

# Využití transmisní elektronové mikroskopie pro studium struktury polymerů

Ondřej Koudelka

---

Bakalářská práce  
2016



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav výrobního inženýrství  
akademický rok: 2015/2016

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Ondřej Koudelka**  
Osobní číslo: **T14755**  
Studijní program: **B3909 Procesní inženýrství**  
Studijní obor: **Technologická zařízení**  
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Využití transmisní elektronové mikroskopie pro studium struktury polymerů**

Zásady pro vypracování:

1. Zpracujte literární rešerši na dané téma
2. Připravte vzorky vybraných polymerů vhodné pro TEM analýzu
3. Proveďte TEM analýzů vybraných polymerů
4. Vyhodnoťte zjištěné skutečnosti a porovnejte

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

**dle doporučení vedoucího bakalářské práce**

Vedoucí bakalářské práce:

**doc. Ing. Martina Hřibová, Ph.D.**  
Ústav výrobního inženýrství

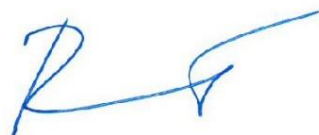
Datum zadání bakalářské práce:

**8. ledna 2016**

Termín odevzdání bakalářské práce:

**20. května 2016**

Ve Zlíně dne 3. února 2016



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
*děkan*



prof. Ing. Berenika Hausnerová, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: Ondřej Koudelka

Obor: Procesní inženýrství

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 1.5.2016

  
.....

<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

<sup>2)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložil, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídně k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

Cílem této bakalářské práce je seznámení s elektronovou mikroskopií jakožto velmi důležitou experimentální metodou a její konkrétní použití u studia morfologie a struktury polymerních materiálů. V práci jsou rozděleny a popsány jednotlivé metody měření, počínaje přípravou vzorků až po vyhodnocování výsledků.

## **ABSTRACT**

Main goal of this bachelor thesis is to acquaint you with electron microscopy as a very important experimental method and its practical use in study of morphology and structure of polymeric materials. In this thesis, there are also described various methods of measurement, ranging from sample preparation to actual evaluation.

Poděkování, motto a čestné prohlášení, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická, nahraná do IS/STAG jsou totožné ve znění:

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Rád bych chtěl poděkovat vedoucí mojí bakalářské práce doc. Ing. Martině Hříbové, Ph.D. za pomoc, věcné připomínky a hlavně za pevné nervy a trpělivost během zpracovávání mé práce.

Stejně tak bych chtěl poděkovat pracovníci studijního oddělení paní Mgr. Ludce Sládkové za ochotu a pomoc během studia i v nestandardních situacích, které jsem si způsobil vlastní vinou sám.

A nesmím zapomenout na mou rodinu, která mě podporovala všech okolností.

# OBSAH

ÚVOD.....	9
<b>I TEORETICKÁ ČÁST.....</b>	<b>10</b>
<b>1 PRINCIP PRÁCE PŘÍSTROJE .....</b>	<b>11</b>
1.1 ELEKTRONY .....	11
1.2 TRANSMISNÍ ELEKTRONOVÝ MIKROSKOP (TEM) .....	11
1.3 ZDROJ ELEKTRONŮ.....	13
1.4 OSVĚTLOVACÍ SOUSTAVA .....	16
1.5 ZOBRAZOVACÍ SOUSTAVA .....	17
1.6 TVORBA OBRAZU.....	18
1.6.1 Zobrazení v světlém poli.....	19
1.6.2 Zobrazení v tmavém poli .....	19
1.6.3 Elektronová difrakce .....	20
1.7 POZOROVÁNÍ A ZÁZNAM OBRAZU.....	21
1.8 VAKUOVÝ SYSTÉM .....	23
1.9 PŘÍPRAVA VZORKŮ.....	26
1.9.1 Přímá metoda .....	26
1.9.1.1 Odpařování zředěných roztoků.....	26
1.9.1.2 Polymerace či krystalizace v tenké vrstvě (CTFP).....	26
1.9.1.3 Ultramikrotomie.....	27
1.9.2 Metody nepřímé .....	27
1.9.2.1 Repliky.....	27
1.9.2.2 Techniky replikace.....	27
1.10 VÝSTUP DAT.....	31
1.10.1 Analýza obrazu.....	31
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>33</b>
<b>2 METODA SVĚTLÉHO POLE .....</b>	<b>34</b>
2.1 PŘÍPRAVA VZORKU.....	34
2.1.1 Leptání.....	34
2.1.2 Repliky .....	37
2.1.2.1 Polymerace či krystalizace v tenké vrstvě (CTFP).....	38
2.2 PŘÍKLADY APLIKACE .....	41
2.2.1 Monokrystaly .....	41
2.2.2 Aditiva.....	45
2.2.3 Epitaxiální krystalizace .....	47
2.2.4 Ozáření beta .....	49
2.3 METODA TEMNÉHO POLE.....	51
2.4 METODA ELEKTRONOVÉ DIFRAKCE.....	52
2.4.1 Monokrystaly .....	52
2.4.2 Polykrystaly.....	54
<b>3 ANALÝZA VZORKŮ POMOCÍ IMAGEJ: .....</b>	<b>57</b>



<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>66</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>67</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>69</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>70</b>
<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>73</b>

## ÚVOD

Elektronová mikroskopie je metoda umožňující studium mikrostruktury zkoumaných objektů. Mikrostruktura je studována ve vakuu pomocí elektronového svazku, který vzniká emisí elektronů z katody, jež jsou dále urychlovány k anodě. Svazek je fokusován vhodně upraveným elektrickým, magnetickým, nebo elektromagnetickým polem, aby bylo dosaženo požadovaného zvětšení. Elektronový svazek vytváří obraz interakcemi s pozorovaným preparátem. Podle fyzikální tvorby obrazu dělíme elektronovou mikroskopii na dva základní druhy: transmisní elektronovou mikroskopii (TEM) a skenovací elektronovou mikroskopii (SEM).

Strukturu polymerních materiálů lze rozdělit do tří kategorií

- a) Konstituce a konfigurace molekul, která je dána atomy a jejich vazbami (chemická struktura)
- b) Konformace, prostorové uspořádání atomů v makromolekule
- c) Nadmolekulární uspořádání (poruchy krystalické mřížky, parakrystalinita apod.)

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## **1 PRINCIP PRÁCE PŘÍSTROJE**

### **1.1 Elektronky**

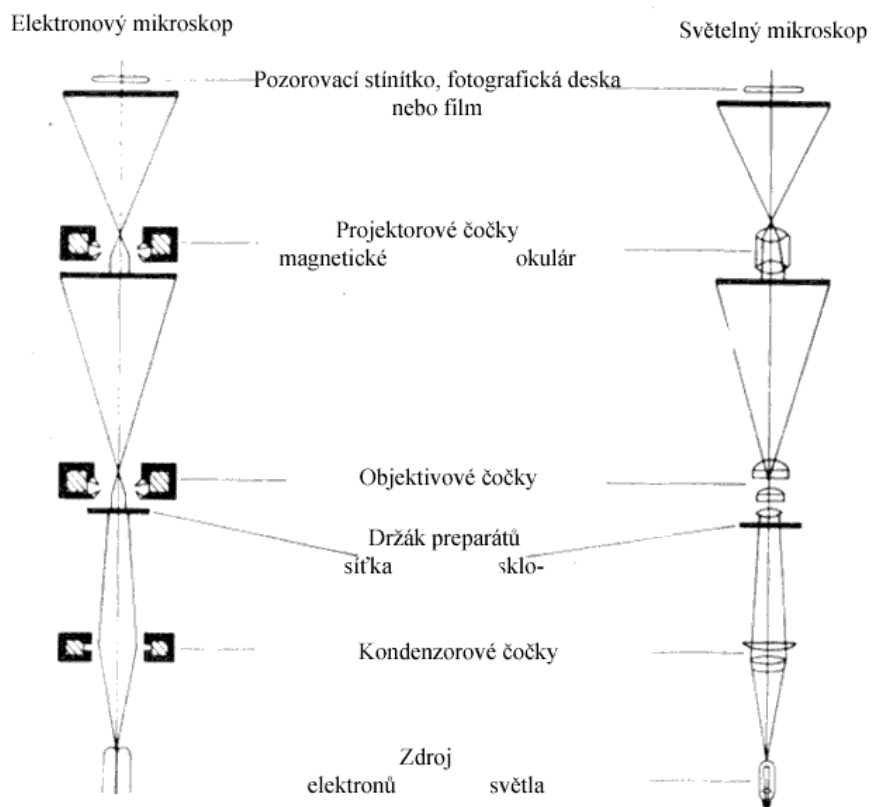
Rozlišovací schopnost mikroskopů je závislá na vlnové délce použitého záření. Světelné optické mikroskopy dosáhly svého limitu (rozlišovací schopnost v řádu 200nm). Dalším vývo-  
jovým krokem bylo použití záření o kratší vlnové délce – např. svazek elektronů, který  
umožňuje rozlišení v řádu 0,1nm. Dalším důvodem pro využití elektronů je jejich záporný  
náboj elektronu, který umožňuje použít elektrické napětí k získání kinetické energie a zvý-  
šení rychlosti. Dále je možné ovlivnit dráhu elektronů při průletu magnetický polem. [1],  
[3], [5],

### **1.2 Transmisní elektronový mikroskop (TEM)**

Transmisní elektronový mikroskop díky vysoké rozlišovací schopnosti umožňuje pozor-  
ování vzorků do tloušťky až 100nm. První TEM vynalezli a zkonstruovali Ernst Ruska a Max  
Knoll v roce 1931. Za tento objev v roce 1986 Ruska získal Nobelovu cenu. TEM lze pova-  
žovat za analogii světelného mikroskopu vzhledem k příbuznosti jejich paprskových dia-  
gramů v procházejícím světle. Oba přístroje jsou velmi podobné i po technické stránce, pro-  
tože obsahují: zdroj elektronů nebo světla, čočky elektromagnetické nebo skleněné a u obou  
mikroskopů se vzorek umísťuje na mechanický stolek. [3] TEM je však náročnější, protože  
ke své činnosti potřebuje i další zařízení, které světelný mikroskop nemá, např. vysokona-  
pět'ové zdroje, elektroniku k řízení mikroskopu a výkonný vakuový systém pro vyčerpání  
vnitřních prostor na hodnotu zabezpečující střední volnou dráhu elektronu. TEM je extrémně  
nákladné zařízení jak vzhledem k pořizovací ceně, tak s ohledem na samotný provoz. [1],  
[3], [5]



Obr. 1 Elektronový mikroskop postavený Ernestem Ruskou [3]



Obr. 2 Srovnání paprskových diagramů světelného a elektronového mikroskopu [1]

### 1.3 Zdroj elektronů

Zahřátím jakéhokoliv materiálu na vysokou teplotu je elektronům dodána dostatečná energie k překonání přirozené energetické bariéry, která jim brání v úniku. Tato úniková energie elektronů je označovaná jako výstupní práce, a její vztah k rychlosti úniku je vyjádřen rovnicí:

$$v = \sqrt{2eE/m}$$

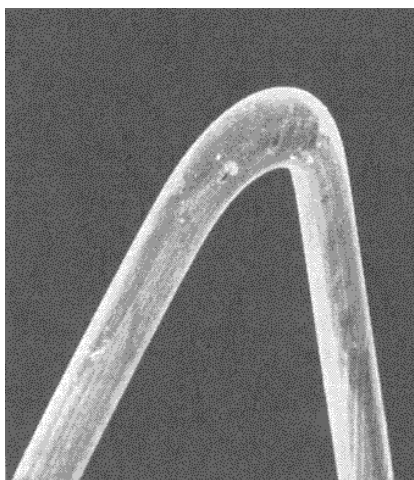
kde  $v$  značí rychlost elektronu,  $e$  je náboj elektronu a  $m$  hmotnost,  $E$  je specifická výstupní energie daného kovu [1]. Průchodem elektrického proudu dojde k zahřátí a následné termoemisi. Po vytvarování vlákna do tvaru písmena V (obr.4) dojde ke zvýšení pravděpodobnosti úniku elektronů. Nejčastěji používané je wolframové vlákno díky jeho nízké výstupní energii ( $W = 4,5$  V,  $Ni = 2,6$  V,  $LaB_6 = 1,0$  V), vysokému bodu tání ( $W = 3653$  K,  $Ni = 1000$  K,  $LaB_6 = 2000$  K) a nízké hodnotě vakua, kterou vyžaduje pro svůj provoz. Dalším vynikajícím termoemisním zdrojem elektronů jsou katody z  $LaB_6$  (lanthanum hexaboridový) (obr.3). Bohužel vyžadují mnohem vyšší vakuum v prostoru elektronové trysky. [1],[7]

Výkonnějším zdrojem elektronů s neomezenou životností je autoemisní tryska, kdy elektrony emituje studené wolframové vlákno odleptané do hrotu s poloměrem 60 až 200 nm (obr. 7). Proti hrotu je umístěna elektroda s kladným napětím 5 kV. Kolem hrotu potom vzniká elektrické pole s intenzitou 108 V/cm, které je schopno vytrhnout velké množství elektronů z povrchu wolframového hrotu. Nevýhodou autoemisní trysky je vysoká hodnota vakua ( $10^{-6}$  až  $10^{-8}$  Pa). [1], [3]

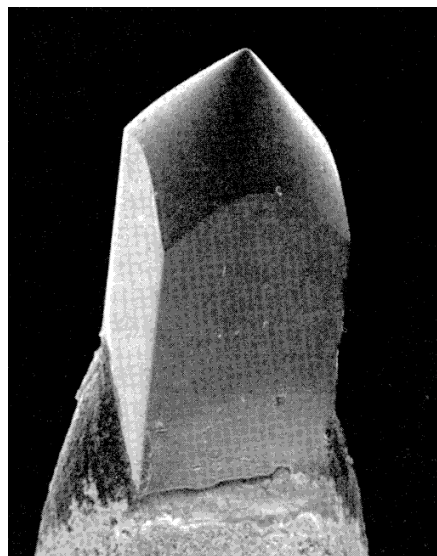
V praxi od elektronového zdroje vyžadujeme koherentní svazek elektronů. Vlny elektronů musí být ve stejné fázi, musí mít stejnou energii a vycházet z bodového zdroje. Tryska je tvořena katodou emitující elektrony a anodou s kruhovým otvorem ve středu, která elektrony přitahuje a dává jim zrychlení dostatečné k průletu tubusem mikroskopu. Je zapotřebí, aby bylo vystředěno vlákno katody a to do otvoru tzv. Wehneltova válce, jehož záporné předpětí a jeho působením se vytvoří mrak elektronů okolo hrotu katody. Elektrony jsou postupně odsávány z Wehneltova válce směrem k anodě. Se správnou rychlostí a směrem jsou schopny prolétnout dále do tubusu (obr.5). Wehneltův válec tímto způsobem funguje jako

první elektrostatická čočka mikroskopu a je díky němu zajištěna zásoba elektronů s téměř stejnou počáteční energií. [1], [2]

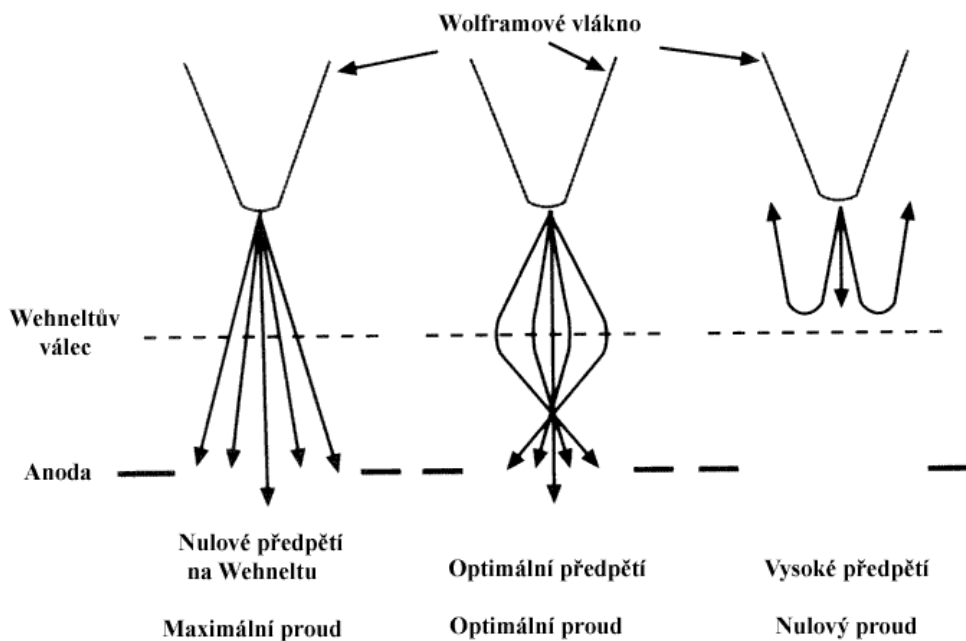
Na obr.6 je závislost emisního proudu na žhavicím proudu katody. Z grafu na obrázku č.6 je zřejmé, že má smysl zvyšovat žhavicí proud do hodnoty I, kdy dosáhneme maximálního emisního proudu. Při dalším zvyšování žhavicího proudu se emisní proud mění nepatrně, ale katoda se v důsledku přezhavení rychleji opotřebovává a snižuje se její životnost. [1], [3], [5]



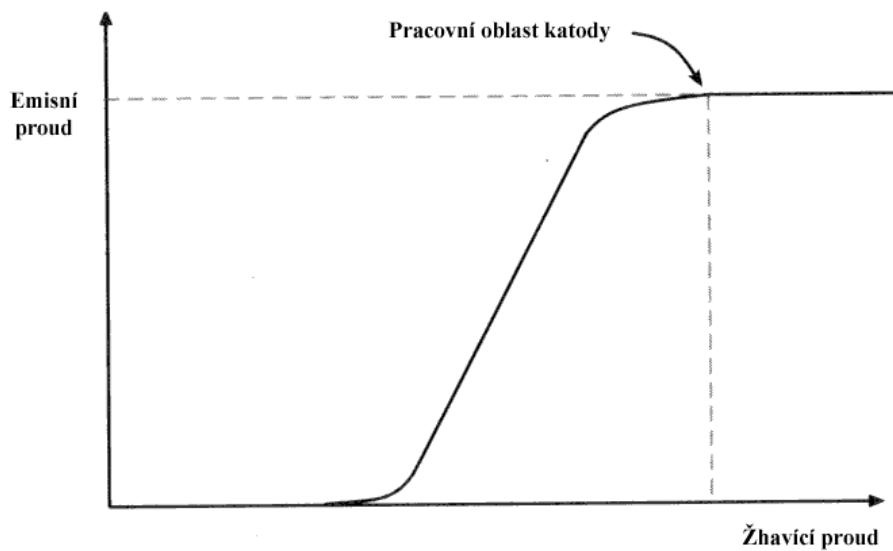
Obr. 4 Katoda z wolframového vlákna [3]



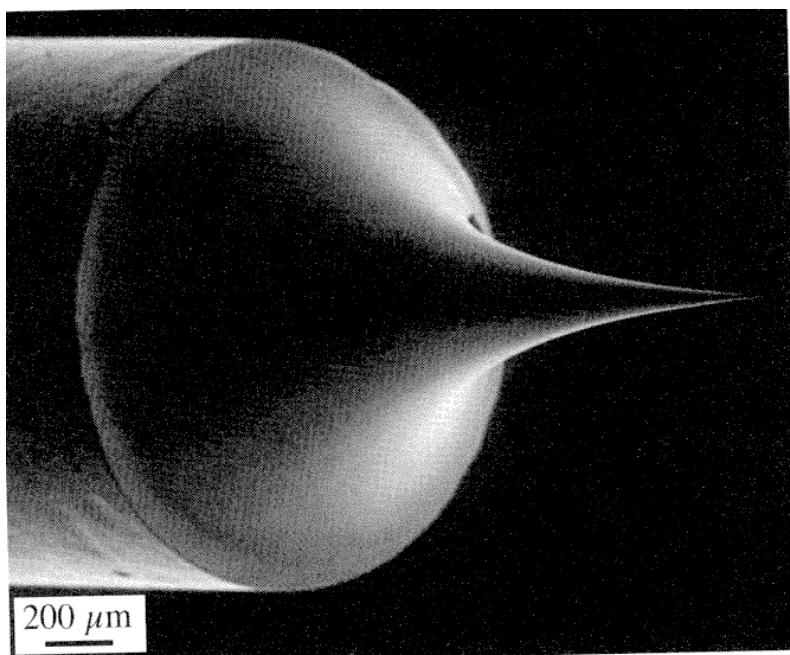
Obr. 3 Katoda z LaB<sub>6</sub> [3]



Obr. 5 Vliv předpětí na emisní proud [1]



Obr. 6 Závislost emisního proudu na žhavicím proudu katody [1]



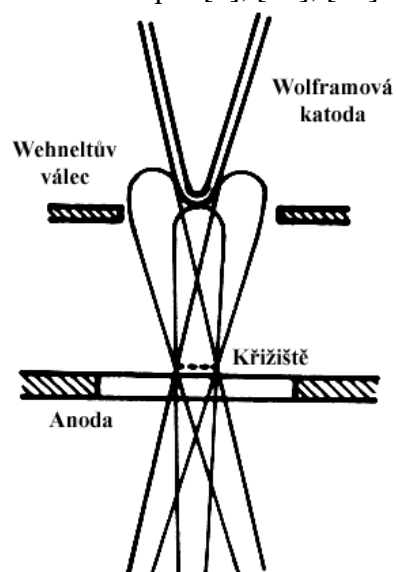
Obr. 7 Autoemisní katoda [3]



## 1.4 Osvětlovací soustava

Obraz emisního hrotu je promítán do blízkosti otvoru tvaru kruhu v anodě. Ten se nazývá křížičště (obr.8) a centrováním se mění jeho poloha. Křížičště má elipsovité tvar. Čím je průmět vlákna v křížičšti kruhovější, tím je zdroj elektronů bodovější a koherentnější. [1]

Do magnetického pole kondenzorových čoček vstupují elektrony produkované elektronovou tryskou, mající za úkol přenášet elektronový paprsek z křížičště na preparát. Většinou se používají dvě kondenzorové čočky. Změnou ohniskové vzdálenosti první čočky je možno měnit velikost obrazu a druhou se tento obraz zaostřuje do roviny preparátu. Úhlová apertura plní důležitou úlohu a to možnost pozorovat křížičště z roviny preparátu. Mění se v závislosti na zaostření a je největší ve fokusu kondenzorové čočky. Při malých úhlových aperturách se snižuje chromatická vada čoček, což znamená, že pro snímání obrazu se rozostřuje kondenzor a snižuje intenzita světla, neboť v oblastech nad a pod fokusem se zmenšuje úhlová apertura. Naopak, pro vyhledávání obrazu je možné používat maximální intenzitu světla a zaostřovat kondenzorovou čočku. Maximální úhlová apertura je omezena kondenzorovými clonami. V první čočce je vestavěná clona s velkým průměrem, v druhé je výměnná clona s velikostí otvoru v intervalu 100 - 500  $\mu\text{m}$ . Obě clony jsou vystavené silnému elektronovému bombardování a často dochází k jejich znečištění, které vede k zhoršení astigmatismu (vadě) kondenzorové soustavy. Elektronová tryska spolu s kondenzorovými čočkami tvoří osvětlovací část transmisního elektronového mikroskopu. [1], [15], [17]



