouze pro vakuové prostředí (staví se i v přírubovém provedení), v současnosti většina mikroskopů pracuje na vzduchu, pokud to není na závadu vzorkům, nebo i v kapalinách. Mikroskopy, které jsou určeny pro práci ve vakuu, jsou konstrukčně náročnější, protože musí být zajištěna výměna vzorku v evakuovaném prostoru, což s sebou nese nutnost stavby „podavače“, který je vzhledem ke své délce náchylný k vibracím. Materiály mikroskopu musí být schopny snést procedury na očištění a odplynění vzorku, realizované za zvýšených teplot.

### 2.4.1. Hrubý pohyb

Slouží spíše ke vkládání vzorků než k měření, provádí makroskopický posuv hrotu směrem ke vzorku do takové vzdálenosti, která je dosažitelná jemným piezokeramickým manipulátorem. Konkrétní provedení závisí na podmínkách, do nichž je zařízení určeno (vakuum, nízké teploty) a na typu pohybu (zda se pohybuje

vzorkem, hrotem nebo hlavou mikroskopu – velmi rozdílná hmotnost). Vhodná realizace by měla splňovat podmínky rychlosti, pevnosti, opakovatelnosti, nízkého přenosu vibrací a geometrie. Často se využívá řízení krokovým pohybem, hrubý posuv může mít dvě funkční části, jednu přístupnou operátorovi přímo, druhou prostřednictvím elektroniky, přibližování se pak děje ve dvou krocích, nejprve rychle manuálně ve velkých vzdálenostech a posléze pomaleji elektricky.

### 2.4.2. Skenování

Pohybový prvek – skener – slouží jednak k realizaci jemného pohybu během vlastního měření, jednak k přiblížení hrotu ke vzorku po hrubém posuvu. Je realizován téměř výhradně piezokeramicky<sup>2</sup>, protože musí splňovat náročné mechanické požadavky (přesnost nastavení polohy  $\delta z = 1 \text{ pm}$ ,  $\delta x = \delta y = 10 \text{ pm}$ , pohyb hrotu v ose  $z$  v rozsahu až  $10 \text{ }\mu\text{m}$  plynulým pohybem beze skoků), a zároveň nesmí omezovat možnosti měření (rozsah skenovacího okna od jednotek nm až  $100 \text{ }\mu\text{m}$  a možnost změny jeho velikosti a polohy). Zvláště s ohledem na skenovací rozsah se používají výměnné skenery, s různým rozsahem a různou konstrukcí.

Při vlastním měření může skener vykonávat dvě funkce. První (používanou téměř vždy) je skenování, tedy přemísťování hrotu po zvolené rovině rovnoběžné<sup>3</sup> s povrchem vzorku definovaným způsobem. Zpravidla se měření provádí v pravidelném rastru, tedy polohy hrotu vytváří síť měřicích bodů (zpravidla čtvercovou, nepravidelné rastry se používají jen pro speciální účely). Pohyb hrotu je realizován po řádku v tzv. rychlém směru (fast-scan), když je hrot na konci řádku, provede se kolmý posuv v pomalém směru (slow-scan) a hrot se bez měření vrací na začátek řádku.

Druhou funkcí skeneru je pohyb kolmo ke vzorku během měření, zpravidla ve spolupráci se zpětnou vazbou k udržení konstantního signálu. V některých případech (spektroskopie sil) skener vykonává jen tento pohyb, popř. kombinaci, při které není skenování pravidelné, ale dochází jen k přesunu do předem vybraných bodů.

Mikroskopy jsou zpravidla stavěny na pevně zvolenou sadu počtu měřicích bodů na řádek i počet sloupců, mnohdy se dají skenovat pouze čtvercová okna. Velikost kroku už je však závislá na zvoleném skeneru a velikosti skenovacího okna. V základním stavu jsou osy skenované oblasti rovnoběžné s jednotlivými piezoprvky, ale elektronicky lze zajistit skenování pod libovolným úhlem. V dnešní době už většina mikroskopů podporuje vektorově prováděné nanolitografie a díky tomu umožňuje pohyb hrotu po téměř libovolné trajektorii.

### 2.4.3. Piezoprvky

Základním piezokrystalickým materiálem je keramická směs, označovaná jako PZT (tj.  $\text{Pb}(\text{Zr},\text{Ti})\text{O}_3$ ), která se dotuje příměsími pro dosažení požadovaných vlast-

<sup>2</sup>Pohyb lze realizovat také pomocí elektrodynamických převodníků (např. systémů z reproduktorů). Mají sice menší přesnost (asi  $10 \text{ nm}$ ), ale umožní skenovat větší oblasti (až  $1 \text{ mm}$ ).

<sup>3</sup>Rovina nemusí být rovnoběžná vždy, například provedení s příkládanou hlavou používá hlavu mírně skloněnou dopředu, tím se nakloní i skenovací rovina. Častěji není rovnoběžná kvůli sklonu vzorku, vzniklému např. šikmým přilepením na podložku.

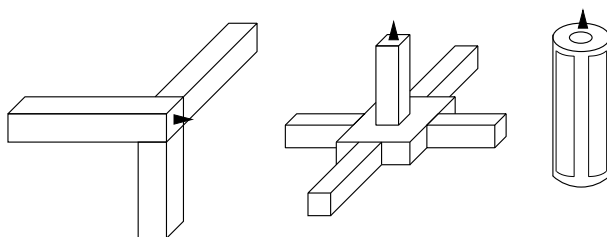
ností, nebo BaTiO<sub>3</sub>. Výroba piezokeramiky se provádí zpravidla práškovou technologií, spékáním prášku ve formě požadovaného tvaru. Piezoelektrický jev je podmíněn přítomností vlastních dipólů krystalků, které jsou ovšem u prášku nahodile uspořádány a způsobují prodloužení, které je ve výsledku nulové. Proto se musí po spečení trubička opět zahřát a vystavit stejnosměrnému el. poli, které jednotlivé dipóly orientuje do svého směru. Po úplném přeorientování je vzorek rychle zchlazen, čímž si dipóly uchovávají svou orientaci. Piezokeramika umožňuje realizovat roztažení v intervalu od méně než 0,1 nm až do stovek mikrometrů při napětích od 1 mV do 1000 V. Základní charakteristikou piezoelektrik je piezoelektrická konstanta, která udává velikost změny rozměrů po přiložení napětí. Konstanta má tenzorový charakter a je závislá na teplotě. Při nižších teplotách má menší hodnotu, což umožňuje přesnější nastavování, ale menší rozsah.

Piezoelektrické prvky slouží pouze k realizaci jednoho směru pohybu a nemohou tedy představovat skener. Ten z nich bývá sestavován (po případných úpravách) do celků, které vykazují žádané vlastnosti – vysoká rezonanční frekvence (desítky kHz), vysoká pevnost, linearita pohybu a ortogonalita (nezávislost směřů). Po sestavení je skener doplněn úchytem pro připevnění hrotu či vzorku.

V současnosti se používají tyto typy skenerů (obr. 35):

- **trojnožka** (tripod) je tvořena třemi navzájem kolmými piezokeramickými hranolky, které jsou na jednom konci přilepeny k sobě a zde je také upevněn hrot. Zbylé konce jsou upevněny k podložkám. Uvedenou sestavou je možno docílit pohyb ve všech třech osách s velkým rozsahem. Nevýhodou je křížový efekt, protože pevné spojení způsobí změnu (ohyb) všech tří hranolků, i když je napětí přiloženo jen na jeden. Tento skener byl prvním používaným, lze vytvořit i modifikaci s trubičkami místo hranolků.
- **dutá trubička**, jejíž vnitřní elektroda je souvislá (a většinou uzemněná), ale vnější elektroda je rozdělena na čtyři symetrické části, přičemž protilehlé elektrody tvoří pár se stejným napětím. Přiloží-li se na všechny vnější elektrody stejné napětí, dojde k protažení trubičky podél její osy. Jsou-li na páry přiložena různá napětí, dojde k ohybu trubičky do příslušného směru. Toto uspořádání je velmi kompaktní, vykazuje menší křížový efekt a větší pevnost (a rezonanční frekvenci  $f_r \sim 1.08 \cdot 10^5 l^{-2} \sqrt{r_o^2 + r_i^2}$ ). Chyby může způsobit nesouměrné rozdělení elektrod, nehomogenita stěn a poloha hrotu mimo střed.
- **kříž**, tvořený čtyřmi rameny, které jsou po dvojicích kolmé. Protilehlé dvojice slouží k posuvu ve stejném směru a jejich symetrické zapojení vylučuje vlivy teplotních driftů apod. Křížové uspořádání umožňuje pouze dvourozměrný pohyb, proto je uprostřed kříže umístěn piezoprvek s hrotem, který je kolmý k rovině kříže a přidává třetí rozměr (z). Výhodou kombinace je odstranění křížového efektu v ose z. Používá se i nesymetrická kombinace, v níž je kříž tvořen jen dvěma piezoprvky.

Uvedené skenery dovolují velikost skenovacího okna stovek mikrometrů.



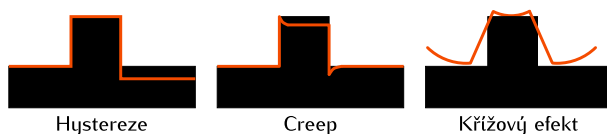
**Obrázek 35:** Jednotlivé konstrukční typy skenerů: tripod, kříž a trubička.

#### 2.4.4. Chyby skenerů a konstrukce

V předchozím bylo zmíněno, že jednotlivé směry ohybu nejsou nezávislé, ale vzájemně se ovlivňují, což způsobuje chyby v polohování hrotu. Další chyby skenerů plynou z vlastností piezokeramiky či pracovních podmínek. Všechny chyby mají dva charaktery svého projevu, jeden se promítá do roviny skenování a ovlivňuje tvar měřicí mřížky, druhý pak ovlivní velikosti výškových rozdílů. Některé chyby mají tyto projevy nezávislé, jiné nikoliv.

**Intrinzická nelinearita** Tato chyba je způsobena přímo materiálem skeneru, tím, že prodloužení či zkrácení není lineárně závislé na přiloženém napětí, tedy  $\epsilon = \frac{\Delta l}{l} = dE$  platí jen přibližně. Udává se poměrem maximální odchylky od lineární aproximace a příslušné hodnoty  $\frac{(\Delta l)_{\max}}{l}$ . Tato chyba se projevuje zborcením původně rovinné ekvidistantní mřížky měřicích bodů. Efekt nelinearity se ovšem výrazně projeví teprve při skenování velkých ploch.

**Hystereze** Většina piezoelektrických materiálů vykazuje nezanedbatelnou hysterezi (až 20%), způsobenou postupným přeskokováním jednotlivých domén v piezoelektriku. Ta se projevuje vytvořením uzavřené smyčky v grafu závislosti prodloužení na přiloženém napětí, plocha smyčky roste s intenzitou el. pole  $E$ , proto je výhodné požadovat piezoelektrika s co největším koeficientem  $\frac{dl}{dE}$ . Charakterizuje se poměrem maximálního rozdílu mezi oběma větvemi smyčky a maximální hodnoty prodloužení. Aby byl vliv hystereze omezen, probíhá řádkové skenování vždy jen v jednom směru. Velikost hystereze je možno určit proměřením v opačných směrech, lze-li volit směr rychlého skenování. Hystereze má rovněž nepříznivý vliv na určování výškových schodů (obr. 36 vlevo). Probíhá-li měření v obou směrech (oba obrazy se ale vyhodnocují zvlášť), je mezi obrazy znatelný posun ve směru skenování.



**Obrázek 36:** Projevy základních chyb skenerů.

**Creep** (tečení) je jev, který nastává při náhlém přiložení napětí. Krystal se nezačne roztahovat jako celek, ale po jednotlivých částech. Výsledkem je, že když dojde k nastavení skeneru na požadované místo, začne lokalizovaná poloha po-

zvolna „ujíždět“ během homogenizace prodloužení v objemu piezokeramiky. Kvantitativně je charakterizován poměrem  $\Delta x_c / \Delta x$ , kde  $\Delta x$  je prodloužení, které nastane ihned po přiložení napěťového skoku a  $\Delta x_c$  je prodloužení, které teprve „doběhne“ (tedy rozdíl mezi skutečným prodloužením a  $\Delta x$ ). Projevem tečení je rozdílnost obrazů nasnímaných při různých rychlostech skenování. Ve vertikálním směru se projevuje jednak „zákmitem“ na prudkých sestupných a náběžných stěnách (obr. 36 uprostřed), jednak vznikem hřebenů a stínů na pozvolných stěnách. Jeho projev je nejvýraznější při dlouhodobých požadavcích, tedy pomalém skenování.

Vzhledem k charakteru tečení se rovněž nedoporučuje provádět skenování v rozích (s maximálním ohnutím), protože obraz při skenování „dobíhá“ a trvalým ohnutím se zhoršují parametry skeneru.

**Křížový efekt** Tento jev je charakterizován nežádoucím pohybem v jednom směru, je-li požadován pohyb v odlišném směru. Může být způsoben více příčinami. Například elektrickým polem, které není přesně homogenní v objemu skeneru, geometrickým tvarem piezotrubiček (skenování v rovině kolmé k ose je dosahováno ohýbáním trubičky do oblouku, což je nutně provázené změnou v ose rovnoběžné) nebo trojnožky (zkrácení jednoho elementu způsobí rotaci ostatních). Projevem křížového jevu je zaoblení rovinného povrchu (obr. 36 vpravo).

**Stárnutí** Stárnutí se projevuje změnou piezoelektrického koeficientu  $d$  v čase. Není-li materiál používán, dochází k exponenciálnímu poklesu  $d$  vlivem náhodné orientace dipólů. Je-li materiál používán, dochází naopak k exponenciálnímu nasycování, k dokonalé orientaci. Aby se ztrátě účinnosti zabránilo, je nutno občas přiložit na elektrody napětí (stačí běžný provoz) a nevystavovat keramiku vysokým teplotám (nad 150 °C). Pracovní napětí by mělo být přikládáno ve stejné polaritě jako pólovací napětí, případně opačné by mělo být přesně řízeno.

Stárnutí se projeví chybným určováním rozměrů, charakter objektů však zůstane nezměněn. U zestárlého skeneru je možno pokusit se o jeho obnovu přiložením vysokonapěťového pulsu, ale výsledek je nejistý. Většinou je nutno u takového skeneru nově nastavit softwarové korekce.

**Tuhost a ohyb** Nastává-li při skenování prudká změna velikosti rychlosti nebo jeho směru, může vlivem setrvačnosti dojít k ohybu nosníku, zvláště velká je pravděpodobnost tohoto vlivu, probíhá-li sběr dat z obou směrů skenování do jednoho obrazu. Při velké štíhlosti samotného hrotu se začíná uplatňovat rovněž vliv jeho ohybu při kontaktu se vzorkem nebo skenování děr.

**Drift** je pozvolné ujíždění hrotu vzhledem ke vzorku z různých příčin. Drift je zvláště patrný při malých rychlostech, protože roste doba, během níž se může projevit. Je výrazně omezujícím parametrem zvláště při atomárních rozlišeních, kde musíme volit větší rychlost, než by nám bylo libo (zde se ovšem projevují i vlastní kmity atomů).

Nejdůležitější složkou driftu je tepelná, která vzniká jednak z rozdílnosti koeficientů roztažnosti  $\Delta_\alpha$  jednotlivých konstrukčních částí mikroskopu vlivem teploty (nelze zanedbat ani vnitřní zdroje ohřevu, jako je průchod proudu či ohřev použitým osvětlením), jednak ze závislosti piezoelektrické konstanty na teplotě (bývá  $\frac{1}{d_{31}} \frac{\partial d_{31}}{\partial T} \sim 10^{-3} \text{ K}^{-1}$ ). Většinou je kladen požadavek na celkovou roztažnost  $\Delta_{\alpha c} < 10^{-8} \text{ K}^{-1}$ , k jeho splnění je vhodné používat symetrická uspořádání.

Další složkou driftu je elektronická, která se projevuje změnou nastavení zesilovačů, především stejnosměrných. Efekt se rovněž může měnit s teplotou.

Projev driftu v obraze se dá odstranit, známe-li charakter povrchu a drift je rovnoměrný. Provede se sejmutím dvou obrazů s časovým odstupem a určením vektoru posunutí. S tímto posunutím se pak (po přepočtu na příslušný čas) počítačově provede stlačení nebo roztážení obrazu v patřičném směru, nebo se přímo přidá korekce do skenovacích signálů.

#### 2.4.5. Korekce chyb

Ke korekci chyb uvedených v předchozích kapitolách se používají metody buď softwarové, nebo hardwarové. Méně přesné softwarové metody spočívají v přeměření testovacího vzorku a na jeho základě k určení korekční matice, která se použije k opravě naměřených dat. Při korekci můžeme měřit buď napětí, která jsou na piezokeramiku přikládána, nebo měřit celkový náboj, dodaný k dosažení dané polohy. Ukazuje se, že přesnější je nábojová korekce, která však může vést k problémům s driftem piezokeramiky či saturací zesilovače. Druhým způsobem korekce může být matematické modelování chování skeneru. Softwarové korekce jsou nenáročné finančně i přístrojově, ale korekce je správná jen pro ten režim měření, při němž byla korekce stanovena.

Hardwarové korekce jsou založeny na snímání skutečné polohy skeneru pomocí vnějšího nezávislého zařízení, což umožňuje kompenzovat veškeré chyby (samozřejmě se na oplátku vnáší chyby dané měřicí metodou). Běžně se používají následující metody měření:

- **optické** – na skener je připevněna optická značka (odražeč) a jeho poloha je snímána světelným paprskem;
- **kapacitní** – na skeneru je nanesena kovová vrstva a poblíž je další pevná, měří se změna kapacity;
- **piezorezistivní** – ke skeneru je připevněn element, jehož elektrický odpor se mění v závislosti na jeho vnitřním mechanickém napětí.

**Způsob omezení chyb** Protože s uvedenými chybami piezomateriálu nelze nic udělat, je vhodné pokusit se sestavit model tohoto systému a ke korekci chyb použít kaskádu členů ve zpětné vazbě. Model lze vytvářet v několika krocích s použitím experimentálních údajů a může sestávat z různých submodelů. Uvedeme příklad jednoduchého modelu.

**Tečení** se modeluje sérií paralelních kombinací pružin a tlumičů jako lineární během relativně dlouhé doby (minimalizuje se vliv vibrací).

**Vibrace** se modelují opět lineárně a s rychlým vstupem (zanedbatelné tečení).

**Hystereze** je aproximována Preisachovým modelem hystereze, předem se odstraní vliv tečení a uvažuje se pomalý vstup (zanedbatelné vibrace).

## 2.4.6. Kalibrace mikroskopu

Pro správné měření je potřeba provádět kalibraci jednotlivých částí mikroskopu. Kalibraci vyžadují nejvíce skener a nosník. U skeneru dochází časem k depolarizaci jednotlivých zrn, u nosníku se mění parametry hrotu během používání a jednotlivé nosníky se od sebe dost liší.

**Kalibrace skeneru** se dá provádět pomocí standardů uměle vyrobených (zpravidla technologií z výroby polovodičů, popř. nanočástice) nebo přirozených, a konkrétní provedení závisí na velikosti rozsahu. Při kalibraci skeneru je nutno rozlišit laterální a vertikální směr. Kalibrace laterálního směru se dá provádět pomocí kuliček definovaného poloměru, které nanese na podklad tak, aby vytvořily jednovrstvé těsné hexagonální uspořádání. Na získaném obrazu pak můžeme určit jak lineární zkreslení (známe-li poloměr koulí), tak nelinearity skeneru z deformovaného obrazu hexagonální mřížce. Pro přesnější kalibraci je však vhodnější použít nějakou mříž, např. soustavu vyleptaných čtverců v křemíkovém povrchu, která je dostatečně pevná a stála, abychom mohli srovnávat jednotlivá měření. Ke kalibraci lze využít některé přirozené vzorky i biologického původu, např. virus tabákové mozaiky má poměrně stálou velikost. Pro měření na atomární úrovni lze použít i čerstvě připravenou monokrystalickou vrstvu o známé mřížkové periodě (např. rekonstrukce křemíku).

Ve vertikálním směru lze ke kalibraci malých výšek použít terasy na monokrystalických plochách (MgO, NaCl), které mají zpravidla výšku jedné či dvou mezivínných vzdáleností, přímo atomární povrch lze využít spíše k testování citlivosti přístroje nebo šumu. Pro větší výšky lze použít umělé standardy (leptané vzorky) nebo interferometrické metody.

**Kalibrace senzoru** Pro kvantitativní AFM měření potřebujeme kalibrovat také detektor ohybu, tj. nalézt převodní koeficienty  $c_n$  a  $c_l$ , které převádí proud na výchylku. Při mapování povrchu potřebujeme pouze ověřit linearitu detektoru v rozsazích ohybu 0,1 nm při využití zpětné vazby a až  $10^3$  nm v režimu konstantní výšky či při spektroskopii. Ověření se provádí „vtlačováním“ hrotu do tvrdého a rovného povrchu (např. MgO), výsledná  $F-d$  křivka by měla mít konstantní sklon. Tento sklon udává parametr  $c_n$  v případě, že svazek laseru dopadá do místa uchycení hrotu, jinak je nutno provést korekci ve tvaru  $c_n^0 = c_n \frac{\Delta l \pm l}{l}$ , kde  $l$  je délka nosníku a  $\Delta l$  je posunutí místa dopadu svazku vzhledem k hrotu. Laterální parametr  $c_l$  by měl být u symetrického detektoru shodný s  $c_n$ , ale v realitě se liší vlivem nesymetrie svazku a různé šířka a délky nosníku. Proto je nutno jej kalibrovat samostatně, a to pomocí statického tření. Kalibrace je však obtížnější, protože laterální tuhost nosníku je větší než normálová a více deformuje výsledky.

**Poznámka:** Výsledky kalibrace by měly být určeny z několika nezávislých měření za použití statistických metod. Při kalibraci skeneru je nutno měřit standard při největším rozlišení, které mikroskop umožňuje. Získané hodnoty platí však jen pro jeden skenovací rozsah a mohou také záviset na rychlosti skenování. Záleží na software mikroskopu, zda lze získané koeficienty aplikovat přímo při sběru dat (někdy jen pro lineární zkreslení) a nezávisle pro jednotlivé rozsahy.

### 2.4.7. Tlumení vibrací

Mikroskopy SPM jsou velmi náchylné na změnu vzdálenosti mezi hrotem a vzorkem, způsobenou vnějšími vlivy. To byl také jeden z důvodů neúspěchu *Topografineru* při dosahování atomárního rozlišení. Problém se poprvé podařilo vyřešit až Binnigovi s Rohrerem. Ti k odstínění vibrací z budov použili magnetickou levitaci nad supravodičem (chlazeným He). K odstínění vibrací vzduchem bylo použito vakuum.

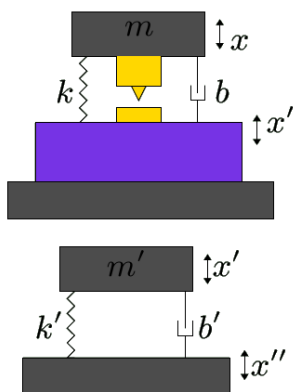
Pro správnou funkci mikroskopu je třeba zaručit, aby vzájemné pohyby vlivem vnějšího vybuzení byly pod 0,001 nm, protože zvlnění v elektronové struktuře kovů je řádu 0,01 nm (elektrony jsou volné a všude). Pro požadavky na tlumení platí, že čím je konstrukce pevnější, tím menší tlumení je třeba. Zpravidla se používá tlumení vertikální, protože kmity budov jsou převážně v tomto směru. Zvláštním druhem vibrací jsou přírodní drátky elektroniky. Mezi hlavní zdroje vibrací lze zařadit chvění budov (15–25 Hz), buzení pracujícími stroji (frekvence odvozené od síťové, 10–100 Hz) a chůze po podlaží (1–3 Hz). Amplitudy uvedených vibrací bývají v rozmezí 0,1–1  $\mu\text{m}$ .

Uvažujme nejprve vlastní měřicí sestavu, tvořenou hrotem, vzorkem a ramenem, a její odolnost proti vibracím (obr. 37). Lze pro něj psát pohybovou rovnici  $m\ddot{x} + b(\dot{x} - \dot{x}') + k(x - x') = 0$ , kde  $k$  je tuhost ramena mikroskopu,  $m$  efektivní hmotnost části s hrotem,  $x$  vertikální poloha hrotu a  $x'$  vertikální poloha vzorku a základny mikroskopu. Použijeme-li běžné vztahy  $\omega_0 = \sqrt{\frac{k}{m}}$ ,  $\gamma = \frac{b}{2m}$  a předpoklad harmonického buzení (s frekvencí  $\omega$ ), dostaneme amplitudu přenosové funkce  $|T_1(\omega)| = \left| \frac{x_0 - x'_0}{x'_0} \right| = \left| \frac{\omega^2}{\omega_0^2 - \omega^2 + 2i\gamma\omega} \right|$ , kde  $x_0$ ,  $x'_0$  jsou amplitudy. Pro malé frekvence buzení lze funkci  $T$  zjednodušit na  $\frac{\omega^2}{\omega_0^2}$ . Uvážíme-li vlastní frekvenci 2 kHz a  $\gamma = 0,025\omega_0$ , je přenos pro nižší frekvence pod 1 Hz menší než  $10^{-6}$ , což je pro SPM vyhovující. Bohužel pro vyšší frekvence bude zapotřebí dodatečný izolační systém.

Izolaci lze popsat obdobně, jen je nutno vyjadřovat jinou přenosovou funkci, protože se zajímáme přímo o výchylku, nikoliv o jejich rozdíl. Přenosová funkce má nyní tvar  $|T_2(\omega)| = \left| \frac{x'_0}{x_0} \right| = \left| \frac{\omega_1^2 + 2i\gamma'\omega}{\omega_1^2 - \omega^2 + 2i\gamma'\omega} \right|$ , kde  $\omega_1 = \sqrt{\frac{k'}{m'}}$ ,  $\gamma' = \frac{b'}{2m'}$  a  $b'$  tlumicí koeficient. Tato funkce je téměř zrcadlovým obrazem předchozí. Vynásobením obou získáme výslednou přenosovou funkci systému mikroskopu a izolace. Ta má dvě lokální maxima a v oblasti mezi nimi vykazuje největší tlumení. Proto je výhodné, aby rezonanční frekvence tlumení byla co nejmenší a rezonance mikroskopu co největší. Bohužel v rezonančních frekvencích jsme omezeni rozměry mikroskopu. Vlastní frekvence pružiny je totiž svázána s její délkou vztahem  $\omega_1 = \sqrt{\frac{g}{l}}$ , kde  $g$  je gravitační zrychlení, ze kterého plyne, že čtyřnásobné prodloužení sníží frekvenci jen na polovinu. Na druhou stranu zmenšení rozměrů mikroskopu je omezeno nutností ponechat nějaký prostor pro manipulaci se vzorkem.

K tlumení se jednak používá zvýšení vlastní frekvence systému, jednak vnější doplňková izolace a samozřejmě eliminace zdrojů vibrací. Doplňková izolace sestává z masivních bloků, na kterých je systém upevněn, pneumatického či magnetického tlumení (vířivými proudy), přičemž se používají i kombinace. V dnešní





Obrázek 37: Mechanický model SPM.

době se čím dál častěji používá i *aktivní antivibrace*, založená na použití senzorů zrychlení a kompenzace zaregistrovaných pohybů.

