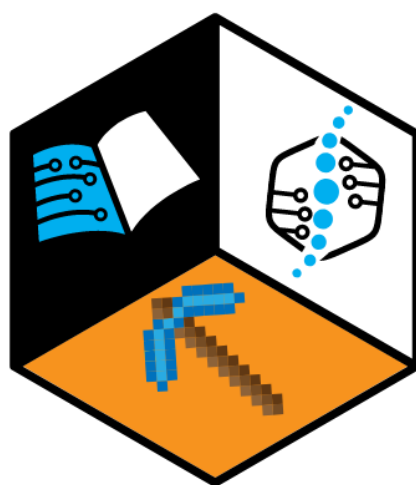


NANOWARE Πρόγραμμα Σπουδών

ΕΝΟΤΗΤΑ 4: ΠΩΣ ΒΛΕΠΟΥΜΕ ΤΑ
ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΪΔΙΑ;

ΠΑΡΑΔΟΤΕΟ: R1/T1.1



NANOWARE

31.10.2022

Pammukale University

Συντάχθηκε από: PAU

Κωδικός έργου: 2021-2-PL01-KA220-SCH-000051200



Co-funded by
the European Union

The European Commission's support for the production of this publication does not constitute an endorsement of the contents, which reflect the views only of the authors, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. Εισαγωγή στην Ενότητα	3
2. Πώς γίνονται ορατά τα νανοσωματίδια?.....	5
2.1 Το μικροσκόπιο.....	6
3. Τι μπορούμε να δούμε με ένα οπτικό/φωτεινό μικροσκόπιο;.....	7
4. Πώς μπορούμε να δούμε τα άτομα;	10
4.1 Ηλεκτρικό μικροσκόπιο.....	13
4.2 Μικροσκοπία με ανιχνευτή	14
4.3 Επεξεργασία οπτικής μικροσκοπίας.....	16
4.4 Περίληψη των μικροσκοπίων.....	17
5. Πηγές.....	18

1. Εισαγωγή στην Ενότητα

Μετά από μια σύντομη περιγραφή των ορίων της όρασης του ανθρώπινου ματιού, εισάγονται διαφορετικοί τύποι και αρχές λειτουργίας μικροσκοπίων σε αυτή την ενότητα. Οι μέθοδοι οπτικοποίησης και ανάλυσης για νανοσωματίδια εξηγούνται λεπτομερώς. Η ενότητα είναι πλήρης με μια επισκόπηση των τύπων μικροσκοπίων και των περιοχών χρήσης τους.

Περιγραφή

Σε αυτή την ενότητα, οι φοιτητές θα μάθουν τις μεθόδους οπτικοποίησης και ανάλυσης νανοσωματιδίων, την περιγραφή τους και τις αρχές λειτουργίας τους.

Στόχοι της ενότητας

Στόχος αυτής της ενότητας είναι η ευαισθητοποίηση σχετικά με:

- τα όρια της όρασης του ανθρώπινου ματιού
- ο σκοπός της χρήσης του φωτεινού μικροσκοπίου και άλλων μεθόδων απεικόνισης, όπως SEM, TEM, AFM, STM,
- τις διαφορές μεταξύ όλων των μικροσκοπικών μεθόδων.

Στόχοι εκπαίδευσης

Οι μαθητές θα είναι σε θέση να:

- να εξηγήσει τα όρια της όρασης του ανθρώπινου ματιού,
- να περιγράψει το σκοπό της χρήσης του φωτεινού μικροσκοπίου και τις αρχές λειτουργίας του
- να περιγράψετε γιατί δεν μπορούμε να απεικονίσουμε τα άτομα με το μικροσκόπιο φωτός,
- εξηγήστε τις μεθόδους οπτικοποίησης που μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε για την οπτικοποίηση ατόμων και νανοσωματιδίων.

Μαθησιακά αποτελέσματα

Με την επιτυχή ολοκλήρωση αυτής της ενότητας, οι φοιτητές θα μάθουν:

- τα όρια της όρασης του ανθρώπινου ματιού,
- Ο σκοπός της χρήσης μικροσκοπίων, τους τύπους και τις κύριες λειτουργίες τους,

- Οπτικές μέθοδοι πουθ μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να οπτικοποιήσουν τα άτομα και τα νανοσωματίδια.

Εκτιμώμενος χρόνος αναμονής

Η ολοκλήρωση της ενότητας θα διαρκέσει 1,5 ώρα. Συμπεριλαμβάνονται μια διάλεξη τριάντα λεπτών και μιας ώρας εργαστήριο.

2. Πώς γίνονται ορατά τα νανοσωματίδια?

Όρια της όρασης του ανθρώπινου ματιού

Το ανθρώπινο μάτι δεν μπορεί να δει αντικείμενα μικρότερα από 40 μm (micrometer). ($1 \mu\text{m} = 0,000001 \text{ m} = 10^{-6} \text{ m}$) Θα πρέπει να χρησιμοποιήσουμε διαφορετικούς τύπους από μικροσκόπια για να δούμε αντικείμενα μικρότερα από αυτό το μέγεθος.

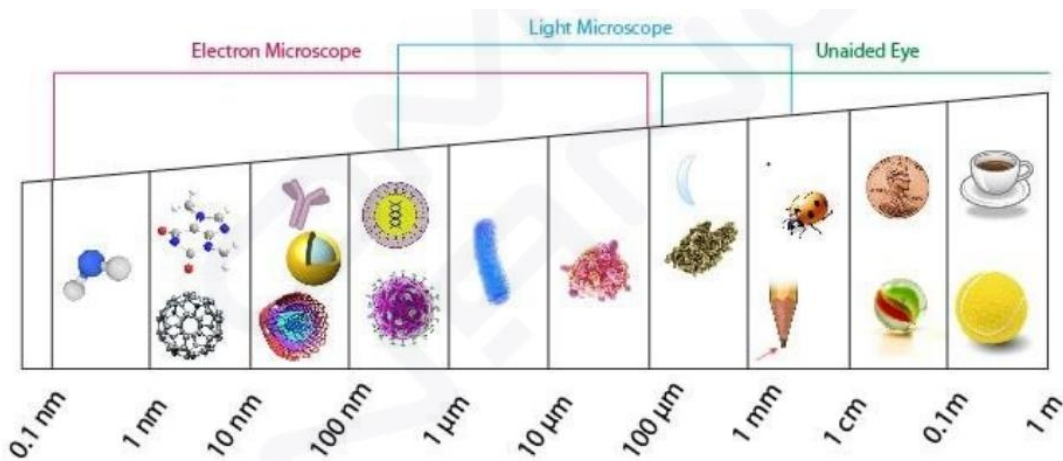


Figure 1. The visualization range of the human eye, the optical/light microscope, and the electron microscope.

