



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

Ηλεκτρονική Μικροσκοπία

Β. Μπίνας, Γ. Κυριακίδης
Τμήμα Φυσικής



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται στην άδεια χρήσης Creative Commons και ειδικότερα

Αναφορά – Μη εμπορική Χρήση – Όχι Παράγωγο Έργο 4.0 Ελλάδα
(Attribution – Non Commercial – Non-derivatives 4.0 Greece)



CC BY-NC-ND 4.0 GR

[ή επιλογή ενός άλλου από τους έξι συνδυασμούς]

[και αντικατάσταση λογότυπου άδειας όπου αυτό έχει μπει (σελ. 1, σελ. 2 και τελευταία)]

- Εξαιρείται από την ως άνω άδεια υλικό που περιλαμβάνεται στις διαφάνειες του μαθήματος, και υπόκειται σε άλλου τύπου άδεια χρήσης. Η άδεια χρήσης στην οποία υπόκειται το υλικό αυτό αναφέρεται ρητώς.

Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στα πλαίσια του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Κρήτης**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο τη αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης





ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ

ΔΡ. ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ ΜΠΙΝΑΣ

ΚΑΘ. ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΥΡΙΑΚΙΔΗΣ

*Post Doc Researcher, Chemist
Τμήμα Φυσικής, Πανεπιστήμιο Κρήτης
Email: binasbill@iesl.forth.gr
Thl. 1269*

Crete Center for Quantum Complexity and
Nanotechnology
Department of Physics, University of Crete

Transparent Conductive Materials (Head prof. G. Kiriakidis)
Institute of Electronic Structure & Laser – IESL
Foundation for Research and Technology - FORTH



- Τι είναι η ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ ?
- Πόσο είναι το μικρότερο αντικείμενο που μπορεί να δει κανείς ?
- Αν μπορούμε να το δούμε, τότε πόσο καθαρά και τι πληροφορίες μπορούμε να αποκομίσουμε?
- Πως δημιουργήθηκε η ανάγκη για το συνθετότερο, πολύπλοκο και ακριβό Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο?



Τι είναι η ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ ?

Μικροσκοπία είναι η επιστήμη και η τεχνολογία που βοηθά στο να βλέπει κανείς μικρά αντικείμενα

Μικροσκοπιστής είναι ο επιστήμονας που μπορεί να διαμορφώνει τις συνθήκες κάτω από τις οποίες να ξεχωρίζει μικρά αντικείμενα



ΙΣΤΟΡΙΑ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΟΠΤΙΚΟΥ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟΥ 400 ΧΡΟΝΩΝ

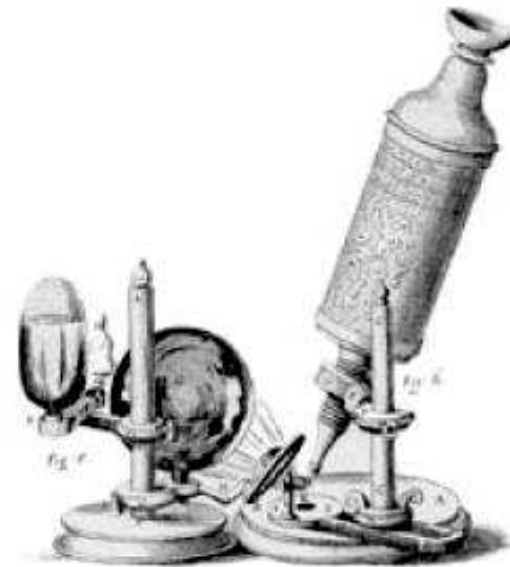
- **Antoni van Leeuwenhoek, 1673:**

Δημιουργία μεγενθυμένων εικόνων από δείγματα πολύ μικρά για το ανθρώπινο μάτι.

- **Robert Hooke, 1677:** Κατασκευή του πρώτου οπτικού μικροσκοπίου.

- **Ernst Abbe, 1870:** Μαθηματική εξίσωση έκφρασης της διακριτικής ικανότητας συναρτήση του μήκους κύματος του φωτός.

Robert Hooke's "Micrographia" (1665)





ΟΠΤΙΚΗ VS ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ

- **Οπτική μικροσκοπία (Optical microscopy)**

Μελέτη μορφολογικών χαρακτηριστικών, απλή και φθηνή τεχνική, εύκολη επεξεργασία των αποτελεσμάτων, τυπική μεγέθυνση (x 1000).

