



Національний технічний
університет України
«Київський
Політехнічний
Інститут»



Методи та засоби мікроскопії



Наукове видання

**Антонюк Віктор Степанович
Тимчик Григорій Семенович
Бондаренко Юлія Юріївна
Петльований Петро Вікторович
Білокінь Світлана Олександровна
Бондаренко Максим Олексійович**

Методи та засоби мікроскопії

Монографія

*В авторській редакції
Надруковано з оригінал-макета замовника*

Темплан 2013 р., поз. 3-1-003

Підп. до друку 16.01.2013. Формат 60×84 $\frac{1}{16}$. Папір офс. Гарнітура Times.
Способ друку – ризографія. Ум. друк. арк. 19,53. Обл.-вид. арк. 32,48. Зам. № 13-5.

Наклад 300 пр.

**НТУУ «КПІ» ВІПІ ВЛК «Політехніка»
Свідоцтво ДК № 1665 від 28.01.2004 р.
03056, Київ, вул. Політехнічна, 14, корп. 15
тел. (044) 406-81-78**

Міністерство освіти і науки, молоді та спорту України

Національний технічний університет України

«Київський політехнічний інститут»

Методи та засоби мікроскопії

Монографія

Рекомендовано Вченого радою НТУУ «КПІ»

Київ
НТУУ «КПІ»
2013

ЗМІСТ

Вступ 7

Розділ 1 ІСТОРІЯ РОЗВИТКУ МЕТОДІВ ТА ЗАСОБІВ МІКРОСКОПІЇ

1.1 Оптична мікроскопія та профілометрія 11

1.2 Електронна мікроскопія 26

1.3 Зондова мікроскопія 34

1.4 Роль мікроскопії в науці та техніці 38

Ю. Д. Філатов, д-р техн. наук, проф.,
лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки
Інститут нафтвердих матеріалів ім. В. М. Бакуля
Національної академії наук України

Авторський колектив:
В. С. Антонюк, Г. С. Тимчик, Ю. Ю. Бондаренко,
П. В. Пєтрований, С. О. Білокін, М. О. Бондаренко

Рецензенти:

С. О. Воронов, д-р техн. наук, проф.,
Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут»

А. Г. Місюра, д-р біол. наук, проф.,
Інститут прикладних проблем фізики і біофізики
Національної академії наук України

Ю. Д. Філатов, д-р техн. наук, проф.,
лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки
Інститут нафтвердих матеріалів ім. В. М. Бакуля
Національної академії наук України

Розділ 2 МЕТОДОЛОГІЯ ТА ТЕХНІЧНІ ЗАСОБИ ОПТИЧНОЇ МІКРОСКОПІЇ

M54 Методи та засоби мікроскопії: моногр. / В. С. Антонюк,

Г. С. Тимчик, Ю. Ю. Бондаренко та ін. – К.: НТУУ «КПІ», 2013. –
336 с. – Ббліотр.: с. 310–317. – 300 прим.

ISBN 978-966-622-554-5

Систематизовано матеріали щодо методів і засобів мікроскопії: розглянуто історію їх розвитку; подано методологію та технічні засоби мікроскопії – від оптичної до найбільш сучасної – зондової; наведено принципи роботи різних типів мікроскопів, а також їх основні технічні характеристики та розрахунки основних параметрів відповідних методів мікроскопії. Викладено основні відомості про засоби інструментальної мікроскопії та розглянуто перспективи розвитку методів і засобів мікроскопії.

Для студентів, магістрів та аспірантів вищих технічних навчальних закладів України, по спеціалізується за напрямом підготовки «Приладобудування», також може бути корисно викладачам вищих навчальних закладів, науковим співробітникам та фахівцям у сфері оптичного приладобудування та мікроскопічного дослідження матеріалів.

УДК 681.723+621.385.833

ББК 22.338

ISBN 978-966-622-554-5

© В. С. Антонюк, Г. С. Тимчик,
Ю. Ю. Бондаренко, П. В. Пєтрований,
С. О. Білокін, М. О. Бондаренко, 2013

© НТУУ «КПІ» (ПБФ), 2013

2.2.2.2 Мікроскопи, що працюють на відзеркалення 77

2.2.2.1 Інтерференційна мікроскопія 59

2.2.1.2 Інвертовані мікроскопи 76

2.2.1 Біологічні мікроскопи, що працюють на просвітлення 55

2.2.2.2 Стереомікроскопія 82

2.2.2.3 Люмінесцентна мікроскопія 83

2.2.2.4 Металографічні мікроскопи 86

2.2.2.4.1 Принцип дії та будова металографічних мікроскопів 86

2.2.2.4.2 Основні типи та конструктивні особливості
металографічних мікроскопів 90