Τα μικροσκόπια είναι οπτικά αντικείμενα, τα οποία επιτρέπουν να εξετάσουμε έμβια ή άψυχα όντα που είναι τόσο μικρά για να γίνουν ορατά με γυμνό μάτι. Τα μικροσκόπια φέρνουν τα αντικείμενα πιο κοντά στα οπτικά όρια του ματιού, κάνοντάς τα ορατά με γυμνό μάτι. Οι ευκαριωτικοί οργανισμοί και τα βακτήρια είναι μετρησιμα με το μικροσκόπιο, οι ιοί στο νανομικροσκόπιο και τα άτομα και τα μόρια σε κλίμακα angstrom. $1 \text{ mm} = 1000 \mu\text{m}$ (micrometer)

$1 \mu\text{m} = 1000 \text{ nm}$ (nanometer)

$1 \text{ nm} = 1000 \text{ \AA}$ (angstrom)



Figure 2. Το σχετικό μέγεθος των σωματιδίων (<https://www.visualcapitalist.com/visualizing-relative-size-of-particles/>)

2.1 Το μικροσκόπιο

Μικροσκόπια τα οποία έχουν ευρεία χρήση στα εργαστήρια είναι ένας συνδυασμός της λέξης που εμπεριέχει την ελληνική λέξεις «μικρό» και « is a combined word consisting of the Greek words "micro" and "σκοπός". Μικρό, small; Μικρός σκοπός σημαίνει παρατηρητής. Η λέξη σημαίνει «βλέπω μικρά πράγματα». Ένα μικροσκόπιο είναι ένα οπτικό όργανο που επιτρέπει να εξετάσουμε έμψυχα ή άψυχα αντικείμενα, τόσο μικρά που δεν γίνονται ορατά με γυμνό μάτι. Το μικροσκόπιο είναι μια συσκευή που βασίζεται στο φως και το οπτικό πεδίο.

Τον 17^ο αιώνα, ο Dutch Anton van Leeuwenhoek και ο English Robert Hooke ανακάλυψαν τα χαρακτηριστικά του μικροσκοπίου που χρησιμοποιούμε έως σήμερα. Το μικροσκόπιο, το οποίο πρώτη φορά χρησιμοποιήθηκε στα μορφολογικά εργαστήρια το 1757, πήραν μέρος στη σύγχρονη ιατρική στα μέσα του 19^{ου} αιώνα. Το μικροσκόπιο, το οποίο παρουσίασε μεγάλες εξελίξεις κατά την περίοδο αυτή, διακρίνεται βασικά σε δύο τύπους μικροσκόπιο φωτός και ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ανάλογα με την πηγή φωτισμού. Στο φωτεινό μικροσκόπιο, η πηγή φωτισμού είναι το ηλιακό φως ή μια λάμπα. Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, για τον φωτισμό του αντικειμένου χρησιμοποιούνται επιταχυνόμενες δέσμες ηλεκτρονίων.

Τα ζωντανά και άψυχα αντικείμενα που μπορούν να παρατηρηθούν με τη χρήση φωτεινών και ηλεκτρονικών μικροσκοπίων φαίνονται στο παρακάτω σχήμα:

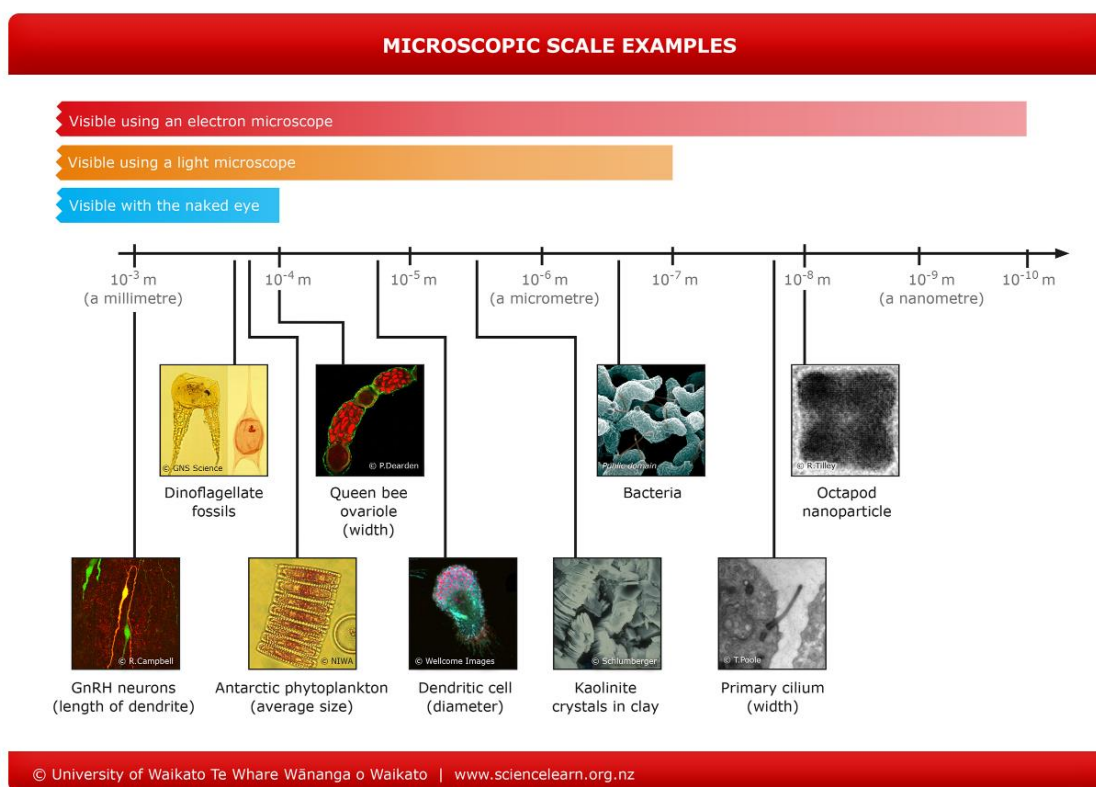


Figure 3. Παραδείγματα μικροσκοπικής κλίμακας (<https://www.sciencelearn.org.nz/resources/497-the-microscopic-scale>)