- **Ηλεκτρονική μικροσκοπία (Electron microscopy)**

Μελέτη μορφολογικών χαρακτηριστικών, τυπική μεγέθυνση (x1.000.000), υψηλό κόστος.



ΟΠΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ

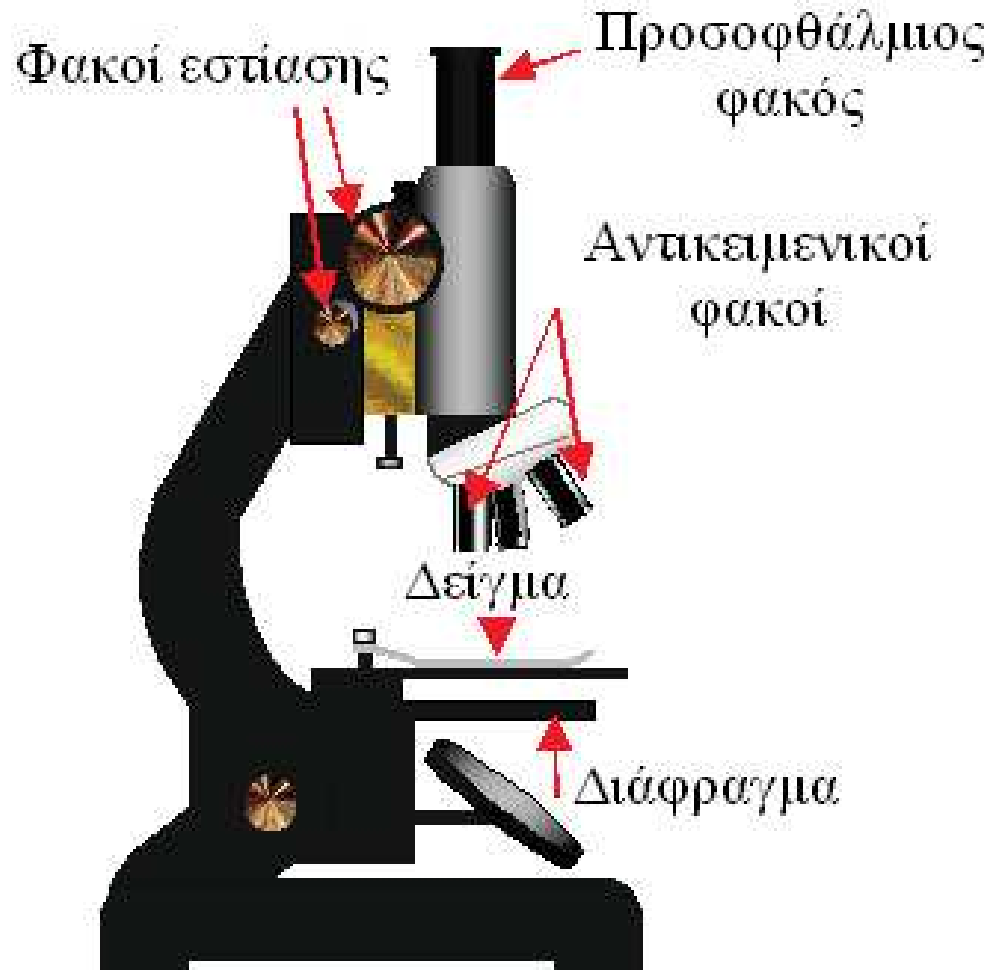
Το οπτικό μικροσκόπιο είναι οπτικό σύστημα για την παρατήρηση αντικειμένων υπό μεγέθυνση, με τη βοήθεια του φωτός. Η παρατήρηση μπορεί να γίνεται είτε μέσω του ανακλώμενου είτε μέσω του διερχόμενου φωτός από τα προς παρατήρηση αντικείμενα.

Απλούστερο μικροσκόπιο είναι ο απλός μεγεθυντικός φακός, ο οποίος όμως δεν ξεπερνά μια μέγιστη μεγέθυνση της τάξης του είκοσι ($\times 20$) στην καλύτερη περίπτωση.

Το **σύνθετο μικροσκόπιο** είναι ένα οπτικό όργανο που χρησιμοποιείται για την παρατήρηση, υπό μεγέθυνση (μέχρι και $\times 1000$), αντικειμένων που βρίσκονται κοντά στον παρατηρητή.



ΟΠΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ



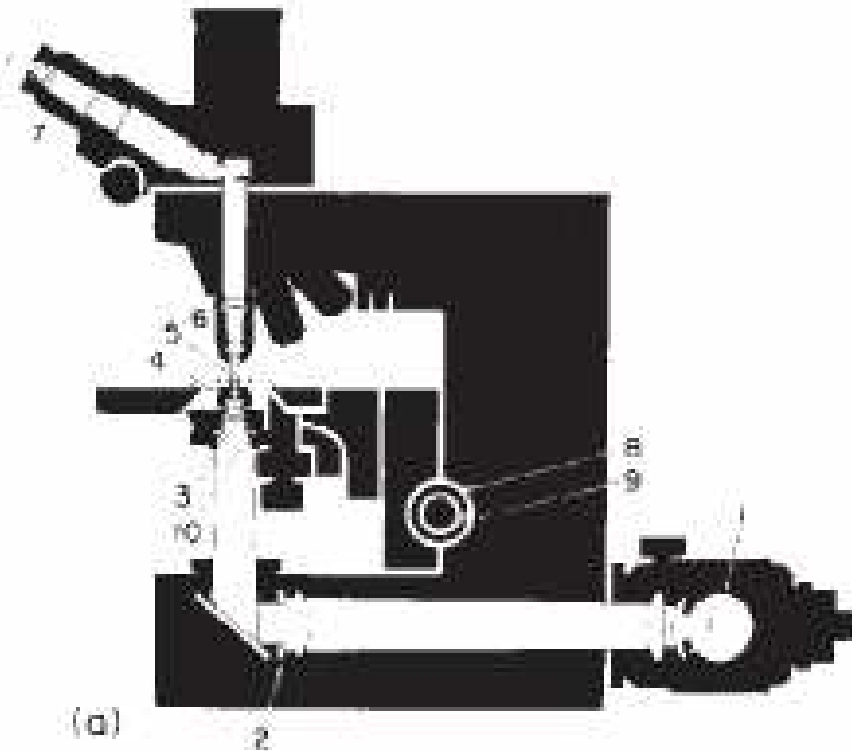
Αποτελείται από τέσσερα βασικά στοιχεία:

- A. Μια πηγή φωτός,**
- B. Φακούς εστίασης,**
- Γ. Προσοφθάλμιο φακό,**
- Δ. Αντικειμενικούς φακούς.**