Obr. 8 Schéma vzniku křížičště [1]

## 1.5 Zobrazovací soustava

Zobrazovací soustava je tvořena držákem preparátu, objektivem, mezi čočkami, projekтивy a pozorovacím stínítkem. [3]

Preparáty jsou vkládány na podkladních síťkách do držáku. Držák umožňuje svým umístěním do goniometrického stolku velmi jemnou manipulaci v rovině. Standardem se stává v dnešní době stolek, jehož posun je ovládán pomocí elektromotorků, které ovládá uživatel pomocí joysticku přes počítač. Tímto způsobem je možné uložit do paměti počítače polohu zajímavého detailu zkoumaného vzorku a vrátit se k němu v případě potřeby. [21], [23]

Tzv. srdcem celého elektronového optického systému je objektiv, který je nejvýkonnější čočkou mikroskopu. Je schopný největšího zvětšení a má nejkratší ohniskovou vzdálenost. K dosažení požadovaného výkonu, má cívka objektivu velký počet závitů, kterými protéká značný proud. Hloubka ostrosti v předmětové rovině je důležitým parametrem objektivu, udává vzdálenost, o kterou se může preparát posunout beze změny ostrosti od objektivu. Je dána vztahem:

$$D_p = 2 R.S / a_0$$

kde R.S je požadovaná rozlišovací schopnost a  $a_0$  je apertura objektivu. Je-li R.S mikroskopu 0,5 nm a aperturní úhel  $4 \times 10^{-3}$  rad, pak hloubka ostrosti vychází 500 nm. [1]

Kritickou oblastí je prostor ohniska objektivu, je zde na těsném prostoru uloženo více součástí, držák preparátu, dodatečné detektory sekundárních elektronů nebo rentgenového záření pro kvalitativní mikroanalýzu. Často je zde navíc umístěno antikontaminační zařízení, umožňující prostor v okolí preparátu zmrazit pomocí kapalného dusíku a tím jeho kontaminaci snížit. Těsně pod preparátem je umístěna objektivová clona, snižující sférickou vadu objektivu a výrazně zvyšující kontrast výsledného obrazu. [3], [7]

Vyprodukovaný obraz je dále zvětšován pomocí projekтивů a intermediálních čoček na požadovanou velikost. Preparát je možné pozorovat v obrazové rovině objektivu se zvětšením okolo 100 x. Část tohoto obrazu je promítána do pomocného projekтиву, který má schopnost měnit ohniskovou vzdálenost v závislosti na změně proudu a tím i zvětšení, např. v rozsahu od 0,45 do 24,5 x. Další čočka, která je zapojena do zvětšování obrazu, je hlavní projekтив s

obvyklým konstantním zvětšením 100 x. Běžně se zapojuje další pomocný projektiv, který je zapojen tak, aby maximální zvětšení dosáhlo hodnoty 1000000 x, to se rovná součinu zvětšení všech čoček. [8]

Dále je nutně převést informace, které nesou elektrony procházející preparátem do oblasti viditelné světla. Za tímto účelem je na dno tubusu umístěno stínítko nejčastěji pokryté síranem zinečnatým (ZnS), který je schopen emitovat světlo, v závislosti na energii dopadajících elektronů, s vlnovou délkou 450nm. Kvůli nečistotám je emise posunutá blíže k 550nm tedy k zelenému světlu a jeho odstínům, ve kterých je možné pozorovat výsledný obraz na stínítku. Rozlišení stínítka je dáno velikostí zrn ZnS, které by se měly pohybovat okolo 50 nm. Kromě velkého stínítka je mikroskop vybaven ještě malým stínítkem, na kterém je možno detail obrazu ještě zvětšit pomocí optického mikroskopu. V případě malého stínítka by se velikost zrn ZnS měla pohybovat kolem 10 nm. Umístění velkého a malého stínítka a čipu CCD kamery a fotografického planfilmu do různých vzdáleností od zobrazovací soustavy čoček v TEM dovoluje velká hloubka ostrosti  $D_o$  v obrazové rovině. Ta se dá určit ze vztahu:

$$D_o = Z^2 \cdot RS / A$$

kde  $Z$  je zvětšení,  $RS$  rozlišovací schopnost a  $A$  je numerická apertura. Dosazením průměrných hodnot reálného mikroskopu vyjde hloubka ostrosti řádově v desítkách metrů, což znamená, že malé a velké stínítko a fotografický planfilm nemusí být umístěny v jedné rovině. Je-li obraz správně zaostřen, bude na nich vždy ostrý. [1],[10], [11], [13]

## 1.6 Tvorba obrazu

Při průchodu elektronového svazku hmotou vzorku dochází k interakcím, které lze zjednodušeně rozdělit do tří skupin: tzv. světlé, temné pole a elektronová difrakce. [13]

Při pružném, neboli elastickém rozptylu, je elektron prolétající elektronovým oblakem vychýlen pod určitým úhlem. Tento úhel je tím větší, čím blíže proletí elektron kolem jádra a čím je náboj jádra větší. Úhel může dokonce dosáhnout  $180^\circ$ , čili může být elektron zpětně odražen. Předpokládá se, že při těchto dějích se energie primárních, rozptýlených elektronů nemění. Počet těchto elektronů závisí na součinu tloušťky preparátu a hustoty v místě průchodu. Část rozptýlených elektronů s velkým úhlem je zachycena clonou objektivu a tím je

vyřazená z tvorby obrazu na stínítku. Důsledkem je změna intenzity elektronového svazku a vznik kontrastu obrazu. [1], [3]

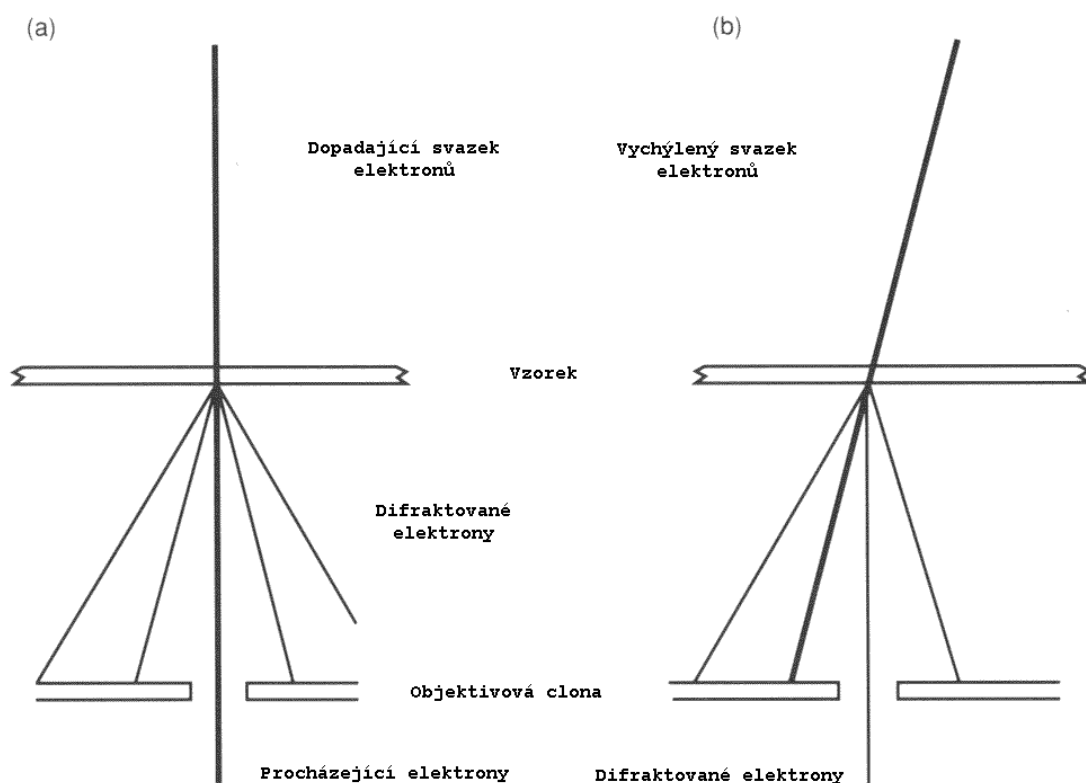
Kontrast vznikající nedopadnutím elektronu na stínítko je velmi výrazný a označován jako amplitudový kontrast. Dále se na tvorbě obrazu projevuje ještě fázový kontrast, který tvoří různé stupně šedi. Fázový kontrast vzniká rozdílem drah elektronů, odchýlených pod různými úhly. Nepružný rozptyl je důsledek srážek primárních elektronů s valenčními elektrony na orbitách atomů preparátu. Při srážkách elektrony utrpí relativně velké ztráty energie, protože se srazí dvě částice o stejné hmotnosti, ale nedojde k jejich odchýlení z původní dráhy. Prochází dále do zobrazovacího systému, a protože na základě změny energie a rychlosti dochází i ke změně vlnové délky, ovlivňují ostrost obrazu a tím zhoršují chromatickou vadu objektivu. Nepříznivý vliv se zvyšuje s tloušťkou preparátu a s klesajícím urychlovacím napětím. [17], [19]

### **1.6.1 Zobrazení v světlém poli**

Je nejdůležitější metodou při studiu morfologie látek. Jejím hlavním problémem, je limitovaná tloušťka vzorku stovky Å(angstrom), protože u běžných vzorků svazek elektronů neprojde do větší hloubky. Z toho důvody se musí zvolit vhodná příprava vzorků. [5]

### **1.6.2 Zobrazení v tmavém poli**

Tato metoda se projevuje nízkým jasnem a vysokým kontrastem. K zobrazení velmi málo kontrastních preparátů lze využít více rozptýlené elektrony, které za normálních okolností končí svou trasu na objektivové cloně. Docílí se toho nakloněním osvětlovací soustavy tak, aby svazek elektronů dopadal na preparát, ale po průchodu byl zacloněn clonou objektivu. Obraz vytváří velmi rozptýlené elektrony na tmavém pozadí. Nevýhodou metody jsou chromatické vady a snížení rozlišovací schopnosti způsobené značným rozptylem elektronů a jejich vlnových délek. Kvůli nevýhodám se metoda používá pouze ve výjimečných případech. [2], [3], [5]

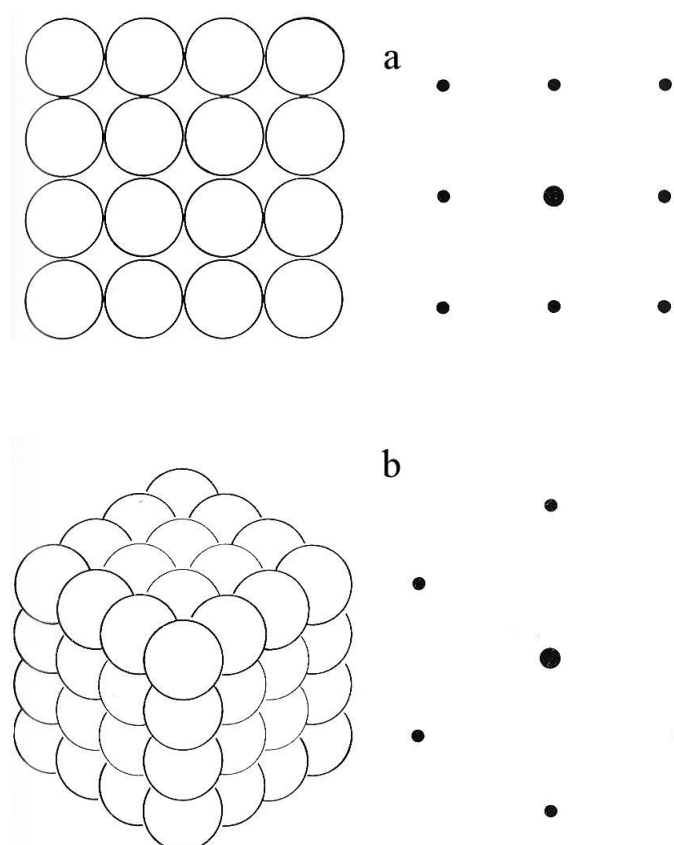


Obr. 9 Schéma vzniku zobrazení v temném poli [1]

### 1.6.3 Elektronová difrakce

Krystalické vzorky mají své atomy nebo molekuly uspořádány do určité pravidelné mřížky ve dvou nebo třech rozměrech. Kdykoliv se na obrazovce EM objeví obrázek, je také přítomna elektronová difrakce na zadní fokální rovině čočky objektivu. Elektronová difrakční mřížka představuje záznam struktury zkoušeného vzorku. [2], [3], [5], [19]

Metoda elektronové difrakce umožňuje zkoumat rozměry a uspořádání jednoho konkrétního krystalu, čímž se liší od jiných krystalografických metod (např. RTG difrakce). Výhodou elektronové difrakce je možnost srovnání morfologického obrazu konkrétního krystalu s jeho difrakční mřížkou. [17], [24]



*Obr. 10 Schéma jednoduché kubické (a) nebo hexagonální (b) krystalické mřížky [5]*

## 1.7 Pozorování a záznam obrazu

Výstupem z transmisního elektronového mikroskopu je záznam obrazu zpravidla zaznamenáván na fotografický papír nebo v digitální podobě pomocí CCD (Charge-Coupled Device) kamer.[6]

V TEM je umístěna pod stínítkem fotografická komora se zásobou fotografických filmů, uložených ve speciálních zásobnících a pouzdrech, které usnadňují manipulaci. Během pořizování fotografického záznamu dochází k odklonění stínítka a dopadu elektronů na film, který je dopraven v pouzdře. [8], [9] Negativní fotografický film je tvořen skleněnou podložkou, která je stabilní ve vakuu a na které je nános želatinové vrstvičky s krystalky nejčastěji chloridu stříbrného. Po expozici zářením dojde k jejich transformaci a k vytvoření latentního obrazu. Vyvoláním zčernají exponovaná místa, kde intenzita osvětlení přímo ovlivňuje míru zčernání. V TEM na rozdíl od klasické černobílé fotografie exponuje dopad elektronů, které

se výrazně liší od fotonů. Z toho důvodu je třeba použít speciální fotografické materiály, které mají posunutou citlivost do oblasti velmi krátkých vln a které musí vydržet vysoké vakuum uvnitř mikroskopu. [1]

Citlivost fotografického materiálu udává závislost zčernání na intenzitě osvětlení. Snížení citlivosti do oblasti velmi krátkých vln kompenzuje vysoká energie dopadajících elektronů. Zvýšením citlivosti dojde k nárůstu zrnitosti fotografického materiálu. Tzv. zrno je shluk krystalů, který po vyvolání zčerná. U kvalitních fotografií je snaha o co nejnižší zrnitost, což umožňuje dosažení vysokého rozlišení. Výslednou velikost zrna lze ovlivnit například i teplotou vývojky, nebo prodloužením vyvolávacího času. Správným zpracováním negativu může být zrno pozorovatelné až 6-8 násobným zvětšením. Počet bodů či čar v určité oblasti vyvolaného fotografického materiálu určuje jejich rozlišovací schopnost. Pro TEM jsou používány materiály s rozlišovací schopností od 100 čar/mm výše. Dalším parametrem je gradační křivka, udávající závislost zčernání na intenzitě osvětlení. Aby i malá změna svitu výrazně změnila stupeň zčernání, volíme materiál se strmější gradační křivkou; strmost lze ovlivnit také vývojkou a dobou vyvolání. Dalším důležitým parametrem je expoziční pružnost. Fotografický materiál dále musí být schopen reprodukovat celou škálu exponovaných odstínů i při výrazném, několikanásobném přeexponování. I přesto, že současné přístroje umožňují měřit intenzitu osvětlení stínítkem, může dojít k přeexponování snímku. Doporučuje se nasnímat vzácné snímky vícekrát při různých expozičních podmínkách a až po vyvolání z nich vybrat nejlepší. [1], [3], [8], [9], [10], [11]

S technickým pokrokem je již možný záznam v digitální podobě. Do dráhy elektronového svazku je vložen detektor zaznamenávající množství a energii primárních elektronů v závislosti na místě dopadu. Detektor by měl splňovat řadu aspektů. Měl by být schopen detekovat elektronový obraz, aniž by přidával šum či degradoval jeho rozlišení. Dále by měl mít velký počet pixelů, široký dynamický rozsah a skvělou linearitu. Detektor by měl být schopen zaznamenat obraz během pár vteřin a okamžitě ho poskytnout do počítače k dalšímu zpracování. Tyto vlastnosti splňuje slow scan CCD kamera (SSC). [1], [3], [8]

CCD senzor byl vynalezen v 70. letech a v elektronové transmisní mikroskopii byl poprvé použit v roce 1986 Mochelem a Mochelem, kteří konvertovali elektronový obraz na světelný pomocí scintilátoru. V CCD kamerách se používá ke konverzi elektronů na fotony YAG

(yttrito-hlinitý granát) krystal, na který dopadají elektrony. Obraz se přenáší za pomoci vláknové optiky zaručující vysokou kvalitu přenosu. Po přečtení vystupuje z CCD čipu analogový signál, který se digitalizuje 12 bitovým A/D převodníkem. [8]

K dalším výhodám SSC kamer patří velký rozměr pixelů, nejčastěji  $24 \times 24 \mu\text{m}$ , což umožňuje zachytit více elektronů, zvýšit tak dynamický rozsah kamery a udržet dobré rozlišení obrazu. Celá plocha čipu je využita k detekci obrazu, takže kamera nemůže pracovat v TV režimu. K potlačení šumu se SSC kamery chladí buď pomocí kapalného dusíku nebo Peltiérovými články a přispívá k němu i nízká čtecí rychlost. [2], [10]

Při použití SSC kamer místo klasického fotografického filmu převyšují kladné vlastnosti např. vyšší citlivost, dynamický rozsah, linearita. Na rozdíl od fotografického filmu u SSC kamer prakticky neexistuje granularita, která je u fotografického filmu hlavním zdrojem šumu. Při záznamu elektronových difraktogramů jsou SSC kamery schopné rozlišení mnohonásobně více stupňů šedi než film. Z toho plyne hlavní oblast využití a to transmisní elektronové mikroskopie (on-line holografické rekonstrukce, 3D rekonstrukce, detekce elektronových difraktogramů a obrazů pořízených v režimu low-dose pro prohlížení velmi citlivých preparátů, apod.). Další významnou předností je vyhnutí se pracnému a časově náročnému tzv. mokrému fotografickému procesu. SSC kamery mají i negativum a to konkrétně horší rozlišení a poskytují menší počet pixelů než film ( $2000 \times 2000$  u SSC ku  $20000 \times 20000$  u filmu za předpokladu rozlišení u filmu  $5 \mu\text{m}$  a plochy filmu  $10 \times 10 \text{ cm}$ ). [1], [3], [6], [8]

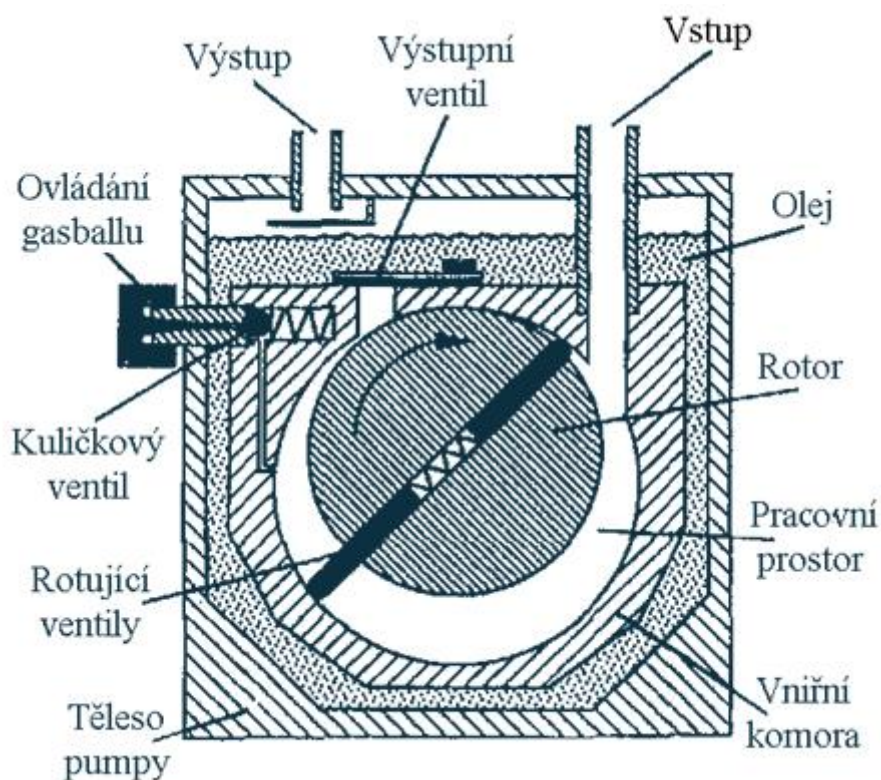
## 1.8 Vakuový systém

Ve vnitřním prostoru mikroskopu musí být co nejvyšší vakuum, minimálně  $10^{-3} \text{ Pa}$ . Vakuumem se zabrání srážkám elektronů s molekulami vzduchu, které způsobí změny energie a směru jejich pohybu. K dosažení potřebného vakua je třeba, aby byl mikroskop vybaven dostatečně výkonnými vývěvami. [3]