3. Τι μπορούμε να δούμε με ένα οπτικό/φωτεινό μικροσκόπιο;

Το οπτικό μικροσκόπιο, ή αλλιώς μικροσκόπιο φωτός, χρησιμοποιεί ορατό φως με ένα σύστημα φακών για να μεγεθύνει μικρά αντικείμενα. Το οπτικό μικροσκόπιο επιτρέπει τη μεγέθυνση αντικειμένων με τη χρήση διαφόρων φακών και τη διάταξη αυτών των φακών. Είναι ένα όργανο που χρησιμοποιείται συχνά στη βιολογική έρευνα. Light microscopes are based on light beams in visible wavelengths sent from a Ta μικροσκόπια φωτός βασίζονται σε δέσμες φωτός σε ορατά μήκη κύματος που αποστέλλονται από

μια πηγή φωτός, περνούν μέσα από το προς εξέταση δείγμα και η αντίληψη της εικόνας μεγεθύνεται από τους φακούς και από τον παρατηρητή ανάλογα με την αντίθεση, την πυκνότητα και τις διαφορές πάχους. Με ένα οπτικό μικροσκόπιο μπορούμε να δούμε αντικείμενα μεγέθους που κυμαίνεται έως και 1 μικρόμετρο. (Για σύγκριση, η διάμετρος μιας ανθρώπινης τρίχας είναι περίπου 100 μm .) Άλλα αντικείμενα που μπορούμε να δούμε χρησιμοποιώντας ένα οπτικό μικροσκόπιο είναι μέρη λουλουδιών, έντομα, γαιοσκώληκες και ανθρώπινο δέρμα. Το οπτικό μικροσκόπιο είναι ιδανικό για την απεικόνιση βιολογικών δειγμάτων, επειδή η ανάλυση του οπτικού μικροσκοπίου (η ικανότητα ενός μικροσκοπίου να διακρίνει λεπτομέρειες) είναι εντός του εύρους μεγέθους των κυττάρων.

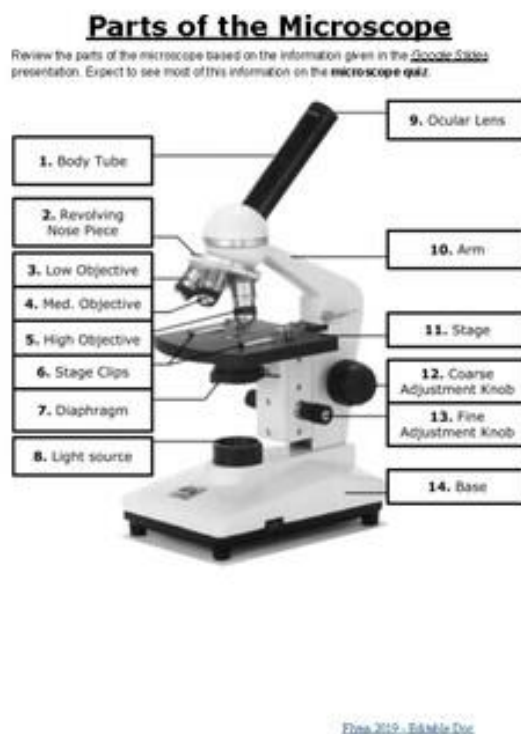
Η ποιότητα της εικόνας που λαμβάνεται στο μικροσκόπιο φωτός και σε άλλους τύπους μικροσκοπίων καθορίζεται από δύο χαρακτηριστικά. Το πρώτο από αυτά τα χαρακτηριστικά είναι ο λόγος μεγέθυνσης (μεγέθυνση). Ο λόγος μεγέθυνσης δείχνει πόσες φορές μεγαλύτερη εικόνα λαμβάνεται από το αρχικό μέγεθος ενός αντικειμένου. Η δεύτερη ιδιότητα είναι η ανάλυση. Η ανάλυση υποδηλώνει τον βαθμό στον οποίο συνθήκες όπως η απόσταση και η διαφορά πυκνότητας μεταξύ των δομών του παρατηρούμενου αντικειμένου διατηρούνται στη μεγεθυμένη εικόνα, δηλαδή πόσο καθαρή είναι η εικόνα. Στα μικροσκόπια, η ανάλυση και η μεγέθυνση παρέχονται από το φως και τους φακούς του μικροσκοπίου. Οι φακοί μας επιτρέπουν να κατευθύνουμε το φως που χρησιμοποιείται για διάφορους σκοπούς.

Στις εικόνες μικροσκοπίου, το μήκος κύματος (λ) του φωτός του μικροσκοπίου και το αριθμητικό διάφραγμα (NA), το οποίο εκφράζει τη φωτοσυλλεκτική ικανότητα του φακού, είναι δύο παράγοντες που επηρεάζουν την ανάλυση. Υπάρχει γραμμική αναλογικότητα μεταξύ του αριθμητικού ανοίγματος και της ανάλυσης. Ένας φακός με υψηλή τιμή αριθμητικού ανοίγματος έχει επίσης υψηλή ανάλυση. Ο δείκτης διάθλασης (n) είναι μια αριθμητική έκφραση που δείχνει πόσο φως μεταδίδεται/διαχέεται χωρίς διάθλαση. Ο δείκτης διάθλασης είναι ο λόγος του εκπεμπόμενου φωτός προς το διαθλώμενο φως. Η τιμή του n , η οποία δηλώνει τον δείκτη διάθλασης, εκφράζει την ικανότητα συλλογής φωτός του φακού

που χρησιμοποιείται. Με άλλα λόγια, όσο υψηλότερη είναι η τιμή n , τόσο μεγαλύτερη είναι η ικανότητα συλλογής φωτός του φακού που χρησιμοποιείται.