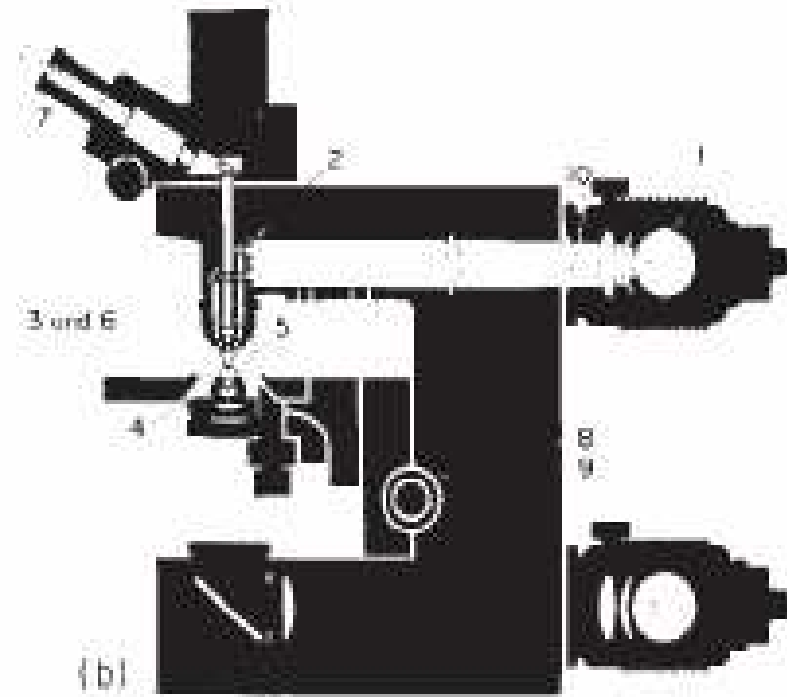


ΟΠΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ

Σύνθετο Μικροσκόπιο



Διέλευσης Φωτός



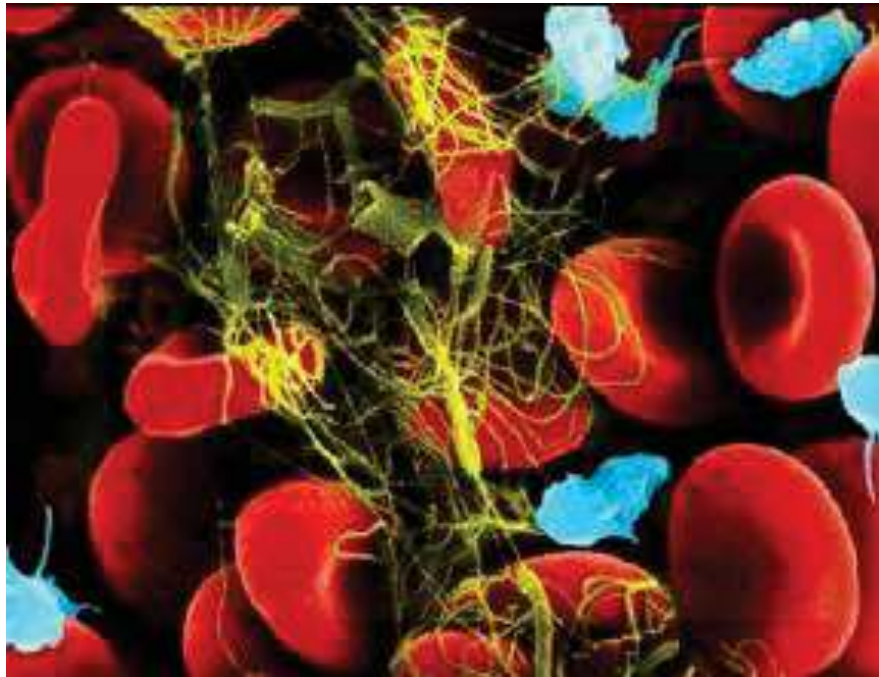
Ανάκλασης Φωτός