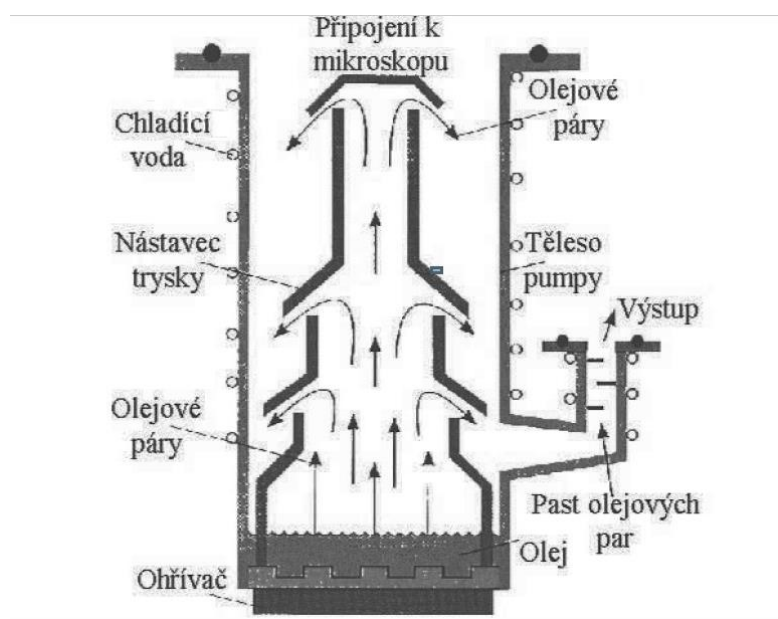
Rotační vývěva předčerpává zavzdušnění vnitřku mikroskopu nebo průchodové komory při výměně vzorků. Rotační vývěva je schopna snížit tlak cca na hodnotu  $10^{-1} \text{ Pa}$ , čímž jsou připraveny podmínky pro práci vývěvy difuzní, která odpařováním a zpětnou kondenzací oleje s nízkou tenzí par sníží tlak na potřebných  $10^{-3} \text{ Pa}$ . Dále je ke zlepšení vakua zapojena iontová vývěva a je možné i zapojení turbomolekulární pumpy či kryogenní pumpy. [13]



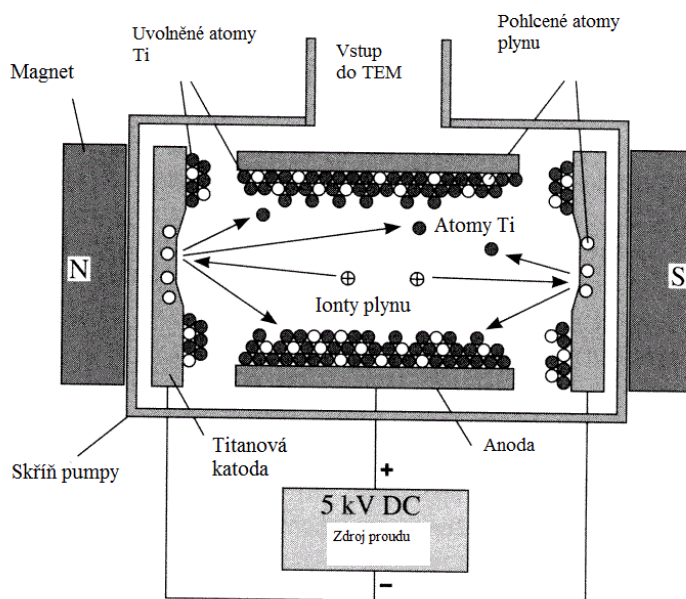
I přes dosažení hodnoty  $10^{-4}$  Pa dochází ke kontaminaci vzorku. Kontaminaci způsobují molekuly uhlovodíků ze zahřátých olejů difúzních vývěv, těsnících tuků a zbytků vodní páry. Povrch vzorku při ozáření absorbuje páry uhlovodíků a způsobuje kontaminaci a tím snížení kontrastu a rozlišovací schopnosti. Ke snížení kontaminace se používá silné ochlazení blízkého okolí vzorku. Toho je docíleno pomocí antikontaminačního zařízení složeného z antikontaminační komory s clonou, která obalí preparát a Dewardovy nádoby s kapalným dusíkem, která je umístěna mimo tubus mikroskopu. Antikontaminační komora je vychlazená na teplotu  $-190^{\circ}\text{C}$ . Tím je snížena tenze uhlíkových a vodních par kondenzujících na stěně komory a cloně. Kontaminace je snížena až 100krát. [1], [8], [13]



Obr. 11 schéma rotační vývěvy [1]



Obr. 12 schéma difúzní vývěvy [1]



Obr. 13 schéma iontové vývěvy [1]

## 1.9 Příprava vzorků

Před přípravou vzorků je třeba si uvědomit, jaké materiály je možné studovat. Je možno studovat kovy, slitiny kovů, polovodiče, polymery, skla, řadu kompozitních materiálů např. na bázi dřeva, textilu či betonu i materiály na biologické bázi. Ke každému materiálu je nutný individuální přístup a volí se jiná technika přípravy vzorku, nicméně tato bakalářská práce se zabývá studiem polymerů a ostatní metody jsou zmíněny jen okrajově. [5]

Jakýkoliv materiál je nutné před pozorováním v mikroskopu vysušit. V mikroskopu jsou vzorky vystaveny vysokému vakuu, a z mokrých vzorků by se voda začala uvolňovat, což by mohlo vést k degradaci vzorku, poškození mikroskopu a byla by ztížena penetrace elektronů, které by byly bržděny uvolněnými molekulami vody. Další podmínkou, kterou musí vzorky splňovat, je tloušťka, která nesmí přesáhnout 100nm. Silnějšími vzorky elektrony neprojdou, a pokud ano, je těžké zaostřit obraz kvůli značné chromatické vadě. Obecně existují dvě cesty, jak připravit vzorky pro TEM: přímá a nepřímá. [4], [7]

### 1.9.1 Přímá metoda

Metoda, kdy do mikroskopu vkládáme celý studovaný objekt zbavený vody. Jedná se buď o rozměrově nepatrné objekty, které můžeme v mikroskopu pozorovat celé, nebo je z větších vzorků třeba připravit řezy tloušťky cca 100-200Å, aby jimi mohly projít urychlené primární elektrony. [9], [13]

#### 1.9.1.1 *Odpařování zředěných roztoků*

Nejčastějším způsobem přípravy vzorku pro studium morfologie a struktury polymerů jsou tenké filmy, připravené odpařením zředěných roztoků polymerů. [8]

Metody běžně používané u kovových či keramických materiálů (leštění, obrušování, rolování, leptání) se v případě polymerních vzorků používají výjimečně. [2]

#### 1.9.1.2 *Polymerace či krystalizace v tenké vrstvě (CTFP)*

Metoda spočívá v tom, že mezi tenkými vrstvami rovných a pevných substrátů dochází k polymeraci nebo krystalizaci. Substráty mohou být amorfni (mikroskopická sklíčka) nebo krystalické (nízkomolekulární krystaly – chlorid sodný, chlorid draselný, slída apod.) a použity mohou být rovněž tenké polymerní filmy. Povrchy substrátů lze také různým způsobem

upravovat, modifikovat a kombinovat. Tenká vrstva polymerů se připraví mezi stěny substrátu např. odpařením ze zředěného roztoku nebo roztavením. Připravený „sendvič“ [5] je možné zabalit do hliníkové folie a dál s ním pracovat a upravovat např. polymerací, krystalizací nebo rekrystalizací. Po dokončení všech procesů je sendvič rozdělen a tenkou vrstvou polymeru je nutné umístit na mikroskopickou nosnou síťku. [2], [3], [5]

### **1.9.1.3 Ultramikrotomie**

Metoda, při které se ze vzorku připraví velmi tenké řezy pomocí diamantových nožů, které jsou součástí ultramikrotomu. Měkké, malé či porézní vzorky je nejprve potřeba zpevnit např. zalitím epoxidovou pryskyřicí. Řeže se při velmi nízkých teplotách pomocí kapalného dusíku, čímž se dá předejít poškození povrchu při řezání, což je hlavní nevýhoda tohoto procesu. Zvýšením kontrastu lze docílit využitím reakcí funkčních skupin obsahující těžké kovy. [8]

## **1.9.2 Metody nepřímé**

Nepřímé metody spočívají v pozorování replik studovaného objektu, ne samotného objektu.

### **1.9.2.1 Repliky**

Metoda replikace je výhodná v řadě ohledů. Vzorek nemusí být tenký nebo jinými rozměry nevhodný pro elektronový mikroskop. Použití replikace je výhodné u dvoufázových materiálů, kde je možná selektivní extrakce jednotlivých fází. Mezi další výhody použití metody replikace je samotné umožnění nepřímo pozorovat vzorek, který může v důsledku působení elektronového svazku degradovat.

### **1.9.2.2 Techniky replikace**

Repliky se dělí na jedno a dvoustupňové repliky, což je schematicky znázorněné na obr.14.

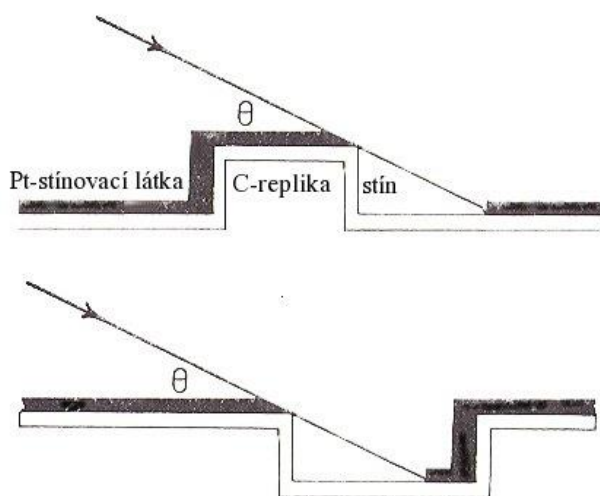
- a) Při tvorbě přímé jednostupňové repliky je vybraný vzorek stínován v napařovací jednotce těžkým kovem (zlato, stříbro, platina...), následně je na něj nanesena vrstva uhlíku. Jednostupňová pozitivní replika se připravuje šikmým nastínováním kovem a zesílením vrstvy kolmým napařením vrstvy uhlíku na vzorek. Jednostupňová negativní replika se připravuje kolmým napařením uhlíku a až pak se stínuje sejmutá

replika. Při ztíženém sejmutí repliky jsou použita replikační činidla. Na repliku je nanesen např. 2% roztok formvaru v chloroformu nebo 1% roztok kolodia v amyacetátu či vodný roztok polyvinylalkoholu nebo kyseliny polyakrylové a po uschnutí je hmota stržena. Vrstva replikačního činidla je rozpuštěna v amyacetátu, chloroformu nebo ve vodě. Replika plovoucí na hladině rozpouštědla je přenesena na podložní síťku. [3], [5], [9]

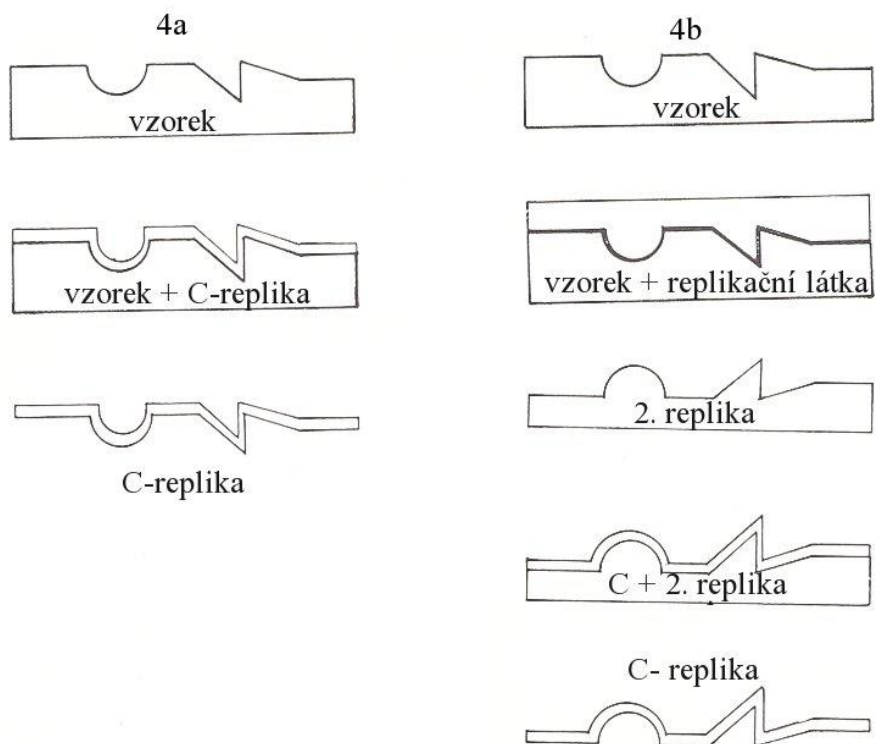
- b) Dvoustupňový negativní otisk vznikne, pokud se na objekt nanese dostatečné množství výše uvedených replikačních činidel a první stupeň repliky sejme. Na zkoumaný povrch se napaří ve vakuu vrstva uhlíku a tato uhlíková vrstva se šikmo nastínuje. U pozitivního dvoustupňového otisku se po sejmutí repliky nejprve zkoumaný povrch stínuje kovem a pak se napaří vrstva uhlíku. [3], [5], [9]

Jako replikační materiál se hlavně pro dvoustupňové repliky používají amorfní materiály (acetát nebo nitrát celulózy, kyselina polyakrylová, polyvinylalkohol, polyvinylformal, polymethylmetakrylát apod.).

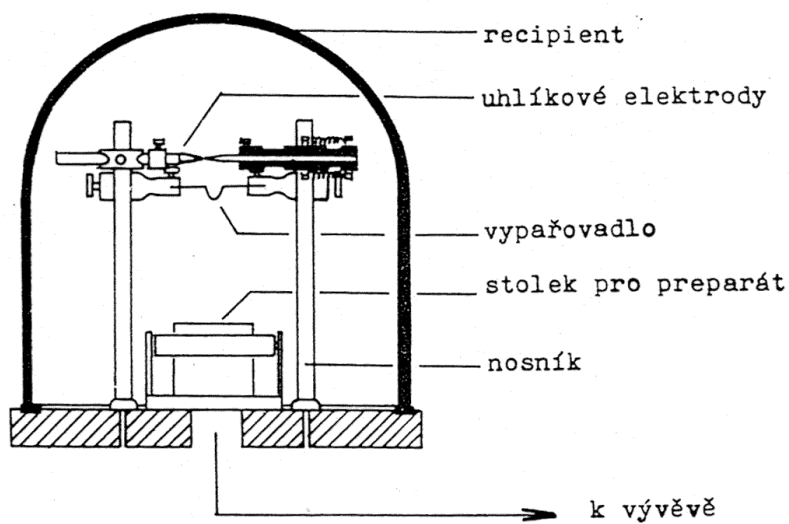
- c) Při přípravě vzorku z prášku, roztoku nebo tenkého filmu je zapotřebí připravit podklad pro vzorky. Na skleněné sklíčko je napařena tenká vrstva uhlíku. Vrstva uhlíku je nařezána na malé čtverečky, ty jsou následně ve vodě sejmuty ze sklíčka, protože plavou na vodní hladině. Pomocné uhlíkové vrstvičky jsou opatrně nanесeny na síťku. Na síťku s uhlíkovou vrstvou se nakápne roztok nebo nanese vzorek ve formě prášku. [5], [19]



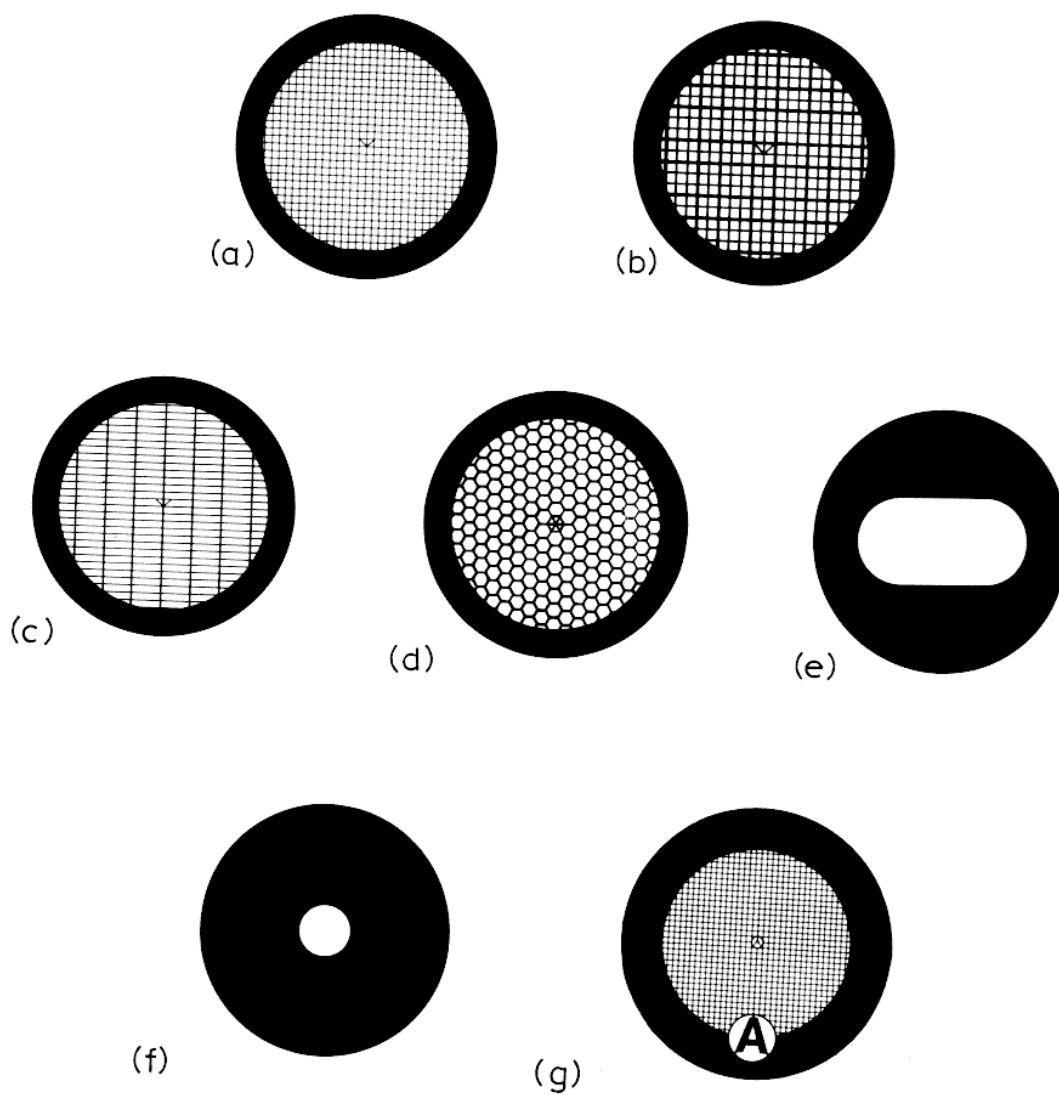
Obr. 14 Stínování repliky [5]



Obr. 15 Schéma repliky a) přímá metoda, b) nepřímá (sekundární) [5]



Obr. 16 napařovací jednotka [1]



*Obr. 18 různé typy podložních sítěk [1]*



*Obr. 19 diamantový a skleněný nůž [3]*

## 1.10 Výstup dat

Hlavním výstupem dat z TEM jsou fotografie nebo záznamy obrazu. Během pořizování fotografie vzorku může dojít k chybám.

Na snímku se mohou objevit různé nečistoty, např. prach, pyly nebo bakterie. Pokud se nečistoty dostaly na povrch vzorku před stínováním, mají stín jako vzorek; naopak pokud se povrch vzorku znečistí po stínování, nečistoty stín mít nebudou. K zajímavému jevu dojde například tehdy, pokud se při přípravě z roztoku dostane vzorek na horní i dolní uhlíkové blanky na síťce, pak se jeví vzorek na mikrosnímku jako pravo- i levotočivý útvar. [5], [7]

### 1.10.1 Analýza obrazu

Vyhodnocení dat se dá provést i použitím speciálního softwaru, který značně usnadňuje práci a zároveň dokáže zpracovat data, lidským okem velmi těžko změřitelná. Zde jsou vyjmenovány ty nejzajímavější: [3]

- 1) Gatan Microscopy Suite - Umožňuje získávání dat, zpracování a analýzu v širokém rozsahu TEM aplikací. Jeho rozhraní je přizpůsobeno pro specifické potřeby uživatele a dokáže si poradit s jakýmkoliv typem obrazových dat. Dle přirovnání je Gatan pro TEM to, co Microsoft pro PC. [3]
- 2) ImageJ – Univerzální a všestranný freeware software od NIH Image. Program na bázi Javy. Dokáže otevírat a ukládat ve všech obrazových formátech (TIFF, GIF, JPEG, DICOM, BMP, PGM...). Podporuje vyhlazování, ostření, detekci hran, měření plochy a úhlů atd. [3]
- 3) Animated TEM – Software zaměřený na automatickou detekci, označení a extrakci dat. Ve spojení se softwarem mikroskopu, dokáže vybrat cíle on-line a automaticky zkoumat vybrané vzorky 2D krystalů. [3]



Do TEM v dnešní době mohou být vloženy ještě další detektory, které umožňují získat další typy dat. Např. prvková analýza pomocí RTG spektroskopie. [7]

Elektronový mikroskop (SEM nebo TEM) může být vybaven analyzátozem, který provádí rozklad RTG záření podle energie (Energy Dispersive Spectrometer - EDS) nebo podle vlnové délky (Wavelength Dispersive Spectrometer – WDS).

Dnešní EDS detektory jsou schopny registrovat více než  $10^6$  RTG pulzů za sekundu a rozřadit je v mnohokanálovém analyzátoru do podoby charakteristického spektra. [6], [12]

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## **2 METODA SVĚTLÉHO POLE**

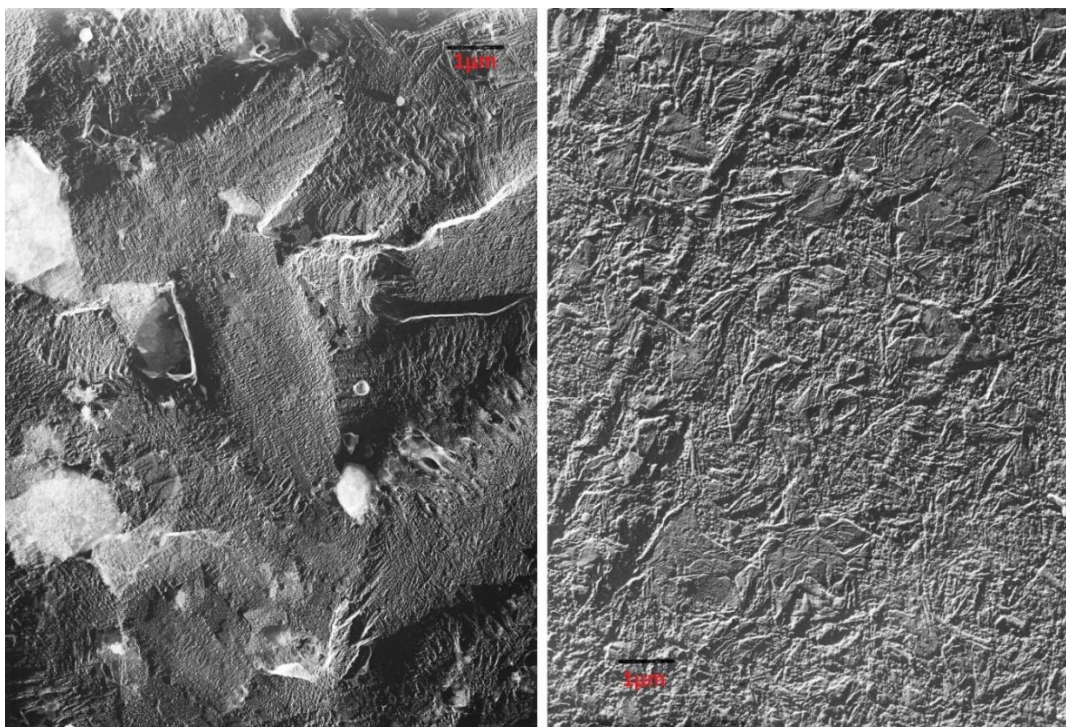
Protože je metoda světelného pole v TEM používána nejčastěji a je nejdůležitější metodou při studiu morfologie látek, je jí zde věnována největší pozornost.