Figure 4. Parts of the Microscope

Απαιτείται υψηλό επίπεδο αντίθεσης για να είναι ορατή η εικόνα με το μικροσκόπιο. Είναι δυνατή η ρύθμιση της αντίθεσης με τη μεταβολή της έντασης του φωτός και της γωνίας υπό την οποία το φως διέρχεται από τους φακούς. Η γωνία του φωτός που προέρχεται από τον φακό φωτισμού (συμπυκνωτή) ρυθμίζεται από τους δακτυλίους φάσης στο μικροσκόπιο που ονομάζονται διάφραγμα. Μια άλλη μέθοδος που χρησιμοποιείται για τη ρύθμιση της αντίθεσης είναι τα φίλτρα που μπορούν να τοποθετηθούν μπροστά από την πηγή φωτισμού. Είναι δυνατόν να ενισχυθεί η αντίθεση με τη χρώση του προς εξέταση δείγματος με διάφορες χημικές ουσίες.



Στις αίθουσες διδασκαλίας υπάρχουν δύο τύποι μικροσκοπίων φωτός. Το ένα από αυτά είναι το στερεομικροσκόπιο, που χρησιμοποιείται για την εξέταση της επιφάνειας των αντικειμένων, και το άλλο είναι το σύνθετο μικροσκόπιο, που χρησιμοποιείται για την εξέταση μιας λεπτής διατομής. Ένα από τα πλεονεκτήματα των φωτεινών μικροσκοπίων (και ειδικότερα των στερεομικροσκοπίων) είναι ότι τα αντικείμενα μπορούν να εξεταστούν με ελάχιστη ή καθόλου προηγούμενη προετοιμασία.

Υπάρχει ανάγκη να αυξηθεί η ορατότητα των βιολογικών δειγμάτων στο φωτεινό μικροσκόπιο (ιδίως στα σύνθετα μικροσκόπια). Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιούνται ορισμένα βαφικά υλικά για τον χρωματισμό των δειγμάτων, δεδομένου ότι συχνά στερούνται αντίθεσης, με αποτέλεσμα να είναι δύσκολη η διάκριση όλων των μερών τους.

Ως χρωστική ουσία, το ιώδιο χρησιμοποιείται συχνά για το χρωματισμό των φυτικών κυττάρων. Το ιώδιο βάφει το άμυλο που είναι αποθηκευμένο στα κύτταρα μπλε και τις άλλες δομές ανοιχτό καφέ, επιτρέποντας έτσι τον χρωματικό διαχωρισμό τους. Άλλες πιο συχνά χρησιμοποιούμενες χρωστικές

είναι η αιματοξυλίνη και η ηωσίνη. Κατά τη χρήση της μικροσκοπίας φθορισμού, χρησιμοποιούνται φθορίζουσες χρωστικές για την ανάδειξη ορισμένων τμημάτων του κυττάρου ή του ιστού. (<https://www.sciencelearn.org.nz/resources/501-light-microscopes>).

Η συνεστιακή μικροσκοπία φθορισμού με λέιζερ σάρωσης (confocal) επιτρέπει την εξέταση ενός παχύ βιολογικού δείγματος σε ένα μικροσκόπιο χωρίς τη λήψη τομών. Αυτό το χαρακτηριστικό καθιστά δυνατή την παρακολούθηση διεργασιών σε βιολογικά δείγματα, όπως η κίνηση των μιτοχονδρίων γύρω από τα κύτταρα και η είσοδος του συστήματος μεταφοράς φαρμάκου διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης.

Το ομοεστιακό μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εξέταση οργανιδίων κυττάρων, ιστών ή ορισμένων συστατικών, όπως οι πρωτεΐνες. Το προς εξέταση συστατικό εκτίθεται σε μια φθορίζουσα ουσία και γίνεται πιο φωτεινό με διαφορετικά χρώματα στην εικόνα που οδηγεί στην ευκολότερη εξέτάσή του.

Όταν θέλουμε να δούμε τα ορυκτά σε ένα πέτρωμα, χρησιμοποιούμε μικροσκόπιο πολωμένου φωτός. Έτσι, τα διάφορα ορυκτά εμφανίζονται ως διαφορετικά χρώματα κάτω από πολωμένο φως (φωτεινά κύματα που δονούνται προς μία μόνο κατεύθυνση). Όταν εξετάζουμε τα ορυκτά με μικροσκόπιο πολωμένου φωτός, μας επιτρέπει να εξετάσουμε το σχήμα, το μέγεθος και τον προσανατολισμό τους.

4. Πώς μπορούμε να δούμε τα άτομα;

Το σύγχρονο μικροσκόπιο φωτός μπορεί να επιτύχει μεγέθυνση έως και 2000 φορές. Ενώ αυτή η μεγέθυνση είναι επαρκής για να δούμε το εσωτερικό φυτικών και ζωικών κυττάρων, δεν είναι αρκετή για να δούμε πολλά αντικείμενα νανοκλίμακας λόγω του μήκους κύματος του φωτός. Τα αντικείμενα νανοκλίμακας είναι τόσο μικρά που το φως που κατευθύνεται προς αυτά δεν μπορεί να τα χτυπήσει, με αποτέλεσμα να μην υπάρχει ανάκλαση για να τα δούμε.