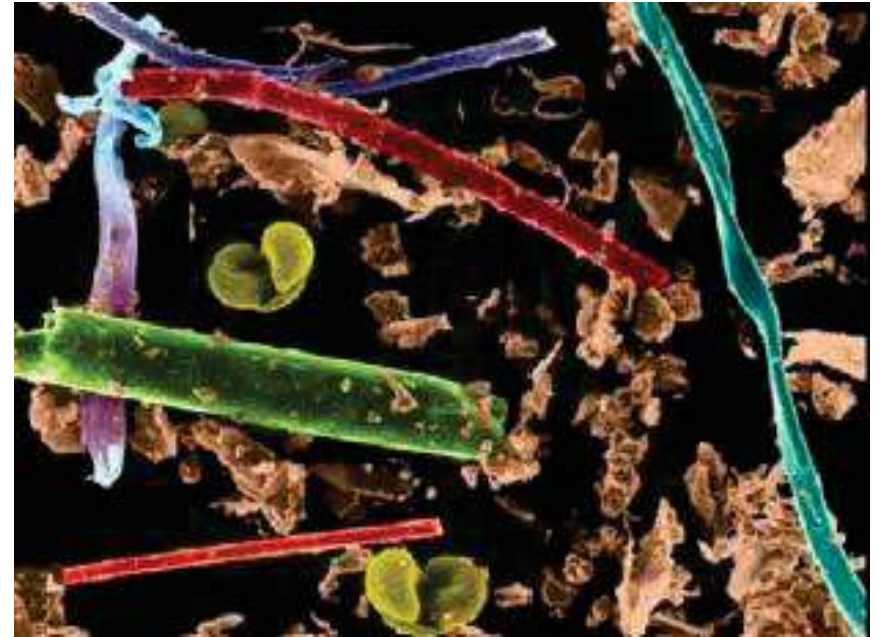
A HAIR KNOT



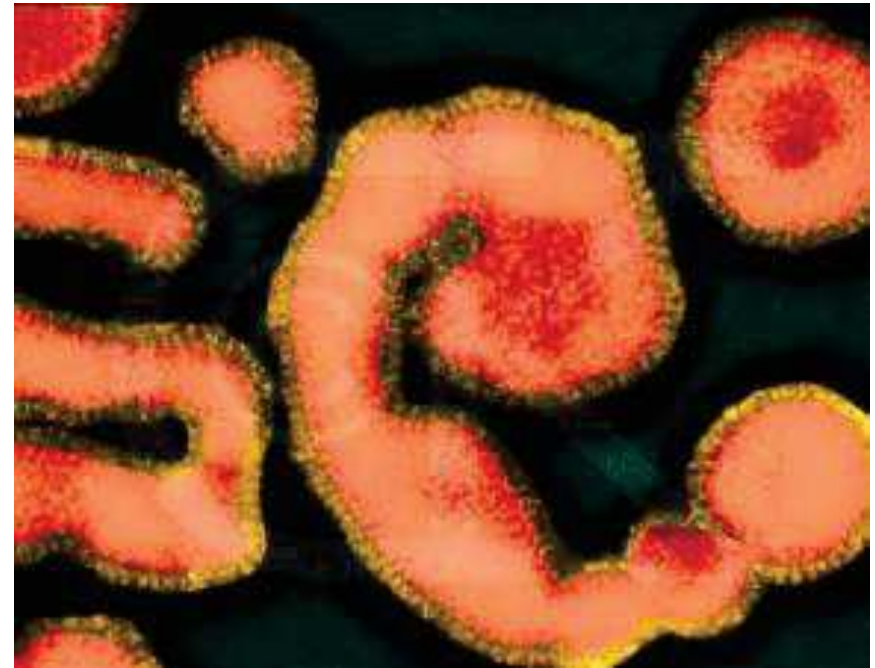
RED BLOOD CELL



ROOM DUSTS



FLU VIRUS

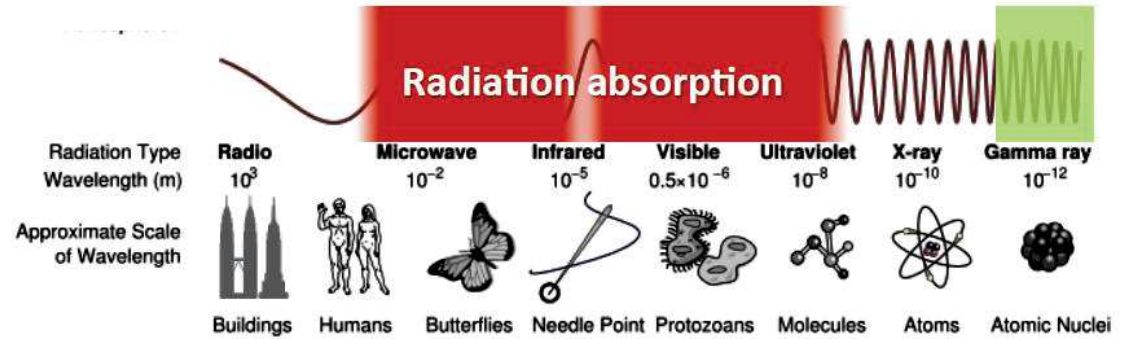
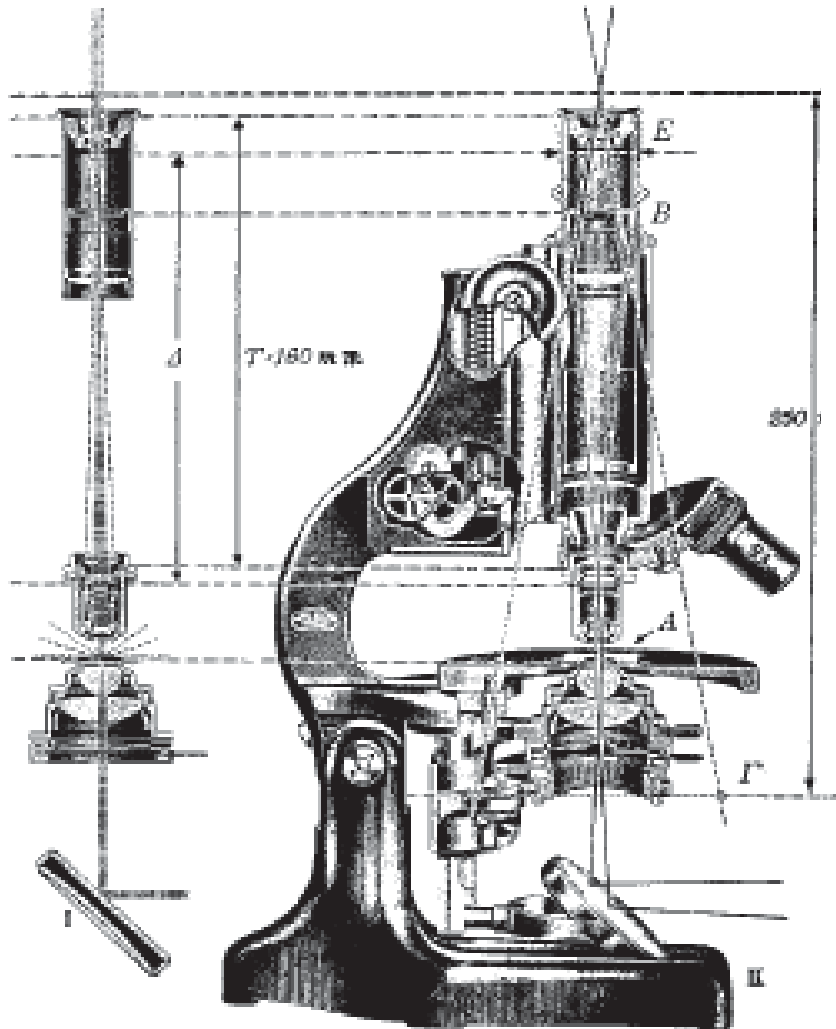




ΟΠΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ

Σύνθετο Μικροσκόπιο

Όριο της Δ.Ι. του Ο.Μ. είναι *η φύση του φωτός*



Ελάχιστο όριο μεγέθους αντικειμένων Ο.Μ.

$\frac{1}{2}$ λφωτός

$\frac{1}{2} \times 500 \text{ nm} = 250 \text{ nm}$



Μπορούμε να διακρίνουμε μόνο αντικείμενα με μέγεθος μεγαλύτερο του μισού μήκους κύματος του κύματος



ΟΠΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ

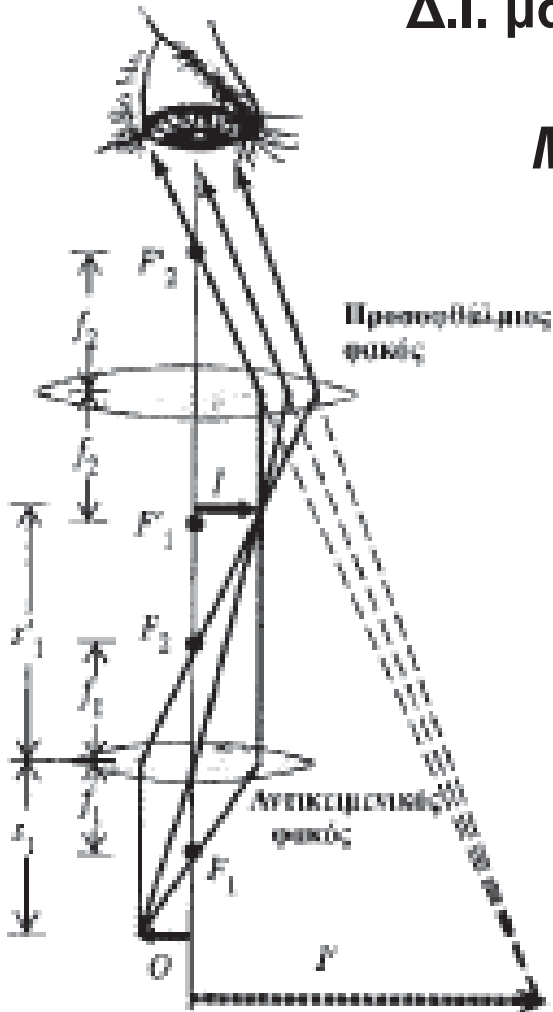
Σύνθετο Μικροσκόπιο

Δ.Ι. ματιού ~1/4 ή 0.25 mm υπό κανονικές συνθήκες παρατήρησης

Μέγιστη χρήσιμη μεγέθυνση με Ο.Μ.

$$\frac{\text{Διακρ. ικαν. Ματιού}}{\text{Διακρ. Ικαν. Φωτός}} = \frac{0.25 \times 10^{-3} \text{ m}}{0.25 \times 10^{-6} \text{ m}}$$

1.000



Μεγενθύσεις πέραν του 1000 χαρακτηρίζονται άχρηστες ή κενές μεγενθύσεις



ΧΡΗΣΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΜΙΚΡΟΤΕΡΟΥ ΜΗΚΟΥΣ ΚΥΜΑΤΟΣ λ

ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ:

- Το μάτι δεν είναι ευαίσθητο σ'αυτές τις ακτινοβολίες
- Για $\lambda < UV$ όλες οι ακτινοβολίες δεν ανακλώνται ούτε κάμπτονται για τον σχηματισμό ειδώλων.
- Είναι μεγάλης ενέργειας $E = h\nu = hc/\lambda$



ΜΕΓΕΘΥΝΣΗ - ΔΙΑΚΡΙΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ - ΑΝΤΙΘΕΣΗ

μεγέθυνση (M) εξαρτάται από την απόσταση ειδώλου από την εστία, η οποία με την σειρά της επηρεάζει την Δ.Ι.

