

Mikroskopijas metodes. 2. Elektronmikroskopija.

1 kp. - 16 stundas
Lekcijas - 4 stundas
Praktiskie darbi - 10 stundas
Seminārs - 2 stundas

Dr. biol. Maija Selga



Saturs.

- 1. Caurstarojošā mikroskopa uzbūve un sagatavošana darbam.
- 2. Elektronu mikroskopa palielinājuma un izšķirtspējas regulācija.
- 3. Elektronmikroskopiskie attēli un to aberācijas.
- 4. Fotoiekārtas un to izmantošana elektronu mikroskopijā.
- 5. Programmodrošinājums caurstarojošajai elektronu mikroskopijai un tā izmantošana attēlu rediģēšanai un mērījumu iegūšanai.

- Pētāmā objekta izvēle un elektronu mikroskopijas ierobežojumi.
- Preparātu sagatavošanas un analīzes veidi.
- Mūsdienu analīzes metodes.

Ievads.

Kursa struktūra.

- Lekcija caurstarojošajā elektronu mikroskopijā.
- Lekcija skanējošajā elektronu mikroskopijā.
- Laboratorijas darbi – metodiskas teorētiskā daļa un praktiska paraugi gatavošana, un analīze.
- Metodes gaismas mikroskopijā, praktiskie aspekti.
- Metodes elektronmikroskopijā, atomspēku mikroskopijā un luminescences mikroskopijā.
- Eksāmens.

- 6. Skenējošā elektronu mikroskopa uzbūve un sagatavošana darbam.
- 7. Elektronu mikroskopa palielinājuma un izšķirtspējas regulācija.
- 8. Elektronmikroskopiskie attēli un to aberācijas.
- 9. Fotoiekārtas un to izmantošana elektronu mikroskopijā.
- 10. Programmodrošinājums elektronu mikroskopijai un tā izmantošana attēlu rediģēšanai un mērījumu iegūšanai.
- 11. Seminārs “Elektronu mikroskopija”.

Caurstarojošā un skanējošā elektronu mikroskopa uzbūve un sagatavošana darbam. Elektronu mikroskopa palielinājuma un izšķirtspējas regulācija.

Caurstarojošā elektronu mikroskopa Philips 301 uzbūve.

Augstsprieguma kabelis.

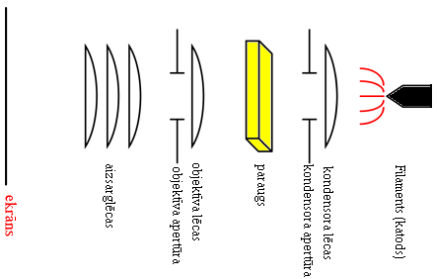
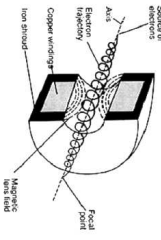
Vakuuma kolonna.

Objekta novietojuma
Izņemis kolonnas
iekārtne.

Luminescents ekrāns.



Filaments atdala elektronus. Tie veido kūli, kas pārvietojas uz leju cauri paraugam. Elektronu kūli regulē ar gredzenveida magnētiem. Objekts tiek krāsots ar smagajiem metāliem. Tas sūnās daļas, kas pievienos metālu uz luminiscējošā ekrāna būs tumšas, jo metāli nolieks vai absorbēs elektronus. Parējās daļas ir gaišas.

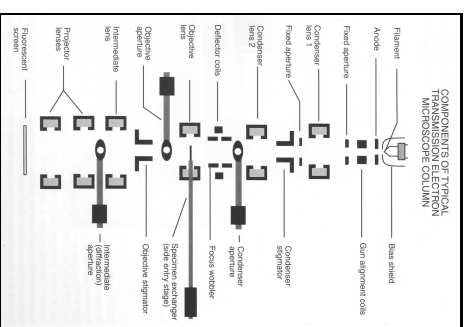
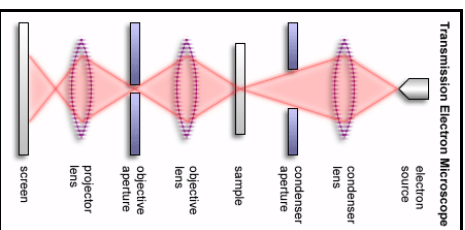


Kolonnas elementiem ir atšķirīgas funkcijas atkarībā no palielinājuma.

