

Prof. dr. sc. Mirela Leskovic

MIKROSKOPIJA

mikroskopija

Karakterizacija materijala

Vidjeti okom nevidljivo



Carl Zeiss (1816-1888)



Ernst Abbe (1840-1905)

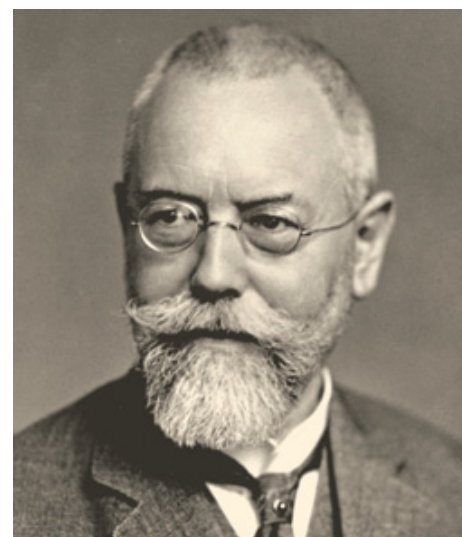
Novo razdoblje u razvoju mikroskopije

- razradio teoriju stvaranja slike mikroskopom
- proračunao optički sustav i definirao moć razlučivanja mikroskopa kao funkciju valne duljine svjetlosti i numeričke aperture



Otto Schott (1851-1935)

$$d = \frac{\lambda}{2n \sin \alpha}$$



August Köhler (1866-1948)

Mikroskopi XVI st. i XVII st.

Janssenov mikroskop

~ 1595 g.



Leeuwenhoek

~ 1600 g.



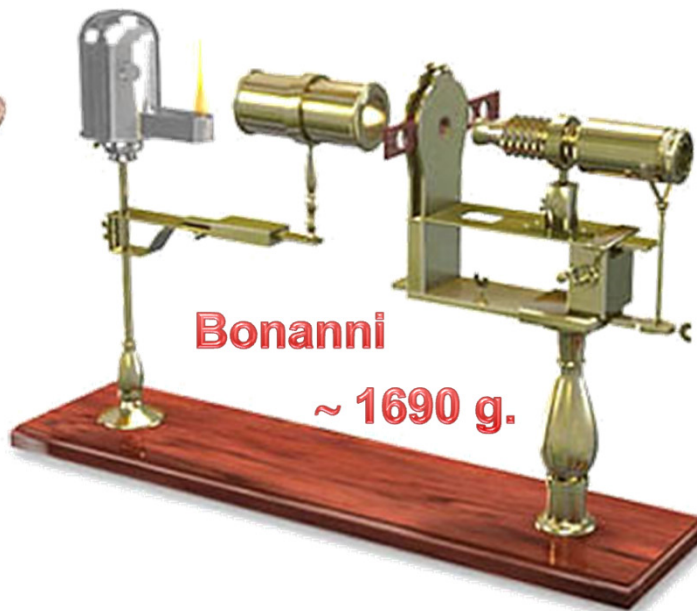
Galileo

~ 1600 g.



Bonanni

~ 1690 g.



Depovilly

~ 1686 g.



Hook

~ 1670 g.

Mikroskopi XVIIIst. i XIX st.



Cuff
~1700 g.



"Monkey"
~1850 g.



Henry Crouch
kasno 19. st.

Mikroskopi XXst.



**Nikonov prvi
mikroskop**
~1900 g.

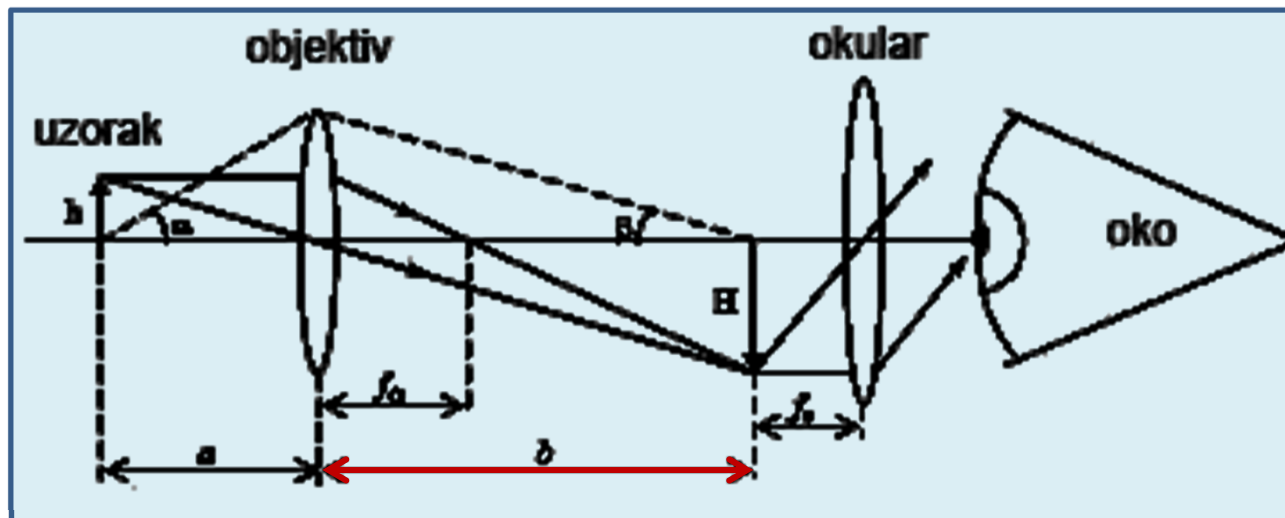
**Olympus
Provis AX-70**
~1998 g.