Διακριτική ικανότητα (Δ.Ι.): η ικανότητα του να διακρίνουμε μικρές λεπτομέρειες μιας δομής

Αντίθεση σε σχέση με τον γύρω χώρο (background)



ΜΟΝΑΔΕΣ ΜΗΚΟΥΣ ΣΤΗΝ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ

μm ή “micron”	10^{-6} m	10^{-3} mm
nm ή “nanometer”	10^{-9} m	
Å ή dm ή “decinanometer”	10^{-10} m	10^{-9} nm

Επομένως, η Διακριτική Ικανότητα του

- Οπτικού Μικροσκοπίου είναι $0,25 \mu\text{m} = 250 \text{ nm} = 2.500 \text{ \AA}$
- Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου είναι $2.500 / 1000 = 2,5 \text{ \AA}$

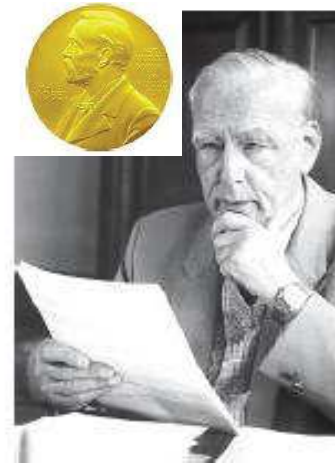


ΣΥΛΛΗΨΗ ΤΗΣ ΙΔΕΑΣ.....

- **H. Busch, 1926:** δημοσίευση εργασίας με θέμα την κίνηση των ηλεκτρονίων υπο την επίδραση εξωτερικού μαγνητικού πεδίου

ΙΔΕΑ: Χρήση μαγνητικού πεδίου ως φακού για την εστίαση ηλεκτρονίων!!!!

- **Max Knoll και Ernst Ruska, 1932** in High Voltage Laboratory at West Berlin (Nobel Prize in Physics 1986) Κατασκευή πρώτου TEM
- **Bodo von Borries and Ruska, 1939:** το πρώτο εμπορικό TEM από την εταιρεία SIEMENS στην Γερμανία
- **Vladimir Zwoeykin, James Hillier and Gerald Snyder, 1942** from radio corporation of America: Κατασκευή του πρώτου SEM

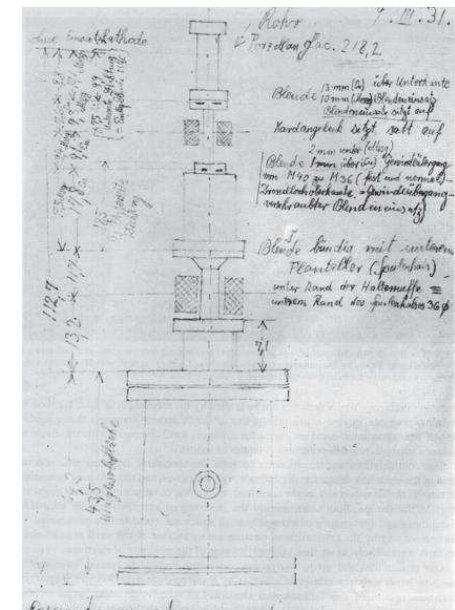


Ernst Ruska

Born: 25 December 1906, Heidelberg, Germany

Died: 27 May 1988, West Berlin, Germany

Affiliation at the time of the award: Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft, Berlin, Federal Republic of Germany





ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ

Ηλεκτρονική μικροσκοπία είναι η επιστήμη και τεχνολογία η οποία χρησιμοποιεί δέσμη ηλεκτρονίων για τον σχηματισμό μεγενθυμένων ειδώλων στερεών

Η διακριτική ικανότητα χρησιμοποιώντας ηλεκτρόνια είναι πολύ μεγαλύτερη, σε σχέση με την αντίστοιχη του ορατού φωτός.

Ένα μοντέρνο μικροσκόπιο φωτός έχει μέγιστη διακριτική ικανότητα ~200 nm

Με ένα ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μπορούμε να πετύχουμε αύξηση στην μεγένθηση ~1.000 φορές με θεωρητικό όριο 10^5 φορές

Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα από την χρήση ηλεκτρονίων είναι ότι:

οι οπτικές αρχές είναι ίδιες με το Ο.Μ., υπακούουν στις αρχές του φωτός



ΚΥΜΑΤΙΚΗ ΦΥΣΗ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΟΥ ΚΑΙ ΜΗΚΟΣ ΚΥΜΑΤΟΣ

Prince de Broglie: $\lambda = \frac{h}{p}$ } P : ορμή ηλεκτρονίου

$P = m_0 v$

$E = qV = eV = \frac{m_0 v^2}{2}$

$\lambda = \frac{h}{(2m_0 eV)^{1/2}}$

Με αύξηση του δυναμικού επιτάχυνσης μειώνεται το μήκος κύματος των ηλεκτρονίων!!