	High Magn	Low Magn
Obj. lens	Image focus	Diffraction (LAD) focus
Diff. lens	Diffraction focus	Image focus
Obj. aperture	Contrast forming	Area selection
SA aperture	Area selection	Contrast forming
Obj. stigmator	Image stigmation	Diffraction stigmation
Diff. stigmator	Diffraction stigmation	Image stigmation

1 mm Hg	1 Torr	10^2 Pascals
1 atm	760 Torr	7.5×10^4 Pa

rough vacuum	$1 \cdot 10^2$ Torr	> 0.1 Pa
high vacuum	$10^2 - 10^6$ Torr	$0.1 - 10^4$ Pa
very high vacuum	$10^6 - 10^9$ Torr	$10^{-4} - 10^{-7}$ Pa
ultra-high vacuum	$10^9 > 10^{12}$ Torr	$10^{-7} > 10^{-9}$ Pa

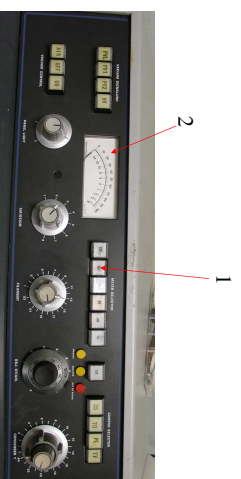


Ieslēgšana.

- Mikroskopa sistēmai ir pieslēgta tūdens dzesēšana.
- Ieslēdz spriegumu.
- Ieslēdz vakuumu sūkni.
- Gaida līdz kolonnā būs atbilstošais vakuumu.

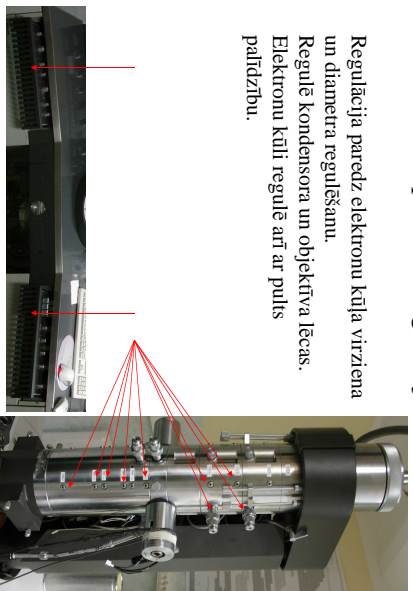


- Ieslēdz vakuumu indikatoru (1).
- Vakuumu nolasa uz skalas (2).

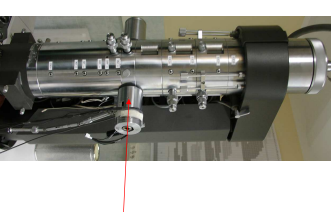
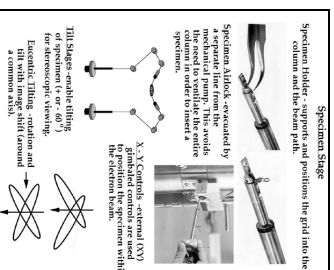


Mikroskopa darba regulācija.

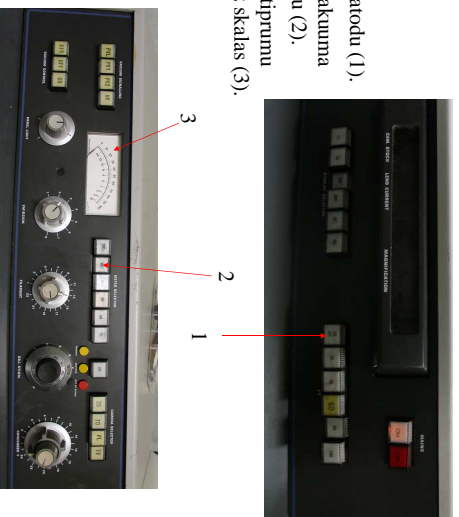
Regulācija paredz elektronu kūļa virziena un diametra regulēšanu.
Regulē kondensatora un objektiņa lecas.
Elektronu kūli regulē arī ar pulsa palīdzību.



