

Методы современной микроскопии

Лекция 6:

Электронная микроскопия.
Трансмиссионная, сканирующая.
Подготовка образцов

Масгутова Галина Андреевна



Методы исследования фиксированных клеток и тканей

Этапы приготовления препаратов:

Типы препаратов:

Мазок
Отпечаток
Пленка
Тонкий срез

Световая М -
окрашивание срезов
Электронная М -
напыление солями
металлов

взятие материала и
его фиксация

уплотнение

приготовление срезов

окрашивание или
контрастирование
срезов

Фиксаторы:
спирт, формалин, растворы
солей тяжелых металлов,
осмиевая кислота,
специальные фиксирующие
смеси. Заморозка

Уплотнители:
парафин, целлоидин, **смолы**

Микротом, Ультратом,
Криотом

кислые, основные и
нейтральные

1. Физико-химические основы метода

1.1. Взаимодействие ускоренных электронов с веществом.

Ускоренные электроны взаимодействуют с ионами, атомами и свободными электронами, составляющими кристалл, посредством целого ряда механизмов рассеяния. В процессе таких взаимодействий изменяется направление и/или энергия электронов, при этом процессы передачи энергии образцу и возникновение вторичных излучений характеризуются определенными вероятностями. На рис. 1.1 приведены всевозможные излучения, возникающие при взаимодействии пучка электронов с веществом.





Существует два вида взаимодействия электрона с веществом: упругое (изменяется направление траектории движения электрона без потери энергии) и неупругое (уменьшается кинетическая энергия электрона).

Упругое рассеяние принято связывать с рассеянием на кулоновском поле ядер и электронной плотности (Рис. 1.2). От электрона пучка образцу передается лишь энергия менее 1 эВ, которая пренебрежимо мала по сравнению с его первоначальной энергией (~ 10кэВ или более). Электрон отклоняется от направления падения на угол ϕ . Угол ϕ может принимать значения в пределах от 0 до 180° , но его типичное значение составляет по порядку величины 5° .

Второй основной тип рассеяния - это неупругое рассеяние. При неупругом рассеянии энергия передается атомам и электронам мишени и кинетическая энергия электрона пучка уменьшается.

Имеется множество возможных процессов неупругого рассеяния:

а) Возбуждение плазмонов.

б) Возбуждение электронов проводимости, приводящее к эмиссии медленных вторичных электронов.

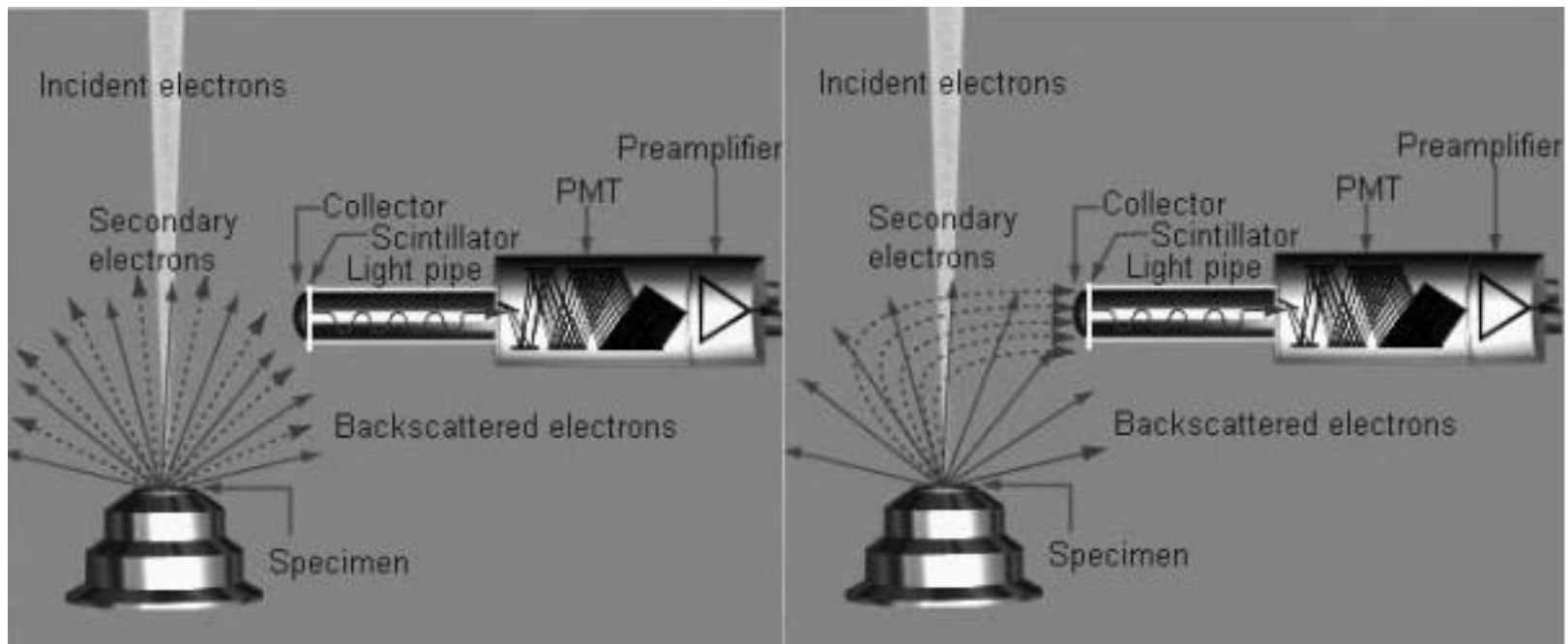
в) Ионизация внутренних оболочек.