Do prostoru mikroskopu se mohou přenášet ještě vibrace z jiných zdrojů. Při práci na vzduchu jsou to akustické vibrace, které lze odstínit zakrytím mikroskopu, a dále vibrace přenášené elektrickými přívody. K jejich utlumení je nutno vodiče mechanicky připojit k základní desce tak, aby měly co nejkratší volné části.

#### 2.4.8. Elektronika a zpětná vazba

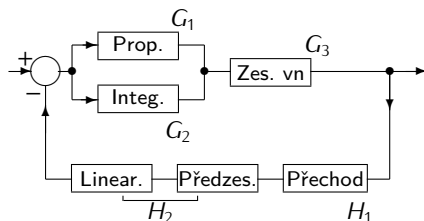
Elektronika, kterou musí být SPM přístroj vybaven, zahrnuje několik částí.

- Napěťové zdroje pro vlastní elektroniku.
- Generátory pro řízení piezokeramiky, které vytváří pomalý a rychlý skenovací signál. Pomalý signál může být pilovitý, ale u rychlého je to nevhodné kvůli excitacím vyšších harmonických složek.
- Vysokonapěťové zesilovače napětí pro piezokeramiku.
- Elektronické zesilovače detekovaných signálů (v STM musí mít velký dynamický rozsah) a obvody pro jejich okamžité zpracování.
- Obvod zpětné vazby
- Doplnující obvody dle typu metody (zdroj pro tunelový přechod v STM, laser v AFM, zádržné obvody pro STS, ...).
- Obvody pro komunikaci s počítačem, využívající zpravidla standardní rozhraní a PC karty s DSP. Pro přenos dat a řízení je nutno používat A/D a D/A převodníky. Před digitalizací musí být signál nejprve upravován odstraněním nízkofrekvenční složky, způsobené velkým náklonem vzorku, aby nedošlo k překročení rozsahu A/D převodníku.
- Počítač pro uchování, zpracování a zobrazování měření.

**Obvod zpětné vazby** K regulaci se zpravidla používá PID regulátor, i když derivační složka je téměř vždy nulová a proporcionální má jen omezený vliv. Nejdůležitější je tedy integrační, která zásadním způsobem ovlivňuje získaný obraz (především zákmity). Požaduje se velmi krátká odezva (omezuje rychlost skenování) a takový zisk, aby byl malý při vlastních frekvencích systému a vysoký pro nulovou frekvenci (kvalitní nastavení polohy). Zpětná vazba může být provedena i digitálně, vnáší se ovšem chyby kvantování a konečné rychlosti vzorkování, stavba je náročnější, ale je snazší případná změna režimu práce (pouze přeprogramování). Části systému se při modelování uvažují lineární a hledá se celková přenosová funkce mikroskopu.

V praxi jsou dány parametry zesilovačů a přechodu a je možno manipulovat pouze s parametry PI regulátoru tak, aby se minimalizoval chybový signál za podmínek dosažení stabilního systému (chybový signál nesmí růst s časem nade všechny meze), malé ustálené chyby a rychlé přechodové odezvy. Pro dosažení malé chyby je nutné velké zesílení, ale to snižuje stabilitu. Proto je nutno mít i integrační člen, popř. zařadit za proporcionální dolní propust. Pro rychlou odezvu je nutno použít derivační člen, který „předpovídá“ budoucí hodnoty a umožňuje rychlou reakci, ovšem za cenu snížení stability a zvětšení vysokofrekvenčního šumu (derivace  $\rightarrow$  násobení  $\omega$ , nutnost filtru). Použití derivačního členu navíc sťažuje analýzu, protože tíhne k řízení velkými signály, které mohou být mimo platnost lineární aproximace.

Konkrétní možnost ovlivnění zpětné vazby závisí na ovládacím software. Některé systémy umožňují nastavovat přímo PID parametry (nastavované čísla zpravidla nemají přímou fyzikální interpretaci, protože závisí na konkrétním mikroskopu), některé umožňují nastavení jen jednoho parametru (označeného třeba jako „Feedback Gain“) a některé si dokonce mohou vhodné parametry nastavovat samy.



**Obrázek 38:** Schéma zpětné vazby mikroskopu.

Pro případ tunelovacího mikroskopu můžeme použít následující charakteristiky:

$$G_1(s) = \frac{K_P}{s\tau_P + 1}, \quad G_2(s) = \frac{K_I}{(s\tau_P + 1)s}, \quad G_3(s) = \frac{K_Z}{s\tau_Z + 1},$$

$$H_1(s) = \frac{\omega^2 K_T}{s^2 + \omega_n s / Q + \omega_n^2}, \quad H_2(s) = \frac{K_L}{s\tau_L + 1},$$

kde  $K_i$  a  $\tau_i$  jsou příslušné konstanty obvodu,  $\omega_n$  a  $Q$  charakterizují tunelový přechod a určí se experimentálně. Celkový přenos je pak dán (obr. 38)

$$T = \frac{[G_1 + G_2]G_3}{1 + [G_1 + G_2]G_3H_1H_2}$$

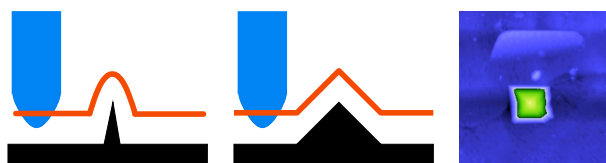
Jediná část, která není lineární, je vlastní tunelový přechod, proto bývá jeho výstup linearizován v logaritmickém zesilovači.

## 2.5. Artefakty

Při zobrazování není systém ideální ani v ideálních podmínkách. Tato nedokonalost se promítá do získaného obrazu v podobě artefaktů. Ty obecně představují ztrátu informace o vzorku a mohou být způsobeny přímo fyzikálním mechanismem při sběru dat, elektronickým zpracováním signálů nebo špatnou aplikací algoritmů a programů pro zpracování obrazu. K artefaktům lze, s určitým nadhledem, zařadit i špatnou interpretaci operátorem.

V mikroskopiích se skenující sondou se vyskytuje artefaktů celá řada, některé typy jsou společné pro všechny metody, jiné jen specifické. Pokusíme se uvést neúplný přehled významných artefaktů.

**Zrcadlení hrotu, konvoluce** Každý bod v obraze nepředstavuje pouze tvar povrchu, ale je určen prostorovou *konvolucí* povrchu vzorku a hrotu. Jestliže je zobrazován povrch, který obsahuje ostré hroty, jejichž šířka je menší než šířka hrotu, dojde k „výměně“ funkcí, totiž vzorek bude snímat hrot (obr. 39). V obraze se tedy neobjeví povrch vzorku, ale povrch hrotu. Protože šířka hrotu může být udána vrcholovým úhlem, lze tento efekt poměřovat i v úhlových jednotkách. Komerčně dostupné, dostatečně pevné hroty mají úhly přibližně  $70^\circ$  (dáno možnostmi leptání Si materiálu). Protože řada povrchů je pokryta výstupky s menším úhlem, je zrcadlení hrotu poměrně častá záležitost. Při efektu je zachována výšková informace, může-li se hrot mezi povrchovými rysy dotýkat „dna“, z bočních rozměrů lze stanovit jen horní odhad. Zjištění vlivu zrcadlení je možno určit pozorováním, zda se v obraze neobjevují struktury stejného tvaru i orientace (velikost může být různá, závisí na velikosti píku povrchu). Dále je možno zkusit otočení vzorku, zrcadlený hrot zůstane v původní orientaci.



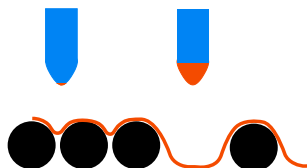
**Obrázek 39:** Zrcadlení hrotu: vlevo) zobrazení úzkého výčnělku zobrazí tvar hrotu, uprostřed) zobrazení širokého výčnělku není příliš ovlivněno, vpravo) ukázka zrcadlení hrotu.

Prostorová konvoluce se nepříznivě projevuje i v měření a zobrazování šířek objektů. Budeme-li například uvažovat parabolický hrot s poloměrem křivosti  $R_C$ ,

který skenuje napříč tenkým drátek o poloměru  $R_M$ , bude se šířka drátu jevit jako

$$D = \frac{4(R_C + R_M)\sqrt{R_M(R_C - R_M)}}{R_C},$$

je-li  $R_C > R_M$ . Obdobně při měření částic budou jejich velikosti zvětšené, nebudou-li těsně naskládány (obr. 40). Podobně se může projevit hrot, který není bodově zakončen (buď výrobní vada nebo obroušení). Takový hrot bude zobrazovat spíše pyramidy než reálnou topografii a to i na relativně hladkých povrchích. V obraze se to projeví spoustou podobných útvarů, zpravidla lichoběžníkového tvaru (kopírujících průřez hrotu).

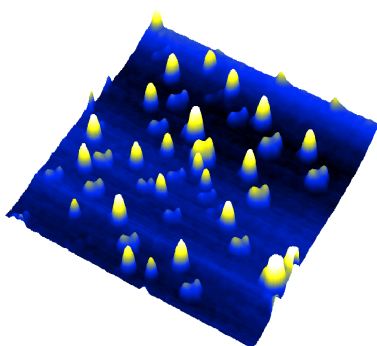


**Obrázek 40:** Vliv konvoluce na určenou velikost částice.

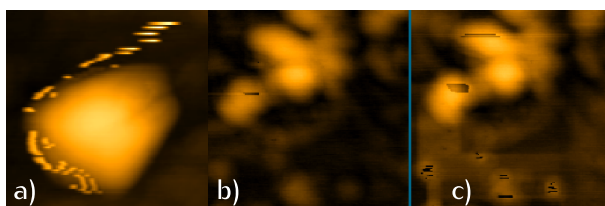
Vlivem konvoluce nelze považovat měření v jednom bodě za lokální, protože měřicí hrot má konečnou šířku a k signálu přispívají všechny blízké atomy. Největší váhu má atom s nejmenší vzdáleností od libovolného atomu hrotu, což nemusí být atom přímo v měřicím bodě. To je významné především při skenování děr, protože zde je mnoho blízkých atomů a dojde ke „zmenšení“ hloubky díry. Vadu lze zčásti odstranit programově tím, že se k získané ploše sestaví nová, která se liší posunem každého bodu o  $l$  podél normály v daném bodě, kde  $l$  je udržovaná vzdálenost od rovinného povrchu (režim s konstantním signálem). Rekonstrukcí dojde k deformaci ekvidistantní mřížce, proto se z dat extrapolují hodnoty odpovídající původní mřížce.

**Zdvojení** K průtoku proudu v STM dochází (vlivem exponenciálního charakteru) mezi nejtěsněji umístěným atomem hrotu a povrhu. Jsou-li někde dva přibližně stejně vzdálené atomy, dochází ke zdvojení zobrazovaných struktur (resp. násobnému obrazu, jsou-li atomy vzorku i zobrazující dostatečně vzdálené; jinak se vlivem interference obdrží struktura jiného tvaru). To může nastat třeba tehdy, má-li hrot dva vrcholy. Zde je možno si pomoci přeformátováním hrotu buď přiložením pulsu el. pole, nebo zatlačením hrotu proti povrchu. Popsané jevy je možno dobře pozorovat na grafitu, kde se očekává hexagonální symetrie, ale často se dostane něco jiného. Příspěvek každého tunelovacího místa závisí na jeho chemické podstatě, není-li shodná, obdržíme napěťově závislý obraz (bude-li např. jeden atom kovový a druhý ne, při jedné polaritě přispívají oba atomy, při opačné jen jeden). Obdobně může dojít ke zdvojení obrazu také v AFM (obr. 41).

**Vliv zpětné vazby** Není-li dobře nastavena zpětná vazba, mohou se v obraze objevovat chybná data. Je-li příliš silná, může nastat oscilace a v obraze se objeví chybná periodická struktura (obr. 42a), která má ovšem snadno detekovatelný

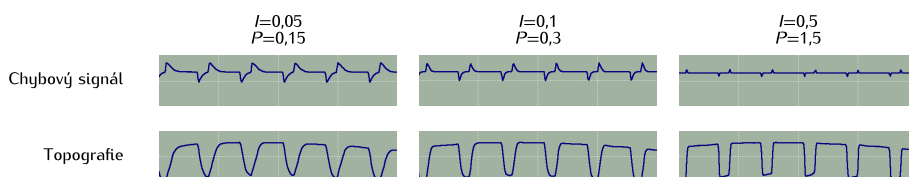


**Obrázek 41:** Zdvojení v AFM při zobrazování  $\beta\text{-Fe}_2\text{O}_3$ . Artefakt je pozorovatelný jen na malých částicích, podezřelá je stejná orientace všech párů.



**Obrázek 42:** Artefakty zpětné vazby: a) oscilace na výškových přechodech, b) nestabilita při setpointu 50 %, c) totéž při 40 %.

charakter. V některých případech dochází k výrazným zákmitům při překonávání výškových rozdílů. Při příliš slabé vazbě hrot nesleduje detaily a povrch se bude jevit hladký. Rozpoznání slabé vazby je obecně obtížné, pokud neznáme strukturu vzorku. Zpravidla se slabé vazbě vyhýbáme nastavením nejvyšší integrační hodnoty takové, že je systém ještě stabilní. Způsob nastavení vazby lze kontrolovat srovnáním následných zobrazení jednoho a téhož řádku (po době ustálení, až odezní projevy hystereze a tečení), která by se měla co nejvíce překrývat. Bohužel, jak si lze ověřit na testovací mřížce, průběhy se překrývají pro různé stupně „zaoblení“ profilu (obr. 43).



**Obrázek 43:** Vliv parametrů zpětné vazby na zobrazení pravouhlé mřížky. Derivační parametr byl nulový. Zachycené průběhy odpovídají ustálenému stavu a dokonalemu překryvu následných průběhů.

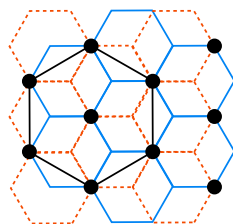
Protože zpětná vazba udržuje nastavenou hodnotu, patří zde také artefakty vzniklé jejím špatným nastavením. Nastavíme-li např. amplitudu kmitání nevhodně malou, může docházet k přichycení hrotu a zastavení kmitání, což se v obraze projeví vznikem prohlubně. Tyto artefakty se projevují buď v místech zkonzenzo-

vané vody, nebo na vrcholech částic apod. Na obrázcích 42b,c) jsou ukázány dva následné snímky, vlevo byla snížena amplituda kmitů udržovaná vazbou (z 50 % na 40 % volné amplitudy). Je vidět, že zároveň se zvýrazněním menších částic, což je výhodné, se zvýšila četnost artefaktů. Jednak je zde více již zmíněných prohlubní, jednak se mezi částicemi objevil „závoj“.

**Šum** Do obrazu se může promítat šum, který vzniká především v tunelovacím přechodu nebo předzesilovači. Zde pomůže pouze eliminace zdroje šumu, např. stínění přechodu před rozptýleným elektromagnetickým polem, vhodný typ odporu (kovový) ve zpětné vazbě předzesilovače (vnáší šum  $1/f$ ), dobré uzemnění, síťovým šumem působí i pole zářivek, transformátorů, vibrace ventilátorů, dalším zdrojem může být počítačová síť. Ze šumů nelze jednoduše vyloučit pouze tepelný a výstřelový. Zvláštním druhem šumů mohou být interference např. síťového kmitočtu, které se projeví jako rovnoběžné proužky, jejichž sklon se mění se změnou poměru řádkové a síťové frekvence.

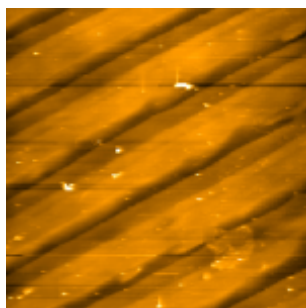
**Rigidita vzorku** Není-li dostatečně pevný vzorek, mohou při jeho zobrazení vznikat problémy. Může dojít k poškození vzorku (kontaktní režim), zvláště při dlouhodobém skenování (při nízké adhezi k povrchu). Někdy dochází k utržení materiálu a jeho smýkání po povrchu, což se projeví na obraze rozmazanou čarou, která nemá sobě odpovídající rys při opačném směru skenování nebo v následném obrázku. Speciální problém představují práškové materiály a způsob jejich uchycení, používá se buď uchycení na čerstvě rozštípnutém povrchu slídy nebo ukotvení vrstvou lepidla (tak, aby částice nezapadly do lepidla zcela).

Dalším význačným rysem je stlačování atomů povrchu hrotem, což se projeví např. u grafitu. Ten má strukturální vrstvy tvořené šestiúhelníky (nejbližší vzdálenost 0,142 nm), následné vrstvy (vzdálené 0,335 nm) jsou vzájemně bočně posunuty tak, že pouze každý druhý atom má ve vrstvě pod sebou další (obr. 44). V AFM obraze jsou pak zachyceny pouze „podložené“ atomy, ostatní chybí. Zvláštní struktura se může objevit při skenování podlouhlých objektů, které mohou vibrovat v rovině rovnoběžné s podložkou, např. nanotrubičky orientované osou kolmo k řádkům. Protože kmitání a skenování nejsou sfázovány, budou řádky postupně zachycovat trubičku v různých polohách, ovšem s rozšířením daným konvolucí. Provedeme-li pak řez kolmo k řádkům nebo trojrozměrné zobrazení, bude se trubička jevit jako objekt se zvlněnou výškou.



**Obrázek 44:** Schéma uspořádání dvou vrstev grafitu. Za určitých podmínek budou vidět jen černě označené atomy.

**Interference** Je-li k detekci ohnutí nosníku použito optické záření, je nutno vzít do úvahy i odrazivost vzorku. Je-li hodně lesklý, může se světlo od něj odrážet do detektoru, který bude přesvícen a ztratí schopnost udržovat zpětnou vazbu. Následkem může dojít k poškození nosníku či vzorku. Projevit se může také interference vznikající mezi vzorkem a další odrážející částí, která se projeví vznikem proužků v obraze – tmavá a světlá místa z interferenčního obrazce ovlivňují množství světla dopadajícího do detektoru, který to chybně interpretuje jako signál z nosníku (obr. 45).



Obrázek 45: Projev světelné interference při měření rovného skla.

**Nabíjení vzorku** souvisí s jeho vodivostí, nastává v dotykových i bezdotykových režimech AFM a způsobuje vznik parazitní elektrostatické síly, u polovodičů v STM pak se ještě projeví ohyb pásů (změna el. hustoty). Nabití má vždy za následek snížení dosaženého rozlišení. Jeho vliv se dá snížit zvýšením odvodu náboje z povrchu, a to především zvýšením vlhkosti vzduchu, ionizací pomocným slabým  $\alpha$  zářičem nebo uzemněním vzorku.

**Softwarové artefakty** Další velká skupina artefaktů pochází ze softwarového zpracování obrazu, nesprávného používání algoritmů. Ukázkovým příkladem jsou spektrální filtrace, pomocí nichž lze získat atomární strukturu i z náhodného šumu. Je třeba si uvědomit, že vymazáním či zvýrazněním části spektra zdůrazníme některé směry, které pak mohou vytvářet falešnou symetrickou strukturu. Proto je výhodné aplikovat jen směrově nezávislé 2D filtry. Ukázkou může být obrázek 46, který byl získán z náhodných dat tzv. boxovou filtrací v rozích šestiúhelníku. Následkem filtrace se zde objeví hexagonální struktura. Obrázek vznikl v souvislosti se snahou zobrazit povrch slídy s atomárním rozlišením, na kterém jsou hexagonální cykly očekávány. V získaném spektru byla maxima právě v rozích šestiúhelníku a odfiltrováním zbytku se získala falešná, ale pravidelná struktura.

Dalším vlivem zpracování na obraz a artefakty se budeme zabývat později. Nyní pouze upozorníme, že artefakty z interpretace mohou vznikat i bez skutečného zhoršení kvality dat, především z důvodu znázornění. Obrazy se totiž zpracovávají ve dvou základních režimech – trojrozměrném pohledu a rozložení intenzity. K zobrazení se však používají palety, které mají obvykle jen 256 barev na celý dynamický rozsah, čímž dochází ke zkreslení a potlačení detailů, jsou-li



Obrázek 46: Falešná atomární struktura, vzniklá nesprávnou filtrací.

v obraze velké výškové rozdíly. Následkem různého vnímání barev se stejné intervaly výšek nejeví jako shodné a může dojít ke zkreslení (např. ve stupnici šedi je prvních dvacet úrovní blíže černé okem téměř nerozlišitelných a jakákoliv struktura v nich zanikne). Při použití barevných palet je situace ještě komplikovanější, protože závislost výšky a jasu nemusí být jednoznačná ani monotonní. Obdobně při použití 3D modelů, v nichž je zkreslení z palety potlačeno, jsou problémy s určováním obrysů a symetrií. Ty totiž vlivem konvoluce nebývají ostré, ale pozvolna přecházejí a je obtížné rozlišit např. útvary kruhové od symetrických šestiúhelníků apod. Zde může výrazně pomoci jednak použití konturové palety nebo provedení řezu pomocí roviny rovnoběžné se vzorkem.

**Kvalitní zobrazování** Některé artefakty lze v obraze jednoduše rozeznat a lze se pokusit je vhodným nastavením odstranit. Už bylo zmíněno pravidlo pro nastavení parametrů zpětné vazby. Vyskytnou-li se v obraze šmouhy či čáry ve směru skenování, je vhodné obraz skenovat několikrát, aby došlo k jejich odstranění. Vhodné je provádět cyklicky zvětšení a zmenšení skenované oblasti. Kvalitu obrazu (s ohledem na artefakty) můžeme testovat skenováním při různých rotacích, charakter obrazu by měl zůstat vždy stejný, ale může se lišit jeho kvalita, samozřejmostí je shoda dopředného a zpětného obrazu.

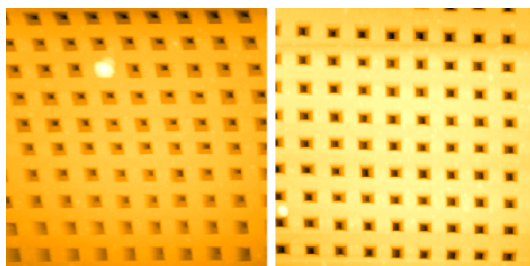
Pro zvlášť náročná měření je možno také vybírat hroty pomocí optického mikroskopu, kterým se dají eliminovat hroty polámané, asymetricky umístěné či hodně znečištěné. Hrot by se měl také otestovat pomocí standardního vzorku. Všechny obrázky mají stejnou laterální velikost.

**Měření na mřížce** Jako ukázkou problémů, které se při měření mohou vyskytnout, uvedeme měření na kalibrační mřížce. Jedná se o soustavu pyramidálních děr, umístěných do čtvercového rastru s nominální roztečí 200 nm (označení 2D200, výrobce Nanosensors).

Na obr. 47 vlevo je vidět výrazný projev nelinearity skeneru po začátku skenování (kromě toho je na mřížce ještě nečistota). Obrázek byl získán skenerem, který se dlouhou dobu nepoužíval. Po několika hodinách skenování se vlastnosti skeneru ustálí a nelinearity vymizí (obr. vpravo).

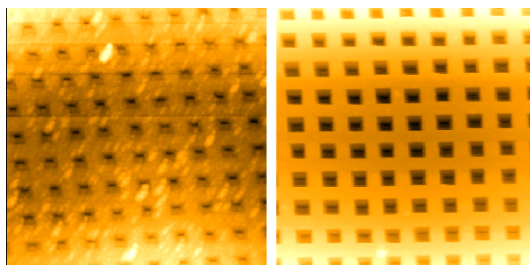
Pokud je špatný hrot, projeví se to i na kvalitě obrazu mřížky. Na obr. 48 vlevo je





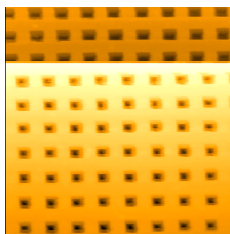
Obrázek 47: Artefakt nelinearity na mřížce.

mřížka změřená velmi špatným hrotem, který se už k měření nehodil. Protože jsou na povrchu mřížky vidět stejně orientované útvary, lze předpokládat, že hrot byl silně znečištěn, případně deformován, což zabránilo řádnému prokreslení otvorů v mřížce, jak je tomu na obr. 48 vpravo. Pokud srovnáme dva pravé obrázky 47 a 48, vidíme, že i s kvalitními hroty se může obraz lišit, zde konkrétně záleželo na sklonu hlavy mikroskopu vzhledem k rovině mřížky.



Obrázek 48: Vliv kvality hrotu na zobrazení mřížky.

Na hrotu se v průběhu měření mohou uchytit nečistoty, které zhoršují jeho kvalitu, především koncový poloměr, ale mění také rezonanční frekvenci. Zachycená nečistota se během dalšího skenování může uvolnit a v obraze dojde k náhlému výškovému přechodu, který je rovnoběžný se směrem skenování. Uvolněním nečistoty se vrátí parametry hrotu na původní hodnoty a obraz se zlepší. Na obr. 49 se nečistota uvolní v horní polovině a změní se stupeň prokreslení prohlubní: v horní části je hloubka asi 20 nm, ve spodní části asi 80 nm.



Obrázek 49: Uvolnění nečistoty během skenování.

## 2.6. Průběh měření AFM

Před vlastním měřením je nutno provést nastavení mikroskopu<sup>4</sup>. Mikroskop by měl být tepelně ustálený (nějakou dobu zapnutý), ve stabilních podmínkách (teplota, bez vzdušných proudů, vyhovující vlhkost, prostředí bez vibrací). Poté je zapotřebí upevnit nosník do držáku a provést nastavení polohy laseru. Jeho svazek se musí odrážet od nosníku a dopadat na střed detektoru. Místo dopadu laseru se nastavuje pomocí šroubů, které posunují laserovou diodou a jeho poloha se sleduje na monitoru, kvalita nastavení se poměřuje celkovým signálem z detektoru. Vizualní kontrola je nutná, protože velkých signálů lze dosáhnout i při odrazu laseru od vzorku či báze nosníku. Dosáhne-li signál předepsané hodnoty, je nutné polohu dopadu vystředit pomocí dvou ovládacích prvků, které stopu posunují ve dvou kolmých směrech (např. se mění horizontální poloha detektoru a vertikální pohyb se docílí natáčením odrazného zrcátka). Přesnost nastavení se posuzuje pomocí rozdílových signálů horní–dolní polovina a levá–pravá polovina, které se mají co nejvíc blížit nule, ovšem „střední“ nule – signál musí jít nastavit do kladného i záporného okolí. Nastavování laseru někdy není snadné, pro usnadnění je vhodné snížit intenzitu pomocného osvětlení a nastavování provádět na neodrážející podložce s nosníkem velmi nízko, protože tak budeme schopni přesně lokalizovat polohu laseru pomocí jeho stopy na podložce.