2.2.2.4.3 Методи металографічних досліджень металевих матеріалів 93

2.3	Основні технічні характеристики та розрахунки параметрів оптичних мікроскопів	98
2.4	Приклади застосування методів оптичної мікроскопії	102
2.4.1	Дослідження біологічних об'єктів методом мікроскопії на просвітлення	108
2.4.2	Особливості проведення досліджень з використанням методу поляризаційно-інтерференційної мікроскопії	111
2.4.3	Дослідження мікроструктури матеріалів методом металографічного аналізу	115
Розділ 3	МЕТОДОЛОГІЯ ТА ТЕХНІЧНІ ЗАСОБИ ЕЛЕКТРОННОЇ МІКРОСКОПІЇ	118
3.1	Принципи роботи та області застосування електронних мікроскопів	118
3.2	Принципові схеми електронних мікроскопів	126
3.2.1	Растрові електронні мікроскопи	126
3.2.2	Електронні мікроскопи, що працюють на просвітлення	139
3.2.3	Інші типи електронних мікроскопів	153
3.3	Технічні характеристики та розрахунки основних параметрів електронних мікроскопів	158
3.4	Комп'ютерний аналіз зображень електронної мікроскопії	160
3.5	Методики електронної мікроскопії	162
3.5.1	Методика растрової електронної мікроскопії для дослідження структури поверхні композиційних матеріалів	166
3.5.2	Методика визначення кристалографічних параметрів структури композиційних матеріалів за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії	175
Розділ 4	МЕТОДОЛОГІЯ РЕНТГЕНІВСЬКОЇ МІКРОСКОПІЇ	190
4.1	Поняття рентгенівського мікроскопу та його види	190
4.2	Характеристичні рентгенівські спектри мікроскопів	193
4.3	Особливості мікроскопічних досліджень з використанням методик рентгенівської мікроскопії	200
4.3.1	Кількісний аналіз з використанням кристал-дифракційних спектрометрів	200
4.3.2	Мікрорентгеноспектральний аналіз якісного і напівкількісного складу порошків легких та важких металів	213
4.3.3	Рентгеноспектральний аналіз легких елементів	215
4.3.4	Особливі випадки кількісного аналізу в роботі рентгенівських мікроскопів	223
Розділ 5	МЕТОДОЛОГІЯ ТА ТЕХНІЧНІ ЗАСОБИ ЗОНДОВОЇ МІКРОСКОПІЇ	230
5.1	Принципи роботи та схематичні рішення зондових мікроскопів	230
5.1.1	Скануюча тунельна мікроскопія	235
5.1.2	Атомно-силова мікроскопія	246
5.1.3	Близькістьопольна оптична мікроскопія	252
5.1.4	Магнітно-силова мікроскопія	260
5.1.5	Електросилова мікроскопія	270
5.2	Технічні характеристики, їх розрахунки та основні фізичні ефекти в наноконтактах зонду з поверхнею	273
5.3	Особливості мікроскопічних досліджень з використанням методик зондової мікроскопії	284

5.3.1 Особливості вивчення мікроскопії поверхонь конструкцій

матеріалів методом атомно-силової мікроскопії 284

5.3.2 Дослідження параметрів біологічних об'єктів методом атомно-силової мікроскопії 291

5.3.3 Дослідження феромагнітних властивостей напівпровідників

шарів методом магніто-силової мікроскопії 296

5.4 Сучасне програмне забезпечення та формати збереження даних обробки результатів зондової мікроскопії 302

ЗАКЛЮЧЕННЯ 307

Список літературних джерел 310

Додатки 318

ДОДАТОК А. Основні події у розвитку методів та засобів мікроскопії 319

ДОДАТОК Б. Основні признаки останнього покоління мікроскопів 322

ДОДАТОК В. Відомості про фірми-виробники оптичних мікроскопів 324

ВСТУП

Впродовж тривалого часу люди жили в оточенні мікроскопічних організмів, використовували продукти їх життєдіяльності (наприклад, при випічці хліба з кислого тіста, приготуванні вина чи огу), страждали, коли ці мікроскопічні организми були причинами хвороб або псували запаси їжі але не підозрювали про їх присутність. Не підозрювали тому, що не бачили, а не бачили тому, що діапазон розмірів цих мікроорганізмів набагато нижче тієї межі видимості, на яку златне людське око. Відомо, що людина з нормальним зором на оптимальний відстані (25-30 см) може розрізняти у вигляді точки предмет розміром 0,07-0,08 мм. Менші об'єкти людина помітити не може. Це визначається особливостями будови її органів зору.