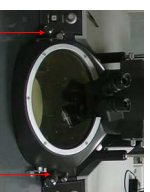
- Novieto paraugu uz sietiņa turētāja.
- Sietiņa turētāju ievieto vakuumā kolonnā.
- Ieslēdz vakuumā sūkni.
- Ievieto sietiņu vakuumā kolonnā.



- Ieslēdz katodu (1).
- Ieslēdz vakuumā indikatoru (2).
- Strāvas stiprumu nolasa uz skalas (3).

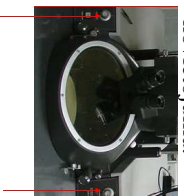


- Ieslēdz augstspriegumu (60/80 kV).
- Ieslēdz minimālo palielinājumu.



- Aptuņo tiepju un pārvietojot sietiņu atrod paraugu.

- Regulē elektrona kūļa novietojumu.

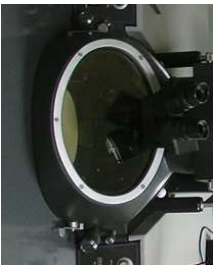


- Pēc kontrastainas parauga vietas atrašanās regulē attēla asumu.

- Attēla asumu regulē ar vairāku līmeņu palīdzību.



- Visprecīzāk asumu iestāda skatoties binokulārā.



3. Elektronmikroskopiskie attēli un to aberācijas.

- Attēlu izmēru noteikšanai nepieciešama mikroskopa kalibrācija.
- Kalibrācijai izmanto sietņus ar noteiktu pavedienu diametru vai kalibrācijas paraugus ar zināmiem izmēriem – kristālus, oglekļa replikas ar paralēlu līniju novietojumu u.c.

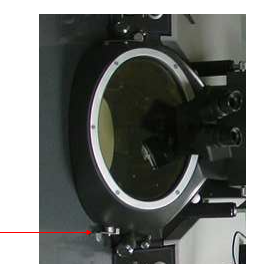


4. Fotoiekārtas un to izmantošana elektronu mikroskopijā.

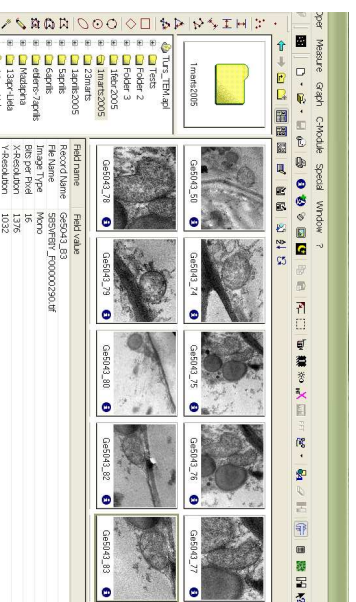
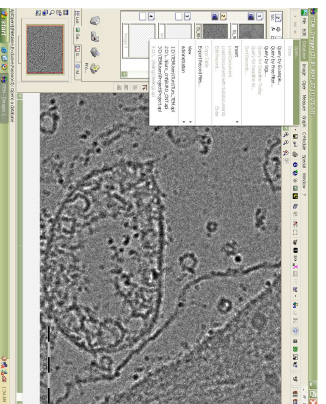
- Elektronu mikroskopam Philips 301 tiek izmantota CCD kamera Keen View.



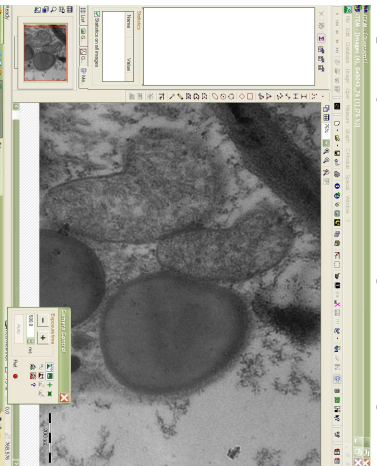
- Kameras sensors saņem apgaismojumu, ja pieslēdz funkciju "TV" un pacel luminiscento ekrānu.
- Attēla asumu vislabāk regulēt skatoties mikroskopa binokulārā!