### **2.1 Příprava vzorku**

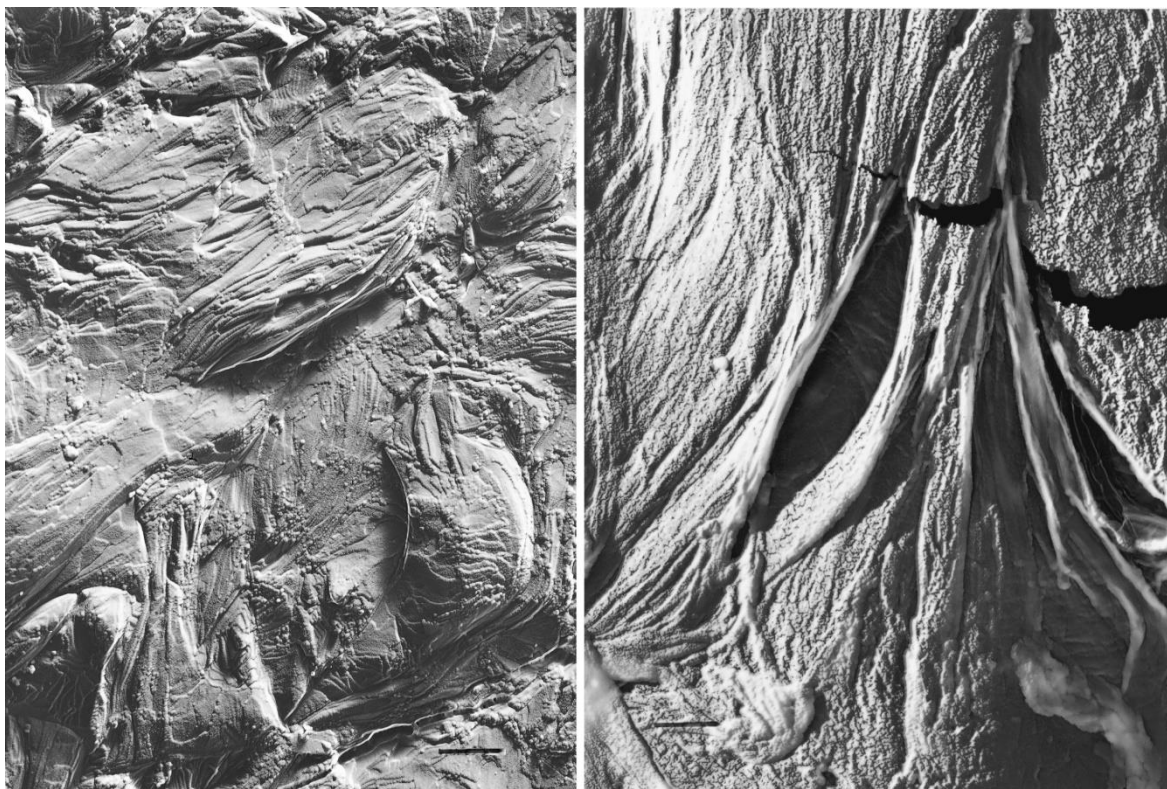
V teoretické části byly vysvětleny různé technické procedury přípravy vzorků. V praktické části budou některé z nich přiblíženy ukázkou snímků, kde byly jednotlivé metody použity.

#### **2.1.1 Leptání**

Při přípravě vzorků může dojít k poškození struktury povrchu způsobené kontaktem s nástrojem (skleněnou, kovovou plochou). Poškozenou plochu je možné před replikací selektivně odleptat. [8] Selektivní leptání je též výhodné v případě semikrystalických polymerů, kdy amorfní část vzorku je možno leptání odstranit a výsledný obraz krystalických oblastí takto zdůraznit. Pro polymerní vzorky je osvědčené leptání zředěným roztokem (0,1-1%) manganistanu draselného v 80% kyselině fosforečné při 25°C po dobu 1-10 min. [5], [15], [17]



*Obr. 20 EM selektivně leptaného povrchu: a- isotaktický polypropylen, b- syndiotaktický polystyren*



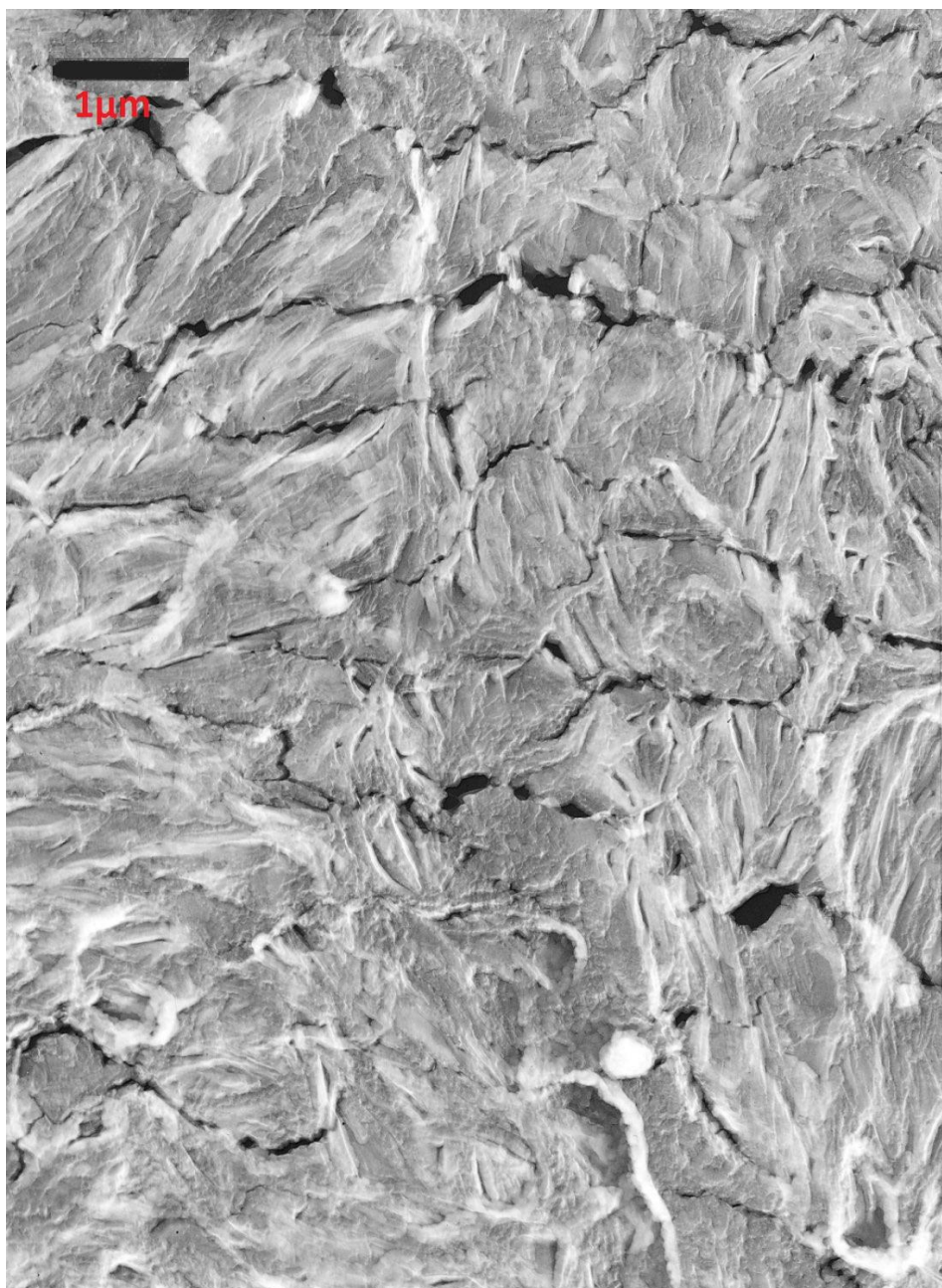
*Obr. 21 c- lineární polyetylen, d- orientovaný lineární polyetylen*



*Obr. 22 e- orientovaná směs izotaktického polypropylenu (30%) a lineárního polyethylenu (70%)*

### 2.1.2 Repliky

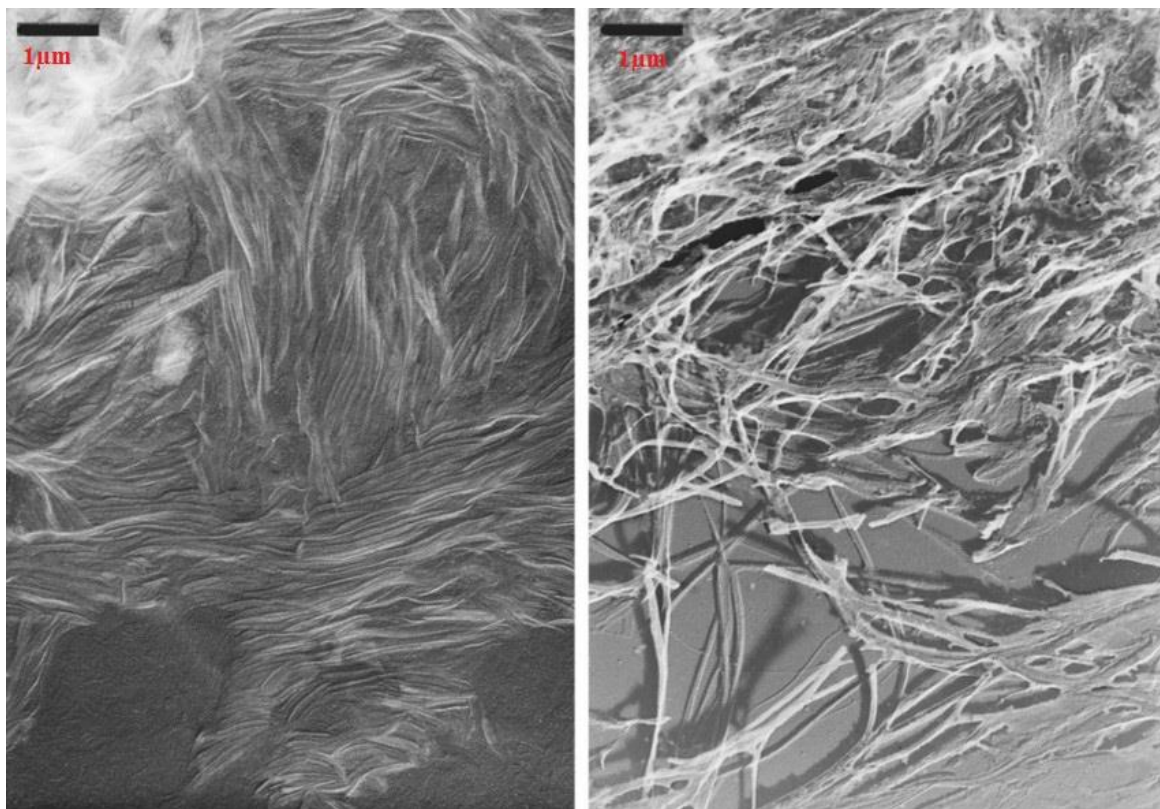
Při vyšetřování struktury masivnějších vzorků lze provádět replikaci lomových ploch. Masivní vzorky jsou ochlazeny kapalným dusíkem nebo héliem a následně lze zkřehlý vzorek mechanicky rozlámat a vybrané lomové plochy replikovat. Výhodou je, že při lámání vzorku hluboko pod jeho teplotou skelného přechodu, dochází jen k minimálnímu porušení struktury vzorku. [8] (Obr.22)



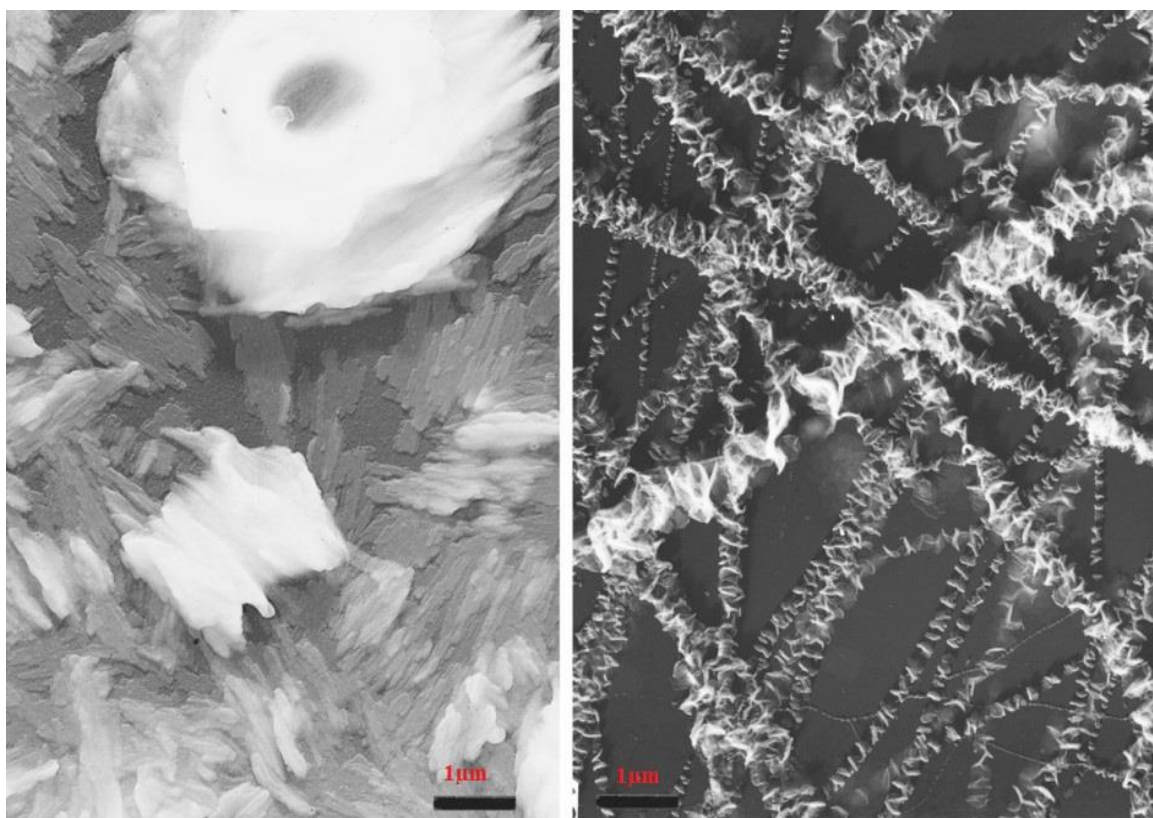
*Obr. 23 EM snímek lomové plochy lineárního polyethylenu*

### 2.1.2.1 Polymerace či krystalizace v tenké vrstvě (CTFP)

Následující snímky dokumentují vliv úpravy povrchu použitého substrátu. Zkoumaným polymerem v tomto případě je lineární polyetylen, který byl krystalizován na různě upravených površích.



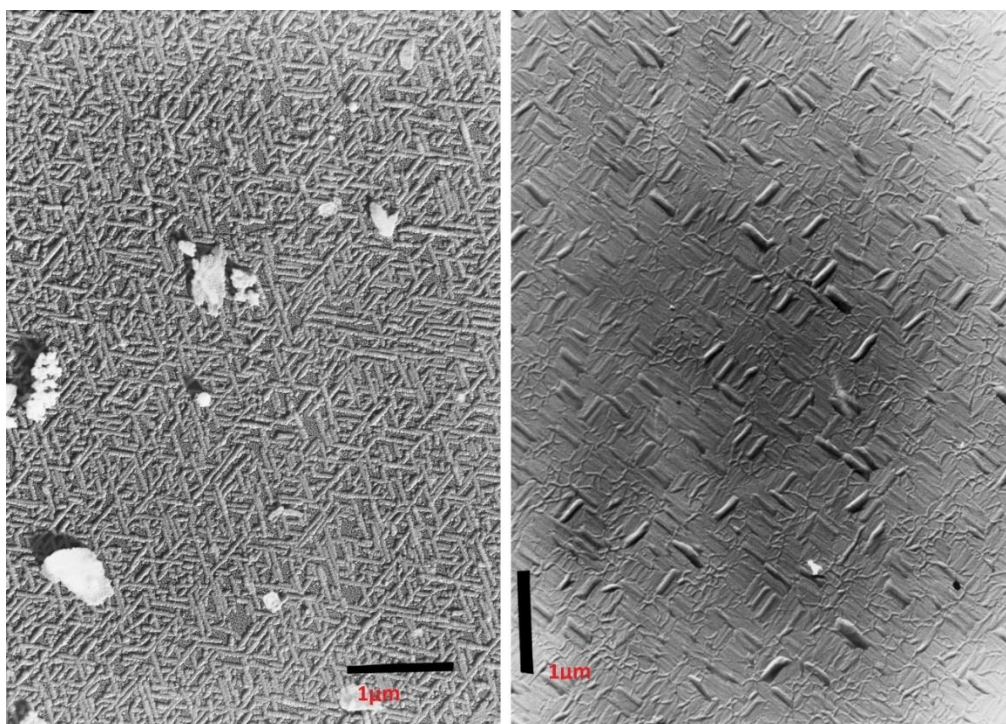
Obr. 24 Polymerní filmy odpařené na různých površích: a- sklo původní, b- sklo upravené hydroxidem sodným



*Obr. 25 c- sklo upravené kyselinou sírovou, d- roztok lineárního polyetylenu v xylenu*



Další snímky ukazují polyoxybenzoát polymerizovaný mezi slídou a poly- $\gamma$ -benzyl-L-glutamát syntetizovaný mezi monokrystaly chloridu sodného.

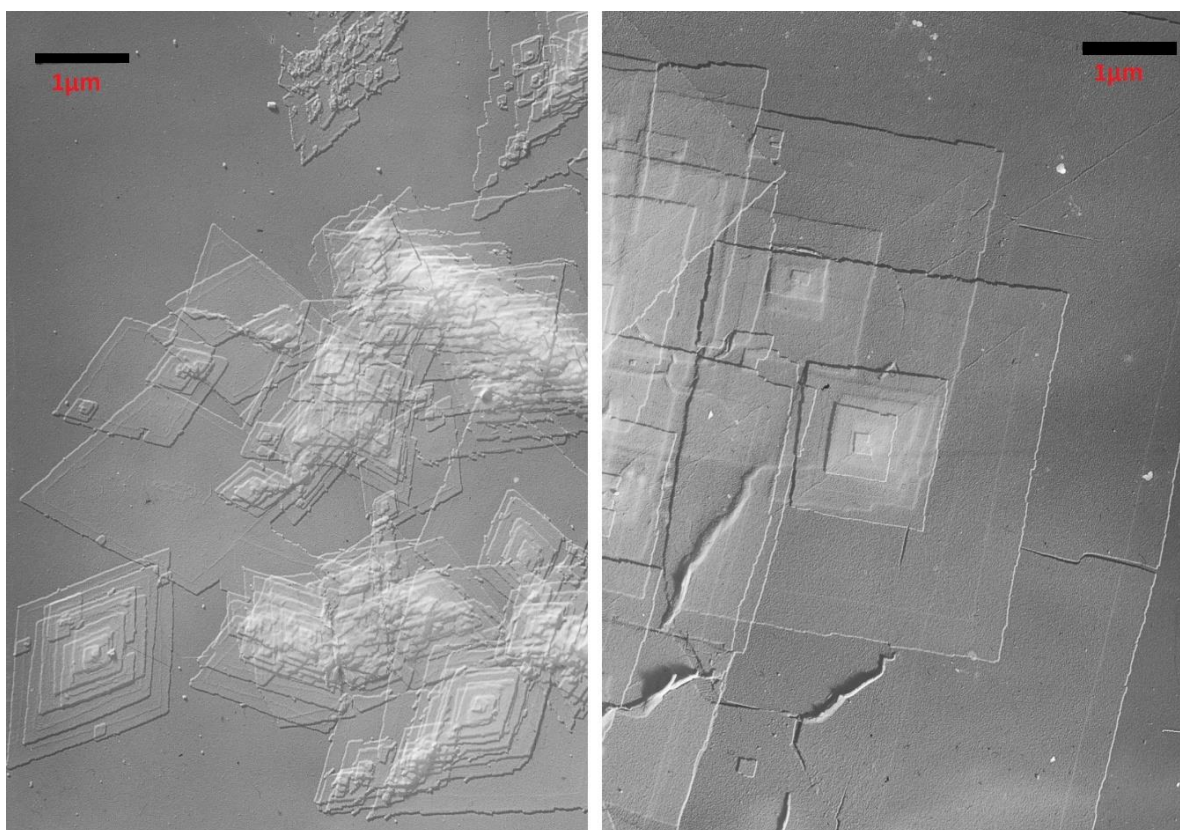


*Obr. 26 c-polyoxybenzoát mezi slídou, d- poly- $\gamma$ -benzyl-L-glutamát mezi monokrystaly chloridu sodného*