г) Тормозное или непрерывное рентгеновское излучение.

д) Возбуждение фотонов.

1.2. Детекторы.

Для того чтобы сформировать изображение, необходимо использовать соответствующий детектор для преобразования интересующего нас излучения, выходящего с образца, в электрический сигнал. Существуют различные сигналы: вторичные электроны, отраженные электроны, рентгеновское излучение, катодное излучение, ток на образец или поглощенный ток и в ряде типов полупроводниковых образцов – наведенный ток.



Электронная микроскопия

ТЭМ

трансмиссионные (просвечивающие)
электронные микроскопы

Плоское изображение

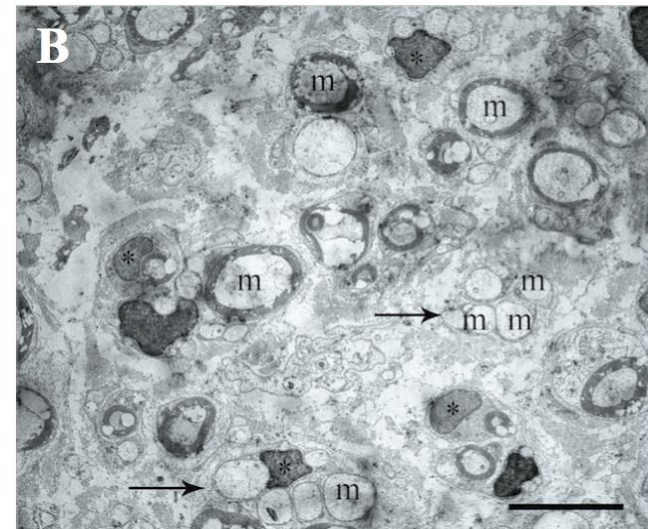
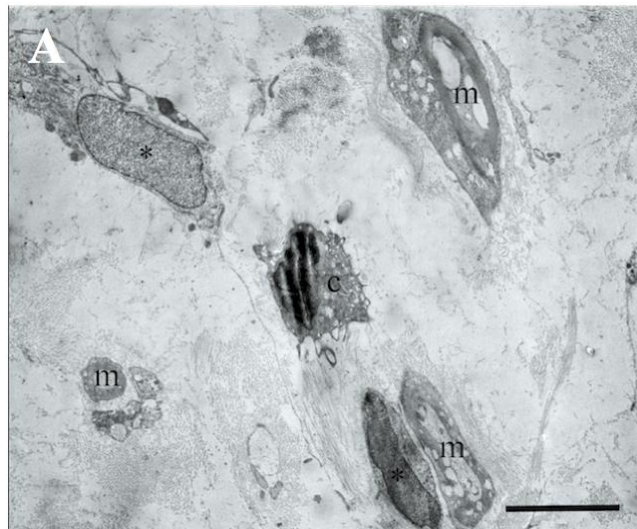
СЭМ

сканирующие (растровые)
электронные микроскопы

Объемное изображение

Используется поток электронов с более короткими, чем в световом микроскопе,
длинами волн