Τα ηλεκτρονικά μικροσκόπια μας επιτρέπουν να εξετάζουμε αντικείμενα με λεπτομέρεια, καθώς μπορούν να επιτύχουν πολύ μεγαλύτερη μεγέθυνση από ένα μικροσκόπιο φωτός. Ορισμένα ηλεκτρονικά μικροσκόπια επιτρέπουν την εξέταση αντικειμένων τόσο μικρών όσο τα μόρια ή ακόμη και τα άτομα. Σε αντίθεση με το μικροσκόπιο φωτός, τα ηλεκτρονικά μικροσκόπια πρέπει να περάσουν από ένα στάδιο προετοιμασίας του δείγματος προτού εξετάσουν απευθείας ζωντανά πράγματα.

Χρησιμοποιώντας ένα ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, μπορούμε να δούμε αντικείμενα τόσο μικρά όσο ένα άτομο (περίπου ένα δεκάκις εκατομμυριοστό του χιλιοστού ή 10-10 m). Το μέγεθος ενός ατόμου είναι

ένα κλάσμα ενός νανομέτρου (διάμετρος ενός ατόμου= 10^{-10}m , 1 νανόμετρο(nm)= 10^{-9}m , επομένως το μέγεθος ενός ατόμου= $0,1\text{ nm}$). Άλλα παραδείγματα αντικειμένων που μπορούμε να δούμε χρησιμοποιώντας ένα ηλεκτρονικό μικροσκόπιο είναι οι ιοί και τα μόρια.

Δύο Γερμανοί επιστήμονες, ο Ernst Ruska και ο Max Knoll, ανέπτυξαν το 1931 μια μέθοδο που θα παρείχε καλύτερη ανάλυση από το ορατό φως. Στη μέθοδο αυτή, αντί για φως, ηλεκτρόνια διέρχονται από το προς εξέταση δείγμα και λαμβάνεται η εικόνα. Με τη μέθοδο αυτή αποκαλύφθηκε το πρώτο δείγμα του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου. Ακτίνες ηλεκτρονίων κατευθύνονται προς ένα δείγμα και γίνονται αντικείμενο κρούσης. Τα ηλεκτρόνια που προσκρούουν στο δείγμα σκεδάζονται και χρησιμοποιούνται για την απεικόνιση του αντικειμένου στο οποίο προσέκρουσαν. Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, η εικόνα αυτή μπορεί να μεγεθυνθεί 500,00 φορές. Ενώ το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μας επιτρέπει να δούμε λεπτομερώς το εσωτερικό του κυττάρου, το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης μας επιτρέπει να δούμε νανοσωματίδια και άτομα. Μεταξύ των ετών 1940-1950, χάρη στις εργασίες που έκαναν οι Albert Claude, Keith Parter και George Palade, το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έγινε επίσης πεδίο χρήσης στη βιολογία.

Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο χρησιμοποιούνται ηλεκτρόνια αντί για φως ως πηγή φωτισμού. Ένα ηλεκτρονικό μικροσκόπιο παρέχει καλύτερη ανάλυση από ένα μικροσκόπιο φωτός, επειδή το μήκος κύματος των ηλεκτρονίων είναι περίπου $0,04\text{ nm}$. Το μήκος κύματος των ηλεκτρονίων είναι περίπου 10000 φορές μικρότερο από το μήκος κύματος του ορατού φωτός. Δεδομένου ότι το μήκος κύματος των ηλεκτρονίων είναι μικρότερο από το μήκος κύματος του ορατού φωτός, η μεγέθυνση και η ανάλυση που παρέχει το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο είναι υψηλότερες από εκείνες των συνήθων φωτεινών μικροσκοπίων.

Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, τα ηλεκτρόνια απελευθερώνονται από το πυροβόλο ηλεκτρονίων. Στη συνέχεια, οι φακοί συμπύκνωσης μετατρέπουν τη δέσμη ηλεκτρονίων σε μια ενιαία, λεπτή δέσμη. Έτσι, παρέχεται η δυνατότητα εστίασης των ηλεκτρονίων σε ένα μόνο σημείο. Υπάρχουν θετικά φορτισμένα συστήματα γύρω από το δείγμα για να ταξιδέψουν τα ηλεκτρόνια προς τα κάτω και να στοχεύσουν στο δείγμα. Η χρήση του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου και η προετοιμασία των δειγμάτων για την επεξεργασία της εικόνας είναι πιο πολύπλοκη σε σύγκριση με τα συνήθη μικροσκόπια. Το δείγμα που θα χρησιμοποιηθεί στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο πρέπει να είναι σε πολύ λεπτότερες τομές από ό,τι στο ελαφρύ μικροσκόπιο. Περνώντας ηλεκτρόνια απευθείας μέσα από αυτό το δείγμα, μπορούν να δημιουργηθούν εικόνες με βάση τον βαθμό σκοτεινότητας της φθορίζουσας επιφάνειας ή τα ηλεκτρόνια προσπίπτουν στην επιφάνεια του δείγματος και εκτρέπονται με διαφορετικές γωνίες και ρυθμούς

ανάλογα με το βάθος και την πυκνότητα του υπό μελέτη δείγματος. Τα αδέσποτα ηλεκτρόνια ανιχνεύονται από τους ανιχνευτές, με αποτέλεσμα να προκύπτει μια ψηφιακή εικόνα του δείγματος.

Υπάρχουν πολλοί τύποι ηλεκτρονικών μικροσκοπίων:

Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης (TEM) ήταν το πρώτο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο που αναπτύχθηκε στην τεχνολογία της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας. Λειτουργεί με βάση την αρχή της ανίχνευσης ηλεκτρονίων που προσπίπτουν σε μια λεπτή φέτα ενός δείγματος και το περνούν στην άλλη πλευρά. Το TEM είναι παρόμοιο με τη σύνθετη φωτεινή μικροσκοπία, επιτρέποντάς μας να εξετάσουμε μια λεπτή τομή ενός δείγματος με πολύ υψηλή ανάλυση. Αυτή η λειτουργία παρέχει μια ακόμη πιο λεπτομερή εξέταση πολλών μικρών αντικειμένων.