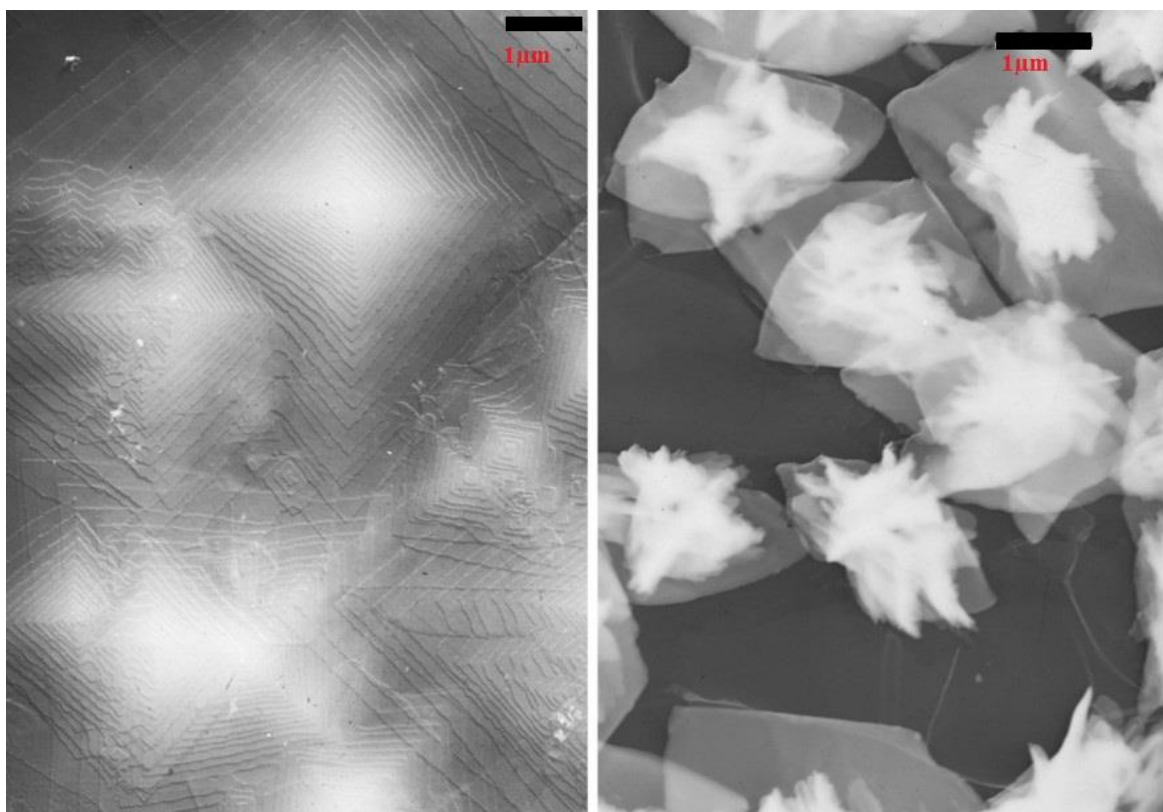
## 2.2 Příklady aplikace

### 2.2.1 Monokrystaly

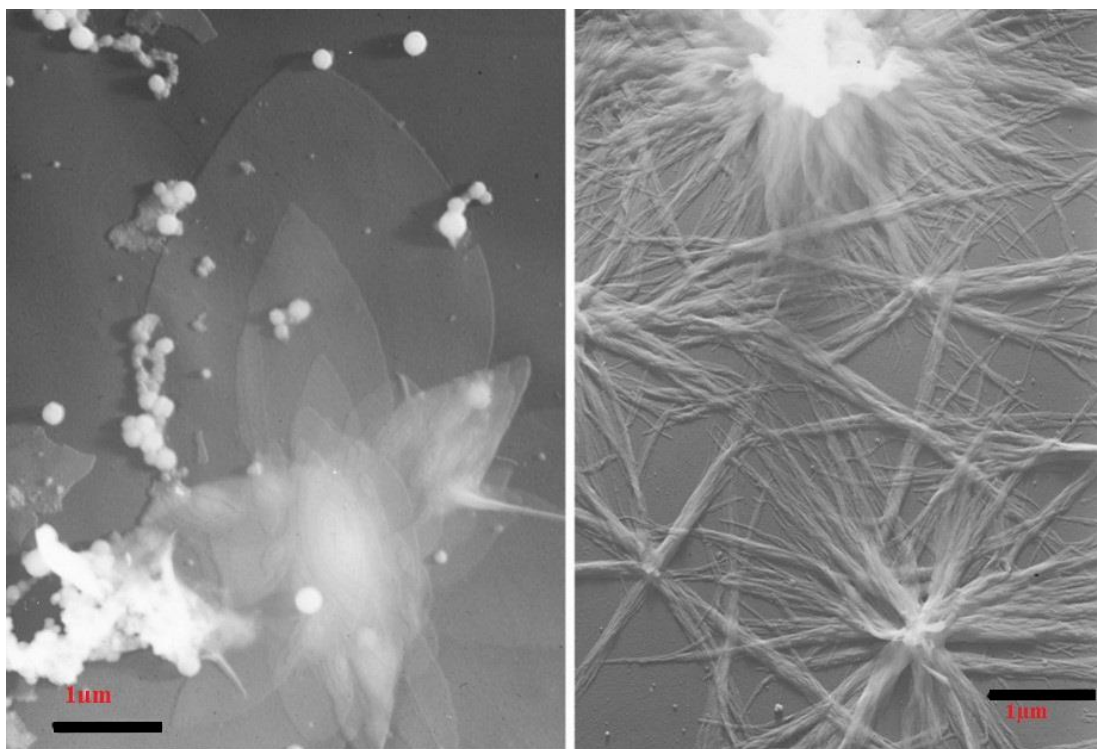
Na obr. 27-31 jsou uvedeny příklady tenkých filmů připravených ze zředěných roztoků. Je možno pozorovat pravidelné monokrystaly lineárního polyetyleny (27a), poly-4-methylpentenu-1 (27b), polyetylenglykolu (28c) či tenkých lamelárních krystalů u poly-2,6-oxynaftalátu (28d) nebo tenkých zaoblených monokrystalů rozvětveného polyetyleny (29e), vláken, provazců či toroidů (31) u syntetického polypeptidu poly- $\gamma$ -benzyl-L-glutamátu.



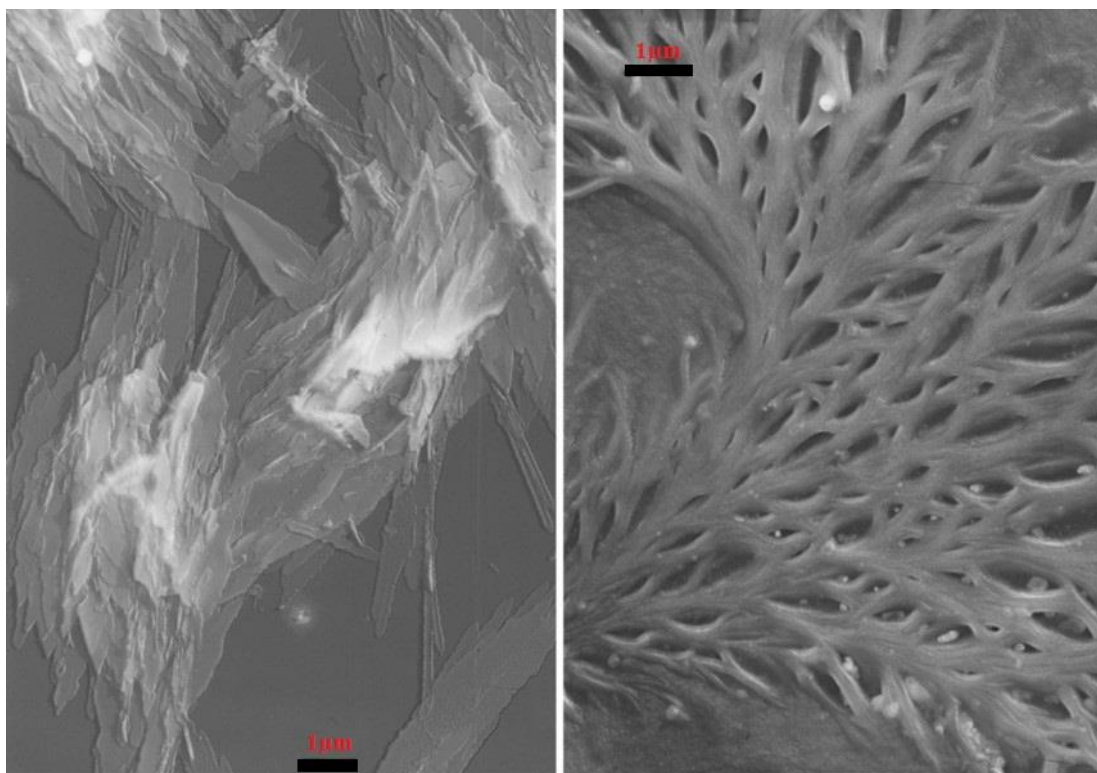
*Obr. 27 EM snímky monokrystalů polymerů připravených ze zředěných roztoků: a- lineární polyetylen, b- i-poly-4-methylpenten-1*



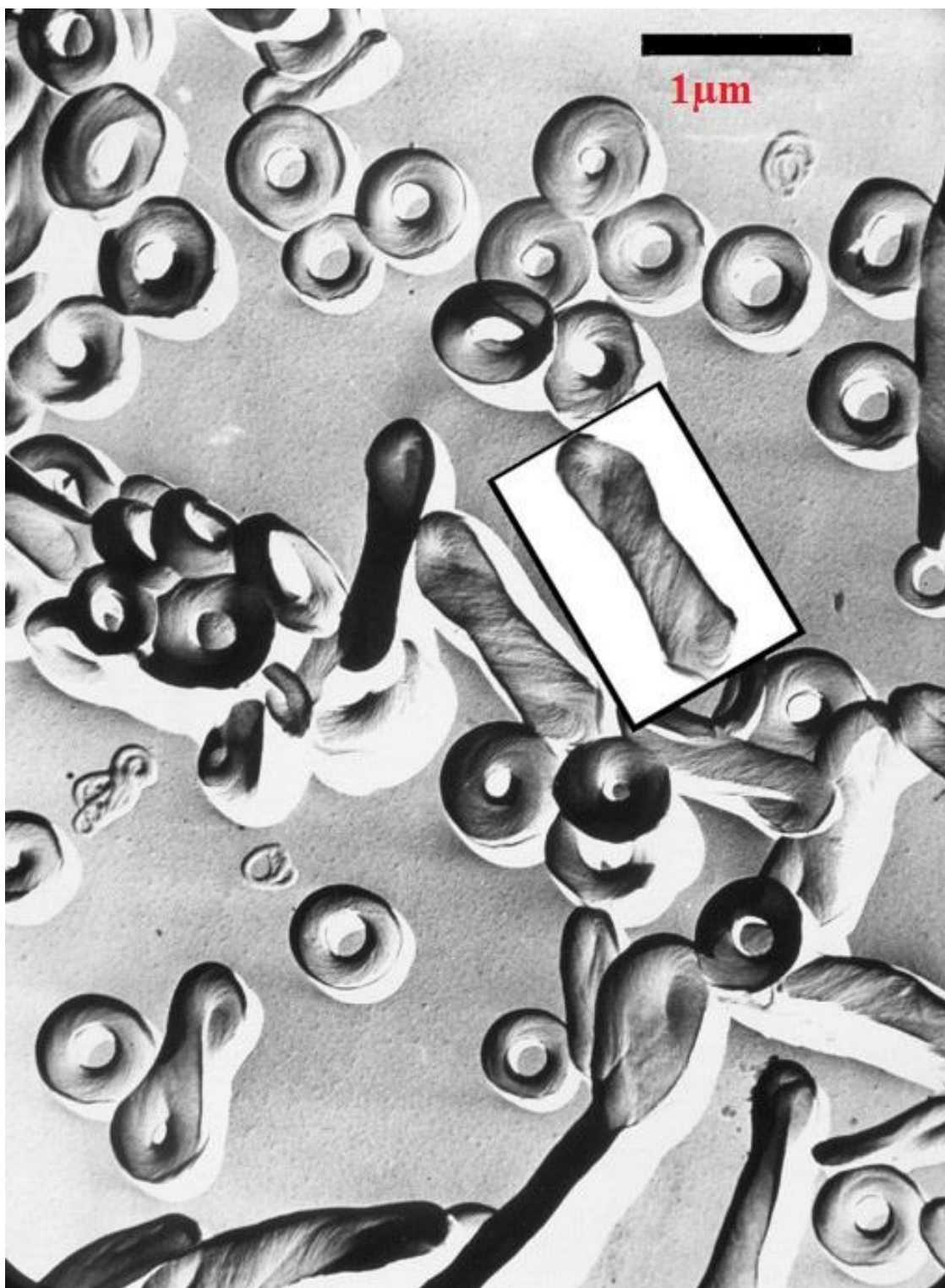
*Obr. 28 c- polyetylglykol, d- poly-2,6-acetoxynaftoát*



Obr. 29 e- rozvětvený polyetylen, z koncentrovanějších roztoků : f- polyamid 6



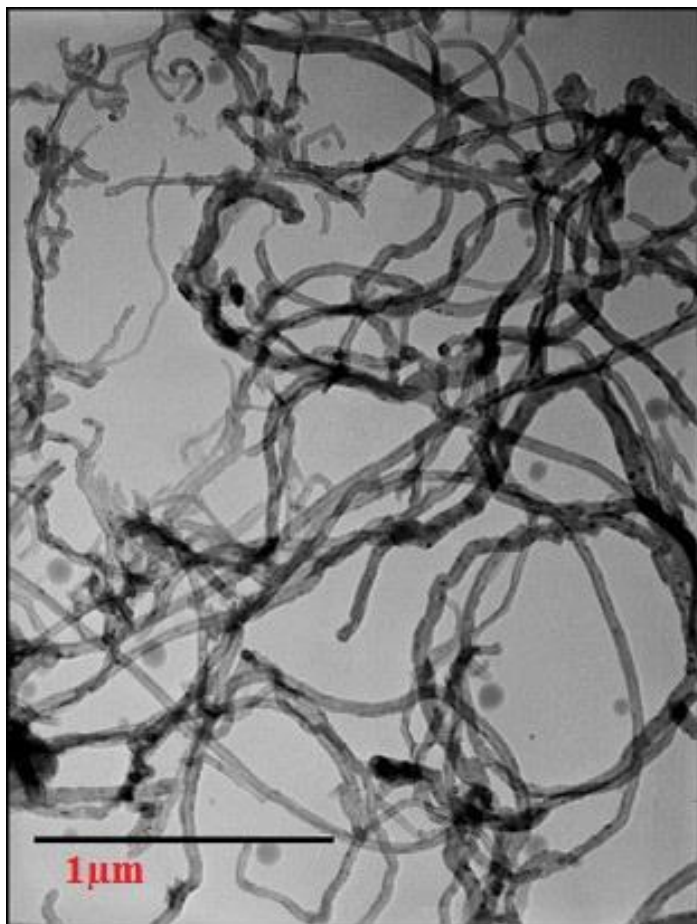
Obr. 30 g- lineární polyetylen, h- polybuten-1



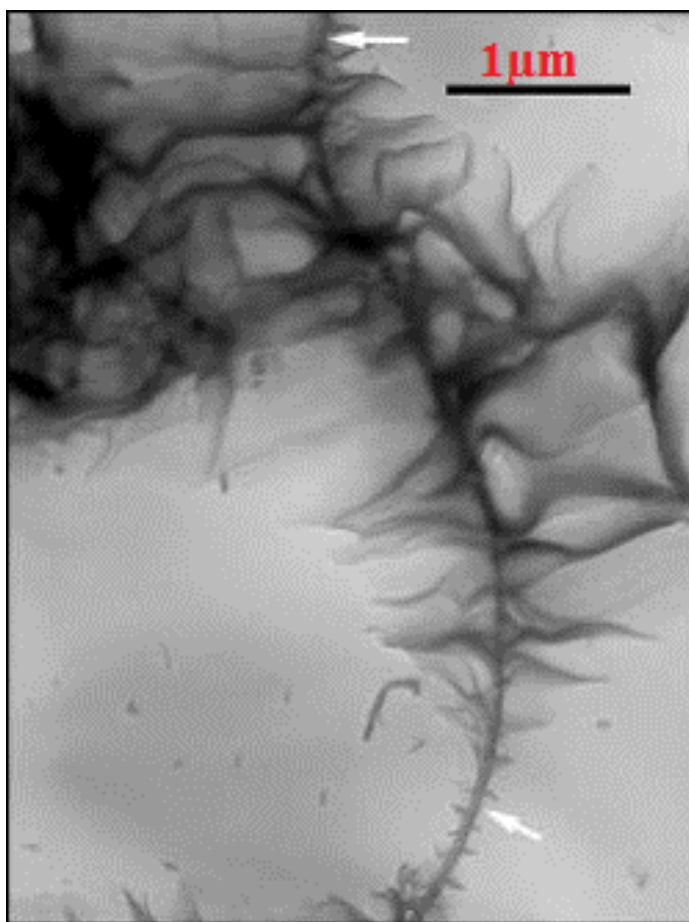
*Obr. 311i- isotaktický poly- $\gamma$ -benzyl-L-glutamát. Ve výřezu replika prohlížená z rubové strany.*

### 2.2.2 Aditiva

Nedílnou součástí plastů bývají různá aditiva. Jedním ze zkoumaných materiálů byly např. uhlíkové nanotrubičky.



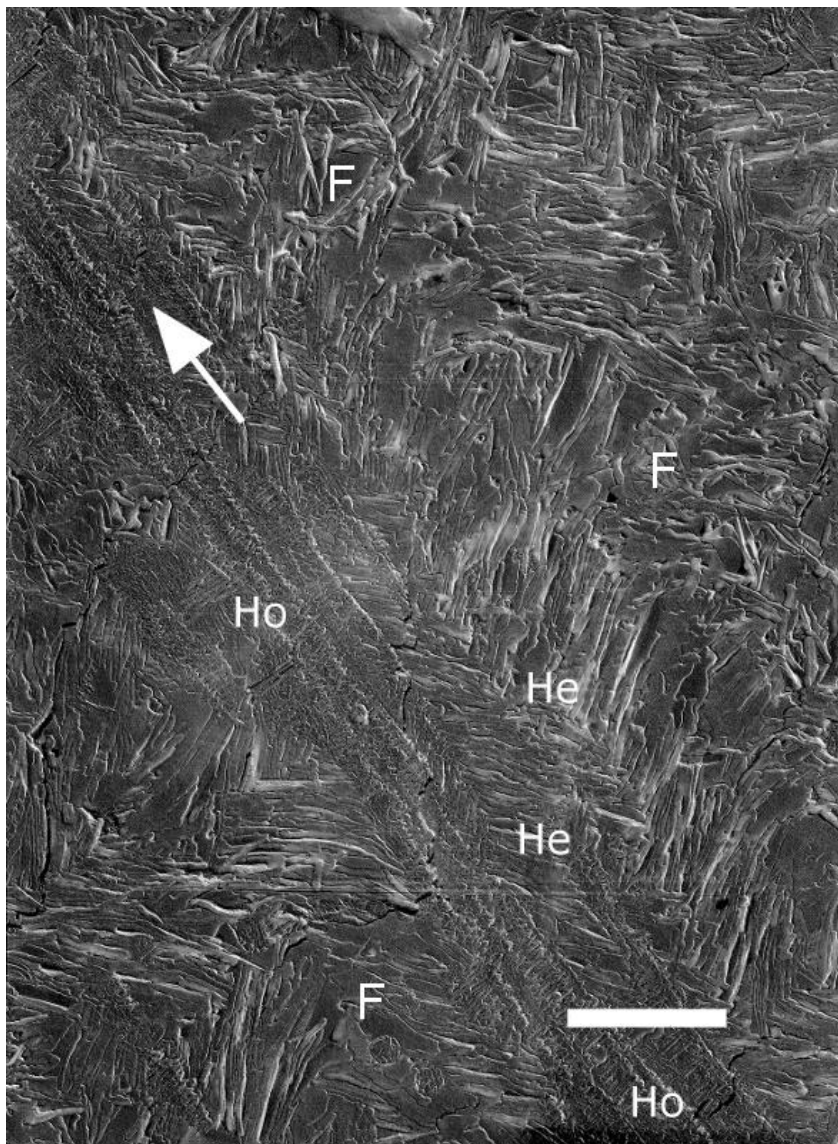
*Obr. 32 Snímek uhlíkových nanotrubiček vytvořený pomocí TEM.*



*Obr. 33 Kompozit uhlíkových nanotrubiček a lineárního polyethylenu vytvořený z roztoku, následně roztaven a zchlazen na pokojovou teplotu. Šipky označují uhlíkovou nanotrubičku.*

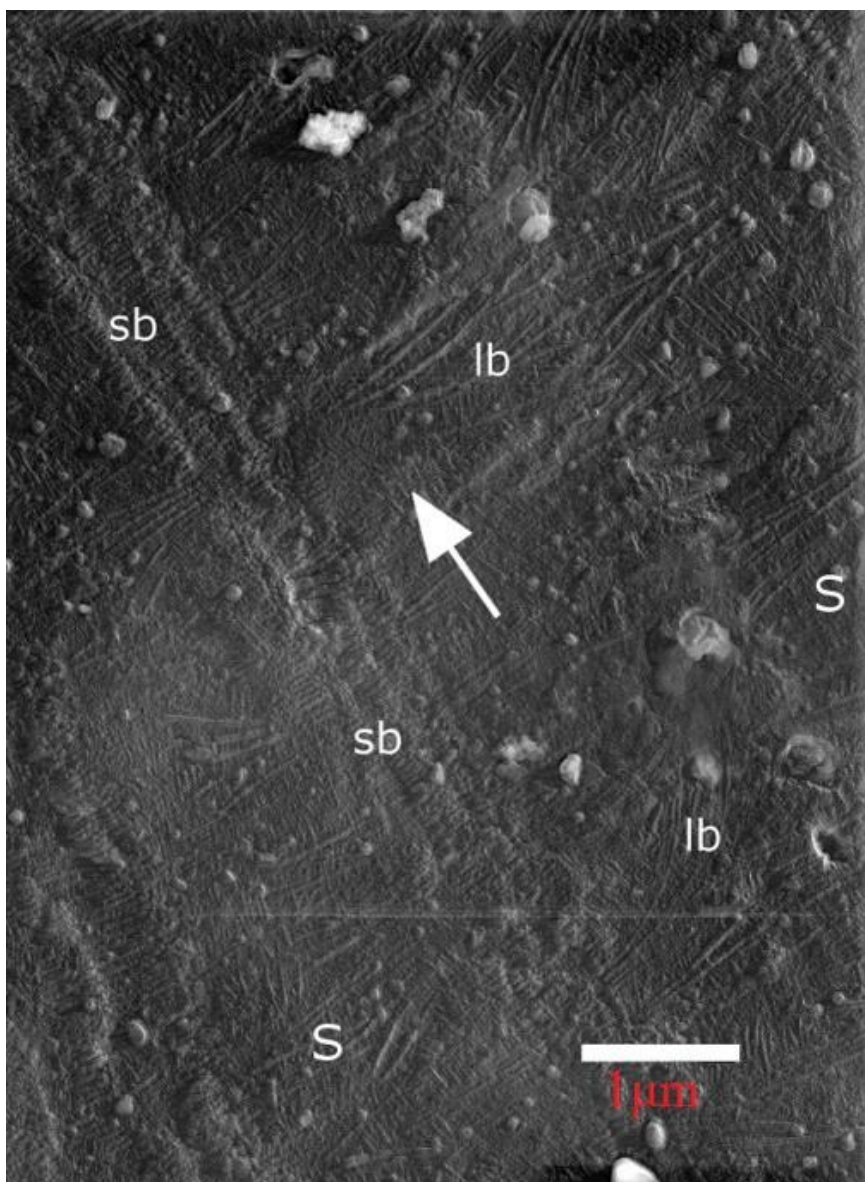
### 2.2.3 Epitaxiální krystalizace

Při epitaxiální krystalizaci dochází k růstu krystalu na povrchu jiného krystalu.