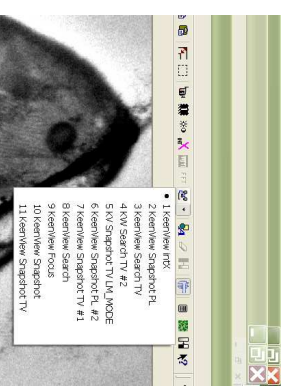
- Daba sākumā aktivē datu bāzi.



- Izvēlas attēla eksponēšanas laiku. Preparāta pārskatīšanai nepieciešams izvēlēties īsu ekspozīcijas laiku, bet fotografēšanai - garu.



- Izvēlas fotografēšanas režīmu. Tas nosaka saglabātā attēla punktu skaitu.



- Fotografijas tiek iegūtas izmantojot funkciju "Snapshot".



- Fotografiju saglabāšanai nepieciešams notādi fotografēšanas laikā izmantoto palatēlnājumumu.



- Kopā ar attēlu tiek sagabāta informācija par fotografēšanas apstākļiem.

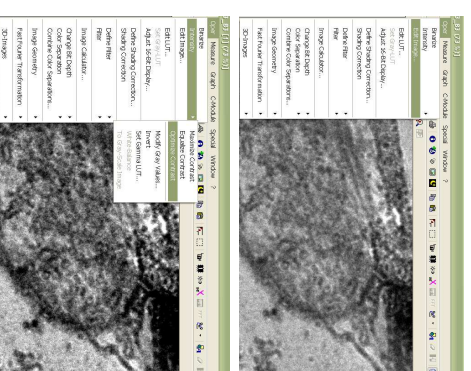


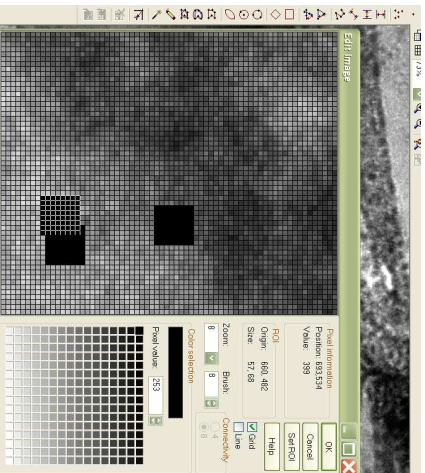
- Tas ļauj izmantot šo informāciju citu eksperimentu veidošanā.

- 5. Programmnodrošinājums caurstarojotājam elektronu mikroskopijai un tā izmantošana attēlu rediģēšanai un mērījumu iegūšanai.

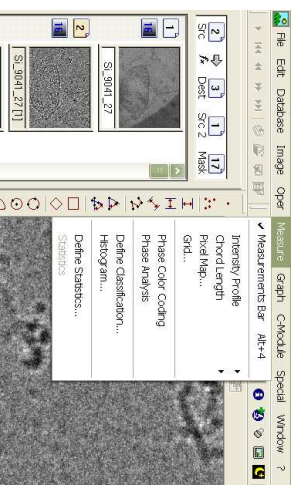
- Keen View ļauj nomērīt parauga blīvumu daudz precīzāk kā klasisko foto metožu izmantošana.
- Paredz rediģēt attēla parametrus.

- Attēla kontrasta un citu parametru regulēšana.