Разрешаемое расстояние составляет около 0,1-0,7 нм





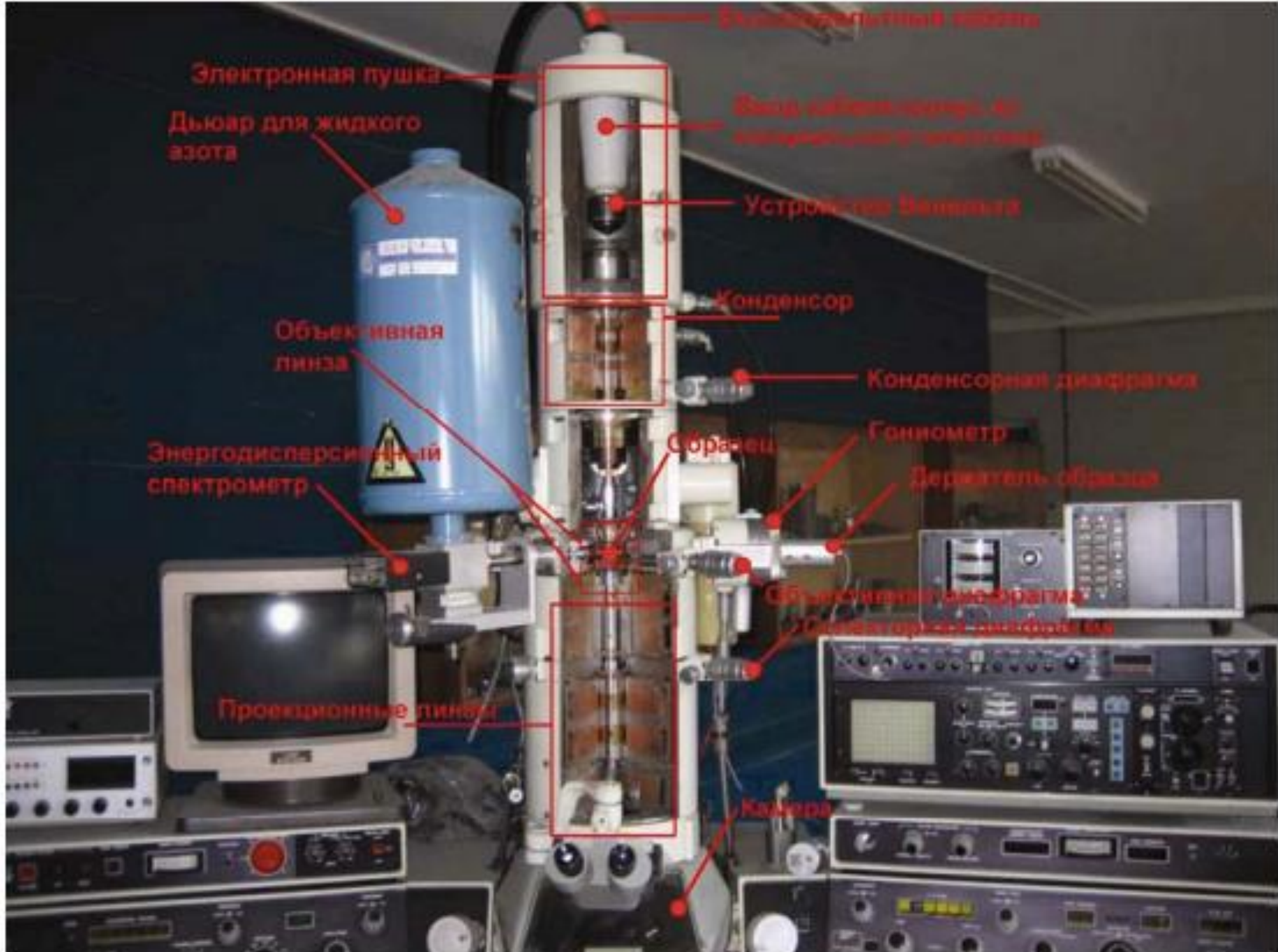


Рис. 2.2. Основные узлы просвечивающего электронного микроскопа,

Характеристика	Термоэлектронная эмиссия		Полевая эмиссия	
	W	LaB ₆	Термополевая эмиссия, W (100)	Холодная полевая эмиссия, W (310)
Диаметр мнимого источника	30 мкм	5-10 мкм	~ 10 нм	~ 10 нм
Яркость, измеренная при напряжении 100 кВ, А/(см ² ·ср)	5·10 ⁵	7·10 ⁶	10 ⁷ -10 ⁸	2·10 ⁶
Разброс энергий электронов, эВ	2,3	1,5	0,3 – 0,8	0,3 – 0,5
Стабильность тока эмиссии	1%	1%	2%	5-10%

Электронная микроскопия

Метод
замораживания
– скалывания

Метод
криоэлектронной
микроскопии

Метод
замораживание -
травление

Метод
контрастирования
солями тяжелых
металлов

Метод
криоультра-
микротомии

Метод
сверхвысоковольтной
микроскопии

Рентгеноструктурный анализ

метод с использованием рентгеновских
лучей, имеющих длину волны около 0,1 нм

Атомно-силовая микроскопия

Контактная атомно-силовая микроскопия

измерение топографии поверхности в контактном методе.

Бесконтактная атомно-силовая микроскопия

измерение топографии поверхности в бесконтактном методе, основанном на использовании вибрационной методики.

Полуконтактная атомно-силовая микроскопия (или прерывисто- контактная атомно-силовая микроскопия)

в данном случае используется вибрационная методика, при которой колеблющееся острие слегка стучит по поверхности образца.