*Obr. 34 Snímek repliky selektivně leptaného povrchu směsi lineárního polyethylenu (20%) a isotaktického polypropylenu (80%) zachycuje homoepitaxii (Ho) i heteroepitaxii (He). Dlouhé lamely lineárního polyethylenu se nezdaří být připojeny k „shish“ formě (F).*

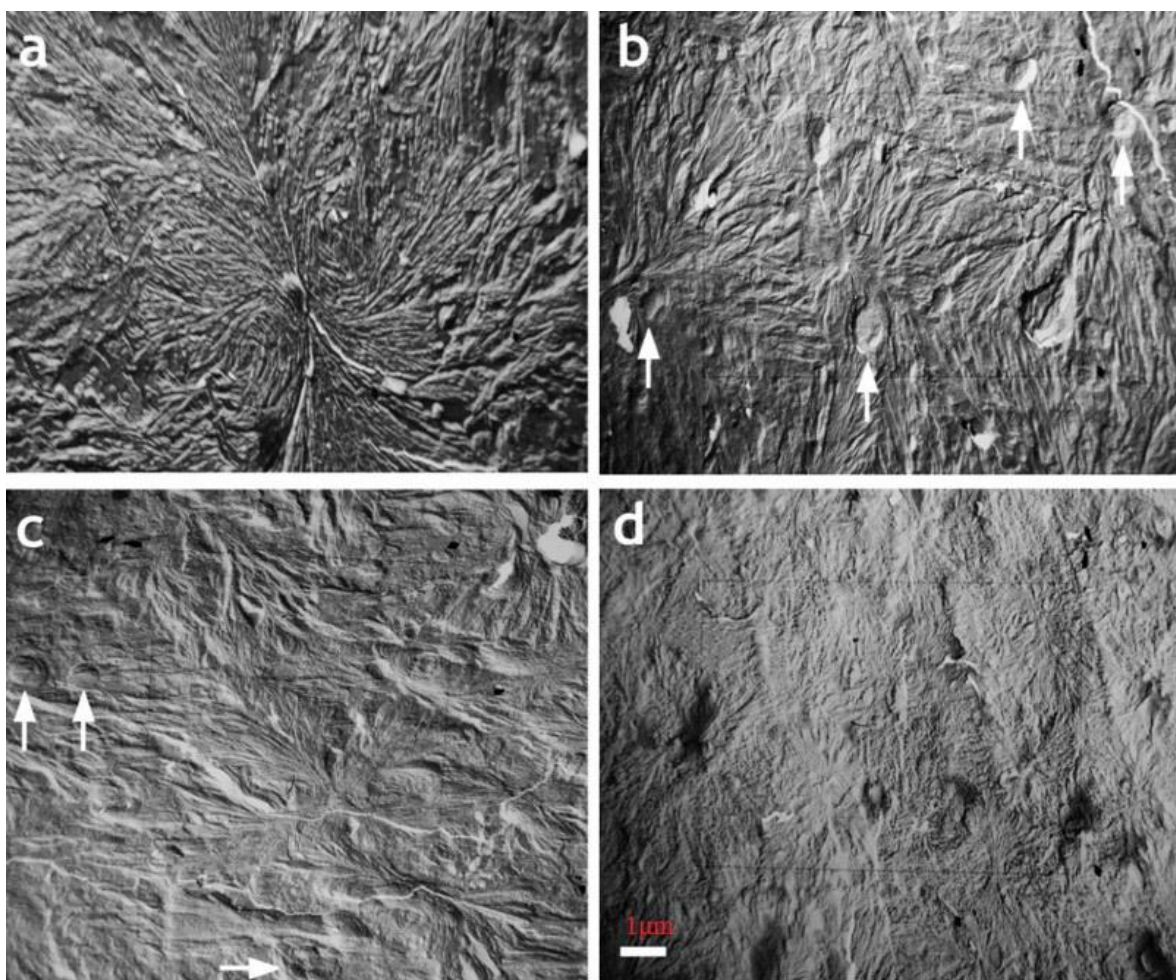




*Obr. 35 Snímek repliky selektivně leptaného povrchu vzorku ukazuje samotný isotaktický polypropylen. Několikanásobná střední linie orientovaná ve směru vytlačování je pokryta krátkými kolnými lamelami (sb), které se následně mohou rozrůst do lehce zahnutých delších větví (lb). Delší větve se dále mohou rozvést kratšími kolnými větvemi, jak může být vidět u zkřížených sférolitů. Na snímku je tato tendence označena písmenem S. Šipka označuje směr vytlačování.*

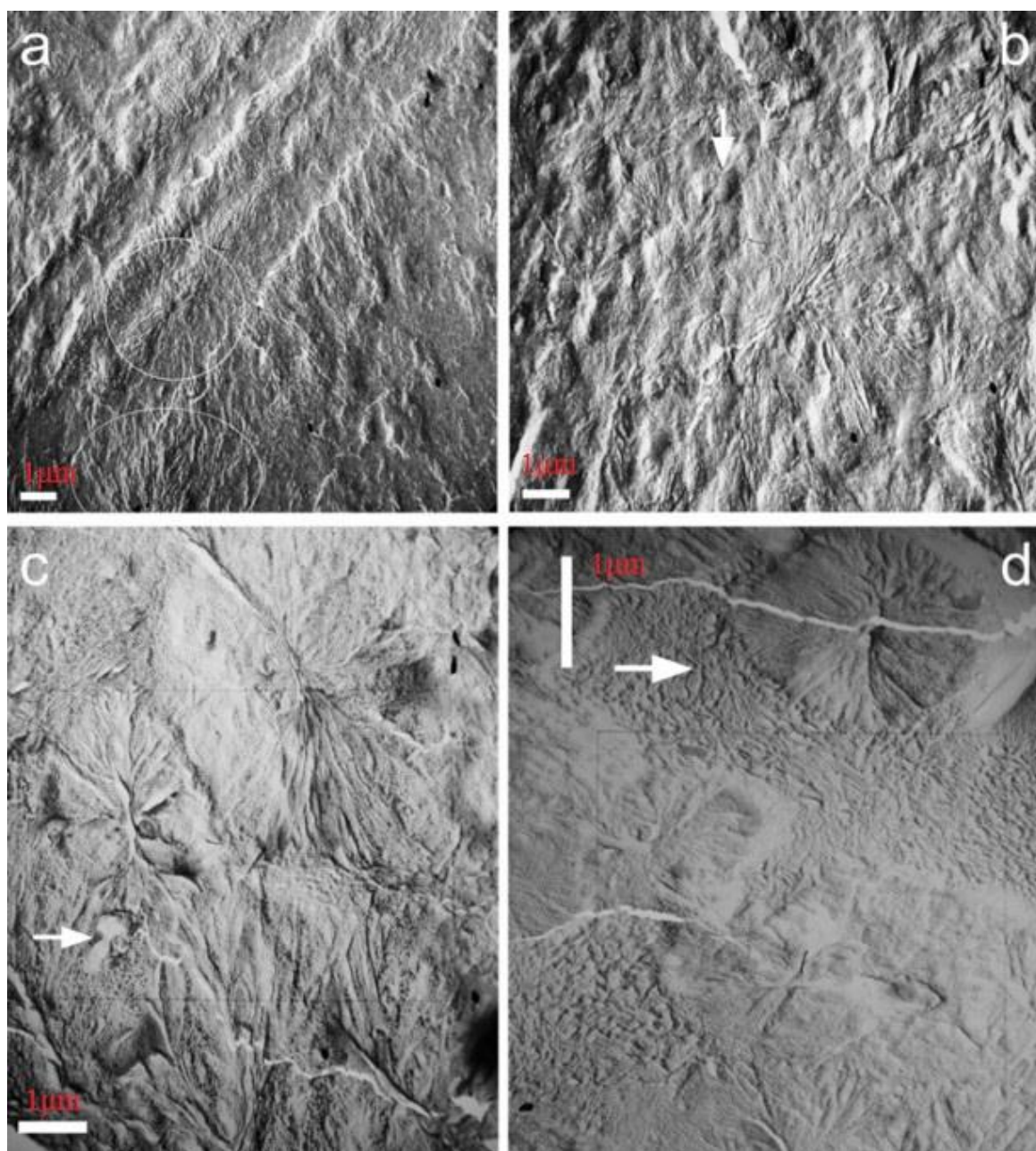
#### 2.2.4 Ozáření beta

Při ozařování polymeru může dojít k dvěma odlišným reakcím - síťování nebo degradaci materiálu. Při zkoumání vzorků v TEM je možné pozorovat změnu morfologie v závislosti na ozáření, není však možné touto metodou rozhodnout, zda došlo k síťování nebo degradaci. K tomuto účelu jsou vhodnější analytické metody, např. infračervená spektroskopie. [3], [12], [13],



Obr. 36 Snímky selektivně leptaných povrchů izotaktického polybutenu-1 (homopolymer PB 0110M), které byly ozářeny beta zářením o dávkách: a)

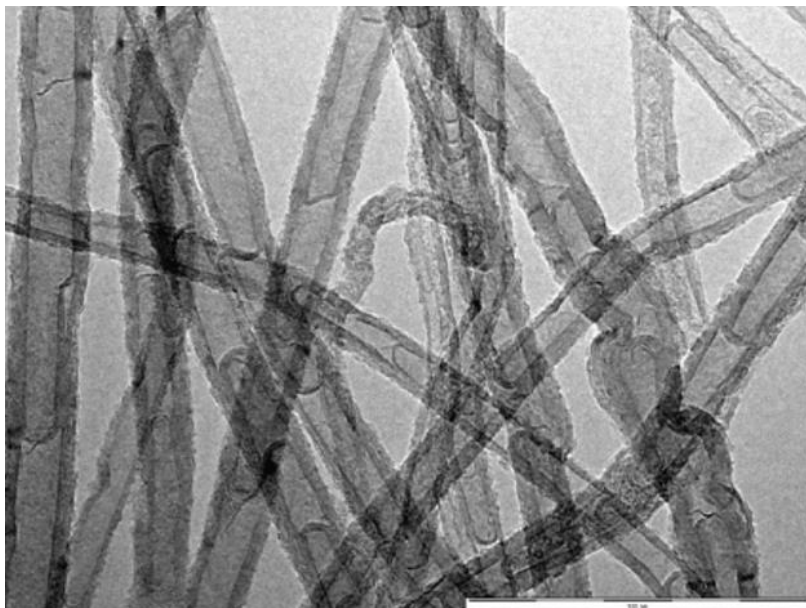
(a) 0 kGy, (b) 66 kGy, (c) 165 kGy, (d) 198 kGy.



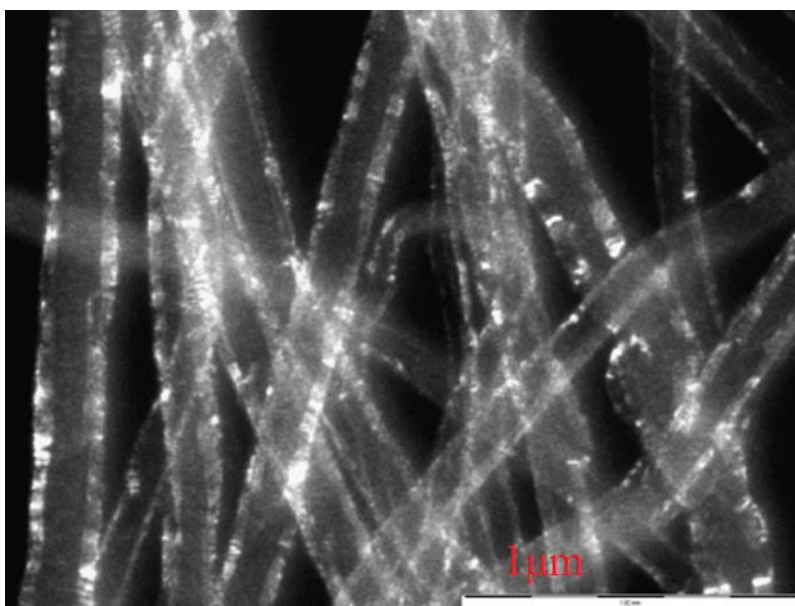
*Obr. 37 Snímky selektivně leptaných povrchů vybraných kopolymerů izotaktického polybutenu -1 a ethylenem (9217 and 8340), které byly podrobeny beta záření o dávkách: : (a) 9217 0 kGy, (b) 9217 99 kGy, (c) 9217 198 kGy (d) 8340 198 kGy. Kružnice označují slabé sférolitické struktury.*

### 2.3 Metoda temného pole

Pro přiblížení metody temného pole jsou k porovnání přiloženy totožné snímky, na kterých je možné pozorovat uhlíkové nanotrubičky. Na prvním obr. 38 je obraz tvořen paprsky přímo procházejícími vzorkem, ostatní paprsky jsou odcloněny aperturní clonou. Na druhém obr.39 je vysunuta aperturní clona tak, aby propouštěla paprsky procházející difrakčními maximy.



*Obr. 38 Uhlíkové nanotrubičky ve světlém poli*



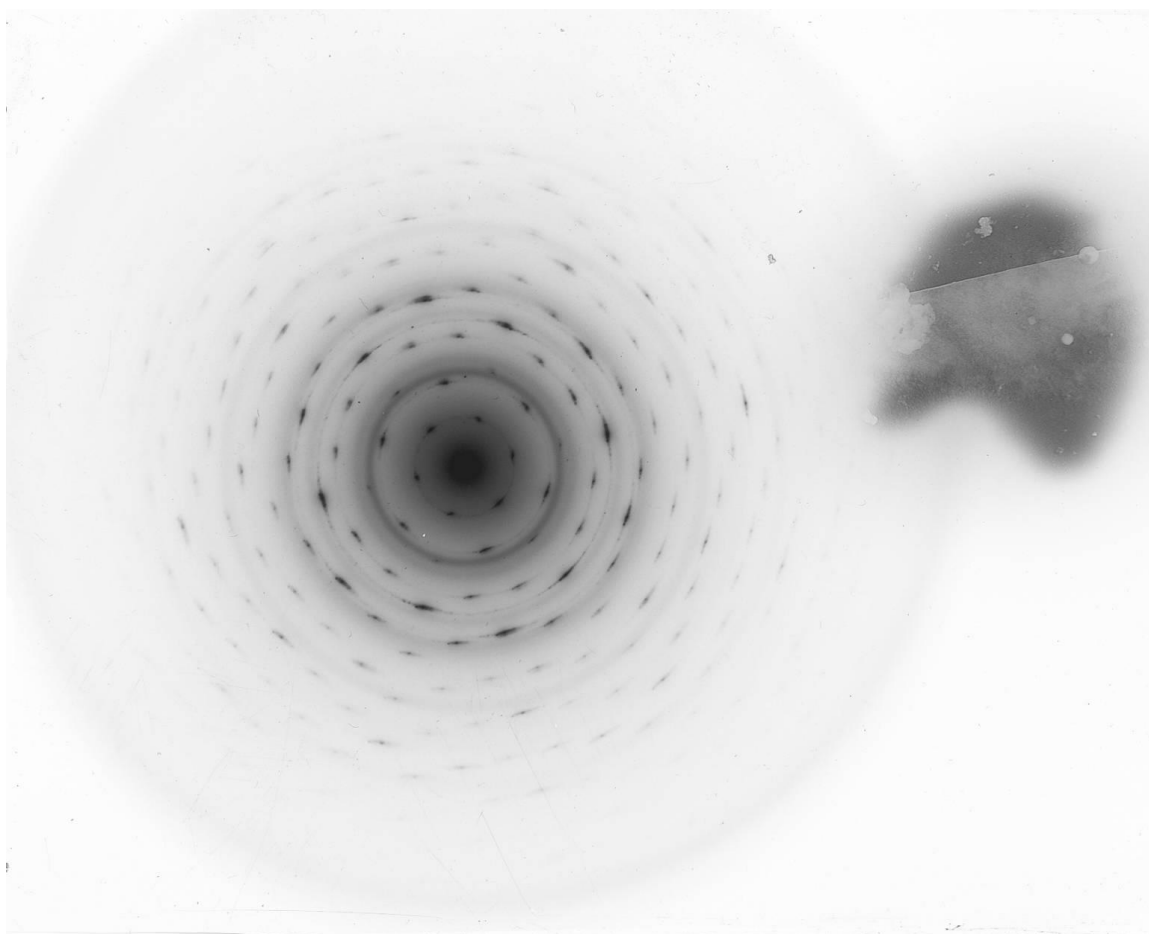
*Obr. 39 Uhlíkové nanotrubičky v temném poli*

## 2.4 Metoda elektronové difrakce

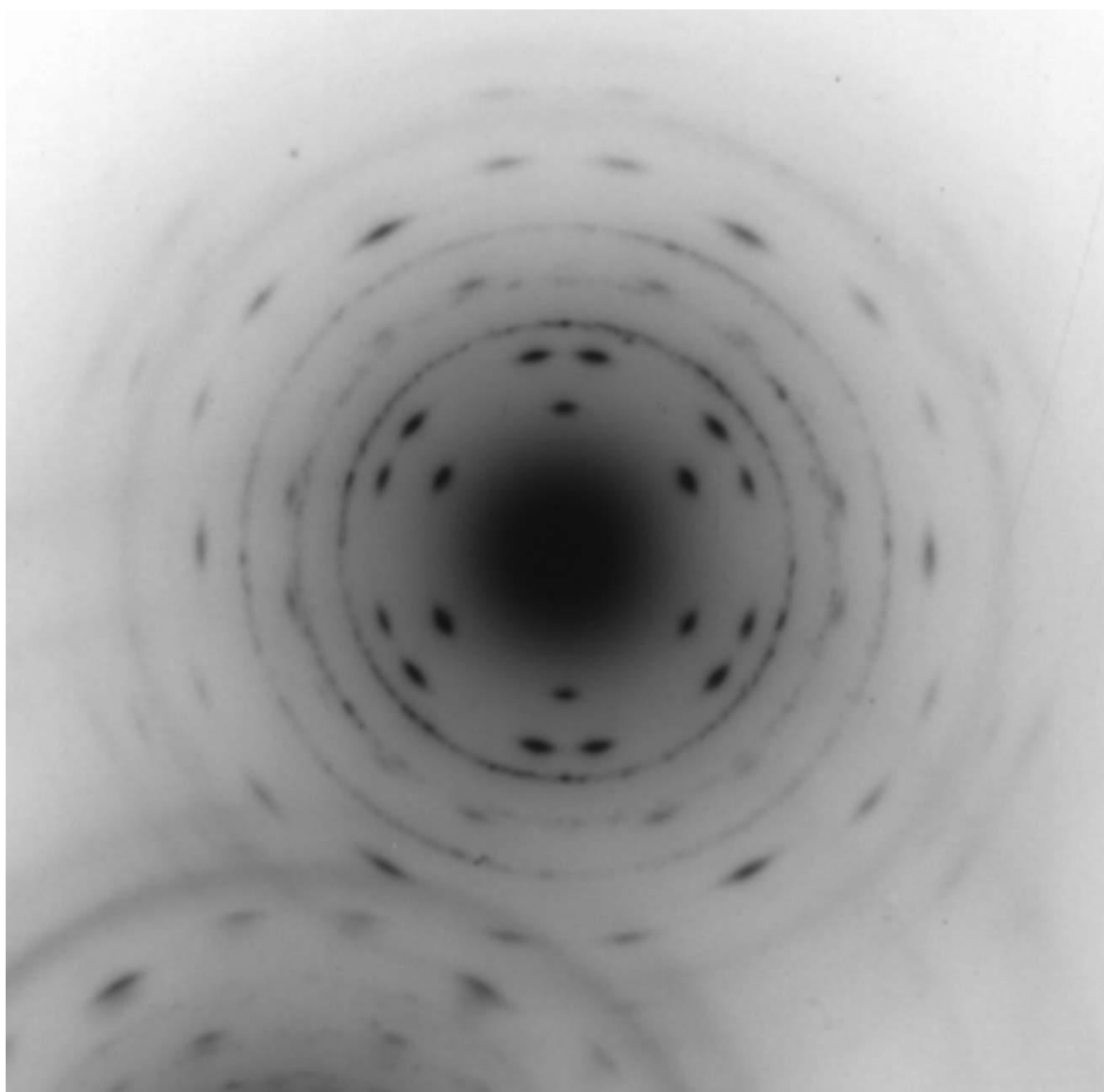
Elektronová difrakce (ED) je u polymerů vhodná pro studium monokrystalů i polykrystalů.

### 2.4.1 Monokrystalaly

Příkladem ED u monokrystalů je polyoxybenzoát z kategorie kapalně krystalických polymerů.