Коли на початку XVII століття був створений перший мікроскоп, навряд чи хто-небудь (навіть, його винахідник) міг уявити майбутні успіхи і численні сфери застосування мікроскопії. Озираючись назад, ми переконуємося, що цей винахід знаменував собою щось більше, ніж створення нового пристрою: вперше людина отримала можливість побачити раніше невидиме.

Приблизно в той же час, коли почалося дослідження космосу за допомогою телескопів, були зроблені перші спроби розкрити, за допомогою лінз таємниці мікросвіту. Так, при археологічних розкопках в Стародавньому Єгипті знайдили двоштуки лінзи – найпростіші оптичні прилади. Лінзи були виготовлені з відшліфованого гірського кришталю. Можна вважати, що з їх винайдом людина зробила перший крок на шляху в мікросвіт. Винайд мікроскопа і телескопа був революційним не лише в способах вивчення природи, але й в самому методі дослідження.

Дійсно, натурфілософи давнини спостерігали природу, дізнаючись про неї тільки те, що бачило око, відчувала шкіра, чуло вухо. Можна лише дивуватися, як багато істинних знань про навколошній світ отримали вони, користуючись лише "неозброєними" органами чуття та не займаючись спеціальними експериментами, як це роблять зараз. Разом з тим поряд з

точними фактами та геніальними припущеннями, як багато помилкових "спостережень", тверджень та висновків залишили нам вчені давнини та середніх століть!

Лише значно пізніше був знайдений метод вивчення природи, що полягає в постановці свідомо спланованих експериментів, метою яких є перевірка притуць і чітко сформульованих гіпотез.

Особливості цього методу дослідження Френсіс Бекон – один з' його творців – висловив так: "Ставити експеримент – це чинити доліт природі". Найперші кроки експериментального методу за сучасними уявленнями були скромні, і в більшості випадків експериментатори того часу обходилися без жодних пристрій, що "підсилюють" органи чуття. Винайді мікроскопа і телескопа – став колosalним розширенням можливостей спостереження і експерименту.

Вже перші спостереження, проведенні за допомогою найпростішої та недосконалої за сучасними уявленнями техніки, відкрили "цілий світ в країні воді". Виявилось, що знайомі предмети виглядають зовсім інакше, якщо їх розглядати в мікроскопі: гладкі на погляд і лотик поверхні виявляються на правді шорсткими, в "чистій" воді рухаються міріади найдрібніших організмів. Так само перші астрономічні спостереження за допомогою телескопів дали можливість людині по-новому побачити звичний світ планет і зорік: наприклад, поверхня Місяця, осліпаного поетами всіх поколінь, виявилася гористого і подітканого численними кратерами, а у Венери була виявлена зміна фаз, як у Місяця.

Найпростіший спосіб збільшити зображення невеликого предмету – це спостерігати його за допомогою лути. Лупого називають збірну лінзу з малою фокусного відстанню (як правило, не більше 10 см), вставлenu в рукотку. Творець телескопа Галілей в 1610 році виявив, що в сильно розсуненому стані його зорова труба дозволяє сильно збільшити дрібні предмети. Його мокка вважали винахідником мікроскопа, що складається зі збірної та розсіючої лінз.

Більш досконалим інструментом для спостереження мікроскопічних предметів є простий мікроскоп. Коли з'явилася ці прилади невідомо. На самому початку XVII століття декілька таких мікроскопів виготовив майстер з окулярів Захара Янсен з Міддельбурга.

У творі А.Кірхера, що вийшов в 1646 році, міститься опис простого мікроскопа, названого ним "блонінним склом". Він складався з тути, відраленої в мідні основу, на якій закріплювали предметний столик, що слугував для розташування даного об'єкту; внизу знаходилося плоске або увінчане дзеркало, що відбивало сонячні промені на предмет і таким чином освітлювало його знизу. Лупу пересували за допомогою гвинта до предметного столика, поки зображення не ставало виразним і ясним.

Перші видатні відкриття були зроблені якраз за допомогою простого мікроскопа. В середині XVII століття близькучих успіхів зазнав голландський природоєдник Антоні Ван Левеншук. Протягом багатьох років Левеншук улосконаловався у виготовленні крихітих (іноді менше 1 мм в діаметрі) двоотуких лінз, які він виготовляв з маленької скляної куліки шляхом розплавлення в полум'ї скляної папічки. Потім ця скляна кулька піддавалася шліфувальному верстаті. Впродовж свого життя Левеншук вистовив не менше 400 подібних мікроскопів. Один з них, що зберігається в Університетському музеї в Уtrechtе, дає більш ніж 300-кратне збільшення, що для XVII століття було величезним успіхом.