Η ηλεκτρονική τομογραφία είναι ένας διαφορετικός τύπος TEM που μας επιτρέπει να δούμε μια τρισδιάστατη εικόνα του κυττάρου ή του ιστού. Το να βλέπουμε τα αντικείμενα και τα μέρη τους σε τρεις διαστάσεις μας βοηθά να κατανοήσουμε τις μεταξύ τους σχέσεις. Επίσης, η ηλεκτρονική τομογραφία μπορεί να δώσει δισδιάστατες εικόνες με υψηλότερη ανάλυση από τη συμβατική TEM.

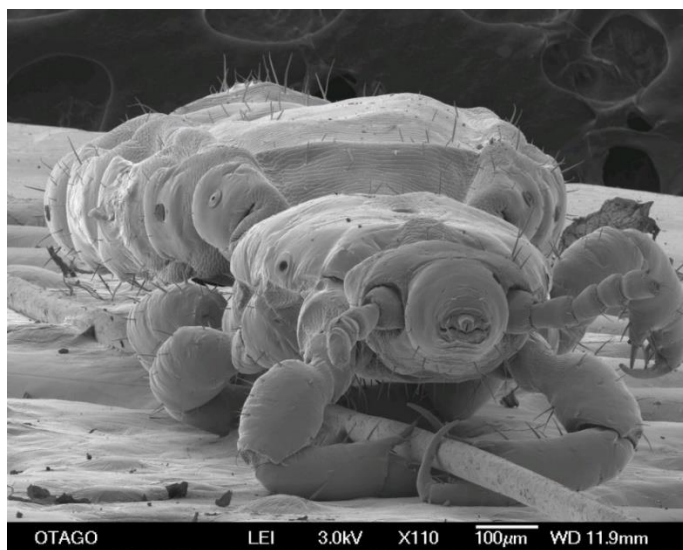


Figure 5. Louse viewed with the SEM (www.sciencelearn.org.nz/resources/502-types-of-electron-microscope)

Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) πρώτα σαρώνει την επιφάνεια του δείγματος με μια δέσμη ηλεκτρονίων που κατευθύνεται προς το αντικείμενο και στη συνέχεια χρησιμοποιεί τα ηλεκτρόνια που ανακλώνται από την επιφάνεια του δείγματος για να λάβει μια τρισδιάστατη εικόνα υψηλής ανάλυσης. Μερικές φορές, για να δούμε αντικείμενα (έντομα όπως ψείρες, ψύλλους κ.λπ.), μπορεί να αρκούν χαμηλές τιμές μεγέθυνσης για να λάβουμε τρισδιάστατες εικόνες τους.

Το CryoSEM είναι μια ειδική μορφή SEM που μας επιτρέπει να βλέπουμε και να εξετάζουμε αντικείμενα που περιέχουν φυσικά νερό (φυτά, τρόφιμα κ.λπ.). Σε αντίθεση με την προετοιμασία των δειγμάτων στο συμβατικό SEM, τα δείγματα καταψύχονται σε υγρό άζωτο πριν από την εξέταση στο CryoSEM. Πολλοί ερευνητές προτιμούν να εργάζονται με το cryoSEM επειδή είναι παρόμοιο με το σχήμα του δείγματος πριν από την προετοιμασία του.

Η περίθλαση οπισθοσκέδασης ηλεκτρονίων (EBSD) χρησιμοποιείται για τη λεπτομερή εξέταση της δομής των ορυκτών σε πέτρες και πετρώματα. Οι ανιχνευτές EBSD λειτουργούν ως μέρος των SEM. Η δέσμη ηλεκτρονίων κατευθύνεται προς ένα αντικείμενο, όπως μια πέτρα/πετρώματα, τα ηλεκτρόνια που προσπίπτουν στο αντικείμενο σκεδάζονται και η συσκευή ανιχνεύει αυτά τα ηλεκτρόνια. Το μοτίβο σκέδασης εδώ δίνει σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τη δομή και το κρυσταλλικό σχήμα του ορυκτού.

4.1 Ηλεκτρικό μικροσκόπιο

Γενικά, η τεχνική άμεσης απεικόνισης των νανοσωματιδίων πραγματοποιείται με μεθόδους ηλεκτρονικής μικροσκοπίας. Οι βασικές αρχές της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας περιγράφονται στην ενότητα 2.4. Εδώ πρέπει να αναφερθούν δύο διαφορετικές τεχνικές ηλεκτρονικής μικροσκοπίας. Αυτές είναι η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM) και η ηλεκτρονική μικροσκοπία μετάπτωσης (TEM). Το SEM είναι μια μέθοδος λήψης της εικόνας με ανάκλαση της δέσμης ηλεκτρονίων που αποστέλλεται στο προς εξέταση υλικό από την επιφάνεια του υλικού. Με τη μέθοδο αυτή μπορούν να ληφθούν πληροφορίες σχετικά με τις επιφανειακές ιδιότητες του υλικού. Η TEM είναι μια τεχνική λήψης εικόνων με τη διέλευση δέσμης αποστελλόμενων ηλεκτρονίων μέσα από το υλικό.

Και οι δύο μέθοδοι έχουν πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα η μία σε σχέση με την άλλη. Επιπλέον, διαφορετικές φυσικές ιδιότητες των νανοϋλικών μπορούν να βρεθούν και με τις δύο μεθόδους ηλεκτρονικής μικροσκοπίας με τη σκέδαση ηλεκτρονίων ή ακτίνων (ακτίνες-χ) που προκύπτουν ως αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης των ηλεκτρονίων με τα άτομα του υλικού.