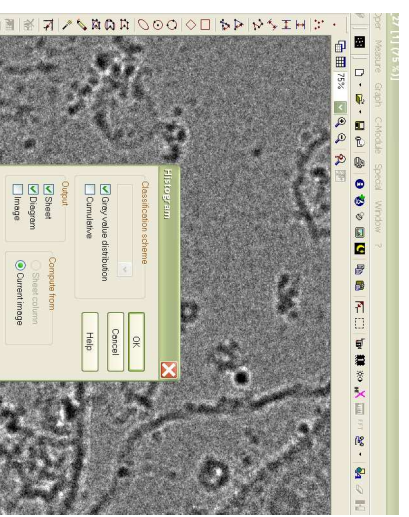
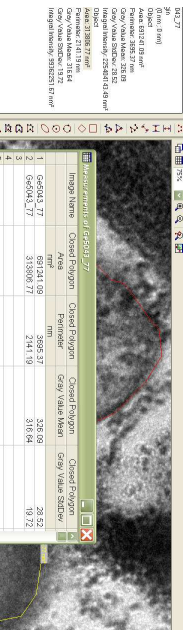
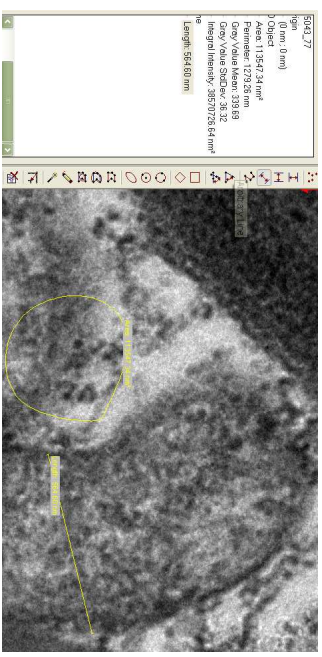
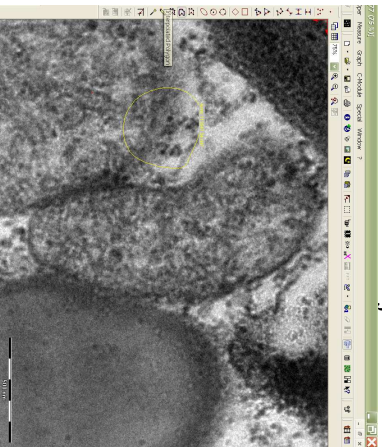


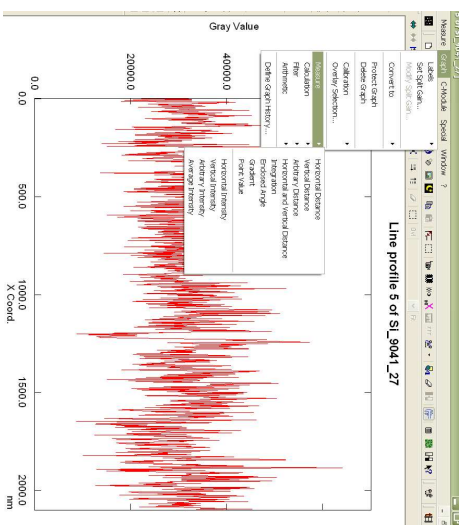
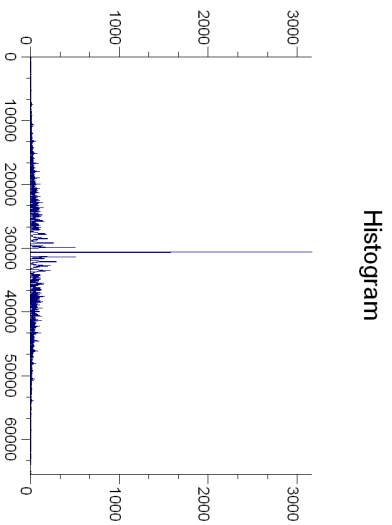


- Mērijumu veidi un to iestādīšana.



- Laukuma un diametra mērījumi.





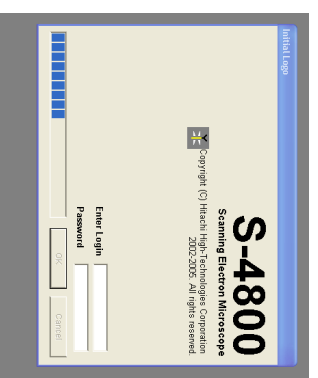
6. Skenējošā elektronu mikroskopa uzbūve un sagatavošana darbam.



- Ieslēdz dzesēšanu.
- Ieslēdz mikroskopu.
- Ieslēdz datoru.
- Ieslēdz datoru.
- Ieslēdz mikroskopu.
- Ieslēdz dzesēšanu.