Měřený vzorek se upevňuje na držák, zpravidla pomocí magnetu nebo bustrannou lepicí páskou tak, aby jeho povrch byl vodorovný. Vodivý vzorek se nechá uzemnit, aby se snížil vliv nabíjení. Jako u všech mikroskopických metod i v AFM je příprava vzorku důležitou záležitostí. Obecných poznámek k jejich přípravě asi není možné uvést mnoho. Při měření mohou být různá omezení na tvar a velikost vzorku, podle konstrukce mikroskopu. Obecně je snazší měřit rovinné a vypouklé povrchy než duté či různě zprohýbané, výškové rozdíly v měřené oblasti směrem k hrotu nesmí přesahovat rozsah piezokeramiky v ose z. Vzorek by měl být dostatečně pevný (především pro kontaktní metodu) a málo odrazivý.

Po upevnění vzorku se provede přiblížení hrotu, zpravidla rozdělené do dvou fází:

1. rychlé mechanické přiblížení, které řídí operátor a vizuálně sleduje vzdálenost sondy od vzorku; tímto přiblížením se jen kompenzují různé výšky vzorků.
2. pomalé počítačem řízené přiblížení, během kterého se vyhodnocuje interakce mezi nosníkem a vzorkem a po dosažení žádané úrovně se přiblížování zastaví.

Před počítačovým přiblížením je třeba nastavit správné výchozí hodnoty signálu a SetPointu (hodnoty, kterou bude udržovat zpětná vazba). Způsob nastavení se liší pro různé mikroskopy a liší se i pro jednotlivé režimy měření.

**Dotykové AFM měření** Proběhlo-li přiblížování správně, systém dosáhne zpětné vazby a udržuje hodnotu SetPoint. Již nyní můžeme otestovat PID parametry

<sup>4</sup>Zde je uveden postup používaný u mikroskopu NTEGRA.

vazby: je-li vazba příliš silná, jsou v průbězích vidět oscilace a bude třeba snížit parametr  $I$ . Posledním přípravným krokem je přesné nastavení parametrů zpětné vazby, které provádíme při jednorozměrném skenování (měří se stále tentýž řádek). V ideálním případě by se jednotlivé průběhy měly překrývat, není-li tomu tak, musíme měnit parametry vazby (popřípadě velikost rychlosti) a snažit se průběhy ustálit. Podaří-li se, vyčkáme několik sekund a můžeme zapnout vlastní sběr dat. Na většině vzorků však ideálního stavu nedosáhneme a musíme se spokojit alespoň s částečným překryvem. K překrytí průběhů by mělo dojít jak v topografii, tak v chybovém signálu. Ten je však mnohem citlivější a shody se hůře dosáhne.

Jinou možnou metodou nastavení parametrů zpětné vazby je zvyšování hodnoty  $I$  až do okamžiku, kdy se systém rozkmitá. Pak hodnotu snížíme na cca 70% této hodnoty a doladíme hodnotu  $P$  (je-li přístupná).

Během skenování musí být mikroskop pod dohledem, protože výškové změny povrchu vzorku mohou způsobit buď nadměrné ohnutí nosníku (až zlomení) nebo naopak ztrátu kontaktu se vzorkem. Na obě situace je nejlépe zareagovat přerušením skenování.

Obraz se postupně vykresluje na obrazovce počítače, zpravidla ne v původním stavu, ale podroben okamžitému zpracování s ohledem na škálování. K dispozici bývají různé režimy prokládání (lineární nebo kvadratické „pozadí“, buď plošné, nebo řádkové).

**Bezdotykové měření** V bezkontaktním módu platí pro nastavování vzorku a mikroskopu totéž co v kontaktním. Před začátkem měření je nutno zapnout kmitání nosníku a zvolit vhodnou měřicí frekvenci. Proto je nutno proměřit frekvenční spektrum nosníku a vyhledat první rezonanci nosníku (měl by to být nejvyšší pík), kolem které se bude spektrum dále prohledávat a v několika krocích se bude zmenšovat interval frekvencí, až budeme schopni přesně určit polohu maxima, případně vyhledání maxima necháme na počítači. Měřicí frekvence se nastaví buď přímo na vrcholu rezonanční křivky, nebo směrem k vyšším frekvencím a sleduje se velikost amplitudy kmitů na osciloskopu. Je-li příliš malá, musí se zvýšit řídicí amplituda nebo vstupní zisk. Stabilitu nastavení je vhodné otestovat dalším proměřením spektra, je vhodné ji testovat po každém vyzdvižení hrotu (během měření se může hrot znečistit a změnit svou rezonanční frekvenci, což zmenší účinnost detekce). Další postup je obdobný kontaktnímu režimu, nastaví se parametry měření, provede se ruční přiblížení hrotu a pak počítačem řízené.

## 2.7. Zpracování obrazu

Některé zpracování obrazu je nutno udělat už během jeho snímání, nejčastěji je to zapotřebí pro interaktivní a opakované nastavování parametrů měření. Použité algoritmy mají zpravidla řádkový charakter a mohou zahrnovat následující procesy:

- zvýšení dynamického rozsahu zobrazení – výstup má zpravidla 256 úrovní (které jsou volitelně zobrazeny pseudobarvami ze zvolené palety), aby se využilo všech dostupných hodnot, provádí se přepočítání hodnot dle vztahu

$b_{ij}^* = C [b_{ij} - (A + Bi)]$ , který daty prokládá přímkou zvolenou tak, aby hodnoty  $b_{ij}^*$  pokryly interval  $\langle 0, 255 \rangle$  ( $b_{ij}$  definovaným způsobem závisí na naměřených hodnotách  $a_{ij}$ ), parametry  $A, B$  se odhadují např. metodou nejmenších čtverců;

- diskrétní Fourierova transformace řádku pro vyhledání periodicity;
- výpočet střední hodnoty šumu  $\frac{1}{N} \sqrt{\sum [b_{ij} - \bar{b}_j]^2}$ , kde  $\bar{b}_j$  je střední hodnota v řádku;
- digitální filtrace v reálném čase, odstraní se vibrační a akustické šумы;
- softwarové průměrování pro dosažení lepšího odstupu od šumu;
- proložení roviny naměřenými daty tak, aby se rovina povrchu jevila kolmá k hrotu,  $z_{\text{rovina}} = \alpha i + \beta j + \gamma$ , tato operace vyžaduje znalost více řádků a během měření bývá prováděna vždy po několika řádcích;

Jen málokdy jsou získané obrazy tak kvalitní, aby mohly být použity přímo, ale je nutné jejich „vylepšení“. Případně je zapotřebí v datech nějakou informaci zvýraznit. Proto se používají metody zpracování obrazu (image processing), které lze přibližně rozdělit do tří kategorií:

1. přímá úprava dat se používá pro odstranění hrubých artefaktů vznikajících náhodně v průběhu měření, případně pro odstranění částí obrazu.
2. zvýšení vizuální hodnoty nemění vlastní data, jenom ovlivňuje jejich prezentaci – jedná se o použití prostorových modelů, vhodnou volbu palety pseudobarev, použití stínování, změnu jasu a kontrastu, popř. zobrazování profilů podél zvoleného směru.
3. transformace dat a získávání informací – může se jednat o úpravy primitivní (softwarové zvětšování, rotace, ...) i složitější (např. korekce nelinearit). Například se jedná o aritmetické operace mezi dvěma obrazy (násobení pro aplikaci masky, odečítání pro kompenzaci topografie v LFM), korekce pozadí či různé druhy filtrací (zvýraznění studovaného jevu). Mezi informačními metodami lze uvést charakterizaci drsnosti povrchu, určení fraktální dimenze či distribuce velikostí částic.

Při aplikaci zpracování se nejprve provedou metody z první skupiny, protože nikterak nesouvisí se studovaným fyzikálním jevem, a pak se ve vhodném pořadí aplikují metody ze zbývajících skupin.

Uveďme dvě metody z druhé skupiny. Jedním ze způsobu zvýraznění struktury je **ekvalizace** histogramu. V naměřeném obraze jsou vždy některé výšky zastoupeny častěji a není tak plně využit dynamický rozsah použité stupnice. Původní obraz má nejmenší informační hodnotu v případě, kdy jsou v obraze zastoupeny dvě vzdálené výškové hladiny (kupř. zobrazení výškového schodu nebo nečistoty), v takovém případě se veškerá struktura „krčí“ v úzkém intervalu kolem uvedených výšek a není viditelná. Pokusíme-li se rozložit výšky rovnoměrněji po stupnici (ideálem je konstantní histogram), obraz získá na informační hodnotě.

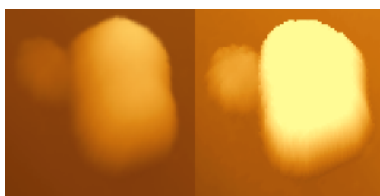
Druhým způsobem je **ořezání** histogramu, které se provádí mapováním všech hodnot menších než zvolené minimum na 0, větších než zvolené maximum na 255 a ostatní hodnoty se přepočítají dle vztahu  $a'_{ij} = (a_{ij} - \min) \frac{255}{\max - \min}$ . Příkladem mohou být následující obrázky 50, které zobrazují povrch skla a jeho histogram před ořezáním (vlevo), po ořezání (vpravo) a uprostřed je bíle vyznačena část histogramu, která byla ponechána (rozsah min, max).



**Obrázek 50:** Ukázka úpravy histogramu na povrchu znečištěného skla. Zleva doprava: histogram původního obrazu, původní obraz, bíle vyznačená část histogramu, obraz po zpracování a jeho histogram.

Ke zvýraznění periodických struktur lze použít metody **středování**. Obsahují-li jeden obraz více stejných periodických obrazců, je možné provést jejich sečtení, čímž dojde k účinnému potlačení náhodného šumu. Bohužel se aplikací sníží velikost použitelného obrazu. Podobně si však můžeme pomoci, máme-li několik obrázků téhož místa (vícenásobné skenování bez přerušení). Pak můžeme využít aritmetických operací a všechny obrazy sečíst dohromady, opět dojde k snížení náhodného šumu.

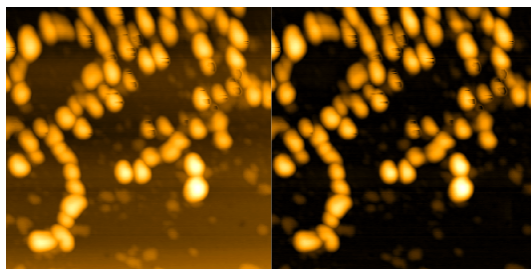
Použití ořezání je výhodné také pro zvýraznění morfologie částic. Vlivem konvoluce totiž nejsou okraje a přechody ostré, ale zaoblené. Udělá-li se však řez rovinou rovnoběžnou s povrchem vzorku, na průřezu tvar částice lépe vynikne (obr. 51).



**Obrázek 51:** Využití ořezu ke zvýraznění morfologie částic.

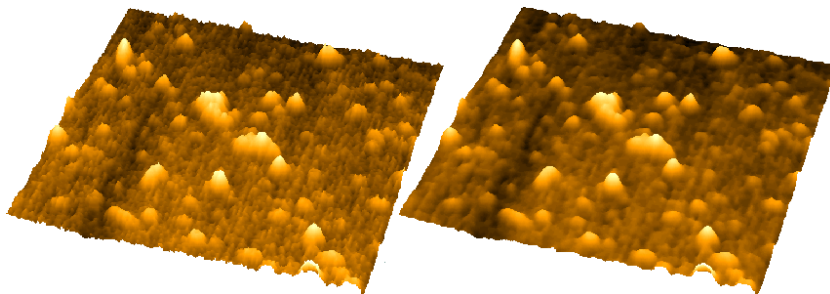
Metody zmíněné dříve jsou vhodné pro vzorky s rovným pozadím. Je-li pozadí značně nerovné, je lepší provést **odečtení pozadí**. Problémem však je neznalost přesného pozadí, které musíme z obrazu odhadnout. Symbolicky se odhad provádí rolováním kuličky (nebo krychle – méně přesně, ale rychlejší) se zvoleným poloměrem ze „spodní“ strany trojrozměrného modelu obrazu, přičemž se snažíme kuličku protlačit co „nejvýše“. Sledováním polohy středu kuličky získáme mapu pozadí, kterou pak od obrazu odečteme. Výsledkem je zvýraznění drobných rysů na různě zakřivených površích, např. studujeme-li drsnost povrchu sféry, nezajímá nás topografie plynoucí ze zakřivení sféry. Pro dobrý výsledek je nutné, aby obraz neobsahoval čárové artefakty, které se také zvýrazňují. Na obr. 52 je metoda apli-

kována na vzorek nanočástic s cílem zvýšit „kontrast“ (velikost skenu je 500 nm, poloměr kuličky 50 nm). Je vidět, že operace pozadí vyrovnala, např. zmizel světlejší pruh v dolní části obrazu (pokud by však byl přechod skokový, zůstala by po něm v obraze čára).



**Obrázek 52:** Odstranění pozadí.

Další často užívanou metodou zpracování je filtrace pomocí **Fourierovy transformace** (FFT). Provádí se buď jednorozměrná nebo dvojrozměrná a slouží především k odstranění nežádoucích frekvencí v obraze, např. zašumění. Dvojrozměrnou lze provádět jako směrově nezávislou či závislou (v prvním případě se mění frekvence jen v závislosti na vzdálenosti od nulové polohy, např. vymazání oblasti mezikruží). Druhá volba může strukturu v obraze tvarově deformovat, ale také odstranit proužkování přítomné v obraze (např. kolmo na řádky z důvodu nestability polohy hrotu). Na obr. 53 je ukázáno vyhlazení nanočástic pomocí FFT, které zčásti odstraňuje kmitání, ke kterému docházelo během měření. Filtrace obecně musí být používány velmi opatrně, protože snadno vytváří falešné struktury, především periodické.



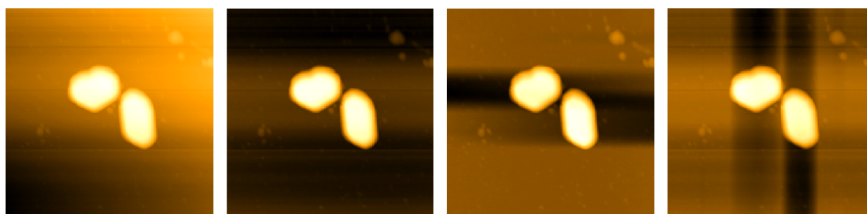
**Obrázek 53:** Vyhlazení obrazu pomocí Fourierovy filtrace.

### 2.7.1. Prokládání pozadí

Většinou se nepodaří umístit vzorek tak, aby byl jeho (střední) povrch umístěn rovnoběžně se směrem skenování. V takovém případě je do obrazu promítnut sklon vzorku, který může být velmi velký v porovnání se studovanými rysy na povrchu. To znamená, že detaily povrchu nebudou v obraze téměř vidět. Dalším jevem, který zhoršuje viditelnost detailů je drift, který způsobuje pozvolné ujíždění z–polohy

hrotu. Hrot se v průběhu skenování dostává stále dál od vzorku a jeho vzdalování přibližně sleduje rovinu proloženou levým horním a pravým dolním rohem. Tím se opět zvyšuje rozsah, který je nutno zobrazit, a děje se tak na úkor detailů povrchu. Z uvedených důvodů zvyšujeme viditelnost obrazu **prokládáním pozadí**.

Na levém obrázku 54 vidíme nijak neupravovaný vzorek obsahující částice. Ačkoliv jsou částice dobře viditelné, je vidět rovněž sklon – levý dolní roh je tmavý, pravý horní světlý. Je zřejmé, že tím přicházíme o část zobrazovací palety, kterou bychom mohli využít ke zvýšení kontrastu. Pokusíme se jej proto odstranit. Prvním, nejnázornějším způsobem odstranění je proložení roviny. Výsledek takové operace je vidět na druhém obrázku. Můžeme konstatovat, že sklon byl účinně odstraněn a kontrast obrazu se zvýšil. Algoritmus, který odstranění provedl, spočívá v metodě nejmenších čtverců a používá aproximující funkci ve tvaru  $z(x, y) = \alpha x + \beta y + z_0$ . Ne vždy ovšem prokládání musí dopadnout tak dobře. Zkusme si představit vzorek, který má dvě vodorovné plochy s výškovým rozdílem. Pokusíme-li se zde proložit rovinu, mohou být výsledkem „šikmé“ plochy.



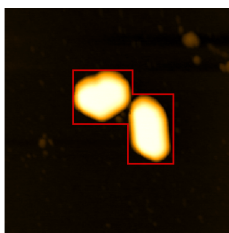
Obrázek 54: Prokládání obrazu.

Uvedený proklad není jediným možným, lze provádět také prokládání ploch vyššího stupně. Zdá-li se, že vyšší stupně nemají žádného opodstatnění, musíme si uvědomit způsob realizace skeneru: trubičkový skener se ohýbá a jeho hrot opisuje spíše povrch sféry než rovinu. U vzorků se zakřivenou topografií pak mohou lépe vyhovovat vyšší stupně prokládání.

Jiným způsobem může být prokládání po jednotlivých řádcích, které má také své jednoduché opodstatnění. Při skenování totiž jsou jednotlivé řádky víceméně nezávislé a může u nich docházet k výškovým nesrovnalostem. To se pak projevuje proužkováním v obraze (proužky také vznikají z nečistot). Jeden proužek je patrný kupříkladu těsně pod svisle orientovanou částicí. Proložíme-li každým řádkem přímkou  $y = y_0 + \gamma x$ , kde  $y_0$  a  $\gamma$  jsou obecně různé pro jednotlivé řádky, dostaneme třetí obrázek. Na něm částice vystupují mnohem zřetelněji a také proužkování zmizelo (uvedený obrázek je relativně kvalitní, u horších je rozdíl mezi proložením roviny a přímkou větší). Následkem proložení se však objevil artefakt – tmavé prohlubně ve vodorovném směru. Že se jedná o artefakt se lze jednoduše přesvědčit proložením přímek v jednotlivých sloupcích – výsledek je na pravém obrázku, artefakty jsou vidět také, ale jsou orientovány svisle. Samozřejmě zcela analogicky jako při prokládání roviny i zde můžeme prokládat křivky vyššího stupně, v závislosti na předpokládaném charakteru pozadí.

Ukázalo se, že proložení jednotlivých řádků dává kvalitní výsledky, ale přidává artefakty. Ty však můžeme odstranit. Uvedenými metodami se totiž snažíme odstranit pouze pozadí projevující se v celém obraze, nikoliv měnit tvar částic. Nabízí

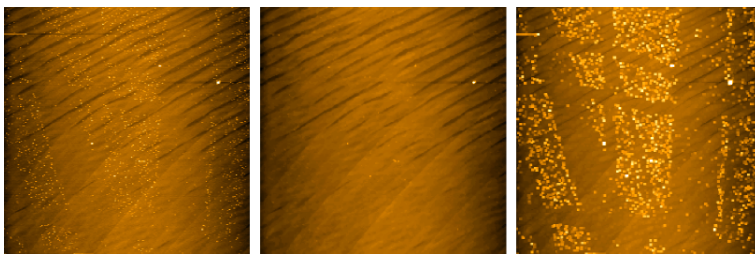
se tedy možnost provést prokládání s tím, že některé oblasti obrazu vyloučíme. Provedeme-li v obraze řádkové proložení vyjma dvou obdélníkových oblastí kolem částic (vyznačeny červeně, obr. 55), dostaneme výsledek na čtvrtém obrázku. Porovnáním s předchozím vidíme stejnou kvalitu obrazu, ale bez artefaktů.



Obrázek 55: Částečné proložení řádků.

### 2.7.2. Filtrace

Ke zhodnocení informace obsažené v obraze lze použít filtry. Již bylo zmíněno použití lineárního filtru – Fourierovy transformace, který je účinným prostředkem k oddělení signálů s neprolínajícími se spektry. Pro některé aplikace je mnohem lepší použití nelineárních filtrů. Tyto filtry se aplikují postupně na všechny body obrazu a používají váženého součtu hodnot z okolí daného bodu. Váhy v součtu jsou určeny buď maticí filtru (**konvoluční filtry** – ve výsledku se pak mohou objevit hodnoty, které v původním obraze nejsou), nebo jsou 1 a 0 v závislosti na relativní hodnotě pixelu. Rozměr matice určuje velikost okolí, které se při filtraci uvažuje.



Obrázek 56: Aplikace filtrů.

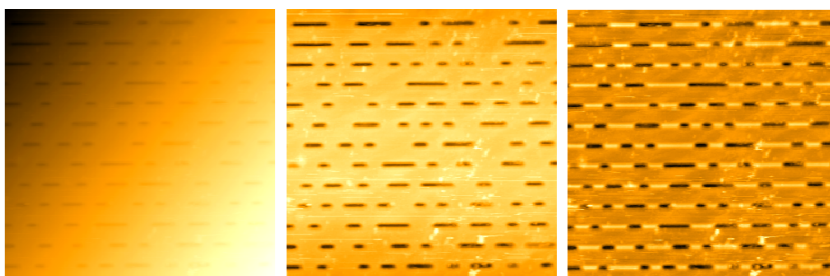
Výsledek aplikace filtrů je ukázán na obrázcích 56. Obrázek vlevo představuje povrch skla, na němž jsou vidět prachové částice (s velikostí kolem 3 pixelů) a rýhovaná struktura (což může být jak struktura skla, tak artefakt). Prostřední obrázek představuje aplikaci mediánového filtru, tedy takového, který vybírá prostřední hodnotu z aktuálního okolí bodu (zde má velikost  $3 \times 3$ ). Je vidět, že aplikace filtru vedla k zhlazení čárového artefaktu v levé horní části a k efektivnímu odstranění částic, aniž by bylo odstraněno rýhování. Tento výsledek je ovšem dán volbou velikostí okolí, pro okolí  $5 \times 5$  se rýhy zhlazují. Poslední ukázkou je aplikace maximálního filtru (vybírá maximální hodnotu z okolí  $3 \times 3$ ) na původní obrázek. Po aplikaci došlo ke zviditelnění částic (a změně jejich tvaru na čtvercový – podle okolí), ale také ke zvýraznění levé části čárového artefaktu. Naopak došlo k „zamazání“ rýh, které jsou nyní zřetelně tenčí, a pravé části artefaktu.



Mezi konvoluční filtry patří např. **Gaussův** filtr, který obraz rozmazává, a filtry pro detekci hran (např. Laplaceovy).

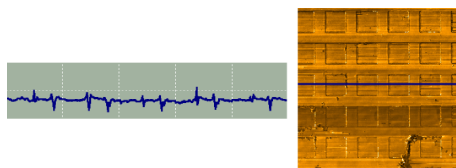
### 2.7.3. Artefakty zpracování

Z předchozího popisu by se mohlo zdát, že prokládání po řádcích je ideálním řešením, neboť odstraňuje meziřádkové skoky i sklon vzorku. Že tomu tak obecně není ukazuje následující obr. 57, na kterém je zachycen povrch CD. To má strukturu tvořenou spirálovitou stopou (pro malé výřezy téměř přímkové), podél níž jsou vytlačeny otvory. Zobrazíme-li nezpracovaný povrch (vlevo), bude na něm nepochybně vidět náklon vzorku a struktura stop bude nevýrazná. Po odečtení roviny (uprostřed) se obraz vylepší a dostaneme očekávaný povrch. Provedeme-li však odečtení řádků, odstraní se sice náklon vzorku, ale obraz se stane nesmyslným. Bude totiž podél spirál zobrazovat *výstupky* místo prohlubní. Uvedený artefakt vznikl kvůli (náhodné) orientaci vzorku, při níž stopy leží téměř rovnoběžně s řádky. Zpracováním řádků, které jsou mimo prohlubně pak dostaneme nízkou úroveň, u řádků, které prohlubně obsahují, dostaneme totéž co při odečtu roviny, tedy prohlubně ve správné poloze, ale také se stejnou výškou. Bohužel, důsledkem toho bude falešný obraz výstupků na plochem pozadí.



Obrázek 57: Artefakty způsobené špatným proložením.

Artefakty také mohou vznikat nesprávnou interpretací obrazu. Na obr. 58 je zobrazena mapa laterálních sil na mřížce, která na pohled přesně zobrazuje mřížku a do povrchu zapadají jednotlivé čtverečky. Nabízí se tedy interpretace, že materiál čtverečku vykazuje jiné třecí vlastnosti než substrát. Bohužel, jedná se o artefakt (resp. tvrzení není průkazné). Jak již bylo zmíněno, do laterálních sil se promítá i topografie, tj. změna sklonu, a to je jeden z jejích projevů. Jak ukazuje profil, v obraze se žádné čtverce nevyskytují a jsou vidět pouze *hrany* čtverců. Plné čtverečky jsou tedy jen optický klam.

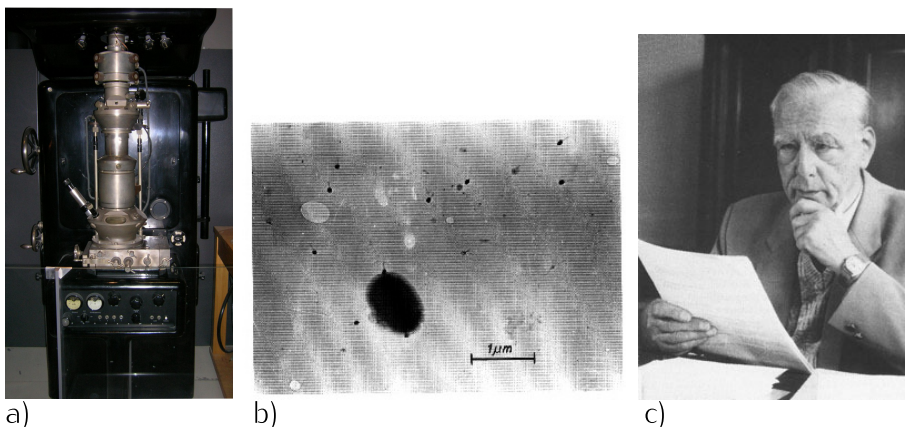


Obrázek 58: Mřížka změřená v režimu LFM a profil vyznačeného řádku.

### 3. Elektronová mikroskopie

Světelné mikroskopy využívají ke zobrazení elektromagnetické vlnění ve viditelné oblasti, případně jí blízké. Rozlišovací mez je omezena *difrakčním limitem*, který tvoří přibližně polovina vlnové délky použitého světla. Elektronové mikroskopy, jak už název napovídá, využívají ke zobrazení elektronů. Elektron popsal J. J. THOMPSON v roce 1897, ale cesta do mikrosvěta i nanosvěta se otevřela až klíčovým objevem, se kterým přišel LUIS DE BROGLIE. Ten v roce 1925 navrhl, že rychle letící částice mají nejen korpuskulární, ale i *vlnový* charakter jako světlo, dosud využívané pro zobrazení ve světelném mikroskopu. Objev to byl tak významný, že Lui de Broglie za něj získal v roce 1929 Nobelovu cenu za fyziku. Vlnová povaha elektronů byla vzápětí potvrzena elektronovou difrakcí. Analogií k fokusaci světla skleněnými čočkami, které by jinak byly pro rychle letící elektrony nepřekonatelnou bariérou, se staly dlouhé elektromagnetické cívky (solenoidy), které ovlivňují dráhu letícího elektronu magnetickým polem, které vytváří proud tekoucí v jejich vinutích.