На початку XVII століття з'явилися складні мікроскопи, складені з двох лінз. Винайдник такого складного мікроскопа точно не відомий, але багато фактів говорять про те, що ним був голландець Корнелій Дребель, що жив в Лондоні і знаходився на службі в англійського короля Якова I. У складному мікроскопі були два скла: одне – об'єктив – з боку предмета, інше – окуляр – з боку ока спостерігача. У перших мікроскопах в якості об'єктиву використовували двоотуки скло, що давало дійсне збільшене, але обернене зображення. Це зображення і розглядалося за допомогою окуляра, який грав, таким чином, роль лути. Тільки ця лупа служила для збільшення не самого

предмету, а його зображення. У 1663 році мікроскоп Дребел був

вдосконалений англійським фізиком Робертом Гуком, який додав до нього третю лінзу, що отримала назву колектору. Цей тип мікроскопа став вельми популярним, і більшість мікроскопів кінця XVII століття – першої половини VIII століття будувалися за його схемою.

Проте, не зажаючи на велику популярність цього мікроскопа, вже починаючи з XIX століття активно розпочався розвиток існуючих, а також появи нових методів мікроскопії, а формування і удосконалення цих методів не припинилося й досі.

Таким чином, дана монографія, яка присвячена питанням існуючих на сьогодні методів та засобів мікроскопії, є актуального і в першу чергу адресується студентам, магістрам та аспірантам вищих технічних закладів освіти України, що спеціалізуються за напрямком «Приладобудування», а також може бути корисною викладачам вищих навчальних закладів, науковим співробітникам та фахівцям, що спеціалізуються в областях оптичного приладобудування та мікроскопічного дослідження матеріалів.

В першій частині монографії (розділ 1) розглянута історія розвитку методів та засобів мікроскопії, визначена роль мікроскопії в науці та техніці, а також основні галузі застосування різних типів мікроскопів.

В другій частині монографії (розділи 2-5) наводяться принципи роботи та принципи схеми основних типів мікроскопів: оптичних, електронних, рентгенівських та зондових.

Rозділ I ІСТОРІЯ РОЗВИТКУ МЕТОДІВ ТА ЗАСОБІВ МІКРОСКОПІЇ

Мікроскопія (лат. *мікро* – дрібний, маленький та *скопос* – бачу) – вивчення об'єктів з використанням мікроскопа. Поляється на леківка видів: оптична мікроскопія, електронна мікроскопія, багатофотонна мікроскопія, рентгенівська мікроскопія або рентгенівська лазерна мікроскопія, зондова мікроскопія тощо, що відрізняються використанням електромагнітних променів з можливістю отримання зображень мікроелементів речовини залежно від роздільної здатності приладів (мікроскопів).

До створення рентгенівських мікроскопів працювали з оптичними приладами, що використовують промені видимого світла, оскільки людське око працює в оптичному діапазоні довжин хвиль, рис.1.1. Відповідно, оптичні мікроскопи не могли мати роздільну здатність менше напівперіоду хвилі опорного випромінювання (для видимого діапазону довжина хвиль 0,4-0,7 мкм) з можливим максимальним збільшенням до 2000 разів [1-5].

В оптичній мікроскопії на сьогодні зроблений значний прорив, в результаті якого зданий фундаментальний критерій Релея, який полягає в тому, що мінімальний розмір помітного об'єкту дещо менше довжини хвилі використовуваного світла і принципово обмежений дифракцією випромінювання. Це була межа досягнення роздільної здатності в оптичній мікроскопії. До недавнього часу не можна було здогати бар'єр, що дозволяє розрізняти структури з відстанню між елементами до 200 нм.

Проте цікавого є остання розробка оптичної системи наноскопу з оптичного роздільного здатності 10 нм, яка розширила діапазон оптичної мікроскопії – наноскопії до десятків нанометрів (наприклад, розмір білкових молекул, з яких складається людський організм, коливається від 3 до 10 нм) [6].

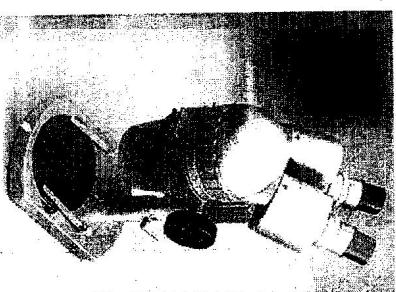


Рис.1.1 – Зондний виснайд бінокулярного стереомікроскопу