Hitachi S-4800 uzbūve.

SEM Hitachi S-4800 uzbūve ir digitāla darbības kontrole.



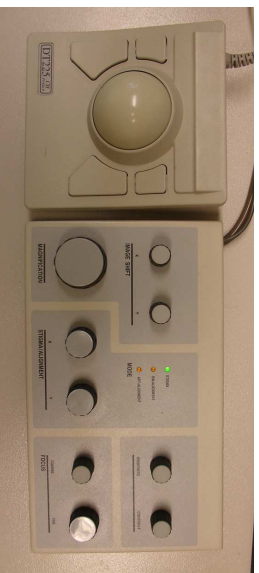
Vakuuma kamera un tās parametru regulēšana.



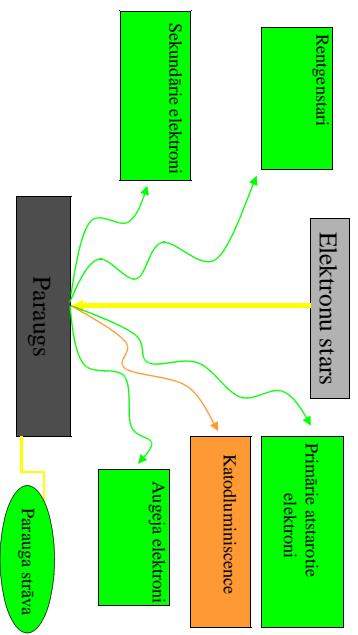
SEM darbības parametru regulēšana.



Parauga attēla parametru kontroles bloks.



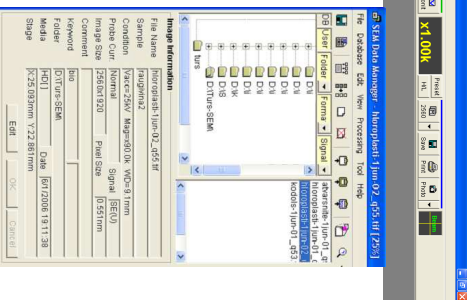
Elektronu un parauga mijiedarbība.



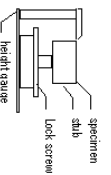
• Parauga ievietošana vakuma kolonnā.



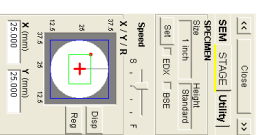
- Datorprogrammas aktivēšana.
- Datu bāzes atvēršana.



- Paraugi ir:
- novietoti uz palikņa ar augstu elektrovadītspēju,
 - dehidratēti,
 - paliknis ir pielīmēts pie paraugu turētāja.
- Darbu veic cimdos, lai nodrošinātu parauga tīrību!*
- Parauga augstums nedrīkst pārsniegt 0,5 mm!*



- Pārbauda, vai paraugu kameras lampa ir izslēgta.
- X, Y, R un Z pārslēgti parauga nomainīgas pozīcijā.
- Parauga nomainīgas pozīcija ir :
- X=25,0mm, Y=25,0mm, R=0 grādi un Z=8,0mm



Parauga izņemšana.

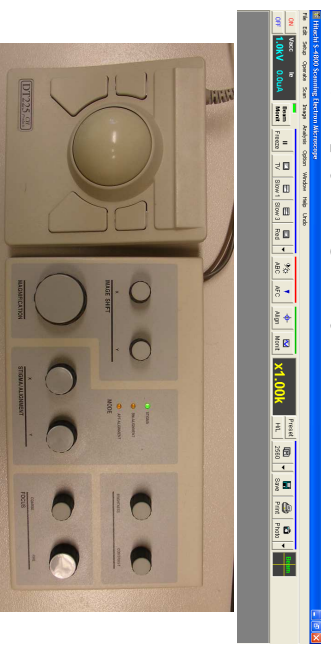
- Pārvielo turētāju paraugu maiņas stāvoklī. Indikatora spuldzīte iedegas zaļa gaismā. Nospiež taustiņu "Open".
- Atsūknē vakuumu paraugu maiņas kamerā. Pēc signāla pagriež parauga maiņas sviru pulksteņa rādītāja virzienā. Ieļšda parauga nesēja un piesūprina to pie parauga turētāja, pagriež un izvelk kopā ar parauga turētāju. Pagriež sviru pretēji pulksteņa rādītāja virzienam līdz parādās uzraksts "Lock".
- Nospiež slēdzi "Air". 15 sekundes pēc gaisa piepildīšanās atskan skaņas signāls.
- Aiver vakuumu kameras durvis. Izvelk parauga turētāju pilnībā.