První konstrukci *transmisního* elektronového mikroskopu (TEM, obr. 59a) představil tým na Vysoké škole technické v Berlíně, vedený MAXEM KNOLLEM a ERNSTEM RUSKOU v roce 1932 a prezentovali i první elektronmikroskopický snímek bakterie (obr. 59b). Ernst Ruska (obr. 59c) se dočkal „poloviny“ Nobelovy ceny až v roce 1986 za zásadní objev v oblasti elektronové optiky a konstrukci elektronového mikroskopu. Druhou půlku získali GERD BINNIG a HEINRICH RÖHRER za objev skenovacího tunelového mikroskopu z roku 1981.



**Obrázek 59:** a) První transmisní elektronový mikroskop, b) první snímek bakterie pořízený v TEM a c) Ernst Ruska ([http://cs.wikipedia.org/wiki/Ernst\\_Ruska](http://cs.wikipedia.org/wiki/Ernst_Ruska), Ruska, *Naturwissenschaften* 29, 1941, 367, <http://www.nndb.com/people/975/000099678>).

První komerční *skenovací* (rastrovací) elektronový mikroskop (SEM) představila firma Cambridge Scientific Instruments v roce 1965 na základě práce výzkumného týmu, vedeného C. W. OATLEYEM. Teoreticky i prakticky byl však princip představen již v roce 1938 německým fyzikem MAXEM VON ARDENNEM.

Výrobou a vývojem elektronových mikroskopů nejrůznější konstrukce se v současnosti zabývají firmy JEOL, FEI, LEO, Zeiss, Hitachi, Tescan. Československo

dokázalo držet krok se světem v oblasti vývoje a výroby elektronových mikroskopů. V *Ústavu přístrojové techniky* v Brně se konstrukcí elektronových mikroskopů zabývala od šedesátých let skupina vedená V. DRAHOŠEM a A. DELONGEM. Brno si tuto tradici drží dále, i když pod hlavičkou nově vzniklých firem (Delong Instruments, Tescan).

Prvními preparáty, které byly v transmisním elektronovém mikroskopu pozorovány, byly biologické materiály. Jednalo se o krevní buňky, rostlinné tkáně, ale také chitínové schránky hmyzu nebo rozsivky. Pozorování těchto preparátů bylo limitováno prostupností urychlených elektronů. Proto preparáty musí být dostatečně tenké a zbavené veškeré volné vody. U prvních preparátů byl pozorován především obrys, nikoli vnitřní struktura. Vedle fixace a odvodnění bylo třeba najít rovněž způsob, jak vytvořit kvalitní ultratenký řez. K tomu bylo třeba rozpracovat zkušenosti z mikrotomie preparátů ve světelné mikroskopii, které vedly k dnešním ultramikrotomům a diamantovým nožům.

Pozdější uvedení skenovacího elektronového mikroskopu přineslo trojrozměrný pohled do mikrosvěta. Přestože preparáty pro SEM nevyžadují ultratenké řezy, příprava biologických preparátů je rovněž časově náročná.

### 3.1. Elektron jako vlna ve vakuu

Pohybující se elektron o energii  $E$  a hybnosti  $p = mv$  má podle de Broglieho teorie vlnovou povahu. Chová se tedy jako vlna o frekvenci  $f = \frac{E}{h}$  a vlnové délce  $\lambda = \frac{h}{mv}$ , kde  $h$  je Planckova konstanta.

Rychlost elektronů v EM se blíží rychlosti světla a je třeba při jejím výpočtu zahrnout relativistické vztahy. Pro kinetickou energii elektronu urychleného ve vakuu elektrickým polem, daným urychlovacím napětím  $U$ , platí  $E_k = mc^2 - m_0c^2 = eU$ , kde  $m_0$  je klidová hmotnost a  $c$  je rychlost světla ve vakuu. Relativistická hmotnost je  $m = \frac{eU}{c^2} + m_0$  a rychlost

$$v = c \frac{\sqrt{\frac{eU}{m_0c^2} \left(2 + \frac{eU}{m_0c^2}\right)}}{\frac{eU}{m_0c^2} + 1}.$$

Pro vlnovou délku elektronu, po dosažení do de Broglieho vztahu, dostaneme

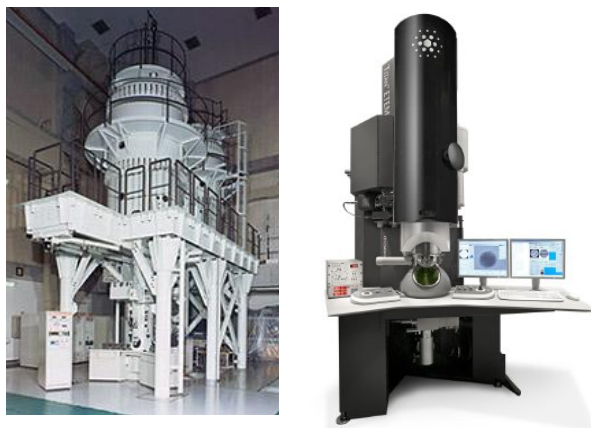
$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2m_0eU \left(1 + \frac{eU}{m_0c^2}\right)}} \approx \frac{h}{\sqrt{2m_0eU}}.$$

V praxi pro výpočet  $\lambda$  při známé hodnotě urychlovacího napětí  $U$  [V], po dosažení známých konstant, použijeme vztah  $\lambda = \frac{1,226}{\sqrt{U}}$  [nm].

Dosadíme-li do vztahu běžnou hodnotu urychlovacího napětí pro skenovací elektronovou mikroskopii  $U = 10$  kV, dostaneme vlnovou délku  $\lambda = 0,01226$  nm. Pro hodnotu  $U = 100$  kV, běžnou pro transmisní elektronové mikroskopy, potom  $\lambda = 0,0037$  nm. Srovnáme-li tyto hodnoty ( $\lambda \sim 0,01$  nm) s vlnovou délkou viditelného světla (cca 500 nm), lze očekávat, že elektronový svazek přinese mnohem podrobnější informace o struktuře vzorku.

Použijeme-li tento vztah pro stanovení rozlišovací meze elektronového mikroskopu, dostaneme, po dosazení za vypočtenou vlnovou délku elektronového svazku, rozlišení teoreticky o 5 řádů lepší než v případě optického mikroskopu. Ve skutečnosti v důsledku vad zobrazení je lepší jen o 2 až 3 řády oproti světelné mikroskopii. I to však stačí na zobrazení jednotlivých atomů a k rutinnímu pozorování organel buněk v transmisním elektronovém mikroskopu. Běžné laboratorní transmisní elektronové mikroskopy mají v současné době rozlišovací schopnost v řádu desetin nm, která postačuje k pozorování např. bílkovinných makromolekul.

Z matematických vztahů vyplývá, že volbou vyšších urychlovacích napětí dosáhneme i kratší vlnové délky a tím i menší hodnoty rozlišovací meze. Tento způsob vedl dříve ke konstrukci mikroskopů enormě velkých, pro něž musely být stavěny speciální budovy (délka tubusu byla přes dvě patra budovy) – viz obr. 60a). V dnešní době přichází vědci se stále dokonaleji korigovanými vadami elektromagnetických čoček (tzv. Cs korekce), které potom umožní dosáhnout lepších rozlišení při zachování běžné velikosti elektronového mikroskopu (obr. 60b).



**Obrázek 60:** Dřívější a dnešní konstrukce TEM s vysokým rozlišením (zdroj: prospekt FEI).

### 3.2. Tubus elektronového mikroskopu

**Tubus** elektronového mikroskopu, podobně jako u světelného mikroskopu, obsahuje zobrazovací systém s čočkami, které vytváří zvětšený obraz detailů pozorovaných preparátů a s clonami, které mají funkci omezení zorného pole nebo apertury objektivu. Přesto oproti světelnému mikroskopu musíme mít na paměti, že zobrazujeme prostřednictvím elektronů, které musíme nějak vytvořit a elektrooptickým systémem přenést.

### 3.2.1. Vakuový systém

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

1. Elektronová tryska musí být izolována vakuem, protože vzduch není dostatečně dobrým izolantem. Vzniká nebezpečí ionizace vzduchu a následného elektrického výboje mezi katodou a anodou trysky.
2. Vzduch obsahuje molekuly  $O_2$ ,  $N_2$ ,  $CO_2$  a uhlovodíky, které způsobují kontaminaci tubusu i pozorovaného předmětu (vzorku).

Důvodem vyčerpání prostoru tubusu je snaha zabránit náhodným srážkám urychlených primárních elektronů s molekulami vzduchu, které by vedly ke změně jejich energie a směru pohybu. Na dosažení pracovního vakua (minimálně  $10^{-3}$  až  $10^{-5}$  Pa) musí být mikroskop vybaven dostatečně výkonnými vývěvami mnoha různých typů. Používají se především rotační, difúzní, iontové a turbomolekulární vývěvy. Kvalitu vakua kontrolují měrky vakua a celý proces čerpání vzduchu je řízen automaticky. Rotační olejová vývěva se používá pro předčerpání zavzdušněného vnitřku mikroskopu, případně pro odvzdušnění komůrky při výměně preparátů. Tato vývěva je schopna snížit tlak zhruba na  $10^{-1}$  Pa. Po dosažení tohoto stupně vakua se zapíná difúzní vývěva, která odpařováním a zpětnou kondenzací speciálního oleje s nízkou tenzí par snižuje tlak na  $10^{-3}$  Pa. Prostor elektronové trysky vyžaduje nejvyšší stupeň vakua až  $10^{-7}$  Pa (přibližně stejný tlak je v kosmickém prostoru) a je ho dosahováno iontovými vývěvami. Nutné je zmínit ještě turbomolekulární vývěvu a kryogenní pumpu. I přes vysoký stupeň vakua dochází ke kontaminaci vnitřku tubusu zbytky vodních par a molekulami uhlovodíků, které se tam mohou dostat z odparů oleje vývěv nebo těsnících tuků. To vše ovlivňuje kvalitu obrazu. Proto se používá speciální antikontaminační komůrka, která je chlazená kapalným dusíkem z Dewarovy nádoby umístěné vně tubusu. Tím se snižuje tenze vodních a uhlovodíkových par, které potom kondenzují na komůrce.

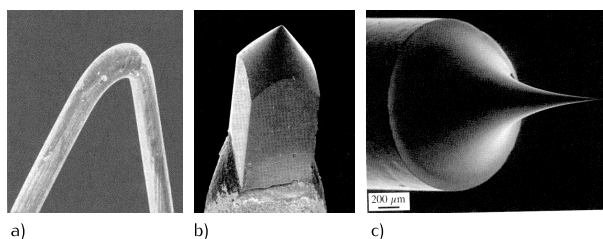
### 3.2.2. Elektronová tryska – zdroj elektronů

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

1. *sekundární emise* – studené kovové vlákno (katodu) bombardujeme urychlenými ionty, které nárazem uvolňují elektrony z povrchu katody. Tento postup se aplikoval u prvních typů TEM, ale dnes se již prakticky nevyužívá.
2. *termoemise* – zahříváme-li katodu, zvyšujeme její vnitřní energii. Překročí-li teplota katody jistou mezní teplotu, dochází k uvolňování elektronů z jejího povrchu. Tento postup je nejužívanější.

3. *autoemise* – proti studenému kovovému vláknu, odleptanému do tvaru hrotu, umístíme elektrodu s vysokým kladným napětím. V okolí hrotu vzniká silné elektrické pole, které je schopno vytrhávat velké množství elektronů z povrchu hrotu. Nevýhodou tohoto postupu je potřeba velmi vysokého vakua ( $10^{-6}$  až  $10^{-7}$  Pa).

Zdroj elektronů v elektronovém mikroskopu nazýváme **elektronová tryska** (popř. elektronové dělo). Účinnost emise elektronů emitovaných z katody (některým z uvedených způsobů) můžeme ještě zvýšit vytvarováním katody do tvaru písmene V, což usnadní uvolnění elektronů v místě ohybu (obr. 61a). Katoda bývá vyrobena z wolframu, protože ten má nízkou výstupní energii valenčních elektronů ( $E_v = 4,5$  eV) a vysoký bod tání ( $T_t = 3653$  K) a protože pro svůj provoz nevyžaduje vysokou hodnotu vakua. Životnost vlákna katody je nepřímo úměrná teplotě, na kterou bývá vlákno obvykle žhaveno. Vlákno wolframové katody má provozní teplotu přibližně 2800 K. Jeho životnost je pak asi 40 hodin. V dnešní době je již běžná katoda z  $\text{LaB}_6$  (hexaborid lanthanu – obr. 61b). Tento typ katody má asi 10× větší emisi elektronů než wolframová katoda, vyžaduje ovšem mnohem vyšší hodnotu vakua (minimálně  $10^{-4}$  Pa). Tato katoda má provozní teplotu cca 1800 K a vydrží asi rok běžného pracovního provozu mikroskopu. V nejvýkonnějších elektronových mikroskopech bývá zdrojem elektronů autoemisní katoda (Field Emission Gun – FEG, obr. 61c), která vydrží až několik let.

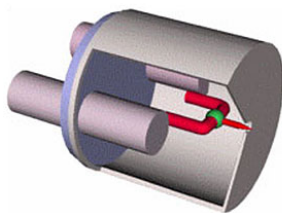


**Obrázek 61:** Katody elektronových mikroskopů: a) wolframová, b)  $\text{LaB}_6$ , c) autoemisní.

Na zdroje elektronů jsou kladeny požadavky, jako je malá velikost zdroje, nízké rozpětí emisní energie elektronů, vysoká intenzita elektronového paprsku v malém prostorovém úhlu, nízký šum a dlouhodobá stabilita, jednoduché ovládání a nízké náklady na provoz. Tyto podmínky splňují Schottkyho (obr. 62) a studené emisní zdroje. Ve srovnání s termoemisními zdroji vynikají malou velikostí, velkou intenzitou (100krát vyšší) a životností.

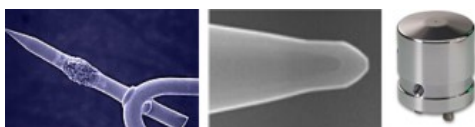
Tento zdroj elektronů je preferován z důvodu vyšší stability proudu svazku. Vyžaduje nižší elektrické pole k získání stejné emise elektronů, než ostatní emitory. Elektrické pole na emitoru je nastavitelné napětím, rozměrem, tvarem či ostroty emitoru. Pro dané elektrické napětí je elektrické pole tím silnější, čím ostřejší a menší je emitor (hrot). Šum Schottkyho zdroje je velice malý, nepřímo úměrný velikosti emisní plochy, a proto se zvyšuje se zmenšující se emisní plochou. Proto má Schottkyho emitore větší poloměr (asi 0,4–1  $\mu\text{m}$ ), než studené emisní zdroje.

**Schottkyho zdroj elektronů** je aktuálně nejpokročilejší komerčně dostupný zdroj, zpravidla používaný ve skenovací elektronové mikroskopii. Tento zdroj vyu-



**Obrázek 62:** Ukázka řezu Schottkyho emisním zdrojem ([http://www.tedpella.com/apertures-and-filaments\\_html/YPS-Schottky.htm](http://www.tedpella.com/apertures-and-filaments_html/YPS-Schottky.htm)).

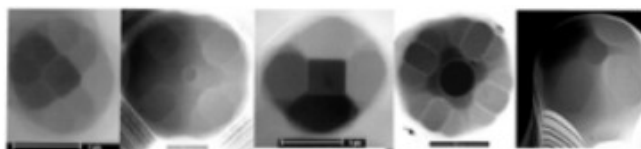
žívá *Schottkyho jevu*, který můžeme popsat jako zvýšení průtoku elektronů z povrchu zahřátého materiálu působením elektrického pole. Minimální energie požadovaná k tomu, aby elektron opustil povrch určitého materiálu (výstupní práce), je zajištěna zvýšenou teplotou. Současně aplikované slabé elektrické pole odnáší emitované elektrony z povrchu materiálu. Při zvyšování elektrického pole se výstupní práce stále snižuje a tím se zvyšuje emisní proud elektronů. Kvantově mechanicky můžeme mechanismus emise Schottkyho zdroje vysvětlit snížením potenciálové bariéry elektrickým polem, což usnadní únik elektronů ve vyšších energetických hladinách. Pro vysoké hodnoty intenzity elektrického pole se potenciálová bariéra stává tenší a tím zajišťuje značný příspěvek emise prostřednictvím tunelového jevu.



**Obrázek 63:** Schottkyho emisní zdroje, zleva: hrot a  $ZrO_x$  rezervoár redukující výstupní práci plošek, detail hrotu s ploškami a celkový pohled na Schottkyho zdroj ([http://www.tedpella.com/apertures-and-filaments\\_html/YPS-Schottky.htm](http://www.tedpella.com/apertures-and-filaments_html/YPS-Schottky.htm)).

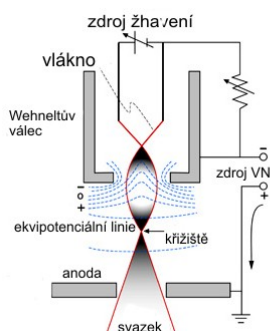
Schottkyho zdroj se tedy skládá z monokrystalického wolframového drátu na jednom konci vyleptaného do tvaru hrotu, zakončeného ploškami krystalových rovin. Na druhém konci monokrystalického drátu je svár k polykrystalickému wolframovému drátu přibližně stejného průměru. Tato polykrystalická smyčka wolframu je upevněna ke dvěma pólům, které jsou vloženy do válcovitého keramického základu. Asi v polovině monokrystalického drátu je nanesený zásobník (rezervoár) ze  $ZrO_x$  (obr. 63). Ten zajišťuje ploškám v krystalografickém směru (100) mnohem nižší výstupní práci, než jiné krystalografické orientace (obr. 64). Emise ze zdroje je řízena zvýšenou teplotou (1800 K) ve vakuu.

Elektronovou trysku tvoří ve všech případech katoda, která je obklopena *Wehneltovým válcem*, který má proti špičce vlákná katody otvor (obr. 65). Za válcem je umístěna anoda s otvorem uprostřed, která je uzemněna. Wehneltův válec vytváří v okolí vlákná katody elektrické pole, které způsobuje, že se svazek elektronů emitovaných z katody zužuje tak, že těsně před otvorem v anodě vytváří **křížiště**, tj. nejužší místo svazku. Toto místo lze pak považovat za bodový zdroj urychlených elektronů. Elektrostatická optika, která promítá obraz emisního hrotu – křížiště do otvoru v anodě, musí zajistit co nejdokonalejší kruhovitost průmětu vlákná



**Obrázek 64:** SEM obrazy špičky hrotů ukazující různé geometrie centrálních plošek emitujících elektrony.

v křižišti, abychom mohli považovat zdroj elektronů za bodový a koherentní.



**Obrázek 65:** Schematický náčrt elektronového děla.

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

### 3.2.3. Pohyb elektronů v magnetickém poli

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

$$\vec{F} = e \left( \vec{v} \times \vec{B} \right),$$

kde  $\vec{v}$  je rychlost elektronu. Pro velikost síly  $F$  pak platí vztah  $F = evB\sin\theta$ , kde  $\theta$  je úhel, který mezi sebou svírají vektory  $\vec{v}$  a  $\vec{B}$ .

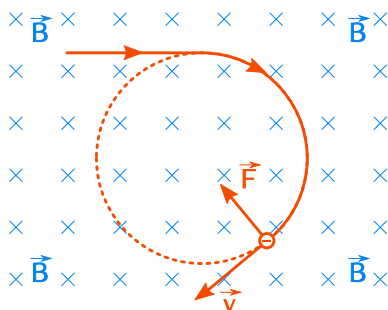
Jestliže elektron vletne do homogenního magnetického pole ve směru kolmém k vektoru magnetické indukce, pak magnetická síla, působící na elektron, zakřivuje jeho trajektorii a ten se začne pohybovat po kružnici (obr. 66). Z rovnosti odstředivé a magnetické síly můžeme vyjádřit poloměr zakřivení kruhové trajektorie pohybu elektronu. Vletne-li elektron do magnetického pole pod určitým úhlem, rozloží se vektor rychlosti pohybu elektronu na složku normálovou a tečnou. Výslednou



trajektorií pak bude šroubovice, která má v průmětu tvar kružnice o poloměru

$$r = \frac{m_e v}{Be},$$

kde  $m_e$  je hmotnost elektronu.



Obrázek 66: Trajektorie elektronu v příčném homogenním magnetickém poli.

### 3.2.4. Elektromagnetická čočka

Ovlivnění trajektorie elektronu magnetickým polem lze využít k sestrojení *elektromagnetické čočky*, která má podobnou funkci jako skleněná čočka v případě světla. Nejjednodušší elektromagnetická čočka je podobná solenoidu. **Solenoid** je cívka s velkým počtem závitů, jejichž průměr je mnohem menší než délka cívky (obr. 67a). Uvnitř solenoidu vzniká téměř homogenní magnetické pole. To, že není dokonale homogenní, je jedna z příčin vzniku **aberací**.

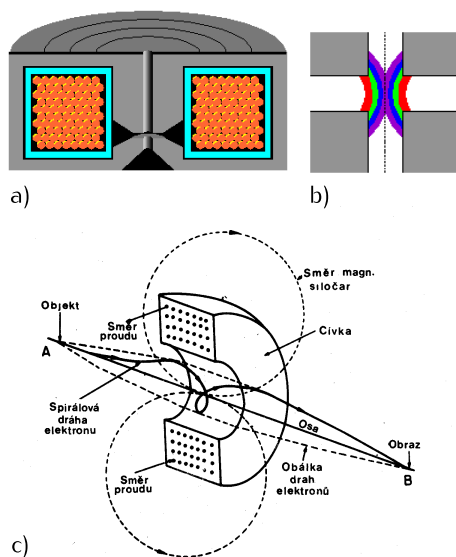
Trajektorie elektronu, který vlétne do magnetického pole elektromagnetické čočky, má tvar prostorové spirály (obr. 67c). Trajektorie všech elektronů, které procházejí stejným bodem na ose čočky, jsou magnetickým polem čočky ovlivněny tak, že se za čočkou opět protínají ve stejném bodě na ose čočky. Čím větší je proud procházející čočkou, tím větší je magnetická indukce pole v dutině čočky, a tím kratší je ohnisková vzdálenost čočky. Pro vyjádření ohniskové vzdálenosti platí vztah

$$\frac{1}{f} = \frac{e}{8m_e U} \int_{z_1}^{z_2} B_{z0}^2 dz,$$

kde  $B_{z0}$  je magnetická indukce v místě  $z$  na ose čočky.

Průchodem vysokého proudu vinutím elektromagnetické čočky vzniká teplo, které zvyšuje její teplotu. Proto musí být elektromagnetické čočky chlazeny. Magnetické pole uvnitř reálné elektromagnetické čočky není přesně homogenní (obr. 67b). To vede k mnoha vadám, které jsou svou podstatou totožné s vadami optických čoček. Tyto vady negativně ovlivňují obraz vytvořený čočkou, především jeho kontrast, hloubku ostrosti a rozlišovací mez. Uvedme příčiny nejběžnějších vad zobrazení.

**Sférická (otvorová) vada** znamená, že elektromagnetická čočka nefokusuje všechny elektronové paprsky, vycházející z bodového zdroje na ose, opět do jed-



**Obrázek 67:** Schematické znázornění a) elektromagnetické čočky, b) jejího magnetického pole s vyznačením „chromatické aberace“ a c) trajektorie elektronů uvnitř čočky.

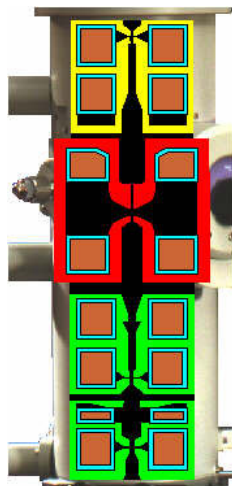
noho bodu na této ose. Elektronů, procházející dále od osy čočky, jsou zaostřovány do bodu, který leží blíž k čočce, než elektrony, které procházejí čočkou v těsné blízkosti elektronoptické osy. Částečně lze tuto vadu kompenzovat zmenšením průměru clony.

**Chromatická vada** je ve světelném mikroskopu způsobena disperzí světla ve skle čoček a projeví se rozkladem světla na spektrální barevné složky. V elektronovém mikroskopu chromatická vada vzniká v důsledku rozdílných energií elektronů ve svazku. Pomalejší elektrony s větší vlnovou délkou jsou v magnetickém poli cívek vychylovány jinak a potom protínají osu cívky v jiném bodě, než elektrony s vyšší rychlostí. Chromatickou vadu můžeme eliminovat stabilizací urychlovacího napětí mikroskopu, čímž se stane elektronový svazek monochromatictější a koherentnější. Jelikož se rychlost elektronů mění průchodem přes preparát, bude docházet ke chromatické vadě v každém případě. Tloušťka preparátu musí být tedy co nejmenší.

**Osový astigmatismus** je způsobený nesymetrií elektronového svazku, tedy i magnetického pole, které ho deformuje. V důsledku toho mají elektronové svazky různé ohnisko. Astigmatismus se koriguje přidáním magnetickým polem *stigmátoru* prakticky při každém zaostřování obrazu, zejména při větších zvětšeních. Zdrojem astigmatismu mohou být i nečistoty na clonách a pólových nástavcích. Proto je třeba věnovat udržování čistoty uvnitř tubusu mimořádnou pozornost a clony je třeba čas od času vyžítat.

### 3.3. Zobrazení elektronovým mikroskopem

Již bylo zmíněno, že stavba transmisního elektronového mikroskopu je podobná stavbě světelného mikroskopu. Tedy i zobrazení předmětu pomocí transmisního elektronového mikroskopu bude mít jistou analogii.



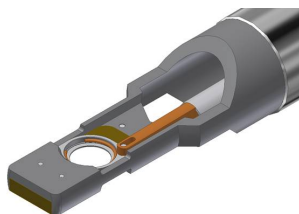
**Obrázek 68:** Tubus transmisního elektronového mikroskopu s kondenzorem, objektivem a projektivem (zdroj: prospekt firmy JEOL).

Základními stavebními prvky zobrazovací soustavy TEM jsou *kondenzor* (analogie s kondenzorem v osvětlovací soustavě světelného mikroskopu), *objektiv* a *projektiv* (odpovídá okuláru světelného mikroskopu). **Kondenzor** bývá obvykle dvoustupňový a fokusuje elektronové paprsky na preparát. Promítá křížště elektronové trysky na preparát a zajišťuje jeho homogenní a intenzivní ozáření. Důležitým parametrem je *úhlová apertura*, při níž se v rovině preparátu zobrazuje křížště. Ta se mění v závislosti na zaostření, přičemž největší je v ohnisku kondenzoru. Jak bylo uvedeno v předchozím textu, při malých úhlových aperturách se snižuje chromatická vada čoček, což však znamená, že pro snímání obrazu se rozostřuje kondenzor a snižuje intenzita svazku, neboť v oblastech nad a pod ohniskem se zmenšuje úhlová apertura. Naopak, pro vyhledávání obrazu je možné používat maximální intenzitu svazku a zaostřovat kondenzor. Maximální úhlová apertura je omezena clonami kondenzoru. V první čočce je vestavěná clona s velkým průměrem, v druhé je výměnná clona s velikostí otvoru v intervalu 100–500  $\mu\text{m}$ . Kondenzor společně s elektronovou tryskou tvoří ozařovací část transmisního elektronového mikroskopu (analogie k osvětlovací soustavě světelného mikroskopu).