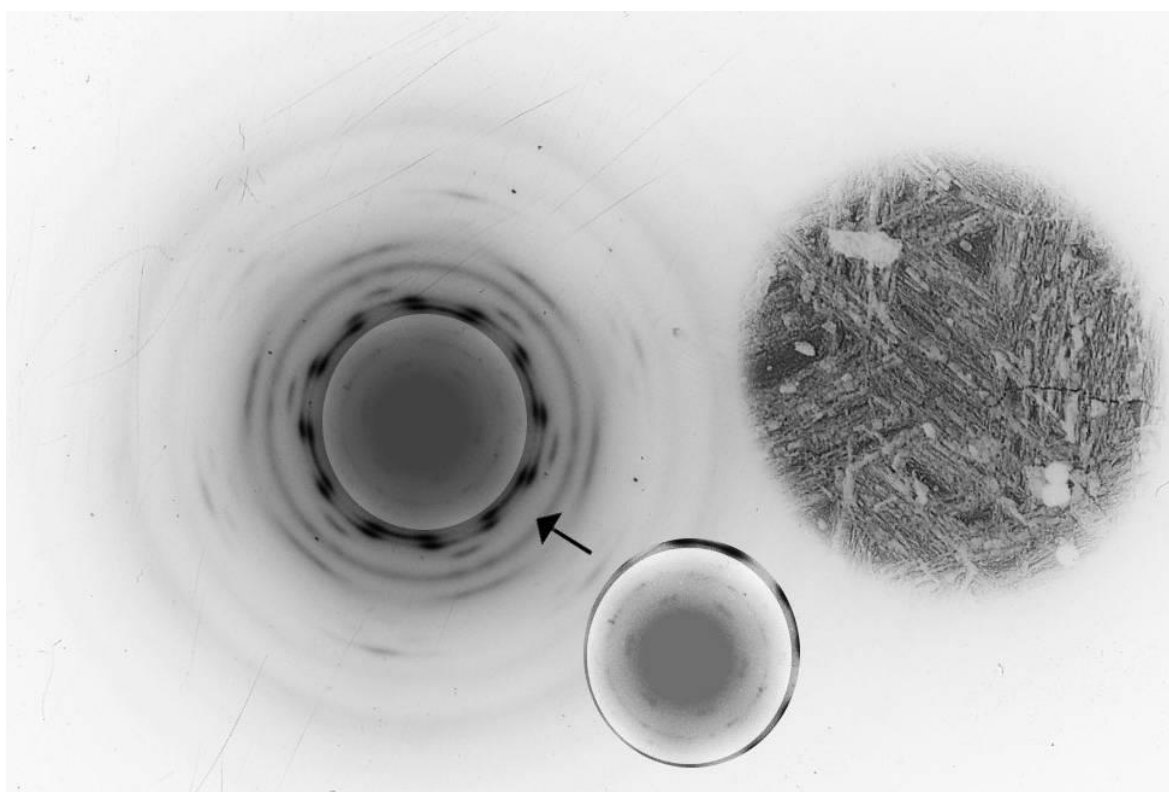
*Obr. 40 ED monokrystalického a zároveň polykrystalického polyoxybenzoátu*



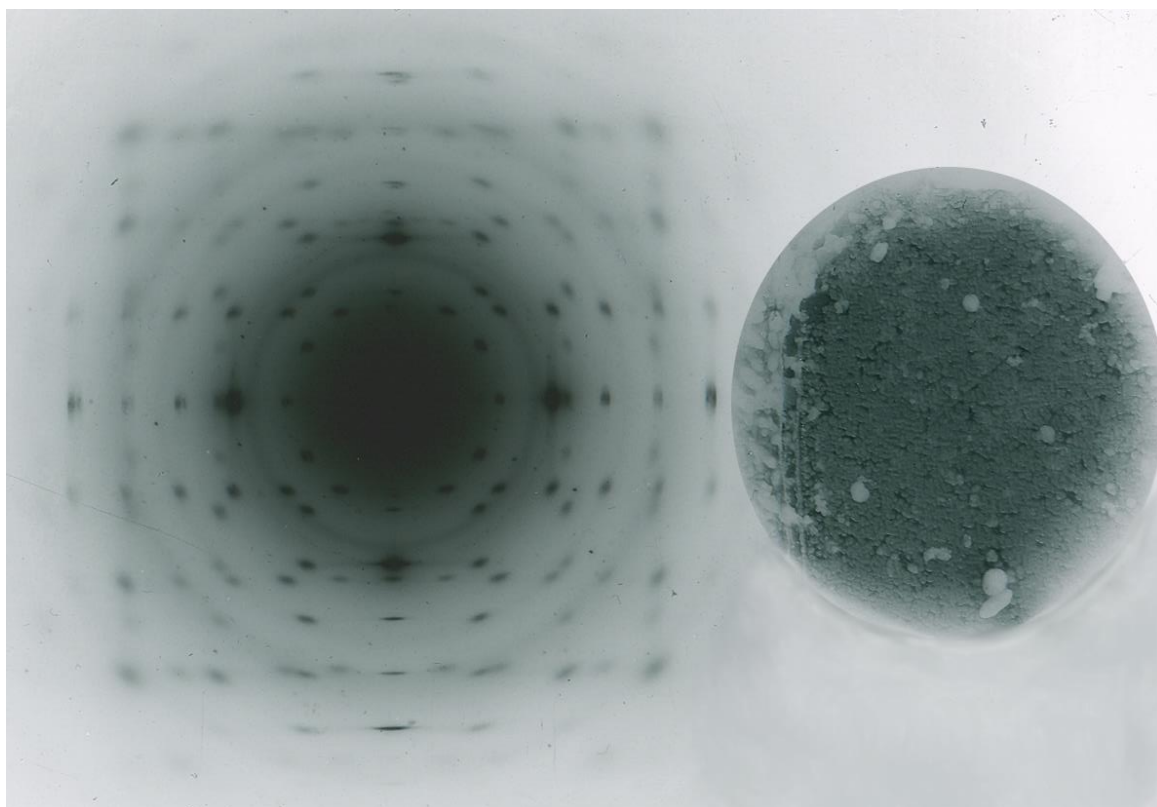
*Obr. 41 ED přechodového stavu mezi monokrystalem a polykrystalem polyoxybenzoátu.*

### 2.4.2 Polykrystaly

Polykrystaly se skládají z velkého počtu malých krystalů stejného složení, ale jsou vzájemně rozdílně orientovány. Difrakční mřížka je tvořena řadou koncentrických kruhů (obr.42). [3]

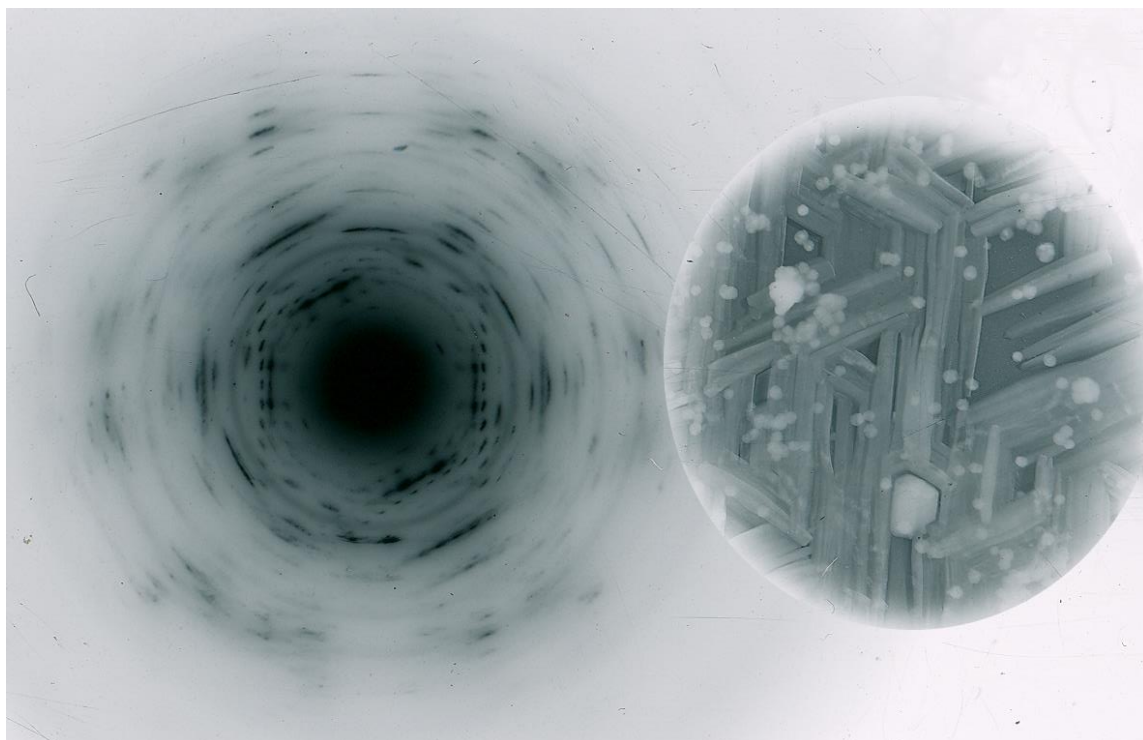


*Obr. 42 ED polykrystalického polyoxybenzoátu*



*Obr. 43 Difrakční mřížka polyoxybenzoátu epitaxiálně krystalizovaného mezi dvěma vrstvami slídy. Vložen je TEM snímek světlého pole zachycující danou oblast vzorku.*

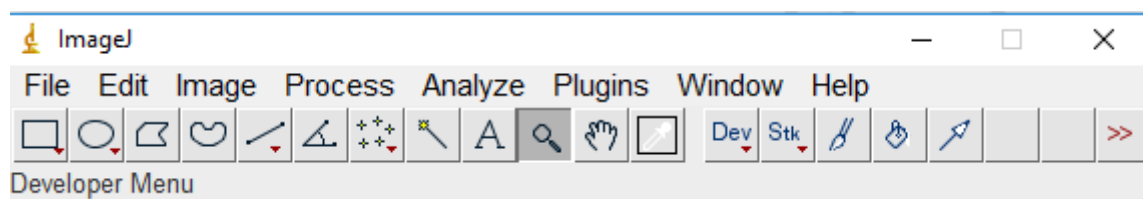




*Obr. 44 Difrakční mřížka polyoxynaftoátu epitaxiálně krystalizovaného mezi dvěma vrstvami slídy. Vložen je TEM snímek světlého pole zachycující danou oblast vzorku.*

### 3 ANALÝZA VZORKŮ POMOCÍ IMAGEJ:

ImageJ je uživatelsky jednoduchý. Jak už bylo zmíněno je freeware. Spoustu funkcí skrývají rozbalovací buňky v nástrojové liště.

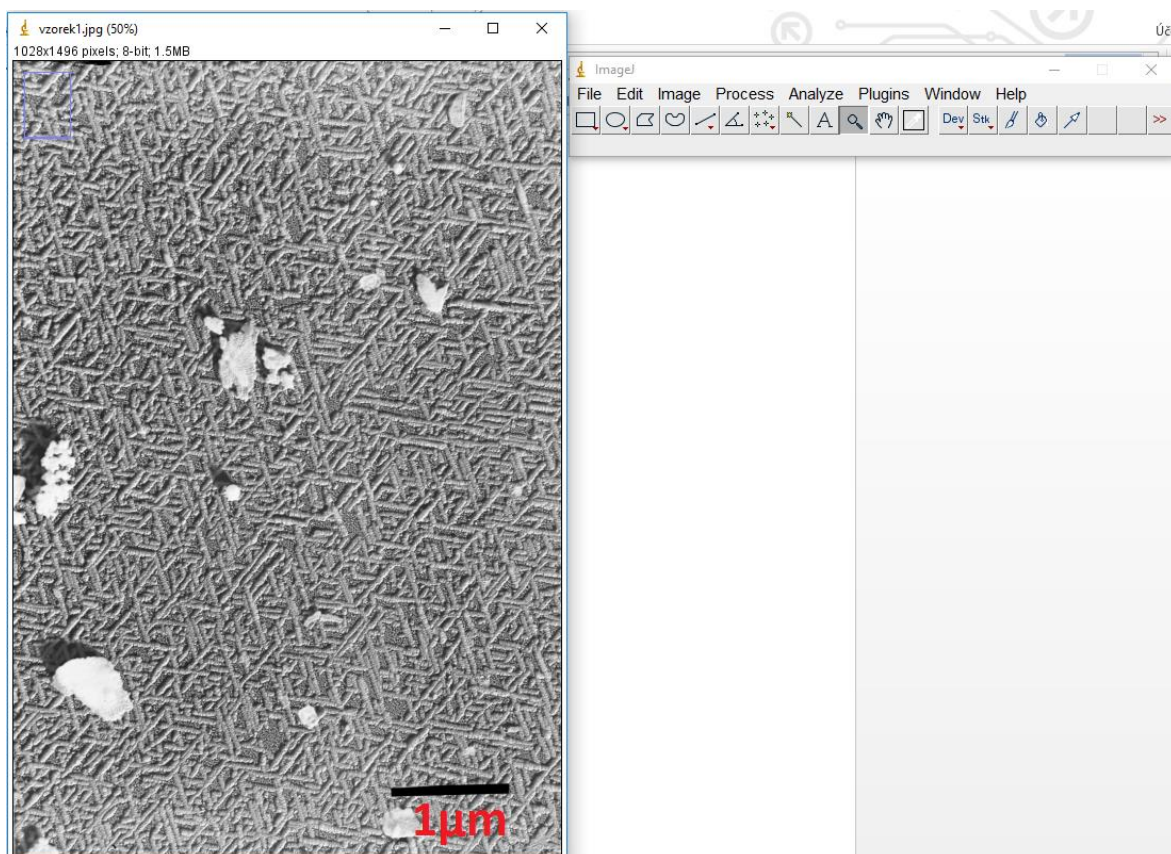


Obr. 45 Pomocí File\Open je otevřen snímek určený k analýze.

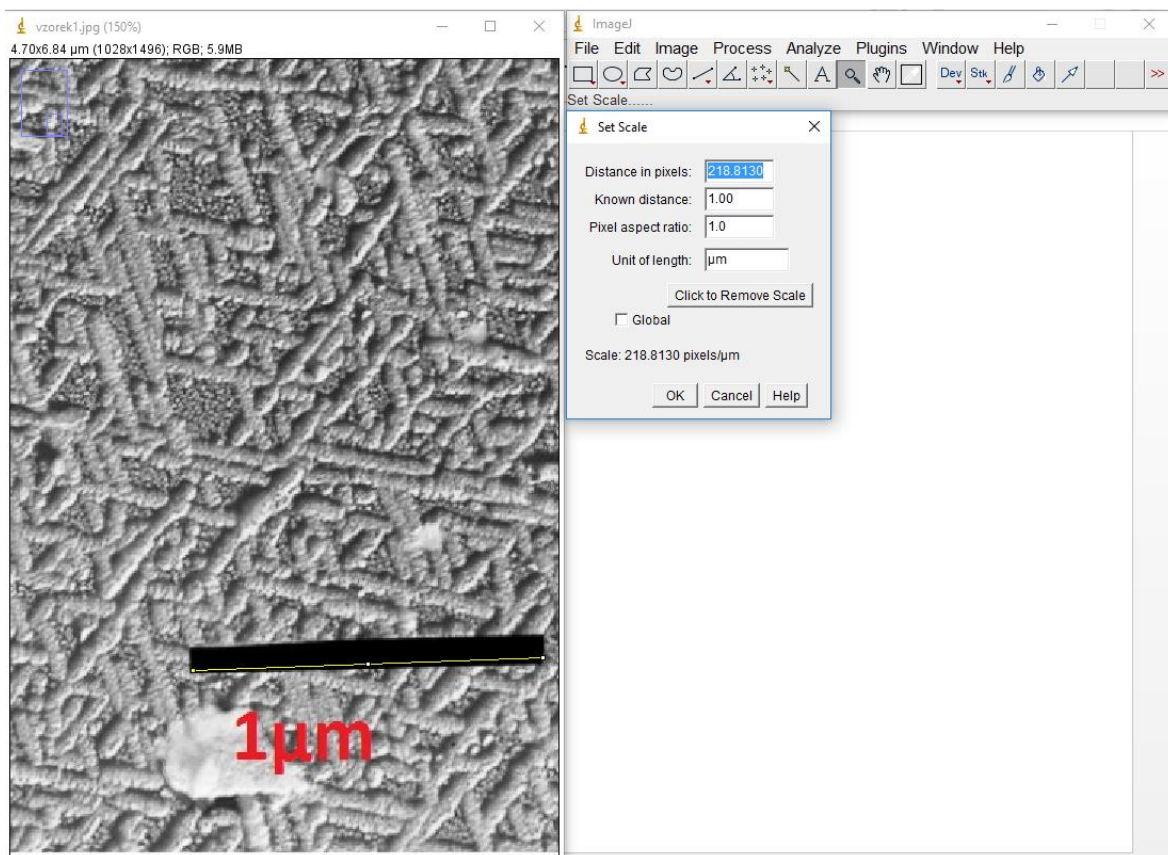
Protože je samotný obrázek vzorku tvořen pixely, je nutné u něj před samotnou analýzou určit měřítko. K tomu slouží černý proužek na snímku (určující délku  $1\mu\text{m}$ ), ten pomocí funkce čáry v nástrojích programu označíme a použitím funkce Set Scale změníme měřítko na 1 a změněny jednotky na  $\mu\text{m}$ . V našem případě je tedy  $1\mu\text{m}$  roven 222.025 pixelů.

V první analýze ImageJ sám spočítá počet artefaktů na snímku, označí je a vypočte jejich parametry. K tomu je třeba nejprve upravit snímek. Funkcí Treshold je upraveno barevné spektrum do co nejpříjemnější podoby tak, aby bylo možné se snímkem dále pracovat.

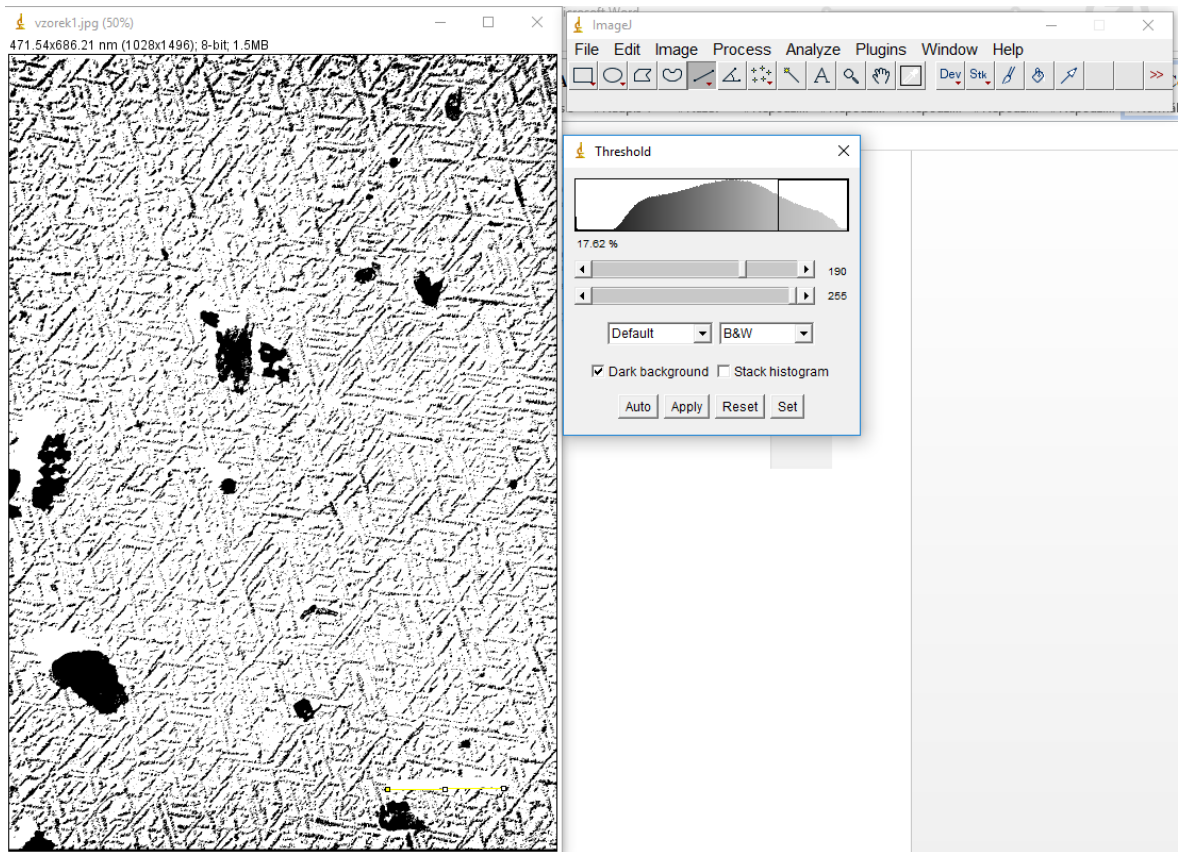
Upravený snímek je zanalyzován funkcí Analyze Particles, která sama označí prvky na snímku a vypočte jejich plochu. Jediné co potřebuje k jejich označení, je určit interval velikosti prvků, ve kterých je bude hledat. V našem případě, i přes upravený snímek, program špatně určil a označil artefakty z důvodu špatné čitelnosti. Tyto chyby jsou červeně označeny na obr.49 Proto je dodatečně použit i manuální způsob výběru artefaktů a jejich analýza.