Parauga ievietošana.

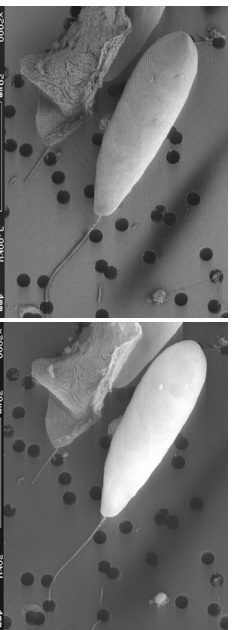
- Pagriež parauga maiņas slēdzi pulksteņa rādītāja virzienā līdz vispusē parādās uzraksts "Unlock".
- Pārvielo turētāju parauga maiņas stāvoklī. Indikatora spuldzīte iedegas zaļa gaismā. Nospiež taustiņu "Open".
- Pārvielo parauga nesēju un piesūprina to pie parauga turētāja un izvelk kopā ar parauga turētāju. Pagriež parauga maiņas sviru pretēji pulksteņa rādītāja virzienam. Izvelk parauga turētāju pilnībā.
- Aiver vakuumu kameras durvis un izvelk turētāju. Nospiež slēdzi "Close".
- Pēc dzeltenās indikatorspuldzītes iedegšanās var pieslēgt augstspriegumu.

7. Elektronu mikroskopa paliecinājuma un izšķirtspējas regulācija.

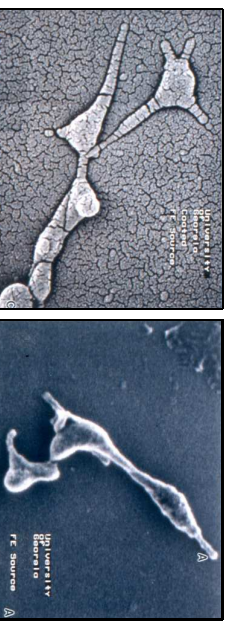


- Augstsprieguma pieslēgšana.
- Parauga novietoējuma regulēšana.
- Skenēšanas režīma izvēle.

8. Elektronmikroskopiskie attēli un to aberācijas.

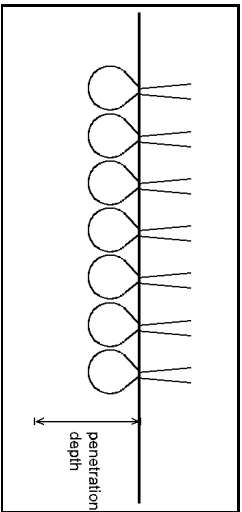


3.0 kV 20.0 kV
Sprieguma ietekme uz attēla kvalitāti.
Palielinot spriegumu palielinās attēla
spļīgums.

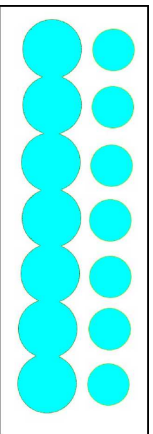


Zelts. Hroms.
Mycoplasma pneumoniae.

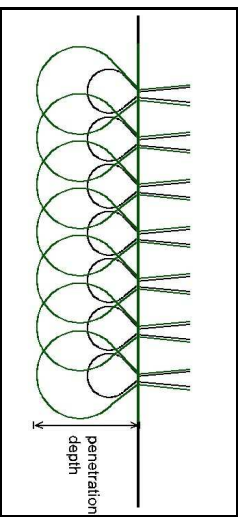
Pārklājums nosaka attēla graudainību un elektrovadītspēju.