Do zobrazovací části TEM patří prostor preparátu s držákem vzorku, objektiv, projektiv a luminiscenční stínítko, případně CCD kamera pro záznam obrazu (obr. 70). **Objektiv** je určen k tvorbě obrazu a má faktor zvětšení zhruba 100. Zpravidla je tvořen jednou elektromagnetickou čočkou, zatímco **projektiv** tvoří až čtyři elektromagnetické čočky. Úkolem projektivu je „promítnout“ obraz na stínítko. Součástí zobrazovací soustavy TEM je i systém clonek, které omezují průměr zobrazujícího svazku elektronů. Zobrazovaný předmět je v TEM umístěn v těsné blízkosti objektivu. Objektiv tedy stejně jako ve světelném mikroskopu vytváří zá-

kladní obraz předmětu. Objektiv má také nejkratší ohniskovou vzdálenost a je rovněž „nejvýkonnější“ čočkou mikroskopu. Aby se dosáhlo požadované magnetické indukce, má cívka objektivu velký počet závitů, kterými protéká poměrně značný proud.

Obraz vytvořený objektivem je dále zobrazen čočkami, které tvoří projektiv. Proud procházející čočkami projektivu lze regulovat, a tím i měnit výsledné zvětšení elektronového mikroskopu. Maximální užitečné zvětšení užívané v elektronovém mikroskopu je  $10^6$ .



**Obrázek 69:** Držák sítěk preparátů v TEM  
([http://www.gatan.com/files/Images/products/tem/927\\_Tip\\_030109.jpg](http://www.gatan.com/files/Images/products/tem/927_Tip_030109.jpg)).

Do držáku (obr. 69) se vkládají sítky, na kterých jsou umístěny vlastní preparáty. Držák vzorku je umístěn na *goniometrickém stolku*, který umožňuje jemné a přesné posuny ve směrech  $x$ ,  $y$ ,  $z$  a často je vyžadován i náklon vzorku, zejména při pořizování tomografického obrazu. Náklon je v tomto případě  $\pm 70^\circ$ . V dnešních mikroskopech, ovládaných elektronikou řízenou počítačem, umožňují motorky nastavit reprodukovatelnou pozici, kterou si uživatel mikroskopu uložil do paměti PC při vyhledávání zajímavých detailů.

*Preparátová komůrka* bývá umístěna mezi pólovými nástavci objektivu. Do tohoto prostoru zasahují různé detektory a jsou zde i aperturní clony určující dosažitelnou rozlišovací mez.

Hloubka ostrosti obrazu je dostatečně velká, aby pokryla tloušťku ultratenkého řezu (cca 50 nm). Tím se některé detaily ve dvourozměrném obrazu rozostřují, protože se jejich obrazy vzájemně překrývají.

### 3.3.1. Pozorování a záznam obrazu vytvořeného elektronovým mikroskopem

Svazek urychlených elektronů, který nese informaci o zobrazovaném předmětu, nelze přímo vidět okem, jako je to možné ve světelném mikroskopu. Abychom viděli obraz vytvořený elektronovým mikroskopem, je nutné převést tyto informace do viditelné podoby. K pozorování obrazu se používá stínítko pokryté luminoforem (nejčastěji ZnS), které bývá umístěno na dně tubusu TEM. **Luminofor** je látka, která je schopna, v závislosti na energii a množství dopadajících elektronů, emitovat světlo různé intenzity o přibližně stejné vlnové délce. V případě ZnS má vlnová délka vznikajícího světla velikost okolo 550 nm. Na stínítku potom vzniká obraz z odstínů zelené barvy, který je již možné pozorovat okem. Rozlišení stínítka je omezeno velikostí zrn ZnS, která se pohybuje okolo 50 nm. Kromě velkého stínítka je většina elektronových mikroskopů vybavena ještě malým stínítkem, na kterém

je možno detail obrazu ještě zvětšit pomocí binokulárního mikroskopu. Velikost zrn ZnS na malém stínítku se pohybuje kolem 10 nm.

V praxi se pořizuje záznam obrazu pozorovaného předmětu na fotografický film nebo v současnosti se obraz zaznamenává v digitální podobě pomocí speciálních kamer. Fotografický materiál vhodný pro EM musí být stabilní i při vysoké hodnotě vakua, které je uvnitř EM. Nejpoužívanějším typem fotografického materiálu je polyesterová podložka, na které je nanesena želatinová vrstvička s drobnými krystalky chloridu stříbrného (AgCl).

**Slow-scan CCD kamery (SSC)**, používané v TEM, pracují obdobně jako klasické CCD kamery používané ve světelné mikroskopii. Rozdílem je pouze to, že detektor SSC kamery je schopen zaznamenávat změny intenzity zobrazujícího svazku elektronů (obr. 70). V současné době se ve SSC kamerách používá nejčastěji YAG krystal (*scintilátor*), na který dopadají primární elektrony. Vzniklý obraz se přenáší na CCD sensor pomocí optických vláken. CCD sensor má přes 10 milionů obrazových bodů (pixelů), což zajišťuje vysoké rozlišení obrazu. Čipy těchto prvků bývají chlazeny Peltiérovými články, aby se zamezilo temnému proudu v detektoru. Přestože fotografický materiál umožňuje pořízení perfektního snímku, je zřejmé, že digitální kamery jsou praktičtější. Hlavním důvodem rozšíření CCD kamer je rychlost záznamu bez nutnosti vyvolávat film. Je možné je využít k efektivnímu záznamu elektronových difraktogramů. V režimu nízkých dávek elektronů, při pozorování velmi citlivých preparátů (kryořezy) či v elektronové spektroskopii, poskytují vysokou citlivost, která je předností těchto kamer.



**Obrázek 70:** Kamera pro digitální záznam elektronového obrazu, určená pro instalaci do bočního portu tubusu TEM (<http://www.cz.all.biz/img/cz/catalog/39039.jpeg>).

### 3.3.2. Interakce elektronů s preparátem

V obou systémech – transmisního i skenovacího elektronového mikroskopu, je pro tvorbu obrazu zásadní interakce urychlených elektronů s preparátem. Je důležité si však uvědomit, že u TEM elektrony vzorkem prochází a u SEM na něj dopadají. V obou případech dochází v atomech preparátu k pružnému a nepružnému rozptylu elektronů. Při *pružném rozptylu* nedochází k výraznějšímu snížení energie rozptýlených elektronů oproti energii elektronů primárních (dopadajících na vzorek). Primární elektrony prolétají elektronovým obalem atomu preparátu, vychylují se tím více, čím blíže mají elektron jádro a čím vyšší je hodnota elektrického náboje jádra. Tento úhel může dosáhnout takové hodnoty, že elektron se jeví jako zpětně odražený. Část elektronů, rozptýlených s dostatečně velkým úhlem, je zachycena clonou objektivu a tím jsou vyřazeny z tvorby obrazu na stínítku

TEM. V důsledku toho se mění intenzita elektronového svazku a vzniká kontrast obrazu. Kromě toho se na tvorbě obrazu projevuje ještě fázový kontrast, tvořící různé stupně šedi. Fázový rozdíl je způsoben rozdílem drah elektronů, odchýlených pod různým úhlem.

Při *nepružném rozptylu* dochází ke srážkám primárních elektronů s elektrony ve slupkách atomů preparátu. Srážkami se snižuje výrazně jejich energie a změna jejich vlnové délky se podílí na zhoršení chromatické aberace. Tento nepříznivý vliv roste s tloušťkou preparátu a s klesajícím urychlovacím napětím.

Při srážkách urychlených elektronů s elektrony v orbitalech atomů dochází k excitaci atomů a následné emisi charakteristického rentgenového záření. Tyto signály, společně s dalšími, si představíme následně při popisu interakce primárních elektronů s povrchem vzorku u skenovacího elektronového mikroskopu.

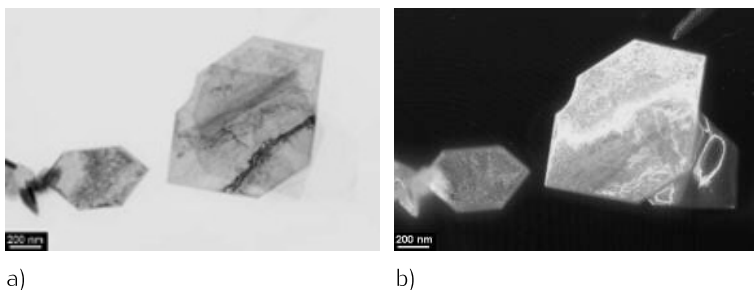
### 3.4. Základní pracovní režimy transmisního elektronového mikroskopu

Z předchozí kapitoly vyplývá, jakým způsobem ovlivňují atomy vzorku procházející elektrony. Na výsledný kontrast má vliv orientace krystalové mřížky v daném místě interakce elektronů se vzorkem. Podle obr. 72 je zřejmé, že elektrony procházejí snadněji v případě obrázku vlevo. Kontrast je rovněž výrazně ovlivněn průměrným protonovým číslem a měrnou hmotností materiálu vzorku v místě, kde svazek elektronů prochází. U biologických preparátů, tvořených lehkými prvky, které nezpůsobují dostatečný rozptyl primárních elektronů, procházejících preparátem, je třeba volit vhodné zalévací hmoty a kontrastování atomy těžkých kovů, jako jsou Os, Pb, U, atd. Ty bývají zpravidla součástí fixačních činidel a výrazně se podílí na zvýšení kontrastu. U nanostrukturovaných vzorků se zpravidla nevolí dodatečné kontrastování či stínování, protože by mohlo dojít ke zkreslení struktury.

Jako analogii ke *zobrazení v tmavém poli* ve světelné mikroskopii bychom mohli vysvětlit zobrazení ve tmavém poli u transmisního elektronového mikroskopu. Princip metody spočívá v naklonění osvětlovací soustavy tak, aby ze svazku elektronů po průchodu preparátem byly využity ty, které jsou více odkláněny. Při zobrazení ve světlém poli jsou normálně zachyceny clonou objektivu. Pokud do zobrazovací soustavy mikroskopu vniknou tyto rozptýlené elektrony, zobrazí nám světlé detaily vzorku na tmavém pozadí. Velké odchylky v rychlostech rozptýlených elektronů však přispívají ke snížení rozlišení a velké chromatické aberaci. Použití metody tmavého pole není tak časté a operátoři EM ho používají ve speciálních případech, kdy chtějí získat specifickou informaci ze vzorku (obr. 71). Porovnáním obou obrázků je vidět, že v různých režimech vynikají na krystalech jiné detaily.

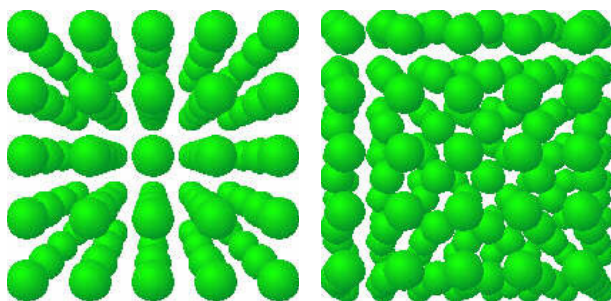
#### 3.4.1. TEM jako difraktograf

Jestliže je zkoumaný materiál krystalický, dochází na vhodně orientovaných krystalových rovinách (obr. 72) k difrakci elektronů. Jestliže dopadají elektronové paprsky na vzorek rovnoběžně se zónami krystalových rovin, svazky elektronů



**Obrázek 71:** Krystaly MnO zobrazené a) v režimu světlého a b) temného pole.

difraktovaných na různých systémech krystalových rovin jsou objektivovou čočkou fokusovány do bodů v obrazové ohniskové rovině.

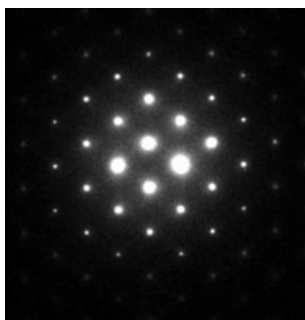


**Obrázek 72:** Vhodná orientace krystalické mřížky pro procházející elektrony (snímek vlevo).

V obrazové ohniskové rovině se vytváří *Fraunhoferův difrakční obraz*, který reprezentuje Fourierovu transformaci vlny vystupující ze vzorku (obr. 73). Mohli bychom ho, stejně jako ve světelné mikroskopii, nazvat primárním obrazem, který je zdrojem vlnění, jenž v obrazové rovině vytvoří obraz předmětu prostřednictvím inverzní Fourierovy transformace. V obrazové ohniskové rovině objektivu je umístěna objektivová clona, která slouží k vytvoření žádaného typu kontrastu. Abychom mohli pozorovat difrakční obraz, je třeba zaostřit mezičočku na obrazovou rovinu objektivu. V tomto režimu vidíme difrakční obrazec i na stínítku mikroskopu a můžeme ho registrovat na film nebo digitální kamerou, umístěnou zpravidla pod stínítkem.

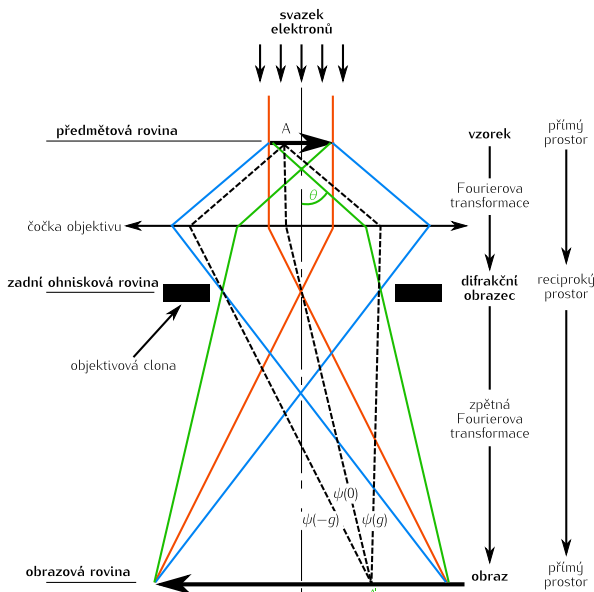
### 3.4.2. Vznik kontrastu v TEM

V klasickém zobrazení pomocí difrakčního kontrastu používáme malou objektivovou clonu, která vymezuje pouze jeden svazek elektronů – prošlý (T) či difraktovaný (D), k získání známých obrazů ve světlém, resp. tmavém poli. Použijeme-li velkou objektivovou clonu, dostáváme (pokud je dopadající svazek elektronů dostatečně koherentní) fázový interferenční kontrast. Obraz  $A'$  libovolného bodu  $A$  vzorku je výsledkem interference vln (svazků)  $\psi(-g)$ ,  $\psi(0)$ ,  $\psi(g)$  a dalších, které procházejí otvorem clony objektivu (obr. 74). Tímto způsobem je možné dosáhnout



**Obrázek 73:** Difrakce elektronů na křemíku.

zobrazení krystalové mřížky vzorku až v atomárním rozlišení. Přenos kontrastu mikroskopem však v případě interferenčního kontrastu není lineární a je většinou nutné experimentální snímky interpretovat pomocí počítačových simulací, abychom ověřili, zda obraz odpovídá zkoumané struktuře a nejde o interferenční artefakt [6].



**Obrázek 74:** Princip zobrazení předmětu objektivem TEM.

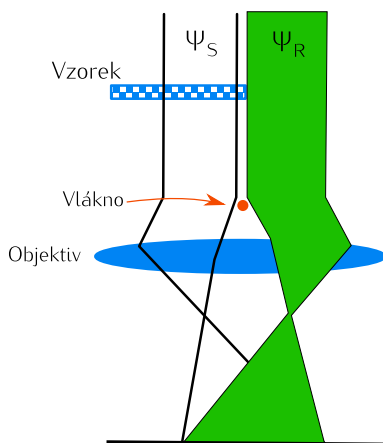
### 3.4.3. Elektronová holografie

DENIS GÁBOR navrhl princip holografického zobrazení již v roce 1948, dokonce původně pro dosažení lepšího rozlišení v TEM. Nebyly však známy dostatečně koherentní zdroje elektronů a proto s objevem prvních laserů (zdrojů vysoce koherentního světelného vlnění) byla rozvíjena nejprve optická holografie. Elektro-



nová holografie byla vyvinuta až po roce 1990, jakmile byly do elektronových mikroskopů zavedeny kvalitní autoemisní katody (FEG), poskytující koherentní elektronové svazky.

Elektronová holografie vychází z principů vlnové optiky. Obraz registrovaný ve fotografické desce nebo na čipu CCD kamery je daný intenzitou (druhou mocninou amplitudy) dopadající vlny. Fáze elektronové vlny, která je důležitou součástí, je přitom ztracena. Fázi lze počítačově rekonstruovat holografickými metodami. Jedna z nejrozšířenějších metod v elektronové holografii je použití **referenční vlny**. Do mikroskopu s autoemisní katodou je mezi objektivovou čočkou a vzorek nainstalován dělič elektronového svazku v podobě pokoveného skleněného vlákna tloušťky menší než  $0,5\ \mu\text{m}$ . Vlákno, na kterém je udržován kladný potenciál 10 až 150 V, působí jako *Fresnelův dvojhranol* (obr. 75). Vzorek natočíme tak, aby byl rovnoběžný s vláknem. Část elektronového svazku tak prochází vzorkem (obrazová vlna  $\Psi_S$ ), zatímco druhá část svazku  $\Psi_R$  působí jako vlna referenční. Informace o amplitudě a fázi je zakódována v modulaci kontrastu a zakřivení interferenčních proužků obrazové a referenční vlny [6].



**Obrázek 75:** Princip záznamu elektronového hologramu.

Interpretace elektronového hologramu spočívá v jeho počítačovém zpracování, které umožňuje korigovat vady přenosu kontrastu mikroskopem a získat tak obraz nedeformované elektronové vlny na výstupu ze vzorku. Počítačové simulace kontrastu potom stačí provést pouze pro interakci elektronové vlny se vzorkem, čímž se výrazně snižuje počet parametrů výpočtů.

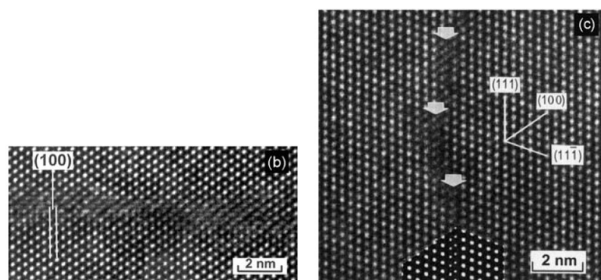
Elektronová holografie se používá při studiu struktury krystalů v atomovém rozlišení, řada aplikací je i při nižším rozlišení, jako například při studiu profilů p-n přechodu, zobrazení elektrických či magnetických polí s laterálním rozlišením několika nanometrů apod.

#### 3.4.4. Atomární rozlišení

Z fyzikálního principu zobrazení pomocí elektronů vyplývá, že čím je vyšší urychlovací napětí, tím je kratší vlnová délka elektronového svazku. Tím se rovněž

snižuje rozlišovací mez, která při napětích 200 kV a více přináší možnost zobrazit jednotlivé atomy. Záleží však také na kvalitě elektronové optiky. Použijeme-li lepší optiku, tzv. *Cs korigovanou*, dosáhneme atomárního rozlišení i při nižších urychlovacích napětích (80 kV) a menším energetickém zatížení vzorku. K tomu je nutné mít kvalitní autoemisní zdroj elektronů poskytující vysoký proud ve svazku. Při správné orientaci krystalu do osy zóny rovnoběžné se svazkem jsme schopni získat atomy v podobě světlých bodů, představujících sloupce atomů v příslušné krystalové mřížce.

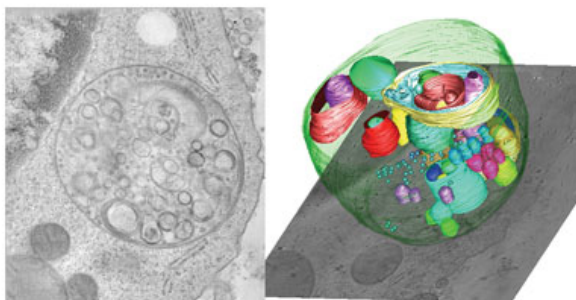
Jedna z efektivních metod k dosažení atomárního rozlišení je metoda Z-kontrastu. Ta využívá nekoherentního zobrazení v důsledku difrakce pod úhly většími než  $3^\circ$ . Její výhodou je, že poskytuje přímo interpretovatelné obrazy mikrostruktury – mapy rozptylových center krystalu, ve kterých je intezita úměrná protonovému číslu  $Z$  (odtud Z-kontrast). Nekoherentní přenos obrazu je lineární, a proto počítačové simulace nejsou potřeba. Abychom mohli metodu Z-kontrastu použít, musí být mikroskop vybaven autoemisní katodou, řádkováním elektronového svazku a prstencovým detektorem elektronů difraktovaných pod velkými úhly (High-Angle Angular Dark Field Detector – HAADF). S použitím autoemisní trysky je v současné době možné dosáhnout velikosti svazku 0,15 nm a proudu kolem 1 nA, což je dostatečné pro rozlišení atomových sloupců u kovů. Použijeme-li při naklonění krystalu hliníku do osy zóny  $\langle 110 \rangle$  velkou objektivovou clonu, získáme obraz v atomárním rozlišení. Každý světlý bod na snímku představuje atomový sloupec mimeritní podmřížky hliníku (obr. 76) [6].



**Obrázek 76:** Antifázová rozhraní v uspořádané slitině na bázi  $\text{Fe}_3\text{Al}$  – atomové rozlišení podmřížky hliníku v orientaci  $\langle 110 \rangle$  [6].

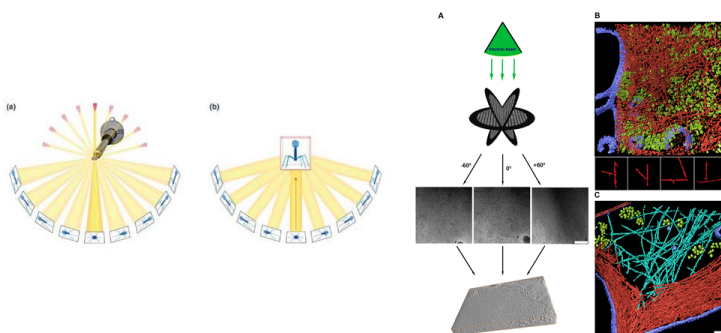
### 3.4.5. Elektronová tomografie

Narozdíl od běžné transmisní elektronové mikroskopie, která pracuje s ultratenkými řezy, elektronová mikroskopická tomografie umožňuje prostorové zobrazení útvarů v buňkách s velmi vysokým rozlišením a často – při použití rychle zmrazených, chemicky nefixovaných biologických materiálů – ve stavu velmi blízkém stavu za živa. Její princip je podobný jako u počítačové tomografie používané v medicíně, ovšem v ultramikroskopickém měřítku. Elektrony prozařují objekt (tlustší řez než při běžné transmisní elektronové mikroskopii) pod různými úhly a z tomografických „řezů“ počítač vytváří „trojrozměrné“ modely objektů (obr. 77).



**Obrázek 77:** Klasický obraz TEM (vlevo) a tomografická rekonstrukce (vpravo) multilysozomálního objektu (počítačově modelováno) (A. J. Koster and W. J. C. Geerts, Utrecht University, Utrecht).

Kryoelektronová tomografie a elektronová tomografie obecně spočívá v získání dvourozměrných projekcí (2D) trojrozměrného objektu (3D) pod různými úhly, při náklonu preparátu (od  $+70^\circ$  do  $-70^\circ$ ). Následuje seřazení projekcí a tomografická rekonstrukce 2D projekcí do objemu 3D vzorku. Elektronmikroskopická tomografie tak může poskytnout neocenitelné a originální informace o prostorovém uspořádání ultrastruktury ve tkáních, buňkách a makromolekulách. V případě kryoaplikací se těží z prostorového obrazu chemickou fixací neovlivněných struktur objektu (obr. 78). Je však vyžadováno rychlé zamražení biologických objektů.

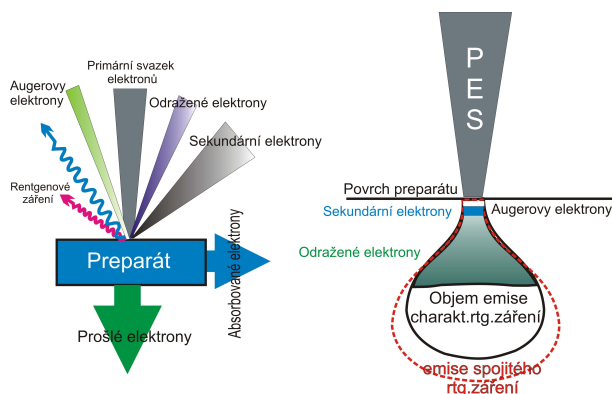


**Obrázek 78:** Princip elektronové tomografie (Ben-Harush, Journal of Cell Science 123, 2010, 7).

Oproti laserové konfokální mikroskopii je možné dosáhnout rozlišení lepší než 5 nm. Rozlišení je závislé na jemnosti krokování náklonu a na celkovém počtu projekcí zkoumaného vzorku. Obvykle se jedná o stovky expozic (je třeba brát ohled na radiační poškození preparátu urychlenými elektrony) řízených elektronikou elektronového mikroskopu, ovládající režim náklonu preparátorového držáku. Často poskytují tyto techniky doplňkovou informaci, protože navíc dávají možnost fluorescenčního značení organel. Nejčastěji se metody kryoelektronové tomografie používají pro zobrazení cytoskeletu buněk, pozice jader buněk, prostorové zobrazení bakterií a virů.

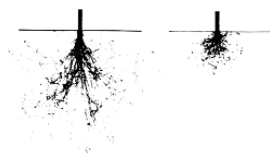
### 3.5. Tvorba obrazu ve skenovacím elektronovém mikroskopu

Interakce primárních elektronů se vzorkem přináší informace o fyzikálních a chemických vlastnostech zkoumaného objektu. Energie primárních elektronů, daná použitým urychlovacím napětím, ovlivňuje tvar oblasti pod povrchem preparátu, ve které se uvolňují jednotlivé signály (tzv. excitační objem, obr. 79). Tato oblast se s klesající hodnotou urychlovacího napětí stává mělčí (menší co do hloubky a větší co do šířky). Zvětšení šířky této oblasti je pak příčinou snížení rozlišovací schopnosti mikroskopu. Na hloubku průniku primárních elektronů do objemu vzorku má dále samozřejmě vliv i složení vzorku. Je-li vzorek tvořený těžšími prvky (např. kovy), bude produkovat více odražených elektronů než preparát tvořený lehkými prvky a hloubka průniku primárních elektronů bude menší.



**Obrázek 79:** Excitační objem a signály uvolněné z preparátu po dopadu primárních elektronů.

Při dopadu urychleného primárního elektronového svazku na preparát dochází k tomu, že pod povrchem preparátů se začnou primární elektrony pohybovat náhodným a velmi chaotickým způsobem. Je to dáno pružnými i nepružnými srážkami s atomy vzorku. Na své chaotické dráze mohou generovat další signály (sekundární elektrony – SE, Augerovy elektrony – AE, rentgenové záření – RTG).