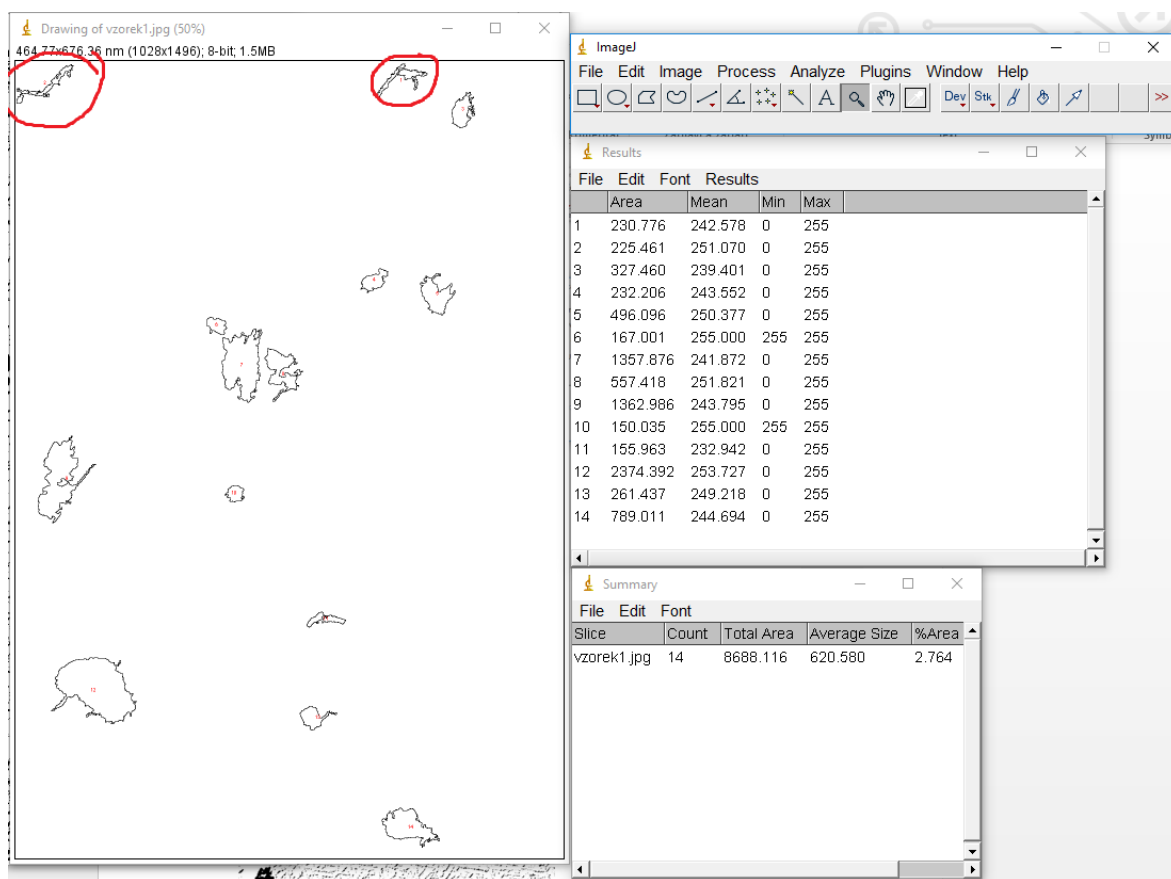
Obr. 46 Otevřený snímek v ImageJ



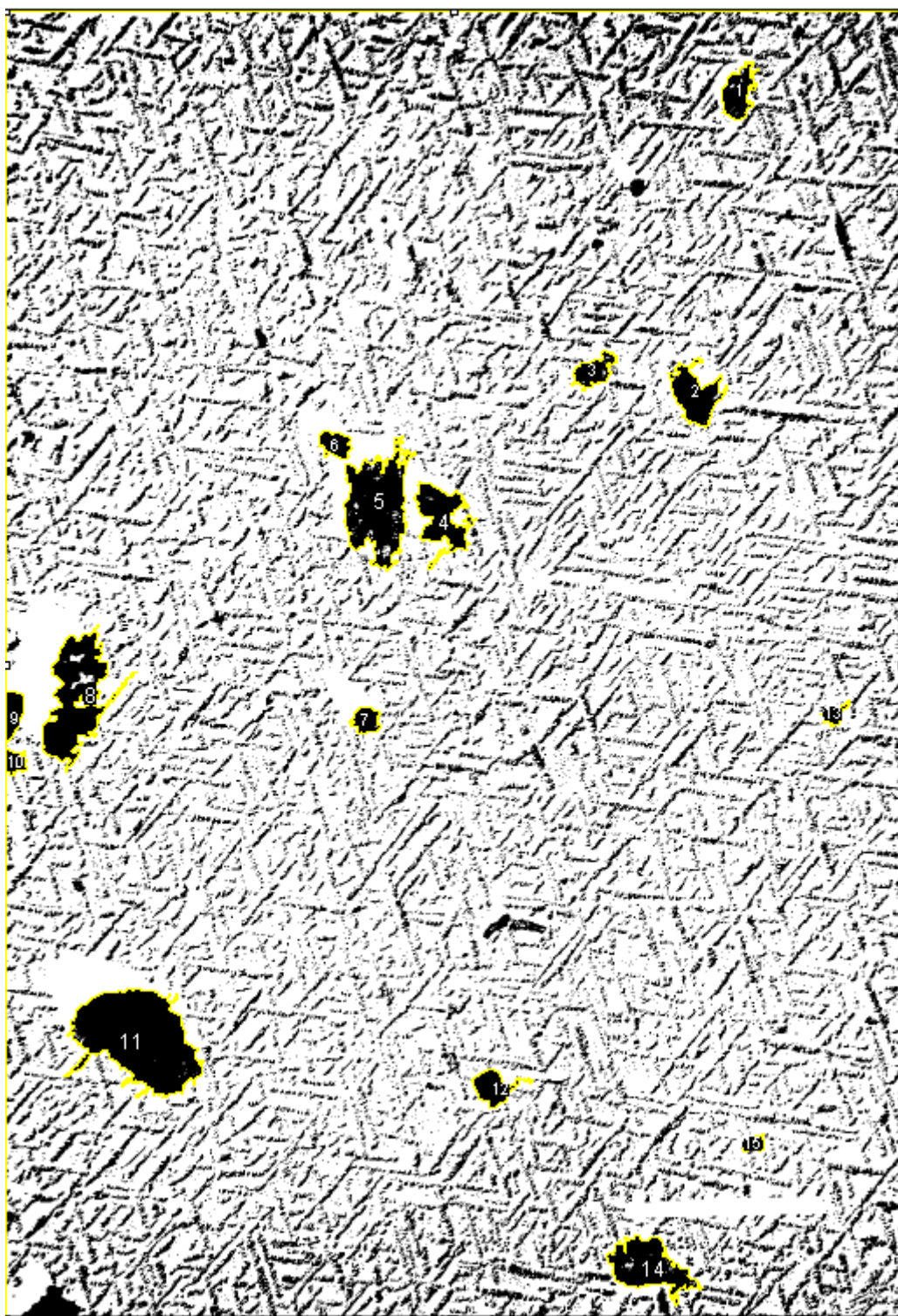
Obr. 47 Určení měřítka snímku



Obr. 48 Použití funkce Treshold



Obr. 49 Vygenerované prvky a jejich hodnoty



Obr. 50 Manuálně označené prvky

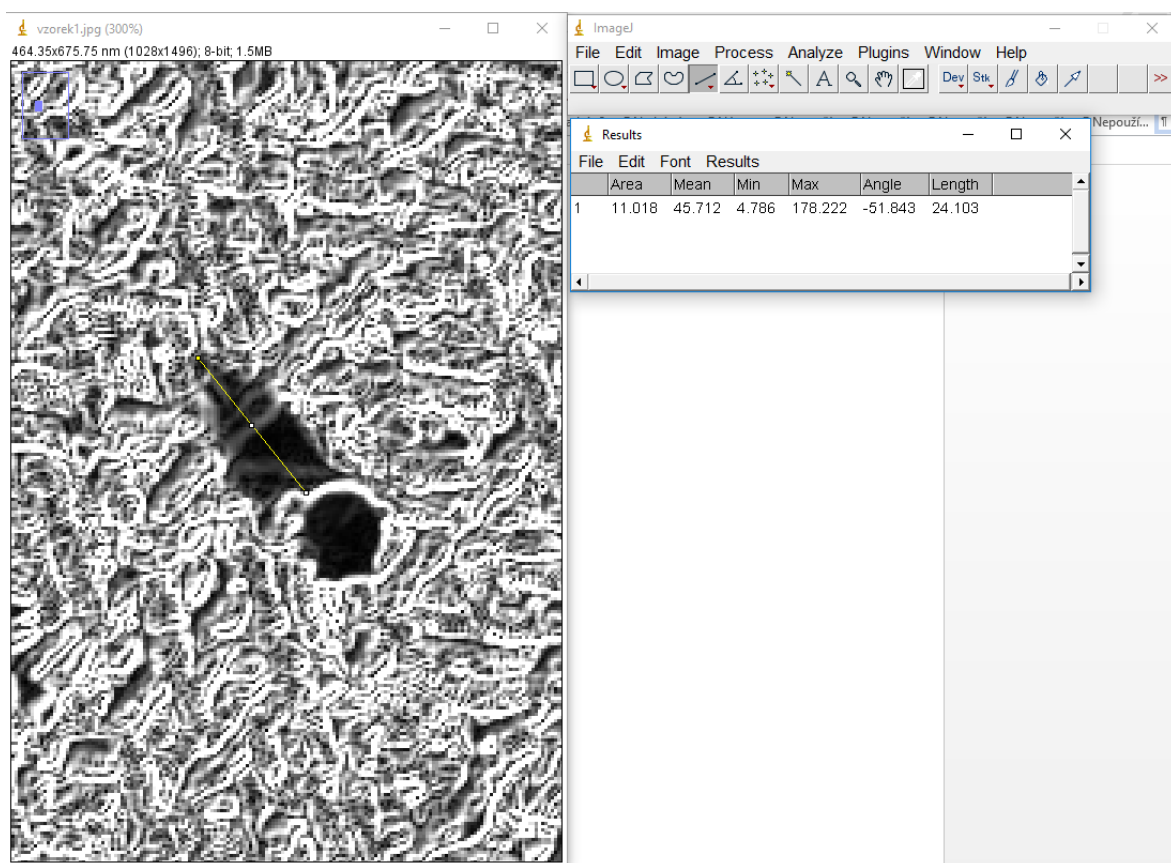
	Area	Mean	Min	Max
1	0.336	243.366	0	255
2	0.520	251.704	0	255
3	0.244	247.545	0	255
4	0.589	253.635	0	255
5	0.144	244.437	0	255
6	0.172	255.000	255	255
7	0.158	253.305	0	255
8	0.142	244.422	0	255
9	0.188	255.000	255	255
10	0.108	255.000	255	255
11	0.246	254.130	0	255
12	0.271	249.469	0	255
13	0.703	255.000	255	255
14	0.835	249.231	0	255
15	0.622	255.000	255	255

*Tabulka 1 vypočtený obsah ploch manuálně označených prvků*

V druhé analýze pomocí programu změří délka stínů vybraných prvků a dle známého úhlu spočítá jejich výška.

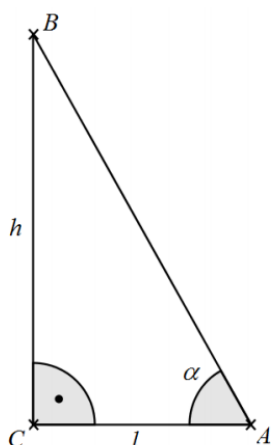
Použitím funkce Find Edges se vygenerují okraje kolem prvků na snímku a zvýrazní stíny. Příkazem čára je pak označen rozměr určený pro změření. Program pak přepočítá pomocí na začátku zvoleného měřítka délku rozměru v zadaných jednotkách.





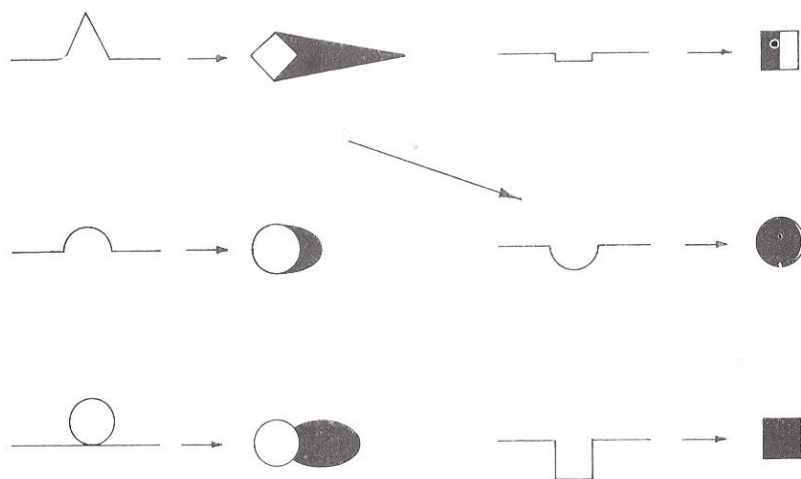
Obr. 51 přibližný stín artefaktu

Se známou délkou a úhlem stínování je pomocí základních goniometrických funkcí vypočtena výška prvku. Podle tvaru stínu je také možno odhadnout tvar artefaktu. V tomto případě je tvar stínu velmi podobný prvnímu tvaru na obr. [1], [2].



$$\operatorname{tg} \alpha = \frac{h}{l}$$

$$h = \operatorname{tg} \alpha \cdot l = \operatorname{tg} 30^\circ \cdot 0.24103 = 0.13916 \mu\text{m}$$



*Obr. 52 Repliky různých povrchových tvarů a jejich stíny [5]*

## **ZÁVĚR**

V bakalářské práci byly zahrnuty informace o využití metody elektronové mikroskopie při studiu polymerů a jejímu přínosu jakožto metodě, která může poskytnout detailní informace o lokální struktuře a morfologii. Byl vysvětlen princip elektronového mikroskopu, byly vyjmenovány a porovnány jednotlivé metody přípravy vzorků a byly uvedeny i příklady struktury a morfologie polymerů. Byl odzkoušen jeden z možných softwarů umožňujících vyhodnocení obrazu.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [2] NEBESÁŘOVÁ, Jana. *Elektronová mikroskopie pro biology*, [online]. Biologické centrum AVČR, České Budějovice, 2002, Dostupné z: <<http://www.paru.cas.cz/lem/book>>
- [2] LEDNICKÝ, František. *Mikroskopie a morfologie polymerů*. Vyd. 1. V Liberci: Technická univerzita, 2009, 97 s. ISBN 978-80-7372-487-0.
- [3] WILLIAMS, D. B, a C. B. CARTER, *Transmission electron Microscopy*, University of Alabama, 2009, ISBN 978-0-387-76500-6
- [4] GOODHEW, P., J. Goodhew, J. Humpreys, a R. Beanland *Electron microscopy and analysis third edition*, London 2001, ISBN 0-7484-0968-8
- [5] HŘIBOVÁ, Martina. *Využití transmisní elektronové mikroskopie a difrakce při studiu polymerních materiálů*, UIUP, FT UTB ve Zlíně, 2007
- [6] KUBÍNEK R., ŠAFÁŘOVÁ, K, VŮJTEK M., *Elektronová mikroskopie*, [online] Univerzita Palackého v Olomouci, 2011, ISBN 978-80-244-2739-3  
< <http://fyzika.upol.cz/cs/pro-studenty/elektronova-mikroskopie>>
- [7] HULÍNSKÝ, V., JUREK, K. *Zkoumání látek elektronovým paprskem*, Praha, SNTL, 1982
- [8] PLÁŠEK, J. *Nové metody optické mikroskopie*, [online] Skriptum Fyzikálního ústavu Univerzity Karlovy <<http://dml.cz/dmlcz/139719>>
- [9] KARLÍK, M., *Transmisní elektronová mikroskopie. Pohled do nitra materiálů*. Čs. čas. fyz, 2005.
- [10] KOUTNÝ, A., KUBÍNEK, R., *Studium kavitačního opotřebení materiálu pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu. Jemná mechanika a optika 6*, 2001.
- [11] KALINA, T., POKORNÝ, V.: *Základy elektronové mikroskopie pro biology*. Univerzita Karlova, Praha, 1981.
- [12] CHANDLER, J.A., *X- ray*, NorthHolland 1977
- [13] KUBÍNEK, R., NAUŠ, J., *Microanalysis in the Electron Microscope*, Amsterdam, Netherlands 1977 ISBN 0-7204-0607-2
- [14] KAY, Demond, *Techniques for electron microscopy*

- [15] GLAUERT, Audrey, *Practical methods in electron microscopy volume 6*, Cambridge, 1998
- [16] SCHIMMEL, G. *Elektronenmikroskopische methodik*, Berlin 1969
- [17] PHILLIP, H., GEIL, H. *Polymer single crystals*, 1973 ISBN-13: 978-0882750880
- [18] WINSLOW, F.H a BOVEY, F.A. *Macromolecules an introduction to polymer science*, London 1979
- [19] ŠAFÁŘOVÁ, K., *Transmisní elektronová mikroskopie nanopráškových materiálů*, Disertační práce. Univerzita Palackého v Olomouci, 2010.
- [20] BASSETT, D.C, *Solid state science series principles of polymer morphology*, Cambridge, 1981
- [21] HIROYUKI, Tadokoro, *Structure of crystalline polymers*, New York, 1979
- [22] DORSET, D.L., *Strustural elektron crystallography*, Premium Press, New York, London, 1995
- [23] MEISSNER, Bohumil a Václav ZILVAR. *Fyzika polymerů: struktura a vlastnosti polymerních materiálů*. 1. vyd. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury,1987.
- [23] LUDVÍK, J., *Elektronová mikroskopie*. V: PROSSER, V. a kol.: *Experimentální metody biofyziky*. Academia Praha, 1989

## SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

Å	Angstrom
$a_0$	Apertura objektivu
CCD	Charge-Coupled Device
$D_p$	Hloubka ostrosti
e	Náboj elektronu
E	Výstupní energie z kovu
ED	Elektronová difrakce
EDS	Energy Dispersive Spectrometer
LaB <sub>6</sub>	Lanthanum hexaboridový
m	hmotnost
RS	Rozlišovací schopnost
RTG	rentgen
SEM	Skenovací elektronový mikroskop
SSC	Slow scan CCD
TEM	Transmisní elektronový mikroskop
v	Rychlost
WDS	Wavelength Dispersive Spectrometer
ZnS	Síran zinečnatý

## SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1 Elektronový mikroskop postavený Ernstem Ruskou [3]</i> .....	12
<i>Obr. 2 Srovnání paprskových diagramů světelného a elektronového mikroskopu [1]</i> .....	12
<i>Obr. 3 Katoda z LaB<sub>6</sub> [3]</i> .....	14
<i>Obr. 4 Katoda z wolframového vlákna [3]</i> .....	14
<i>Obr. 5 Vliv předpětí na emisní proud [1]</i> .....	14
<i>Obr. 6 Závislost emisního proudu na žhavicím proudu katody [1]</i> .....	15
<i>Obr. 7 Autoemisní katoda [3]</i> .....	15
<i>Obr. 8 Schéma vzniku křížiče [1]</i> .....	16
<i>Obr. 9 Schéma vzniku zobrazení v temném poli [1]</i> .....	20
<i>Obr. 10 Schéma jednoduché kubické (a) nebo hexagonální (b) krystalické mřížky [5]</i> .....	21
<i>Obr. 11 schéma rotační vývěvy [1]</i> .....	24
<i>Obr. 12 schéma difúzní vývěvy [1]</i> .....	25
<i>Obr. 13 schéma iontové vývěvy [1]</i> .....	25
<i>Obr. 14 Stínování repliky [5]</i> .....	28
<i>Obr. 15 Schéma repliky a) přímá metoda, b) nepřímá (sekundární) [5]</i> .....	29
<i>Obr. 16 napařovací jednotka [1]</i> .....	29
<i>Obr. 17 různé typy podkladních sítěk [1]</i> .....	29
<i>Obr. 18 různé typy podložních sítěk [1]</i> .....	30
<i>Obr. 19 diamantový a skleněný nůž [3]</i> .....	30
<i>Obr. 20 EM selektivně leptaného povrchu: a- isotaktický polypropylen, b- syndiotaktický polystyren</i> .....	35
<i>Obr. 21 c- lineární polyetylen, d- orientovaný lineární polyetylen</i> .....	35
<i>Obr. 22 e- orientovaná směs izotaktického polypropylenu (30%) a lineárního polyetylen (70%)</i> .....	36
<i>Obr. 23 EM snímek lomové plochy lineárního polyetylen</i> .....	37
<i>Obr. 24 Polymerní filmy odpařené na různých površích: a- sklo původní, b- sklo upravené hydroxidem sodným</i> .....	38

<i>Obr. 25 c- sklo upravené kyselinou sírovou, d- roztok lineárního polyetylenu v xylenu.....</i>	<i>39</i>
<i>Obr. 26 c-polyoxybenzoát mezi slídou, d- poly-<math>\gamma</math>-benzyl-L-glutamát mezi monokrystaly chloridu sodného .....</i>	<i>40</i>
<i>Obr. 27 EM snímky monokrystalů polymerů připravených ze zředěných roztoků: a- lineární polyetylen, b- i-poly-4-methylpenten-1 .....</i>	<i>41</i>
<i>Obr. 28 c- polyetylglykol, d- poly-2,6-acetoxynaftoát .....</i>	<i>42</i>
<i>Obr. 29 e- rozvětvený polyetylen, z koncentrovanějších roztoků : f- polyamid 6.....</i>	<i>43</i>
<i>Obr. 30 g- lineární polyetylen, h- polybuten-1 .....</i>	<i>43</i>
<i>Obr. 31 i- isotaktický poly-<math>\gamma</math>-benzyl-L-glutamát. Ve výřezu replika prohlížená z rubové strany. ....</i>	<i>44</i>
<i>Obr. 32 Snímek uhlíkových nanotrubiček vytvořený pomocí TEM.....</i>	<i>45</i>
<i>Obr. 33 Kompozit uhlíkových nanotrubiček a lineárního polyethylenu vytvořený z roztoku, následně roztaven a zchlazen na pokojovou teplotu. Šipky označují uhlíkovou nanotrubičku.....</i>	<i>46</i>
<i>Obr. 34 Snímek repliky selektivně leptaného povrchu směsi lineárního polyethylenu (20%) a isotaktického polypropylenu (80%) zachycuje homoepitaxii (Ho) i heteroepitaxii (He). Dlouhé lamely lineárního polyethylenu se nezdají být připojeny k „shish“ formě (F).....</i>	<i>47</i>
<i>Obr. 35 Snímek repliky selektivně leptaného povrchu vzorku ukazuje samotný isotaktický polypropylen. Několikanásobná střední linie orientovaná ve směru vytlačování je pokryta krátkými kolmými lamelami (sb), které se následně mohou rozrůst do lehce zahnutých delších větví (lb). Delší větve se dále mohou rozvést kratšími kolmými větvemi, jak může být vidět u zkřížených sférolitů. Na snímku je tato tendence označena písmenem S. Šipka označuje směr vytlačování. ....</i>	<i>48</i>
<i>Obr. 36 Snímky selektivně leptaných povrchů izotaktického polybutenu-1 (homopolymer PB 0110M), které byly ozářeny beta zářením o dávkách: a) ....</i>	<i>49</i>
<i>Obr. 37 Snímky selektivně leptaných povrchů vybraných kopolymerů izotaktického polybutenu -1 a ethylenem (9217 and 8340), které byly podrobeny beta záření o dávkách: .....</i>	<i>50</i>
<i>Obr. 38 Uhlíkové nanotrubičky ve světlém poli.....</i>	<i>51</i>



<i>Obr. 39 Uhlíkové nanotrubičky v temném poli .....</i>	<i>51</i>
<i>Obr. 40 ED monokrystalického a zároveň polykrystalického polyoxybenzoátu.....</i>	<i>52</i>
<i>Obr. 41 ED přechodového stavu mezi monokrystalem a polykrystalem polyoxybenzoátu. ....</i>	<i>53</i>
<i>Obr. 42 ED polykrystalického polyoxybenzoátu.....</i>	<i>54</i>
<i>Obr. 43 Difrakční mřížka polyoxybenzoátu epitaxiální krystalizovaného mezi dvěma vrstvami slídy. Vložen je TEM snímek světlého pole zachycující danou oblast vzorku. ....</i>	<i>55</i>
<i>Obr. 44 Difrakční mřížka polyoxynaftoátu epitaxiální krystalizovaného mezi dvěma vrstvami slídy. Vložen je TEM snímek světlého pole zachycující danou oblast vzorku. ....</i>	<i>56</i>
<i>Obr. 45 Pomocí File\Open je otevřen snímek určený k analýze.....</i>	<i>57</i>
<i>Obr. 46 Otevřený snímek v ImageJ.....</i>	<i>58</i>
<i>Obr. 47 Určení měřítka snímku .....</i>	<i>59</i>
<i>Obr. 48 Použití funkce Treshold .....</i>	<i>60</i>
<i>Obr. 49 Vygenerované prvky a jejich hodnoty .....</i>	<i>61</i>
<i>Obr. 50 Manuálně označené prvky .....</i>	<i>62</i>
<i>Obr. 51 přiblížený stín artefaktu.....</i>	<i>64</i>
<i>Obr. 52 Repliky různých povrchových tvarů a jejich stíny [5] .....</i>	<i>65</i>

## **SEZNAM TABULEK**

*Tabulka 2 vypočtený obsah ploch manuálně označených prvků.....63*