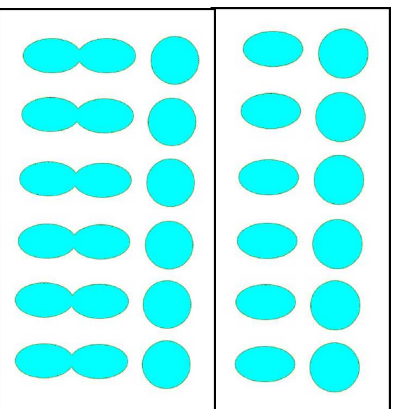
Mazs ierosināšanas reģions ļauj izšķirt atsevišķus punktus.



- Palielinoties signāla stiprumam, samazinās attēla izšķirtspēja.
- Skenējamā reģiona lieluma nozīme.

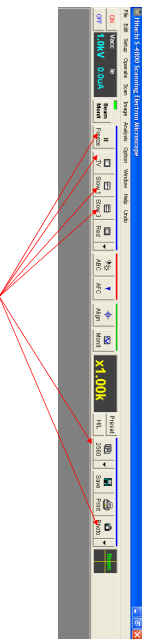


Liels ierosināšanas reģions neļauj izšķirt atsevišķus punktus.



Astigmatisms var pasliktināt vienas dimensijas izšķirtspēju.

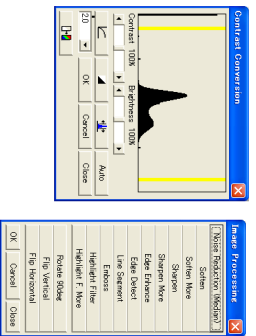
9. Fotorekārtas un to izmantošana elektronu mikroskopijā.



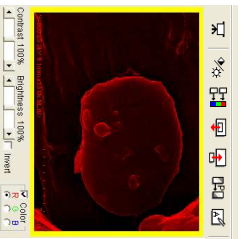
- Izšķirtspēja.
- Skenēšanas ātrums.
- Attēla rediģēšana un attēla skenēšana.

10. Programmnodrošinājums caurstarojošajai elektronu mikroskopijai un tā izmantošana attēlu rediģēšanai un mērījumu iegūšanai.

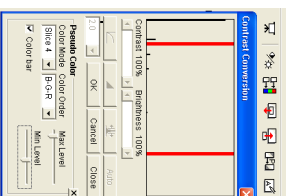




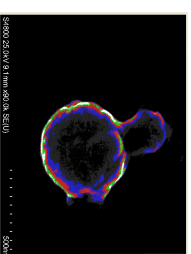
- Kontrasta un spilgtuma regulēšana.



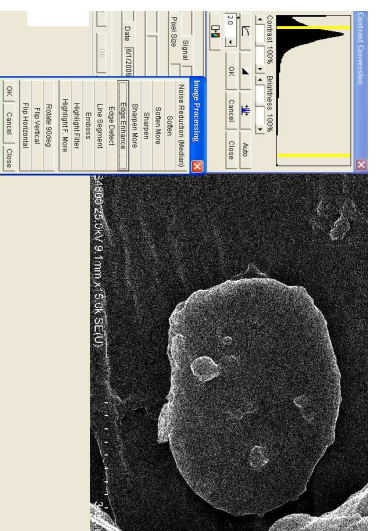
- Pseudokrāsas un attēla kontrasts.



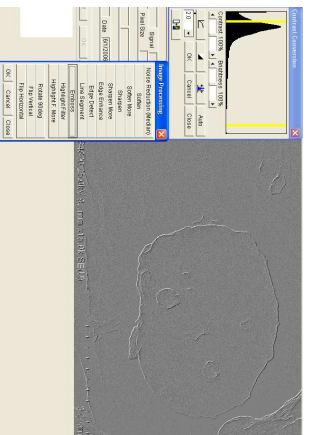
- Pseudokrāsu izmantošanas iespējas.



- Attēla trokšņu kontrole un filtri.



- Attēla trokšņu kontrole un filtri.



11. Seminārs “Elektronu mikroskopija”.
 Seminārā paredzēts prezentēt iegūtos un rediģētos attēlus, kas iegūti ar caurstarojošās un skanējošās elektronu mikroskopijas palīdzību.