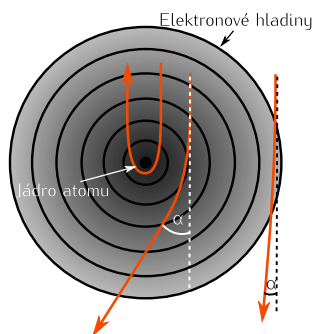


**Obrázek 80:** Simulace drah elektronu metodou Monte-Carlo, vlevo Al, vpravo Cu (<http://www4.nau.edu/microanalysis/Microprobe/img/MontCarL.gif>).

I přes chaotický pohyb elektronů lze přibližně určit, v jaké hloubce pod povrchem vznikají a jakého prostoru či objemu konkrétní druhy signálů dosahují. Existují speciální statistické metody simulace drah elektronu. Nejznámější se nazývá *metoda Monte-Carlo*. Pomocí této numerické metody, využívající náhodných čísel, lze chaotický pohyb elektronů a jejich objem přibližně popsat. Obr. 80 zob-

razuje simulace pohybu elektronů v měděné a hliníkové fólii. Lze si všimnout, že rozptyl elektronu se zvyšuje se zvyšujícím se protonovým číslem vzorku.

Pružný rozptyl se projevuje způsobem, který zahrnuje coulombovskou interakci atomového jádra (obr. 81). Jestliže elektron proniká elektronovým oblakem a blíží se jádru, je jádrem silně přitahován a může být rozptýlen pod většími úhly. Pružným rozptylem také vznikají zpětně odražené elektrony (Back Scattered Electrons – BSE).



Obrázek 81: Ukázka pružně rozptýlených elektronů.

Nepružné (neelastické) procesy dělíme do tří částí:

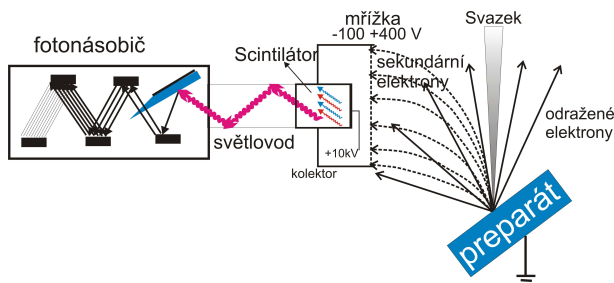
- procesy generující RTG záření,
- procesy generující sekundární elektrony (SE) a
- procesy vyplývající z kolektivních interakcí s mnoha atomy.

Každý druh signálu má své využití při studiu a měření specifických vlastností vzorku, případně ho lze využít i v kombinaci více signálů. Z toho důvodu se v SEM využívá celá řada detektorů a je dobré vědět, který signál a který detektor použít v určité oblasti zkoumání vzorku.

K zobrazení povrchu preparátu se v SEM využívají sekundární nebo odražené elektrony. *Sekundární elektrony* mají energii přibližně 50 eV a vystupují z hloubky řádově desítek nm. Kopírují tedy povrch a přináší informace o jeho topografii. Odražené elektrony, na rozdíl od nich, vystupují z větší hloubky a reagují citlivě na změnu složení (průměrné protonové číslo v daném místě). Jak již bylo uvedeno, zpětně odražené elektrony (BSE) jsou v podstatě primárními elektrony, vracějícími se po coulombovské interakci s jádrem atomu s malou ztrátou energie. Sekundární elektrony mohou být „pomalé SE“, jestliže jsou elektrony uvolněny z vodivostního či valenčního pásu a není potřeba velká energie k tomu, aby byly elektrony vyraženy primárním elektronovým paprskem. Jejich energie se pohybuje pod 50 eV. Jestliže jsou elektrony silně vázané ve vnitřních hladinách atomu, tak po vyražení mimo jejich hladinu mohou mít významnou část (až do asi 50%) energie primárního paprsku. Tyto elektrony označujeme jako „rychlé SE“.

Produkce *odražených elektronů* závisí především na středním protonovém čísle vzorku. Z toho plyne, že v režimu odražených elektronů se na obrazovce SEM budou jevit místa tvořená těžšími prvky jako světlé oblasti. Naopak oblasti tvořené

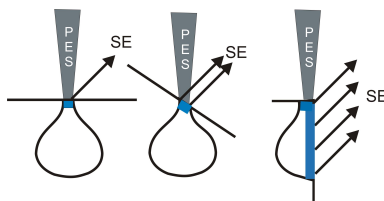
lehkými prvky se budou jevit jako tmavá místa. Obraz v odražených elektronech je tedy schopen odlišit oblasti s různým prvkovým složením. Detekce těchto elektronů probíhá různými způsoby. V elektronových mikroskopech je stále používán detekční systém podle konstruktérů Everharta a Thornleyho, složený ze scintilátoru a fotonásobiče (obr. 82).



**Obrázek 82:** Everhart-Thornleyho detektor (scintilátor-fotonásobič).

Sekundární elektrony jsou nejdříve elektrickým polem mřížky kolektoru „odsátý“ z povrchu vzorku. Poté dopadají na scintilátor, v němž vyvolávají luminiscenci (emisi fotonů). Slabý signál fotonů je převeden na elektrický impuls ve fotonásobiči. Ten se dále zesiluje v elektronickém obvodu detektoru. Protože sekundární elektrony mají oproti odraženým elektronům mnohem menší energii i rychlost, musejí být ještě před dopadem na scintilátor urychleny napětím přivedeným na scintilátor. Odražené elektrony musejí být tímto napětím naopak bržděny. Detekce obou druhů elektronů probíhá odděleně. Proto si můžeme vybrat, zda chceme měřit v režimu odražených elektronů či v režimu sekundárních elektronů.

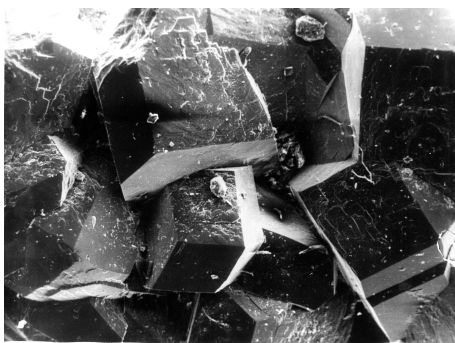
Díky nízké energii sekundárních elektronů se z nakloněných ploch na povrchu preparátu dostane do detektoru více sekundárních elektronů než z těch, které jsou položeny kolmo k dopadajícímu svazku elektronů. Výsledkem je proto vyšší intenzita signálu přicházejícího z detektoru. Proto je možno v režimu sekundárních elektronů lépe rozpoznat topografii povrchu vzorku. Světla místa na snímku odpovídají větším sklonům či zakřivením (obr. 83). Výtěžek emise  $\delta = \frac{\text{konst.}}{\cos \beta}$ , kde



**Obrázek 83:** Vliv náklonu povrchu vůči dopadajícímu svazku na emisi SE.

$\beta$  je úhel mezi normálou povrchu a dopadajícím svazkem paprsků. Následující obr. 84 přináší typický 3D obraz členitého preparátu v režimu sekundárních elektronů. Na obrázku jsou krystaly vínanu draselného, jehož plochy, které jsou více skloněné mají světlejší odstín, způsobený vyšší emisí sekundárních elektronů.

Odražené elektrony, které vystupují z větší hloubky pod povrchem preparátu,



**Obrázek 84:** Krystaly vínanu draselného v režimu sekundárních elektronů.

přináší sice zkrácenou informaci o topografii povrchu, ale přináší informaci o průměrném protonovém čísle  $Z$ . Hovoříme o *materiálovém kontrastu*, který bývá používán k mapování prvků ve spojení s elektronovou mikroanalýzou (obr. 85).



**Obrázek 85:** Odlišení oblasti materiálu na řezu slitiny Al-Cu v režimu zpětně odražených elektronů (BSE) Al ( $Z = 13$ ) – tmavší oblasti, Cu ( $Z = 29$ ) – světlejší oblasti (zdroj: JEOL).

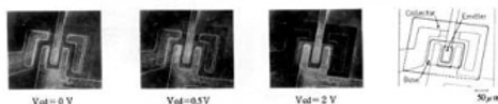
„Magnetický kontrast“ umožňuje pozorovat kontrast na doménových stěnách kubických a jednoosých feromagnetik. Na elektronech uvolněných po interakci s magnetickým vzorkem se projeví účinek *Lorentzovy síly* vyvolané magnetickým polem uvnitř domén. Některé elektrony jsou stočeny dovnitř vzorku, jiné jsou usměrněny k povrchu. Na obr. 86 jsou v režimu magnetického kontrastu patrné magnetické oblasti – domény.

„Napěťový kontrast“, realizovaný vlivem přitažlivých či odpudivých sil mezi dopadajícími elektrony a nabitými místy na povrchu, zobrazuje např. potenciálové rozdíly na povrchu polovodičových součástek, na které je přivedeno napětí. Je tak možné sledovat místa, která jsou defektní a představují bariéru pro proud procházející obvodem (obr. 87).

*Augerovy elektrony* (AE) vznikají, když jsou elektrony vyraženy z vnitřních vrstev elektronového obalu atomu. V této vrstvě vznikne nezaplňená slupka, která



**Obrázek 86:** Magnetické domény v materiálu NdFeB (<http://www-hrem.msm.cam.ac.uk/gallery/pics/ndfeblarge.jpg>).



**Obrázek 87:** Napěťový kontrast na povrchu tranzistoru při různých hodnotách napětí (zdroj: JEOL).

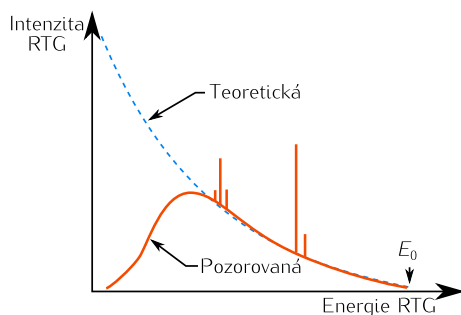
je obratem zaplněna elektronem z vnějších vrstev atomu. Takto uvolněná energie může být vyzářena ve formě fotonu rentgenového záření, ale v některých případech je předána energii některému z elektronů ve vnější slupce, který ji tak může opustit. Dostane-li se nad povrch látky jako Augerův elektron, jeho energie je velmi nízká a je registrován z nanometrových hloubek od povrchu. Tento typ elektronů je ideální při popisu povrchových jevů pevných látek (fyzika povrchů).

*Katodoluminiscence* vzniká, pokud elektron z valenčního pásu přechází přes zakázaný do vodivostního pásu, čímž vznikne ve valenčním pásu vakance. Rekombinací elektronu dochází k vyzáření energie ve formě fotonu ve viditelné oblasti.

Zajímavá je problematika emitovaného rentgenového záření, které vystupuje ze vzorku po dopadu elektronů s vysokou energií. Analýza charakteristického rentgenového záření umožní jak v TEM, tak i v SEM provést prvkovou analýzu preparátu. Tím se významně rozšiřují analytické možnosti těchto přístrojů.

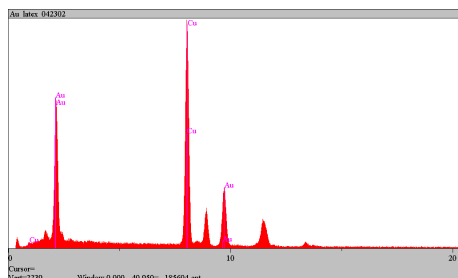
**Spojité rentgenové záření** Rtg záření patří do širokého spektra elektromagnetického záření. Jeho vlnová délka, se pohybuje v rozmezí  $10^{-12}$  m až  $10^{-8}$  m. Jedná se o záření se silnými ionizačními účinky. Spojité rtg záření bývá též nazýváno jako *brzdné záření* a vzniká zpomalením urychleného primárního elektronu ve zkoumaném vzorku. Elektron nepružně interaguje s jádry atomů. Energetické ztráty jsou spojité a závislé na příslušném urychlovacím napětí a na úhlu dopadu mezi primárním svazkem a vzorkem. Spojitá složka rtg záření, emitovaná ze vzorku, zhoršuje výsledky analýzy charakteristického rtg záření. Spojité rtg záření je polychromatické, má spojité energetické spektrum a jsou v něm obsaženy fotony různých vlnových délek. Intenzita brzdného záření je funkcí energie (obr. 88). Intenzita se rychle zvyšuje v oblasti nízkých energií, ale velké množství





**Obrázek 88:** Intenzita brzdného rtg záření jako funkce energie.

energie brzdného záření je absorbováno ve vzorku a v detektoru, čímž intenzita postupně klesá k nule.  $E_0$  je energie elektronů způsobujících emisi rentgenového záření. Ve spektru na obr. 89 je patrná spojitá složka rtg záření mezi píky Au a Cu charakteristického rtg záření.



**Obrázek 89:** EDX spektrum zlatem pokovených latexových kuliček na povrchu měděné podložky. Mezi charakteristickými vrcholy je možné pozorovat spojitou složku spektra rtg záření ([http://www.trincoll.edu/~alehman/\\_images/Engr232\\_02/Au\\_latex\\_042302.gif](http://www.trincoll.edu/~alehman/_images/Engr232_02/Au_latex_042302.gif)).

**Charakteristické rentgenové záření** Při popisu charakteristického rtg záření můžeme vyjít z teorie, že jednotlivé elektrony se pohybují kolem jádra atomu v určitých orbitalech. Při aproximaci hovoříme o kruhových drahách neboli elektronových hladinách, nacházejících se v různé vzdálenosti od atomového jádra. Kvantová fyzika jednotlivým orbitalům (hladinám) přiřadila určité označení. Hladině, nacházející se nejbližší jádru, náleží označení K. Hladiny více vzdálené atomovému jádru se dále označují písmeny L, M, N. Počet hladin záleží na druhu atomu, přesněji na jeho protonovém čísle, které udává zároveň počet elektronů v obalu. Každé hladině náleží energie udávaná v elektronvoltech (eV).

Z důvodu rozštěpení energie jednotlivých hladin na více podhladin může mít například orbital L další tři podhladiny označené jako  $L_1$ ,  $L_2$ ,  $L_3$  (obr. 90). Tyto indexy se zvyšují s tím, jak se podhladiny vzdalují od jádra. Podobně je to u ostatních hladin.

Elektron patří mezi částice (fermiony) s poločíselným spinem a podléhající určitému pravidlu při obsazování jednotlivých hladin. Podle tohoto pravidla ne-



sledující vyšší hladiny, např. M. Emitované záření má opět svou charakteristickou energii a také své konkrétní označení. Energie jsou tabelovány a využívají se při *identifikaci složení vzorku*. Každý prvek periodické tabulky má své jedinečné rozložení energetických hladin a také jedinečné hodnoty energií při všech možných povolených přechodech mezi dvěma hladinami.

V přeneseném významu tyto energie slouží jako „otisky prstu“ každého chemického prvku a tímto způsobem je tedy možné zjistit chemické složení zkoumaného vzorku.

### 3.6. Detekce rentgenového záření

Pro získání charakteristického spektra a následné vyhodnocení charakteristického rtg záření, je důležitá rychlá a přesná detekce rtg záření vystupujícího ze vzorku. Elektronový mikroskop (SEM nebo TEM) může být vybaven analyzátozem, který provádí rozklad rtg záření podle energie (Energy Dispersive Spectrometer – EDS) nebo podle vlnové délky (Wavelength Dispersive Spectrometer – WDS). Protože systém EDS je běžnější, především z důvodu nižších pořizovacích nákladů a rychlejšího získání spektra, bude popsán především jeho princip; o WDS se zmíníme okrajově.

#### 3.6.1. EDS detektor rentgenového záření

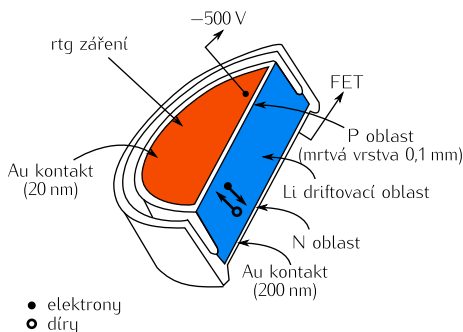
Dnešní EDS detektory jsou schopny registrovat více než  $10^6$  rtg pulzů za sekundu a rozřadit je v mnohokanálovém analyzátoru do podoby charakteristického spektra.

Zpravidla EDS rtg detektory (obr. 91) mají Si(Li) detektor chlazený kapalným dusíkem ( $LN_2$ ). Ten je schopen poskytnout mikroanalýzu s vysokým rozlišením čar charakteristických energií ve spektru.



**Obrázek 91:** Thermo Scientific NanoTrace detektor rtg záření (<http://www.thermo.com.cn/Product3820.html>).

Tyto typy detektorů využívají aktivní oblasti od 10 do 50 mm<sup>2</sup>. Energetická citlivost a vysoké rozlišení dovolují přesnou kvalitativní a kvantitativní analýzu. Schéma polovodičového Si(Li) detektoru ilustruje obr. 92.



**Obrázek 92:** Schéma Si (Li) polovodičového detektoru.

Detektor pracuje na principu obrácené polarizované PIN diody. Když rtg záření interaguje s polovodičem, dochází k přechodu elektronů z valenčního pásu do pásu vodivostního a vytvoření páru elektron-díra. Vysokoenergetické elektrony ztratí energii v křemíku (Si). Charakteristické rtg záření s typickou energií více než 1 keV může vygenerovat tisíce párů elektron-díra. Počet vytvořených párů elektron-díra je přímo úměrný energii přicházejícího rtg záření  $n = \frac{E_x}{\omega}$ , kde  $E_x$  je energie fotonů rtg. záření a  $\omega$  průměrná energie potřebná na vytvoření 1 páru (pro Si  $\omega_{Si} = 3,6$  eV). Amplituda napěťového impulsu je vyjádřena vztahem

$$U = \frac{en}{C} = \frac{eE_x}{\omega C},$$

kde  $e$  je elementární náboj a  $C$  celková kapacita systému.

Jelikož rtg záření proniká hmotou mnohem snadněji než elektrony, potřebujeme pro rtg záření vnitřní oblast mezi P a N polovodičem o tloušťce asi 3 mm k tomu, aby vytvořila páry elektron-díra. Používaný křemík obvykle obsahuje nečistoty akceptorového druhu (P polovodič), proto je dopován lithiem (Li). Lithium nasytí akceptorovou příměs a polovodič má jen vlastní vodivost. Elektrony a díry vygenerované rtg zářením představují velmi malý náboj (asi  $10^{-16}$  C). Sběr většiny signálů zajišťuje záporné předpětí mezi čelní a zadní stěnou, které jsou pokryty tenkou kovovou vrstvou z Au či Ni (10 až 20 nm na čelní stěně a 200 nm na zadní stěně). Aplikujeme-li závěrné napětí, záporný náboj je disklokován na P oblasti v přední části detektoru a kladný náboj na zadní části. Elektrony a díry jsou oddělené a může tak být měřen puls elektronů v zadním ohmickém kontaktu. Následně je signál zesílen tranzistorem řízeným polem (FET). Velikost tohoto pulsu je úměrná energii rtg záření, které vygenerovalo páry elektron-díra.

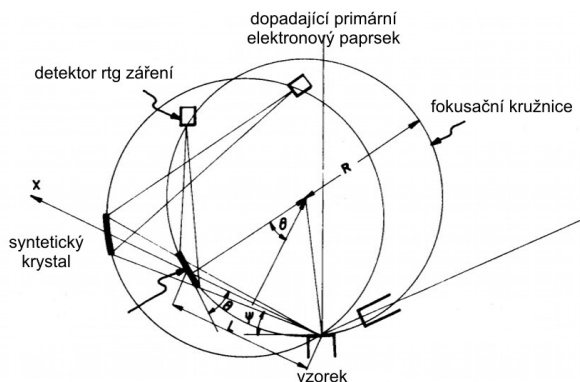
Chlazení detektoru je nutné z důvodu omezení tepelné energie, která by aktivovala páry elektron-díra a zvyšovala tak úroveň šumu. Dále by hladina šumu ve FET maskovala signály z nízkoenergetického rtg záření. Z těchto důvodů chladíme detektor i FET kapalným dusíkem ze zásobníku – Dewarovy nádoby.

Rozlišovací schopnost detektoru je běžně dosahována v hodnotách 140 eV na  $Mn_{K\alpha}$  a 80 eV na  $C_{K\alpha}$ . Mezi detektorem a komorou je beriliové okénko, které zabraňuje kondenzaci nečistot na detektoru. Odsunutím okénka je možno měřit na nižších energiích. Energie dopadajícího svazku elektronů musí být 2 až 2,5krát vyšší než je excitační energie (energie absorpční hrany) pro daný prvek (totéž platí i pro WDS detektor).

Vedle pojmu EDS „Energy Dispersive Spectrometer“ se můžeme setkat také s EDX, což je označení pro „Energy Dispersive X-Ray Analysis“. Existují dva přístupy jak provést EDX mikroanalýzu. *Kvalitativní EDX mikroanalýza*, kterou můžeme detekovat prvky v určité oblasti vzorku. Rozsah detekce prvků závisí na citlivosti konkrétního detektoru, na protonovém čísle studovaného vzorku a na délce expozičního času při načítání EDX spektra. *Kvantitativní EDX mikroanalýza* vychází z porovnání spekter. Srovnávají se intenzity čar rtg záření měřených prvků ve studovaném vzorku s intenzitami odpovídajících čar produkovaných z určitého standardu.

### 3.6.2. WDS detektor rentgenového záření

Tento způsob detekce charakteristického rentgenového záření vede k získání mnohem přesnějšího spektra energií a tím k přesnějšímu stanovení chemického složení analyzovaných mikroobjemů. Princip detekce je naznačen na obr. 93.



Obrázek 93: Princip detekce charakteristického rtg záření u WDS.

Při WDS se využívá Braggova vztahu  $2d \sin \theta = n \cdot \lambda$  pro difrakční maxima, z něhož lze při známém  $d$  určit  $\lambda$  a tím i energii rtg záření. Základem detekce je krystalový detektor se syntetickým krystalem, případně systémem krystalů s velkou vzdáleností krystalových rovin  $d$ , aby byla umožněna i analýza lehkých prvků (Be, B, C, O, N). Touto metodou však můžeme dosáhnout mnohem vyššího rozlišení energií až 5 eV (oproti 150 eV u EDS).

WDS	EDS
Vysoké spektrální rozlišení (2–6 eV)	Nízké spektrální rozlišení (130–155 eV)
Nižší účinnost při nabírání spektra (pomalejší)	Vysoká účinnost při nabírání spektra (rychlejší)
Vyšší citlivost na změnu geometrie vzorku	Nižší citlivost na změnu geometrie vzorku
Růdné artefakty ve spektru	Časté artefakty ve spektru
Nevyžaduje LN <sub>2</sub>	Vyžaduje LN <sub>2</sub>
Dochází k pohybu mechanických částí	Nedochází k pohybu mechanických částí
Je nutná relativně vysoká energie svazku	Nízká energie svazku není problémem
Nákladné zařízení	Méně nákladné zařízení

**Tabulka 1:** Porovnání WDS a EDS mikroanalytických metod.

### 3.6.3. Závislost velikosti excitačního objemu na urychlovacím napětí

Excitační objem je nejvíce ovlivněn urychlovacím napětím primárního svazku elektronů. Ve snaze dosáhnout většího excitačního objemu lze zvýšit energii dopadajících elektronů na desítky keV. Primární paprsek s vyšší energií dokáže proniknout hlouběji do vzorku. Elektronový svazek paprsků musí mít energii větší než je kritická hodnota energie ( $E_c$ ), potřebná k ionizaci atomu uvolněním elektronu z vnitřní hladiny elektronového obalu atomu. Hodnota  $E_c$  se zvyšuje pro elektrony v hladině nejbližší jádru. Pro K slupku je  $E_c$  vyšší než pro hladinu L. Atomy s vyšším protonovým číslem mají více elektronů v obalu a proto je i  $E_c$  vyšší. Jak velké hloubky excitační objem dosáhne, lze přibližně vypočítat pomocí střední hloubky penetrace ve vzorku podle vzorce

$$R = 0,33(E_0^2 - E_c^2)/\rho,$$

kde  $R$  je střední hloubka penetrace,  $E_0$  energie primárního elektronu (v keV),  $E_c$  kritická ionizační energie (keV) (pro  $Au_{M_{e1}} = 2,123$  keV) a  $\rho$  hustota vzorku (v g/cm<sup>3</sup>) ( $\rho_{Au} = 19,32$  g/cm<sup>3</sup>). Následující tabulka 2 obsahuje vypočtené hodnoty hloubky penetrace ve zlatě pro hodnoty urychlovacího napětí 5 kV, 10 kV a 15 kV.

$E_0$ [keV]	5	10	15
$R$ [nm]	35	163	376

**Tabulka 2:** Střední hloubky penetrace pro jednotlivá urychlovací napětí.

Volba optimálního urychlovacího napětí je důležitá pro optimalizaci podmínek EDX mikroanalýzy. Souvisí s účinným ionizačním průřezem a obecně se dá konstatovat, že větší urychlovací napětí usnadňuje excitaci, zvyšuje penetraci elektronů do hloubky, ale tím zvyšuje i absorpci rtg kvant vygenerovaných ve vzorku. Kvůli účinkům absorpce, která může zhoršit vyhodnocení EDX spekter, by volba primární energie elektronu neměla být příliš vysoká. Použité urychlovací napětí se zpravidla pohybuje kolem 15 kV.

### 3.6.4. Příprava vzorků pro elektronovou mikroanalýzu

Naprášená vrstva pro eliminaci povrchového náboje u nevodivých preparátů (biologické preparáty, ...) způsobuje problémy při analýze překryvem píků naprá-

šeného kovu (čím těžší prvek, tím více čar). Preparáty musí být čisté a nekontaminované (hydrokarbonáty, prach, ...).

### 3.7. Parametry zobrazení a úprava obrazu v SEM

Zatímco v TEM můžeme dosáhnout jen pseudo-3D efektu při pozorování tenkých řezů, charakteristickým obrazem v SEM je 3D obraz s vysokou hloubkou ostrosti. Obraz v SEM vzniká bod po bodu, řádek po řádku skenováním povrchu vzorku. Zvětšení obrazu je proto rovno podílu velikosti  $L$  hrany obrazu na monitoru a velikosti intervalu  $L'$  zobrazovaného povrchu vzorku

$$Z = \frac{L}{L'}$$

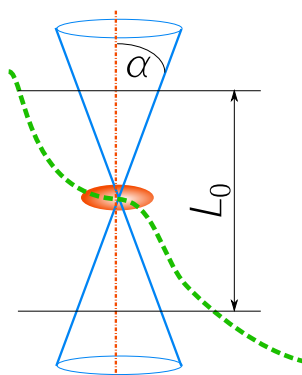
Rozsah zvětšení používaných v SEM se pohybuje v rozmezí od 5 až po 600 000. Maximální hodnota zvětšení SEM je současně rovna velikosti jeho užitečného zvětšení.

Rozlišovací mez SEM závisí především na průměru stopy fokusovaného elektronového svazku na povrchu preparátu. U nejběžnějších přístrojů s wolframovou přímo žhavenou katodou se rozlišovací mez pohybuje v rozmezí 10 až 15 nm. V novějších typech výkonných SEM se používají autoemisní elektronové trysky, které mají mnohem menší průměr katody. Tyto typy SEM pak umožňují dosáhnout rozlišovací meze až 1 nm. Rozlišovací mez SEM je (stejně jako v TEM) dále ovlivněna mnoha vadami zobrazení (chromatická vada, otvorová vada, astigmatismus, aj.). Tyto vady lze minimalizovat clonkami a speciálními druhy elektromagnetických čoček, které jsou umístěny v elektronoptické soustavě SEM.