Στο SEM, η ενέργεια των ηλεκτρονίων που πρέπει να σταλούν στην επιφάνεια του νανοϋλικού κυμαίνεται μεταξύ 200 eV και 100 keV. Αυτή η τιμή πρέπει να είναι υψηλότερη για να περάσουν τα ηλεκτρόνια μέσα από το υλικό στο TEM. Η τιμή αυτή κυμαίνεται μεταξύ περίπου 100 keV και 500 keV. Στις διεργασίες απεικόνισης που θα πραγματοποιηθούν με SEM, το υλικό πρέπει να είναι αγωγίμο για τον προσανατολισμό των ηλεκτρονίων. Εάν το υλικό δεν είναι αγωγίμο, η επιφάνεια του υλικού πρέπει να καλυφθεί με αγωγίμο υλικό (χρυσός, άνθρακας) πάχους μερικών νανομέτρων. Αυτό είναι ένα

μειονέκτημα της τεχνικής όσον αφορά τόσο τη δυσκολία του σταδίου προετοιμασίας της μέτρησης και το μεγάλο χρονικό διάστημα που απαιτείται, όσο και το κόστος. Από την άλλη πλευρά, η TEM μπορεί να χρησιμοποιηθεί απευθείας τόσο σε αγωγίμα όσο και σε μονωτικά υλικά. Ωστόσο, για να μπορέσουν τα απεσταλμένα ηλεκτρόνια να περάσουν μέσα από το υλικό, το υλικό πρέπει να είναι πολύ λεπτό ή πρέπει να προετοιμαστεί με πάχος μερικών nm με ειδικές τεχνικές. Αυτό είναι ένα από τα μειονεκτήματα αυτής της μεθόδου. Και με τις δύο μεθόδους, μπορούν να ληφθούν πληροφορίες από τα νανοϋλικά τόσο για την απεικόνισή τους όσο και για τις διάφορες φυσικές τους ιδιότητες.

4.2 Μικροσκοπία με ανιχνευτή

Τα μικροσκόπια ανιχνευτών είναι έμμεσες μέθοδοι απεικόνισης. Σε αυτές τις μεθόδους, πληροφορίες τόσο για την απεικόνιση όσο και για τις φυσικές ιδιότητες του υλικού μπορούν να ληφθούν με τη χρήση ενός ανιχνευτή. Τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα μικροσκόπια ανιχνευτή είναι τα μικροσκόπια σάρωσης σήραγγας (STM) και τα μικροσκόπια ατομικής δύναμης (AFM).

STM: Τα STM εφευρέθηκαν για πρώτη φορά το 1981 από τους G. Binnig και H. Rohrer. Σε αυτή τη μέθοδο, με τη βοήθεια ενός πιεζοηλεκτρικού υλικού, πραγματοποιείται μετάβαση ρεύματος μεταξύ μιας αιχμηρής ακίδας και της επιφάνειας και λαμβάνονται πληροφορίες για τα άτομα της επιφάνειας που σαρώνονται. Η μέθοδος αυτή λειτουργεί μόνο σε αγωγίμες επιφάνειες. Γενικά, ως πιεζοηλεκτρικές αιχμές χρησιμοποιούνται βολφράμιο, πλατίνα-ιρίδιο και νανοσωλήνες άνθρακα. Χάρη στο STM, λαμβάνονται πληροφορίες σχετικά με την ηλεκτρονική κατάσταση της περιοχής στα υλικά του δείγματος, μπορεί να μετρηθεί η επιφανειακή τραχύτητα και λαμβάνονται τρισδιάστατες εικόνες μεταλλικών επιφανειών. Ωστόσο, ενώ η διάταξη του μικροσκοπίου πρέπει να βρίσκεται σε περιβάλλον

ΚΕΝΟΥ, ΟΙ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΙΝΟΝΤΑΙ ΣΕ ΧΑΜΗΛΕΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ. (Σχήμα 6)

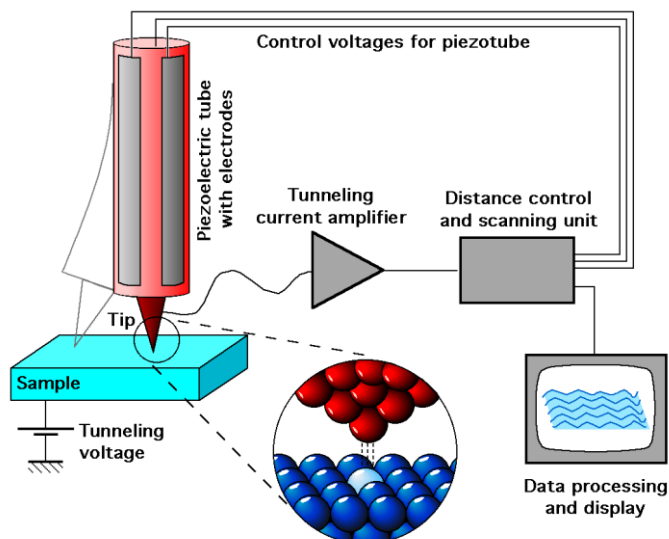
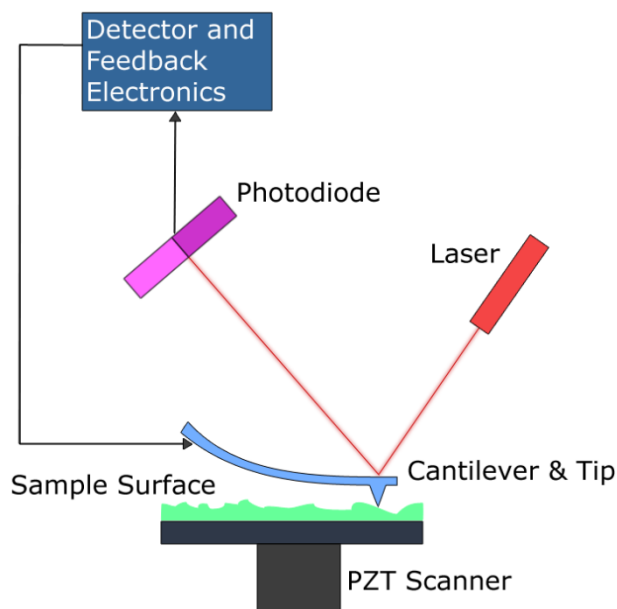


Figure 6. Scanning Tunneling Microscopy structure
(https://commons.wikimedia.org/wiki/Category:Scanning_tunneling_microscope)



AFM: Τα AFM είναι μια σχετικά ευκολότερη και πιο χρήσιμη μέθοδος από τη μέθοδο STM. Σε αυτή τη μέθοδο, επιτυγχάνεται τρισδιάστατη απεικόνιση υψηλής ανάλυσης της αγωγικής ή μονωτικής επιφάνειας με τη βοήθεια ενός άκρου βελόνας που έχει ακονιστεί σε ατομικές διαστάσεις. Η απεικόνιση πραγματοποιείται εξετάζοντας την αλληλεπίδραση του άκρου της βελόνας με την επιφάνεια. Στη μέθοδο αυτή, η κίνηση της βελόνας λειτουργεί με την αρχή της ανάκλασης του λέιζερ, το οποίο πέφτει στην επιφάνεια της βελόνας, στη φωτοδίοδο (Σχήμα 7).