Σε 100 kV η ταχύτητα των ηλεκτρονίων είναι >0.5 της ταχύτητας του φωτός (2.998×10^8 m/s). Στα 1000 kV είναι 2.823×10^8 m/s !!!

$$\lambda = \frac{h}{\left[2m_0 eV \left(1 + \frac{eV}{2m_0 c^2} \right) \right]^{1/2}}$$



ΚΥΜΑΤΙΚΗ ΦΥΣΗ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΟΥ ΚΑΙ ΜΗΚΟΣ ΚΥΜΑΤΟΣ

Επειδή η V είναι συχνά πολύ μεγάλη η u γίνεται σε σύγκριση με την ταχύτητα του φωτός c και τότε κανείς πρέπει να λάβει υπόψιν του την σχετική αύξηση της μάζας των ηλεκτρονίων αντικαθιστώντας το V με το $V_{σχ} = V [1+eV/2m_0c^2]$ όπου m_0 η αδρανειακή μάζα (rest mass) του e^- . Η διόρθωση αυτή γίνεται σημαντική όταν το $V > 105$ Volts οπότε αλλάζει το λ ως εξής

kV	λ (pm)
20	8,588
50	$5,355 = 0,05 \text{ \AA} = \lambda_{\phi} \times 10^{-5}$
100	3,702
200	2,508
500	1,421
1000	0,872



Μεγέθυνση (M)

Διακριτική Ικανότητα (Δ.Ι.): Η ικανότητα του να μπορούμε να διακρίνουμε λεπτομέρειες μιας δομής

Αντίθεση (Contrast)

Μονάδες μήκους στην Μικροσκοπία μm , nm , \AA

ΟΠΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ $0,25 \mu\text{m} = 250 \text{ nm} = 2.500 \text{\AA}$
ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ $2.500/1000 = 2,5 \text{\AA}$

Object	Typical diameter D	$M^* = 75\mu\text{m} / D$
Grain of sand	1 mm = 1000 μm	None
Human hair	150 μm	None
Red blood cell	10 μm	7.5
Bacterium	1 μm	75
Virus	20 nm	4000
DNA molecule	2 nm	40,000
Uranium atom	0.2 nm = 200 pm	400,000



Βιολογία, Ιατρική και Επιστήμη των Υλικών

Βιολογικές Επιστήμες:

- Διάγνωση ασθενειών σε ανθρώπους, ζώα και φυτά. Ανάπτυξη παθολογίας ασθενειών.
- Μελέτη της μορφολογίας μικροοργανισμών, ιστών και κυττάρων.
- Ταυτοποίηση ιών, βακτηρίων, διατόμων.
- Οπτική ταυτοποίηση υποκυτταρικών συστατικών και δομών όπως το DNA, στοιχείων, ενζύμων και πρωτεϊνών.

Επιστήμη των Υλικών:

- Ταυτοποίηση, ανάλυση δομής-φάσεων στερεών, σε ατομικό επίπεδο.
- Ανάλυση κραμάτων και μελέτη ρωγμών.
- Μελέτη διεπιφανειών και μορφολογίας σωματιδίων.
- Στοιχειακή ανάλυση και προσδιορισμός χημικής σύστασης.



ΒΑΣΙΚΑ ΕΙΔΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑΣ

TABLE 1.1
Comparison of Selected Characteristics of Light and Electron Microscopes

FEATURE	LIGHT MICROSCOPE	TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPE	SCANNING ELECTRON MICROSCOPE
General use	Surface morphology and sections (1–40 μm)	Sections (40–150 nm) or small particles on thin membranes	Surface morphology
Source of illumination	Visible light	High-speed electrons	High-speed electrons
Best resolution	ca. 200 nm	ca. 0.2 nm	ca. 3–6 nm
Magnification range	10–1,000 \times	500–500,000 \times	20–150,000 \times
Depth of field	0.002–0.05 mm (N.A. 1.5)	0.004–0.006 mm (N.A. 10^{-3})	0.003–1 mm
Lens type	Glass	Electromagnetic	Electromagnetic
Image ray-formation spot	On eye by lenses	On phosphorescent plate by lenses	On cathode tube by scanning device