Pro hloubkou ostrosti  $L_0$  obrazu vytvořeného pomocí SEM (obr. 94) platí vztah:

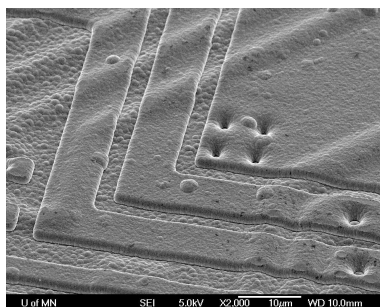
$$L_0 = \frac{d_0}{Z\alpha},$$

kde  $d_0$  je rozlišovací mez oka (0,2 mm),  $\alpha$  aperturní úhel (v rad) a  $Z$  zvětšení SEM.

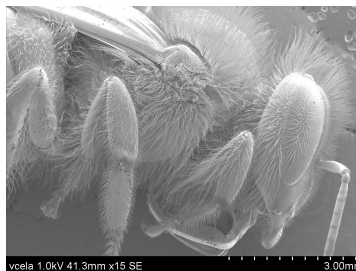
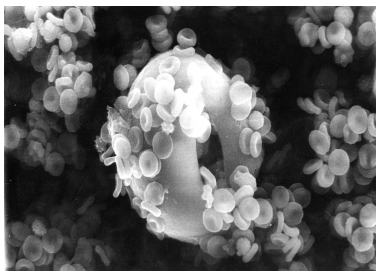


Obrázek 94: Znázornění intervalu  $L_0$  (hloubka ostrosti).

Z uvedeného vztahu je zřejmé, že s rostoucím zvětšením SEM klesá hloubka ostrosti vzniklého obrazu. Proto musíme při zobrazování pomocí SEM volit kompromis mezi zvětšením a hloubkou ostrosti obrazu tak, abychom dosáhli optimální hloubky ostrosti v zobrazených detailech povrchu preparátu [7]. Pro případ plochého zobrazení povrchu integrovaného obvodu (obr. 95) není nutná vysoká hloubka ostrosti a převažuje potřeba dosáhnout vyšší rozlišovací schopnosti, zatímco u preparátu na obr. 96 je tomu naopak. Může jím být hmyz, členité krystaly nebo jiné objekty. Ve všech případech je pro nás rozhodující dostatečná hloubka ostrosti, zajišťující přijatelně ostré zobrazení v celém objemu vzorku.



**Obrázek 95:** Povrch integrovaného obvodu.



**Obrázek 96:** Krevní buňky a snímek hmyzu.

Uvedme ve stručném přehledu nejčastější příčiny vedoucí ke snížení kvality výsledného obrazu.

#### 1. *Neostrost způsobená:*

- špatnou volbou urychlovacího napětí,
- nestabilitou zdroje elektronového svazku, např. způsobená nedostatečným žhavením katody,
- chybným seřízením primárního elektronového svazku,
- nedokonalým vycentrováním aparatury objektivu,
- nedostatečnou korekcí astigmatismu,
- příliš velkým zvětšením,



- špatně fokusovaným svazkem elektronů (nezaostřeno),
- značnou plošnou hustotou náboje na povrchu vzorku,
- nezaostřeným fotoaparátem nebo CCD kamerou.

2. *Celkově nízká kvalita obrazu může být způsobena:*

- špatnou volbou urychlovacího napětí,
- chybným nastavením velikosti proudu primárního svazku elektronů,
- zřetelným šumem vyvolaným nadměrným zesílením fotonásobiče,
- chybně nastaveným jasem a kontrastem pro snímání obrazu,
- nevhodnou vzájemnou polohou vzorku a detektoru,
- nedokonale připraveným vzorkem,

3. *Faktory způsobující lokální poruchy obrazu z důvodu:*

- nestability emise elektronového děla,
- značné plošné hustoty náboje na povrchu vzorku,
- mechanických vibrací,
- vnějšího elektromagnetického pole,
- nečistot na vzorku.

4. *Deformace vzorku může být způsobena:*

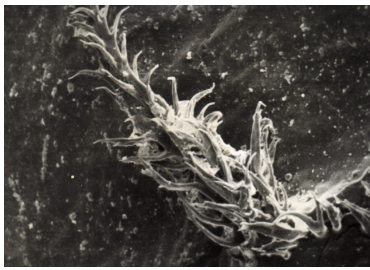
- termickým poškozením primárním elektronovým svazkem,
- změnou teplotního gradientu vzorku,
- zkreslením způsobeným náklonem preparátu,
- velkým plošným nábojem na povrchu vzorku,
- poškozením vzniklým při přípravě vzorku.

Existuje celá řada způsobů, jak se výše uvedeným problémům vyhnout. Dnešní přístroje dokážou i samy optimalizovat parametry pro dosažení dokonalého snímku. Musíme však mít minimální hodnotu proudu ve svazku, abychom nezvyšovali šum detektoru. Následující obrázky 97a) až 97d) porovnávají různé hodnoty urychlovacího napětí v závislosti na prokreslení detailů vzorku.

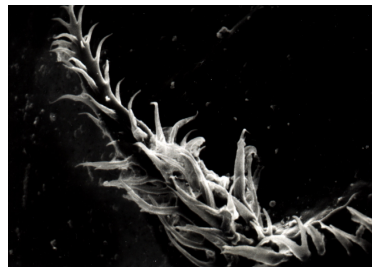
**Nesprávná volba urychlovacího napětí v SEMu**

Při charakterizaci vzorků pomocí skenovací elektronové mikroskopie je špatná volba urychlovacího napětí jedním z nejčastějších problémů. V případě nevodivých vzorků (pokud nejsou pokoveny) je třeba volit nízká napětí (0,5–1,5 kV). Pokud by bylo nastaveno vyšší napětí, docházelo by ke značnému hromadění elektronů v preparátu a jeho nabíjení. To se projevuje deformacemi měřeného vzorku a ztrátou ostrosti obrazu. Na snímcích se nabíjení preparátu projevuje světlými plochami (obr. 98), které zcela znehodnocují snímek.

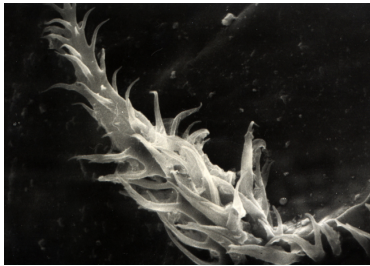
Při pozorování některých nevodivých vzorků v režimu sekundárních elektronů při urychlovacích napětích do 3 kV je možné pozorovat zajímavý jev. Místo obrazu



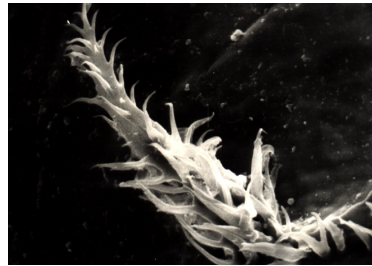
a) struktura zřetelná UN 5 kV



a) malý povrchový náboj UN 15 kV

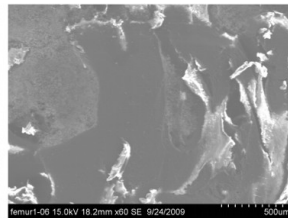
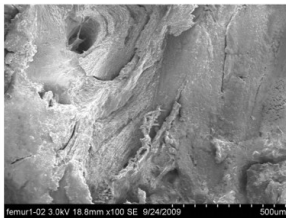


a) nevýrazná struktura UN 30 kV



a) velký povrchový náboj UN 45 kV

**Obrázek 97:** Prokreslení detailů biologického vzorku při různých hodnotách urychlovacího napětí.

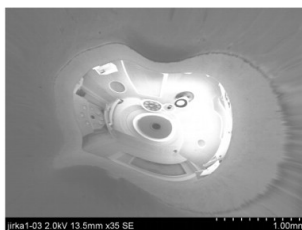


**Obrázek 98:** Povrch chrupavky kloubu zobrazený v režimu SE správně (vlevo) a znehodnocený efektem „nabíjení“ (vpravo).

pozorovaného preparátu bylo sekundárními elektrony vytvořeno tzv. „zrcadlení detektorů“ (obr. 99). Jev zrcadlení lze vysvětlit následujícím způsobem. V analyzovaném preparátu se hromadí elektrony, které díky špatné vodivosti vzorku nejsou z preparátu odváděny. Ty poté vytvoří natolik silnou bariéru, že další dopadající primární elektrony se pouze odpudí od preparátu a dopadají na vnitřní stěny mikroskopu, kde vybudí sekundární emisi. Vzorek se tedy stává v podstatě zrcadlem.

### 3.8. Environmentální skenovací elektronová mikroskopie

Environmentální skenovací elektronová mikroskopie (eSEM) představuje jeden z vývojových trendů v elektronmikroskopických metodách. Umožňuje zkoumání vzorků živé i neživé přírody v podmínkách vysokého tlaku plynů až 3 kPa, ve kterých se nejen povrch nevodivého preparátu nenabíjí, ale dokonce lze uchránit vlhký vzorek před vyschnutím. Přístroje eSEM přitom umožňují pracovat i ve va-



**Obrázek 99:** Zrcadlení preparátové komory SEM.

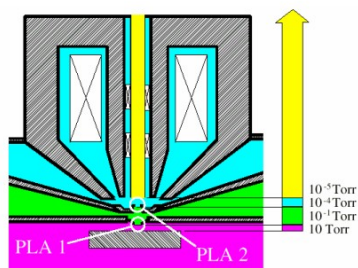
kuu pod  $10^{-3}$  Pa, odpovídajícím podmínkám pozorování v klasickém skenovacím elektronovém mikroskopu.

Je-li tlak plynů v komoře vzorku eSEM vyšší než přibližně 200 Pa, dochází k ionizačním srážkám primárních i signálních elektronů s atomy a molekulami plynů v okolí preparátu a vzniklé ionty kompenzují nabíjení vzorku dopadajícími elektrony. Tento proces umožňuje pozorování elektricky nevodivých vzorků bez nutnosti pokrytí jejich povrchu elektricky vodivou vrstvou. Je-li v komoře vzorku tlak plynů, nejlépe vodních par, vyšší než 611 Pa (při teplotě  $0^{\circ}\text{C}$ ), lze pozorovat objekty obsahující menší či větší množství vody bez vyschnutí a zborcení jejich struktury.

### 3.8.1. Možnosti eSEM

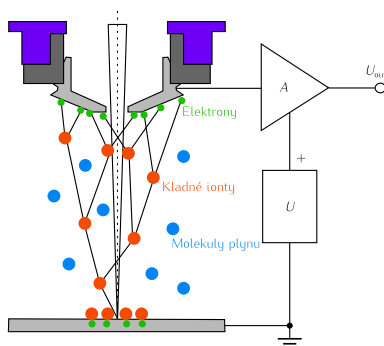
- Studium detailů struktury povrchů vodivých i nevodivých vzorků pocházejících z živé i neživé přírody o rozměrech nanometrů až milimetrů.
- Studium vlhkých vzorků a vzorků na fázovém rozhraní skupenství (procesy kondenzace, vypařování, tání, tuhnutí, atd.)
- Studium vzorků v podmínkách mechanického i tepelného namáhání v prostředí vakua, nebo různých druhů plynů s volitelnou vlhkostí.
- Studium materiálového, topografického, popř. napětového kontrastu (umožňujícího zobrazit nahromadění a rozložení elektrického náboje, např. na hradlech tranzistorů).
- Studium reakcí různých chemických látek v komoře vzorku mikroskopu.
- Studium chemicky agresivních látek, například bateriových hmot.
- Studium různých druhů vzorků v podmínkách blízkých se atmosférickému tlaku.

eSEM mikroskop musí mít v tubusu stejně vysoké vakuum, jako ostatní elektronové mikroskopy. Prostor preparátové komory, kde je vakuum nízké, je odděleno speciální tlakovou clonkou (obr. 100). Detektory, které jsou v eSEM využívány, tolerují přirozené prostředí preparátu (proto také environmentální mikroskopy). Nejsou citlivé na světlo a teplo a umožňují zvýšení účinnosti detekce. Z obr. 101



**Obrázek 100:** Speciální tlakové clonky oddělující prostor tubusu s vysokým vakuem a prostor preparátové komory s nízkým vakuem (až s atmosférickým tlakem) (zdroj: prospekt firmy FEI).

vyplývá, že dochází k ionizaci plynu uvolněnými elektrony ze vzorku. Ionizovaný plyn nejenže kladnými ionty potlačuje nabíjení preparátu, ale při ionizaci dochází k vyšší tvorbě elektronů, které zvyšují účinek detekce. Následující snímky na obr. 102 ukazují některé z mnoha aplikací, které by nebylo možné realizovat v klasickém SEM.

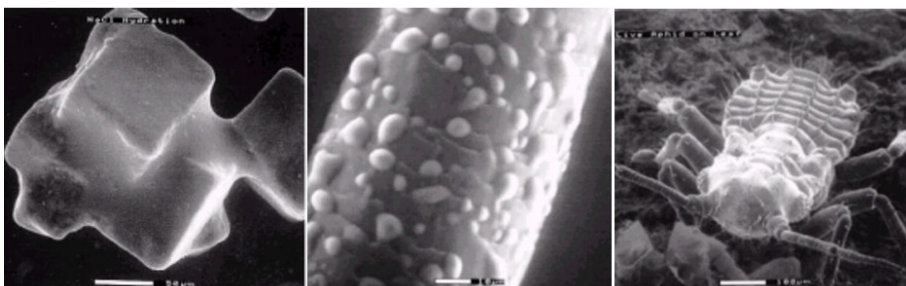


**Obrázek 101:** Schematické znázornění ionizačních procesů v eSEM po dopadu primárních elektronů na vzorek.

### 3.9. Příprava vzorků pro TEM

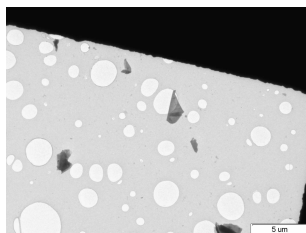
Hlavním cílem přípravy vzorku jak pro TEM, tak i pro SEM, je získat reprodukovatelným způsobem přesnou morfologickou informaci o preparátu a maximálním způsobem potlačit jakékoli artefakty v jeho objemu.

Pro zachycení ultratenkých řezů, replik povrchu nebo suspenze buněk nebo částic se používá tenká fólie, transparentní pro elektrony. Podmínkou je, aby byla stabilní vůči urychleným elektronům a měla nízkou zrnitost. Z důvodu eliminace absorpce elektronů ve fólii musí mít tloušťku kolem 20 nm. Nejvíce se používají uhlíkové a plastové fólie. Uhlíkové mají často otvory, aby pozorované struktury nebyly ovlivněny uhlíkovou vrstvou (holey carbon – obr. 103). Jako plastová fólie



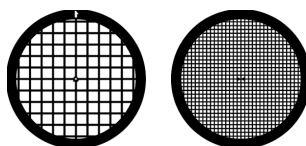
**Obrázek 102:** Příklady aplikací eSEM: zleva rozpouštění krystalů NaCl, kapky vody na lidském vlase a živá mšice (zdroj: prospekt firmy FEI).

se používá Formvar ředěný v etylendichloridu o koncentraci menší než 0,5%). Příprava plastové fólie je snadná, uhlíkové vrstvy je možné připravovat napařováním. V dnešní době je možné zakoupit uhlíkové fólie, nanesené přímo na podložní sítku.



**Obrázek 103:** Holey carbon fólie.

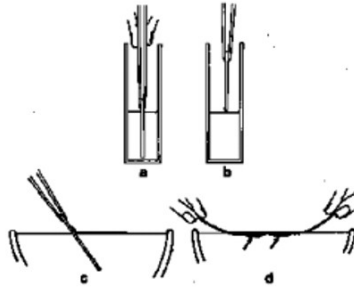
Sítka pro TEM představuje pevnou podporu pro fólie a ultratenké řezy nebo suspenze částic. Bývá vyrobena z mědi, která je diamagnetickým materiálem, neovlivňujícím procházející elektrony. Sítky se liší procentem otevřené plochy a perioda síťování se označuje v čarách na palec (obr. 104).



**Obrázek 104:** Podložní sítky s označením Mesh 100 a Mesh 300 (čar/palec) (zdroj: katalog firmy Pelco).

Postup nanesení fólie na sítku je znázorněn na obr. 105:

- a – sklíčko ponořit do roztoku s Formvarem,
- b – vysušit v bezprašném prostředí,
- c – fólii splavit na hladinu vody,



**Obrázek 105:** Postup nanesení formvarové fólie na sítku.

d – podložní sítku dát na proužek papíru, ponořit pod fólii a vytáhnout.

Obecně existují dva způsoby jak připravit vzorky pro TEM:

1. Do mikroskopu přímo vkládáme celý studovaný objekt, připravený podle obvyklých pravidel.
2. Druhý způsob představuje nepřímé pozorování ultrastruktury, kdy v mikroskopu pozorujeme repliku (otisk) studovaného objektu, nikoliv samotný objekt.

### 3.9.1. Repliky

Jak již bylo uvedeno, vzorky silnější než  $0,1\ \mu\text{m}$  nemohou být v TEM studovány z důvodu absorpce a rozptylu elektronů v látce. Zejména u kovů, které není možné připravit v podobě tenkého řezu, bylo nutné najít způsob, jak zajistit *otisk povrchu*. Metody vytváření replik se dnes používá zejména v kombinaci s metodami mrazového leptání.

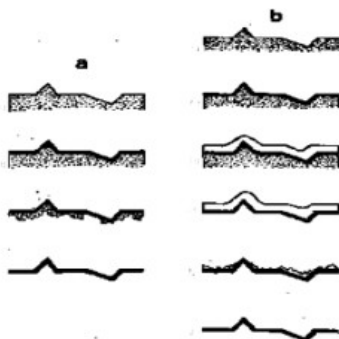
Repliky se dělí na jednostupňové a dvoustupňové, pozitivní a negativní. *Jednostupňový pozitivní otisk* se utvoří tak, že objekt se ve vakuu nejprve šikmo nastínuje kovem a pak se na něj kolmo napaří silnější krycí vrstva uhlíku. Replika se potom splaví nebo sejme pomocí plastické hmoty. *Jednostupňový negativní otisk* se připraví tak, že se na objekt kolmo napaří ve vakuu vrstva uhlíku a stínuje se až sejmutá replika (obr. 106). Není-li možné repliku jednoduše sejmout, musí



**Obrázek 106:** Tvorba negativní repliky: nanesení plastického (nebo C) filmu, sloupnutí a stínování.

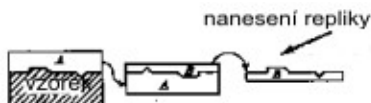
se snímat jednostupňový otisk pomocí podpůrné vrstvy plastické hmoty, která se

nechá zaschnout, potom se plastická hmota strhne pomocí samolepicí pásky, a ta se rozpustí v acetonu (obr. 107).



**Obrázek 107:** Způsob vytváření replik: a) rozpuštěním vzorku a b) odtržením z povrchu a odstraněním pásky.

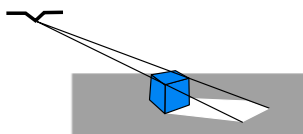
*Dvoustupňový negativní otisk* vznikne, pokud se na objekt nanese dostatečné množství výše zmíněných roztoků kolodia nebo formvaru a po zaschnutí se první stupeň repliky sejme pomocí samolepicí pásky. Na otiskovou stranu se napaří ve vakuu vrstva uhlíku a tato uhlíková vrstva se šikmo nastříne kovem. V závěru se rozpustí samolepicí páska i plastická hmota. U pozitivního dvoustupňového otisku se po sejmutí repliky nejprve otisková strana postříne kovem a pak se na ni napaří vrstva uhlíku (obr. 108). Ve všech případech tloušťka repliky nesmí přesáhnout 20 nm.



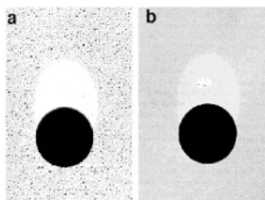
**Obrázek 108:** Příprava pozitivní repliky.

### 3.9.2. Stínování těžkými kovy

Ke zvýraznění povrchové topografie ultratenkého řezu nebo repliky se používají „těžké“ kovy, které se napařují na povrch kovu ze strany (obr. 109). Kovy musí mít vysokou hustotu a musí být inertní vzhledem k chemickým vlivům a teplotě. Používají se Au, Pd, Cr, Ni, Ge, Pt, U. Nevýhodou Cr je, že pod 5 nm vykazuje granularitu. Slitina Pt a Pd (v poměru 3:1) je vhodnější než čistá platina. Tloušťka stínované vrstvy je 0,3–1,5 nm. Na obr. 110 jsou latexové kuličky stínované zlatem a slitinou zlata a paladia.



**Obrázek 109:** Princip stínování.



**Obrázek 110:** Latexové kuličky (0,3 μm) stínované a) Au, b) Au-Pd.

### 3.9.3. Metody mrazového sušení, lomu a odpařování

Kromě chemické fixace lze pro TEM připravit vhodné preparáty z biologických objektů i za použití fyzikálních postupů, tedy nejčastěji prudkým snížením teploty. Jejich předností je, že zachovávají preparát co nejbližší nativnímu stavu. Pro tyto metody existuje řada přístrojů, které umožňují biologické objekty zmrazovat, krájet, sušit atd.

## 3.10. Příprava preparátů pro skenovací elektronovou mikroskopii

Skenovací elektronový mikroskop (SEM) má díky svému analytickému potenciálu široké uplatnění v řadě vědních a průmyslových oborů. V biologii je důležitý pro lékařské vědy (anatomie, histologie, patologie, ...), botaniku a zoologii. Uplatňuje se v geologii, metalografii, mikroelektronice, strojírenství, gumárenském průmyslu apod.

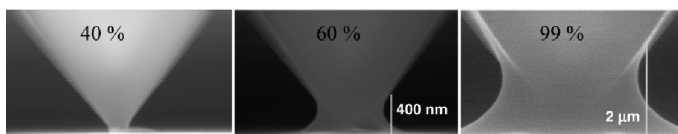
V SEM je možné pozorovat objemné preparáty, jejichž velikost je limitována velikostí preparátové komory. Vodivé materiály (kovy, polovodiče) není třeba zvlášť připravovat. Biologické preparáty zpravidla vyžadují speciální přípravu, neuvážeme-li mikroskop s volitelným vakuem (environmentální SEM) nebo nepracujeme-li v režimu nízkého napětí (low voltage SEM).

U biologických preparátů je třeba posoudit, zda se jedná o tkáň tvrdé či měkké. Tvrdé tkáně, jako jsou např. kosti, vlasy, zuby, kutikulární vrstvy u hmyzu, schránky rozsivek, dřevo aj., vyžadují pouze zajištění vodivosti povrchu. Měkké tkáně vyžadují složitější postup zahrnující fixaci, odvodnění, vysušení, pokovení, tedy zhruba stejný postup jako u TEM.

## 3.11. Příklady aplikací TEM a SEM

V této kapitole si stručně uvedeme některé aplikace elektronové nanoskopie, ve kterých nastíníme její přínosy. Následující kapitoly budou věnovány třem případovým studiím.

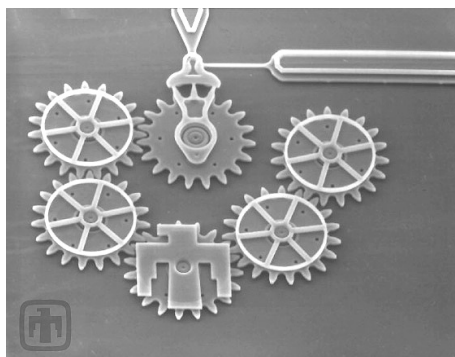




**Obrázek 111:** Vodní meniskus mezi hrotem a vzorkem při různé relativní vlhkosti (doi:10.1021/la0512087).

Skenovací elektronová mikroskopie se velmi často používá k zobrazení mikro a nanostruktur. Jednou z aplikací může být třeba zobrazení hrotů pro STM (obr. 4) a AFM (obr. 19). Nemusí se zobrazovat jenom hroty samotné, ale i ve funkčním uspořádání. Například pro mnoho nanolitografických aplikací, které využívají SPM, je nutné, aby mezi hrotem a vzorkem vznikl vodní meniskus. Ten však nemůžeme pozorovat v běžném SEMu, protože se kvůli vysokému vakuu vypaří. Ale ve eSEMu už to možné je (obr. 111).

Dále se často zobrazují litograficky vytvořené struktury, například různé mikroelektromechanické systémy, jako jsou soustavy ozubených převodů (obr. 112), senzory apod. I zde nemusí jít jen o statické zachycení topologie, ale i o sledování funkce obvodu.

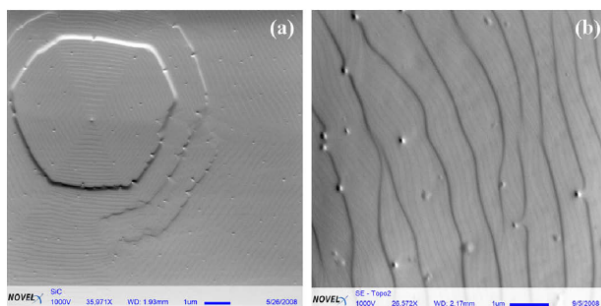


**Obrázek 112:** Soustava šesti ozubených kol, která je schopna pracovat až do frekvence 250 tisíc ot./min. Průměry kol jsou řádově desítky μm (<http://mems.sandia.gov/gallery/images/gc7.jpg>).

Skenovací elektronová mikroskopie obecně není schopna měřit výšky objektů, spíše jen odhadovat. Nicméně se ukazuje, že je schopna zachytit výškové rozdíly menší než 1 nm (obr. 113).

Častá aplikace transmisní elektronové mikroskopie je v oblasti studia růstu a vnitřní struktury nanostruktur – nanočástic, nanodrátků, nanotrubiček apod. S výhodou se využívá schopnost TEMu dosáhnout atomárního rozlišení. Ve většině případů použití TEMu jde o studium velikosti částic nebo zachycení jejich fázové struktury. Někdy se však metoda využívá ke studiu samotného růstu systémů, kde poskytuje nedocenitelné informace.

Na obr. 114 je zachycen proces růstu Si nanodrátku, který vyrůstá pod částicí katalyzátoru. Na obr. A je vidět katalyzátor ještě v kapalném stavu, kdežto na obr.



**Obrázek 113:** Zobrazení struktur na povrchu 6H-SiC: vlevo detail. Následná AFM analýza ukázala, že nejmenší výškové přechody, které byly SEMem zachyceny, jsou 0,8 nm (doi:10.1016/j.mee.2008.11.065).

B už je v pevném stavu (jsou vidět krystalografické stěny). Na dalších obrázcích C až I je zachycen proces následného vytváření heteropřechodu Si-Ge-Si. Z podobné oblasti, ale s větším rozlišením, pochází aplikace na obr. 115, na které obdobnou technikou roste safírový nanodráť. Z následných snímků je možné vyhodnotit nejen krystalografickou orientaci nanodráťu, ale také vysledovat, že přenos hmoty není jednosměrný, ale má oscilující charakter.