Figure 7. Atomic Force Microscopy structure
(https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/1/1a/Atomic_force_microscope_block_diagram.png)

4.3 Επεξεργασία οπτικής μικροσκοπίας

Σε αυτή την ενότητα, θα συζητήσουμε πώς χρησιμοποιούνται τα οπτικά μικροσκόπια στην ανάλυση νανοσωματιδίων. Όπως αναφέραμε στην προηγούμενη ενότητα, η άμεση παρατήρηση των νανοσωματιδίων μπορεί να επιτευχθεί με υψηλή ανάλυση μόνο εάν χρησιμοποιούνται ηλεκτρονικά μικροσκόπια. Ωστόσο, λόγω των μειονεκτημάτων των ηλεκτρονικών μικροσκοπίων, όπως η απαίτηση περιβάλλοντος κενού, η ανάγκη ειδικών και ο χρόνος και το κόστος μέτρησης, οι προσπάθειες για την ανάπτυξη αναλύσεων νανοσωματιδίων με οπτικά μικροσκόπια έχουν γίνει όλο και πιο σημαντικές. Πρώτα απ' όλα, μόνο η χρήση οπτικών μικροσκοπίων δεν αρκεί για την παρατήρηση των νανοσωματιδίων. Η μέγιστη δυνατή μεγέθυνση είναι μόνο 1000X και η πολύ καλύτερη δυνατή ανάλυση είναι 200 nm από τα οπτικά μικροσκόπια. Ωστόσο, η ανάπτυξη της τεχνολογίας και οι νέες μελέτες στον τομέα αυτό έδειξαν ότι οι συσκευές αυτές μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε ορισμένες αναλύσεις νανοσωματιδίων ως αποτέλεσμα του συνδυασμού τους με ορισμένα όργανα. Ειδικότερα, οι ψηφιακές εικόνες που λαμβάνονται ως αποτέλεσμα του συνδυασμού φωτογραφικών μηχανών CCD (Charge-Coupled Device) με οπτικά μικροσκόπια κατέστησαν δυνατή την αποκάλυψη πολλών ιδιοτήτων των νανοσωματιδίων με την επεξεργασία τους με προγράμματα υπολογιστών. Η χρήση των οπτικών μικροσκοπίων στην ανάλυση των νανοϋλικών λόγω των πλεονεκτημάτων τους, όπως η ευκολία χρήσης, η μη απαίτηση περιβάλλοντος κενού, το κόστος, η προσβασιμότητα και η ταχύτητα μέτρησης, έχει οδηγήσει σε αύξηση του αριθμού των μελετών στον τομέα αυτό. Αν μιλήσουμε για ορισμένες από τις μεθόδους που εκτελούνται με οπτικά μικροσκόπια: είναι η φωτοθερμική οπτική μικροσκοπία, η οπτική μικροσκοπία σάρωσης κοντινού πεδίου τύπου σκέδασης (s-SNOM), η μικροσκοπία Raman, η μικροσκοπία συντονισμού επιφανειακού πλασμονίου, η μικροσκοπία σκοτεινού πεδίου και η μικροσκοπία φθορισμού.

4.4 Περίληψη των μικροσκοπίων

Οι τύποι των μικροσκοπίων:

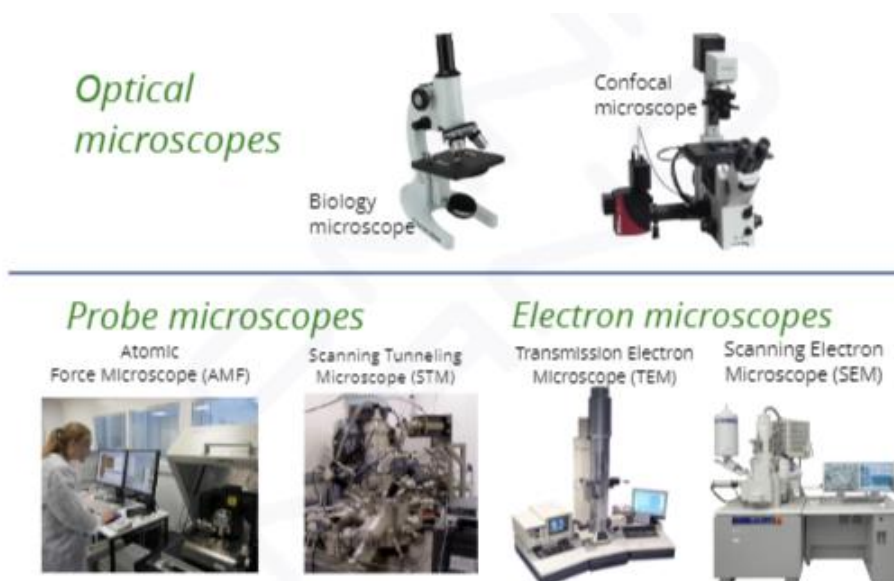


Figure 8. Types of microscopes

5. Πηγές

1. <https://evrimagaci.org/mikroskoplarin-genel-ozellikleri-hangi-mikroskop-cesitleri-hangi-deneylerde-kullanilir-9830>
2. https://acikders.tuba.gov.tr/pluginfile.php/1110/mod_resource/content/0/konu12.pdf
3. <https://study.com/academy/lesson/how-to-use-a-microscope-lesson-for-kids.html>
4. <https://omninano.org/nanotechnology-stem-curriculum/>