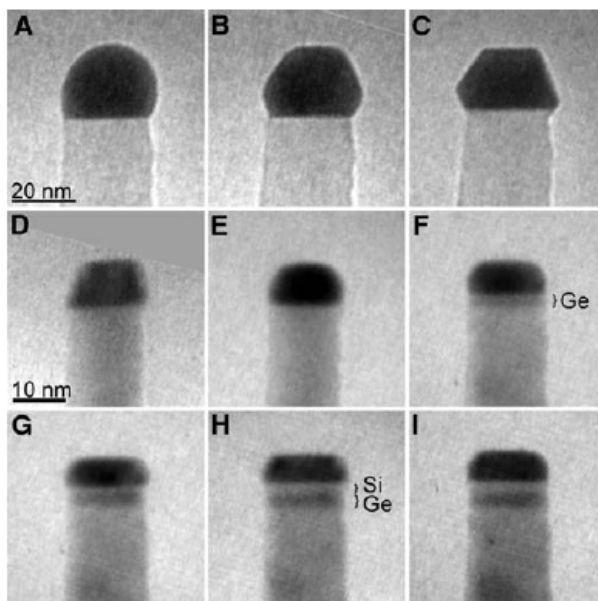
Druhou výhodou TEMu je schopnost vidět dovnitř materiálu. Toho lze využít např. při studiu tvorby dutých nanočástic. Na obr. 116A jsou vidět krychlové nanočástice stříbra, které jsou plné. Po dalším zpracování se rozpustí vnitřek částic a získáme duté nanočástice, které lze v TEMu velice snadno odlišit od plných (obr. 116B). Pro srovnání, na obr. G a H jsou tytéž částice zachycené v SEMu. I zde je možné rozlišit plné a duté částice (zřejmě díky malé tloušťce stran je i SEM schopn vzorek prosvítit), ale obrazy dutých částic jsou zkreslené.

Schopnost SEMu prosvítit některé objekty je pěkně vidět na příkladu grafenů (obr. 117), tj. jedné vrstvy grafitu. Na obrázku jsou dobře vidět hrany grafenů, ale také vrstva stříbrné pasty, na kterou byly naneseny. Jediný rozdíl oproti prázdným místům je v ostrosti obrazu – grafen zde působí jako matné sklo.

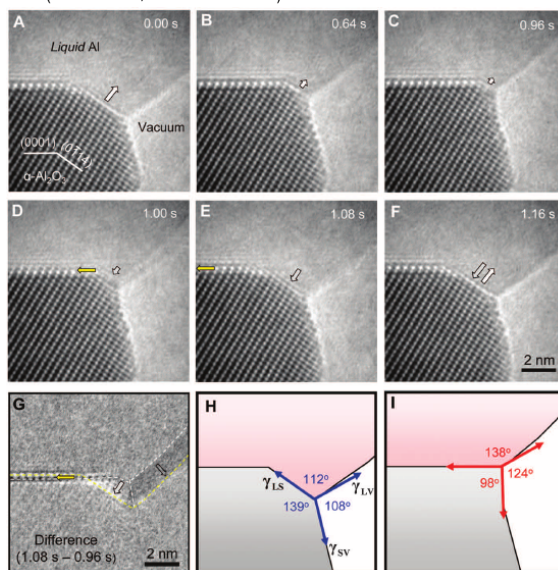
Zvláště v případě studia uhlíkových struktur, jako jsou fulereny a nanotrubičky, má schopnost vidět dovnitř s atomárním rozlišení své výhody. Příkladem může být aplikace, ve které se vnitřní prostor uhlíkové nanotrubičky naplní uhlíkovými fulereny  $C_{80}$  (obr. 118). Protože tyto fulereny jsou nesymetrické, můžeme dokonce sledovat otáčení fullerenu uvnitř nanotrubičky.

### 3.11.1. Využití TEM při charakterizaci magnetosomů

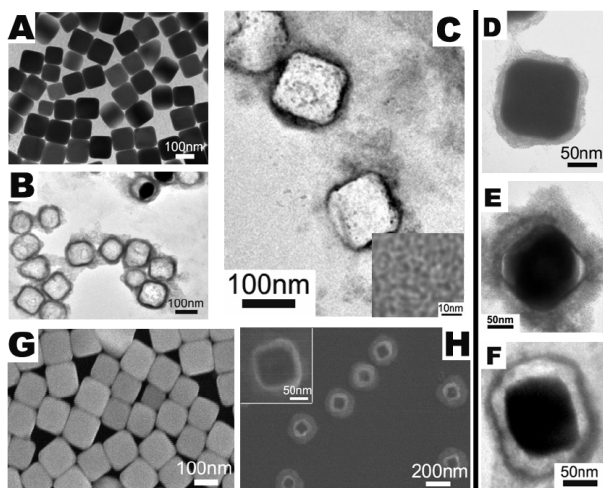
Superparamagnetické nanočástice oxidů železa s vhodnou povrchovou modifikací mohou být využívány v řadě biochemických a biomedicínských aplikací, jako například v zobrazení pomocí magnetické rezonance (MRI), k léčbě nádorů apod. Všechny tyto aplikace vyžadují nanočástice vykazující vysokou hodnotu magnetizace, minimální distribuci velikosti, netoxicitu a biokompatibilitu. Jedním z nevhodnějších materiálů, splňující tyto podmínky, je biogenní magnetit ( $Fe_3O_4$ ), vyskytující se v tzv. magnetotaktických bakteriích.



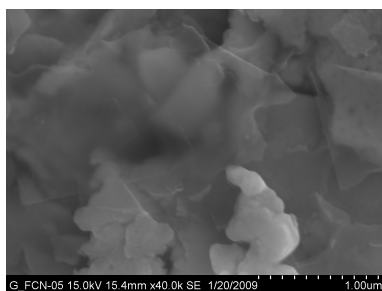
**Obrázek 114:** Proces růstu Si nanodrátu a vytváření Si-Ge-Si přechodu (doi:10.1126/science.1178606).



**Obrázek 115:** Oscilující charakter růstu sařírového nanodrátu (doi:10.1126/science.1190596).



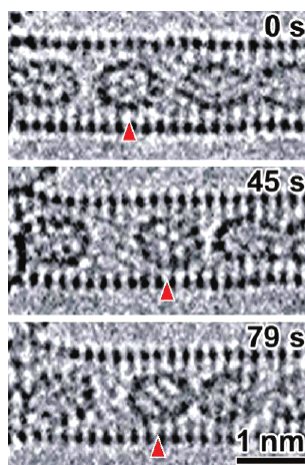
**Obrázek 116:** Zobrazení plných a dutých nanočástic stříbra (doi:10.1088/0957-4484/19/04/045607).



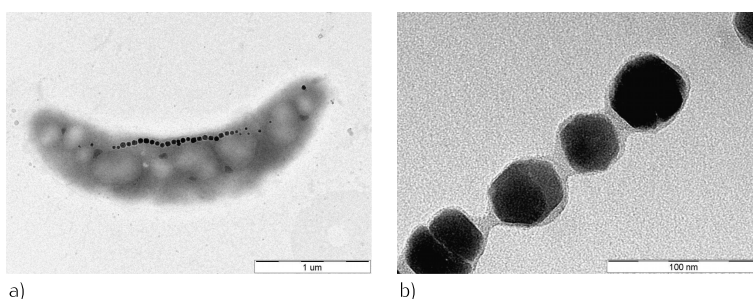
**Obrázek 117:** Grafeny v SEMu.

*Magnetotaktické bakterie* (obr. 119a) jsou mikroorganismy, objevené roku 1975, které uvnitř svého těla syntetizují magnetické částice. Vyskytují se běžně ve sladkovodních i mořských prostředích, prokázána byla jejich přítomnost v lokalitách v USA, Německu, Číně, Japonsku a Brazílii. Existuje několik druhů těchto bakterií, lišících se tvarem, velikostí či počtem magnetických částic, tzv. magnetosomů. Magnetosomy pak v bakteriích vytváří řetízky, které se orientují jako štělky kompasu, které jsou vyrovnány souběžně se zemským magnetickým polem a umožňují tak, aby bakterie snáze našla její nejpřirozenější prostředí – mikroaerofilní zónu rozhraní kal/voda.

Předností magnetotaktických bakterií je výroba biokompatibilního magnetitu. Magnetotaktické bakterie byly testovány pro použití v řadě aplikací, například identifikaci severního a jižního pólu silně magnetických granul v meteoritech nebo k rozpoznání jemných magnetických materiálů. Byly také testovány v případě adsorpce iontů těžkých kovů v odpadních vodách. Z hlediska nanomateriálového výzkumu jsou zajímavé především kmeny magnetotaktických bakterií, které jsou kultivovatelné a dostupné v čisté kultuře.



**Obrázek 118:** Fullereny uvnitř uhlíkové nanotrubičky (doi:10.1021/nl0720152).

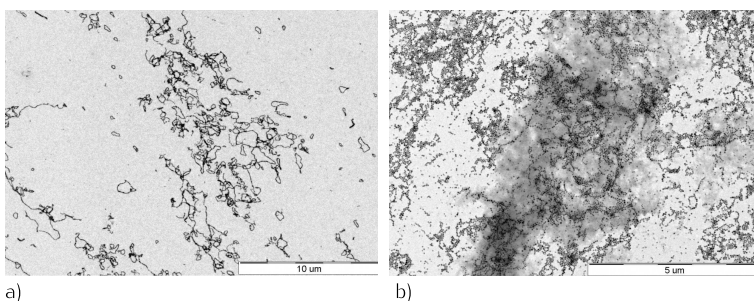


**Obrázek 119:** a) Magnetotaktická bakterie, b) magnetosomy společně se svou biologickou membránou.

Výhodou bakteriálních magnetosomů je jejich shodný tvar a fosfolipidová membrána (obr. 119b), která umožňuje navázání bioaktivních látek. Magnetosomy tedy mohou sloužit jako nosiče léků, enzymů nebo protilátek v biologických oborech.

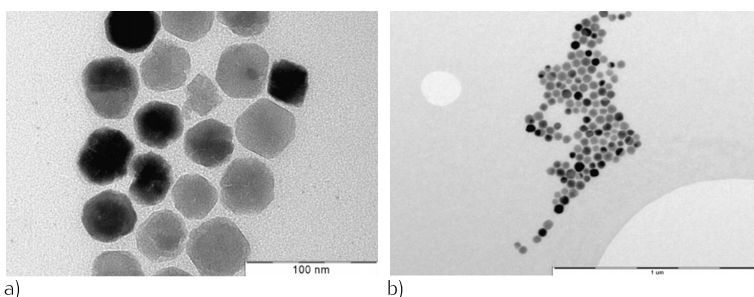
Kultivace magnetotaktických bakterií je jedním z nejdůležitějších procesů při získávání magnetosomů. Magnetotaktické bakterie a jejich magnetosomy, zmiňované v této aplikační části, byly získány z kultivace bakterií *Magnetospirillum gryphiswaldense*. Z jednoho litru kultivace lze po rozbití bakterií získat magnetickou separací až 0,35 g magnetosomů v suchém stavu.

**Úprava povrchu magnetosomů a funkcionalizace** Hlavním cílem skupiny, zabývající se v Regionálním centru pokročilých technologií a materiálů PŘF UP v Olomouci magnetotaktickými bakteriemi, je získat čisté magnetosomy bez zbytků bakterií, obalit je a navázat na ně další látky vhodné pro využití v bioaplikacích. Proto bylo nejprve třeba ověřit, zda jsou izolované magnetosomy čisté, tzn. bez zbytků rozbitých bakterií. Na obr. 120a) je zřejmé, že suspenze s magnetosomy neobsahuje žádné zbytky rozbitých bakterií, avšak na obr. 120b), na kterém jsou magnetosomy získané z jiné kultivace, jsou patrné zbytky rozbitých bakterií.



**Obrázek 120:** Magnetosomy a) bez zbytku rozbitých bakterií, b) se zbytky rozbitých bakterií.

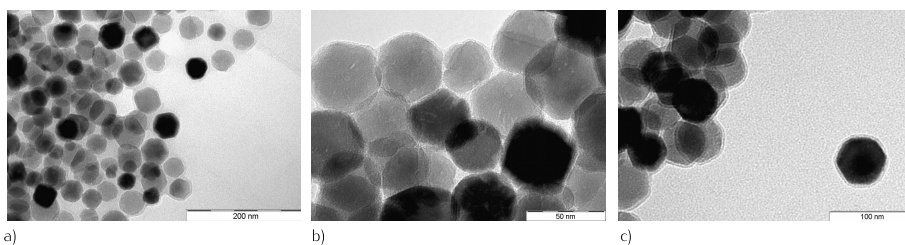
**Povrchová modifikace magnetosomů** Z obr. 120b) je zřejmé, že magnetosomy se nevyskytují samostatně, ale vytváří aglomeráty. Pro řadu aplikací je velice důležité magnetosomy chemicky stabilizovat a zabránit tak jejich aglomeraci a degradaci. Toho je možné dosáhnout obalením magnetosomů organickými látkami včetně surfaktantů a polymerů, nebo obalením organickou vrstvou, jako např. polysacharidy. V mnoha případech pak obalové slupky magnetosomy nejen stabilizují, ale mohou sloužit i pro jejich další funkcionalizaci, v závislosti na dalším využití. Prvním krokem povrchové modifikace magnetosomů bylo odstranění jejich membrány pomocí cetyl trimethylammonium chloride (CTAC) nebo dodecylsulfátu sodného (SDS). Z TEM snímků (obr. 121) je zřejmé, že v případě použití SDS-negativního surfaktantu i CTAC-pozitivního surfaktantu, dojde k rozbití řetězků a zamezení aglomerace po odstranění biologické membrány.



**Obrázek 121:** Magnetosomy bez membrány, která byla odstraněna a) CTAC, b) SDS.

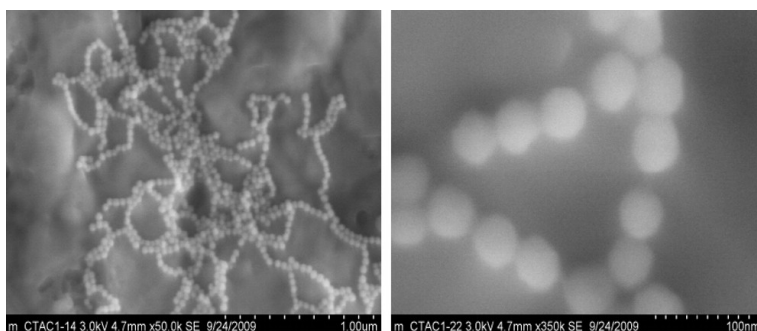
Dalším krokem je samotné obalení magnetosomů biokompatibilními materiály, jako je chitosan, dextran a Tween 20 (obr. 122a–c).

Z hlediska TEM bylo v některých případech obtížné identifikovat obalení různými činidly. Pro vytvoření kvalitních snímků bylo nutné nalézt magnetosomy uchycené na vnitřní straně otvorů v uhlíkové fólii (holey carbon). Tak bylo možné získat na snímcích magnetosomy bez podložního uhlíku a přesně tak identifikovat obalení. Pro získání přehledu o uspořádání magnetosomů ve vzorcích byl využit také SEM. Vzorek byl nakápnut na oboustrannou uhlíkovou pásku, uchycenou na kovovou podložku. Poté byl sušen 20 minut na vzduchu. Urychlovací napětí bylo



**Obrázek 122:** Magnetosomy obalené a) dextrans, b) chitosanem, c) Tweenem 20.

nastaveno na 3 kV. Při vyšších napětích docházelo ke značnému nabíjení vzorků. Ze snímků na obr. 123 však není možné rozlišit, zda jsou magnetosomy obalené či nikoliv, protože v režimu sekundárních elektronů je zobrazován jen povrch magnetosomů.



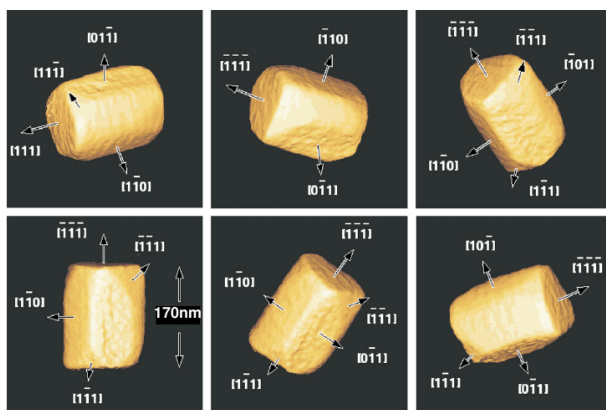
**Obrázek 123:** SEM snímky řetězků magnetosomů.

Při studiu nanostruktur může být zajímavé i vyhodnocení trojrozměrné struktury nanočástic. Jednou z možností je elektronová tomografie. Výsledek její aplikace na magnetosomy je na obr. 124.

### 3.11.2. Studium kavitačního opotřebení materiálu

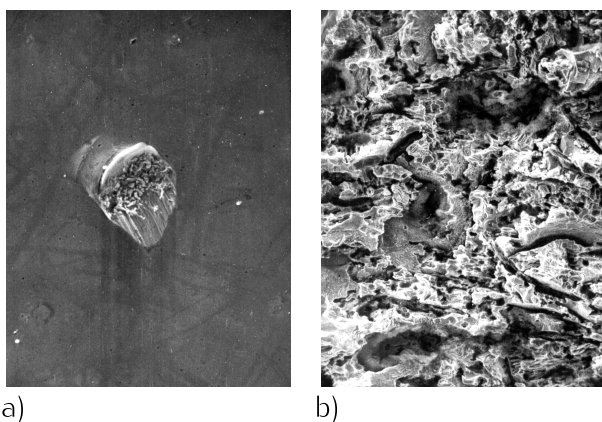
Ideálním pomocníkem je skenovací elektronový mikroskop při analýzách povrchů kovů. Velmi často se jedná o faktografické analýzy. Při provozu čerpadel, případně armatur, je stále aktuální pochopení mechanismu kavitace. Ze studia kavitačního opotřebení exponovaných částí je třeba optimalizovat volbu kovových materiálů pro provozní podmínky čerpadel s cílem zvýšení jejich životnosti a spolehlivosti.

Ze získaných poznatků vyplývá, že k opotřebení materiálu při kavitaci může docházet jen následkem dynamického kontaktu kapaliny s funkčním povrchem součástí. Kavitační působení je tak intenzivní, že mu žádný dosud známý materiál nemůže trvale odolávat. Studium povrchu vzorků exponovaných v podmínkách kavitace blízkých reálným ukázalo, že povrch materiálu při kontaktu s kavitující kapalinou je vystaven jak mnohonásobnému zatížení, vedoucímu ke kumulaci



**Obrázek 124:** Tomografická rekonstrukce magnetitu z magnetotaktických bakterií (doi:10.1016/S0304-3991(03)00105-0).

plastické deformace a únavovému porušení, tak i k lokálnímu působení, vedoucímu u plastického materiálu ke vzniku kráteru následkem ojedinelého zatížení. Na vzorcích z hliníku, který je měkkým a tvárným materiálem, lze již v prvních minutách pozorovat lokální poškození ve tvaru kráterů různých rozměrů (obr. 125a). Na obr. 125b) je deformovaný povrch vzorku etalonu hliníku ČSN 42 4005 (99,5 % Al) při pokročilém působení kavitace.



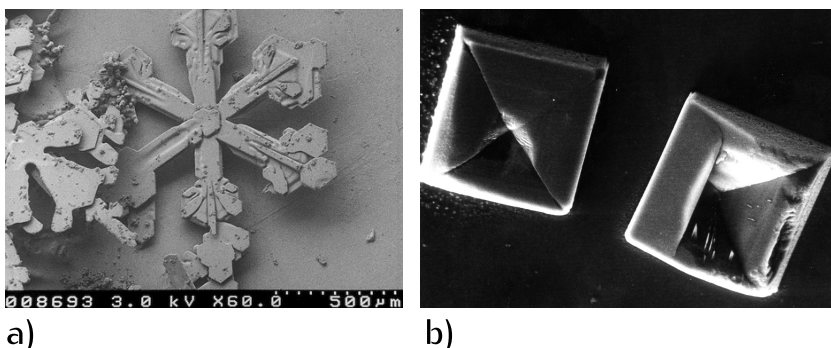
**Obrázek 125:** a) Účinek kavitace bubliny, b) pokročilý účinek kavitace působení (Koutný, Jemná mechanika a optika 6, 2001, 198).

### 3.11.3. Využití SEM při studiu dendritické krystalizace

Krystalografické analýzy s využitím skenovacího elektronového mikroskopu je možné provádět bez speciální úpravy preparátu. Krystaly jsou dostatečně odolné proti působení urychlených elektronů a je třeba brát v úvahu pouze jejich nízkou vodivost. V případě krystalů chloridu sodného se jedná o izolant a pro potřeby pozorování a kvalitního záznamu je třeba jejich povrch pokovit.

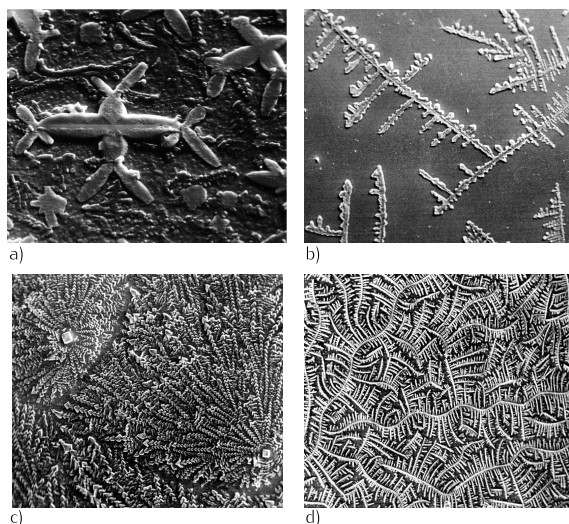


Atraktivním příkladem krystalizačních procesů jsou dvojrozměrné krystaly dendritického typu. Typickým dendritickým krystalem je sněhová vločka, jejíž tvar vychází z hexagonální symetrie ledu (obr. 126a).



**Obrázek 126:** a) Sněhová vločka v SEM (Nízkoteplotní SEM Beltsville Agricultural Research Center in Maryland), b) Kubické krystaly NaCl (doi:10.1016/S0022-0248(98)00491-6).

Dendritickou krystalizaci je možné pozorovat i u krystalů různých solí v roztocích, které obsahují organické molekuly, tedy jsou charakterizované určitou viskozitou. Použijeme-li fyziologický roztok (0,9% NaCl v destilované vodě) a necháme ho vyschnout na podložním sklíčku, dostaneme typické kubické krystaly (obr. 126b). Pokud však s tímto roztokem postupně smícháme moč (obr. 127a), mozkomíšní mok (obr. 127b), sliny (obr. 127c) a krevní sérum (obr. 127d), dostaneme pokaždé jiný výsledný tvar dendritického krystalu, což odpovídá různým hodnotám viskozity a jinému složení příslušné organické tekutiny.



**Obrázek 127:** Krystalogram a) moči, b) mozkomíšního moku, c) slin a d) krevního séra (doi:10.1016/S0022-0248(98)00491-6).

## 4. Závěr

V předchozích kapitolách jsme se věnovali dvěma základním technikám, které umožňují nahlédnout do nanosvěta. U obou jsme vysvětlili základní principy, na kterých jsou založeny, a nastínili vybrané aplikace, zajímavé z pohledu nanotechnologie. Vzhledem k délce textu jsme se omezili jen na úvod do problematiky nanoskopie a doufáme, že zvolený rozsah umožní pochopit přínosy, výhody, ale také nedostatky těchto metod nejen studentům nanotechnologií, ale také třeba začínajícím operátorům mikroskopů.

Pro zájemce o hlubší studium uvádíme níže několik knih, které je mohou podrobněji seznámit

- s jinými technikami mikroskopie nanostruktur [1];
- s aplikacemi a pokročilými technikami mikroskopie skenující sondou [2, 3];
- s podrobným pohledem na transmisní elektronovou mikroskopii [4];
- s moderními trendy elektronové mikroskopie, např. 4D mikroskopii [5].

## 5. Doporučená literatura

- [1] Yao N., Wang Z. L.: *Handbook of Microscopy for Nanotechnology*, Kluwer 2005
- [2] Foster A. S., Hofer W. A.: *Scanning Probe Microscopy. Atomic Scale Engineering by Forces and Currents*, Springer, 2006
- [3] Bhushan B., Fuchs H.: *Applied Scanning Probe Methods I–XIII*, Springer, 2004–2009
- [4] Williams D. B., Carter C. B.: *Transmission Electron Microscopy*, Springer 2009
- [5] Zewail A. H., Thomas J. M.: *4D Electron Microscopy*, Imperial College Press 2010
- [6] Karlík M.: *Transmisní elektronová mikroskopie. Pohled do nitra materiálů*, Československý časopis pro fyziku 55: 457–464, 2005
- [7] Kubínek R.: *Využití hloubky ostrosti rastrovacího elektronového mikroskopu ve fraktografii*, Jemná mechanika a optika 10: 269–273, 1984

Obrázky bez uvedení zdroje jsou díla autorů, případně K. Šafářové a D. Jančíka (za jejich pořízení autoři textu děkují).

Mgr. Milan Vůjtek, Ph.D.  
doc. RNDr. Roman Kubínek, CSc.  
prof. RNDr. Miroslav Mašláň, CSc.

## Nanoskopie

Publikace je určena pro studenty přírodovědných oborů

Výkonný redaktor prof. RNDr. Tomáš Opatrný, Dr.  
Odpovědná redaktorka RNDr. Hana Dziková  
Technické zpracování Mgr. Milan Vůjtek, Ph.D.  
Návrh a grafické zpracování obálky Mgr. Milan Vůjtek, Ph.D.

Vydala Univerzita Palackého v Olomouci  
Křížkovského 8, 771 47 Olomouc  
[www.vydavatelstvi.upol.cz](http://www.vydavatelstvi.upol.cz)  
e-mail: [vup@upol.cz](mailto:vup@upol.cz)  
elektronický obchod: [www.e-shop.upol.cz](http://www.e-shop.upol.cz)

Vytiskl Papírtisk,  
Lindnerova 108/5  
779 00 Olomouc

Olomouc 2012

1. vydání

Ediční řada – Monografie  
čz 2011/253

**ISBN 978-80-244-3102-4**

**Neprodejná publikace**

## Summary

The rapid development of nanotechnology was facilitated by development of techniques intended for sample observation, called microscopy. In the case of imaging of nanostructures the term *Nanoscopy* is introduced now. Book **Nanoscopy** is devoted not only to the two modern approaches not only of imaging, but also to study of properties of nanostructures and nanosystems.

The first one is scanning probe method. In the text, fundamentals of this method, physical and construction principles are described. Moreover, basic applications in nanotechnology reviewed. Most parts of the text describe the two most often used measuring strategies – atomic force microscopy (AFM) and scanning tunneling microscopy (STM). This chapter also gives the details on basic techniques of image processing.

The second method is based on electron techniques. Again, fundamentals of electrons, electron optics, electron imaging and most common methods (scanning electron microscopy and transmission electron microscopy) are described. Beside this, a review of methods of sample preparation is discussed.