OPTIČKI MIKROSKOP

Mikroskop je optički instrument kojim se postiže veliko povećanje slike bliskih predmeta i tako omogućuje promatranje vrlo sitnih objekata i detalja.

Stvaranje slike pomoću mikroskopa



- mikroskop se sastoji od dviju leća od kojih svaka povećava sliku predmeta
- leća bliža oku naziva se okularom a ona bliža predmetu objektivom
- objektiv stvara realnu povećanu sliku predmeta u žarišnoj ravnini okulara
- okular djeluje kao povećalo i ono od realne slike stvara virtualnu povećanu sliku u beskonačnosti
- udaljenost d između stražnjeg žarišta objektiva i prednjeg žarišta okulara zove se *optička duljina mikroskopske cijevi*

TERMINI U MIKROSKOPIJI

● moć razlučivanja (rezolucija) mikroskopa

- razmak između detalja koji se još mogu razlikovati
- ograničena je valnom prirodom svjetlosti

$$d_{min} = \frac{0,61 \lambda}{n \sin \alpha}$$

d - razlučivost

0,612 – empirijski utvrđen faktor

λ - valna duljina

n – indeks loma medija

α - aperturni kut

● valna duljina zračenja

- što je valna duljina kraća, razlučivanje je veće
- razmak dvaju točkastih izvora koji se još mogu razlučiti približno je jednak polovini valne duljine, λ upotrijebljene svjetlosti

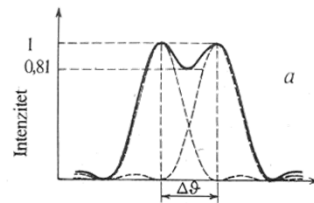
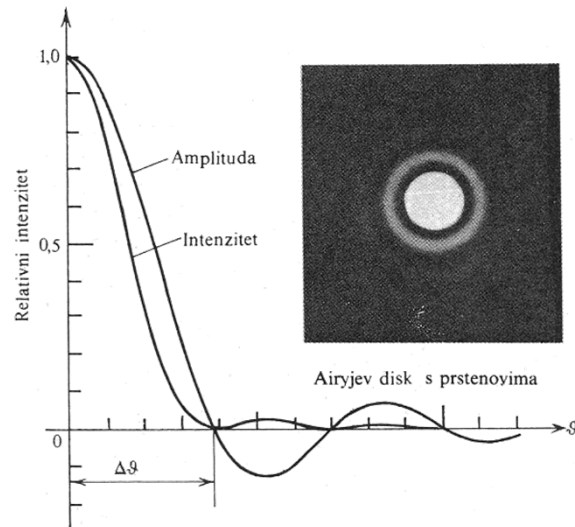
● numerička apertura (zaslon – otvor)

- mjera je moći razlučivanja objektiva i općenito je najvažniji podatak pri izboru mikroskopskih objektiva
- oznaka na objektivu N.A.
- što je broj veći, to je objektiv bolji
- veće povećanje ne garantira bolju sliku ako numerička apertura nije veća

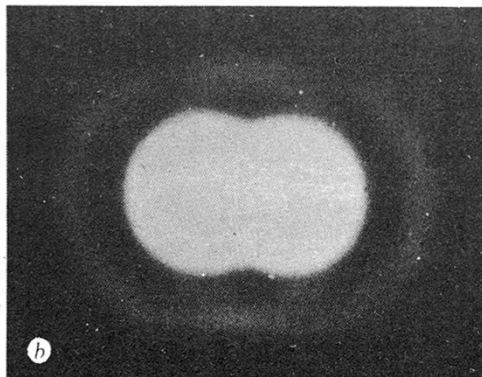
$$A_N = n \sin \alpha_m$$

$$d_{min} = \frac{0,61 \lambda}{A_N}$$

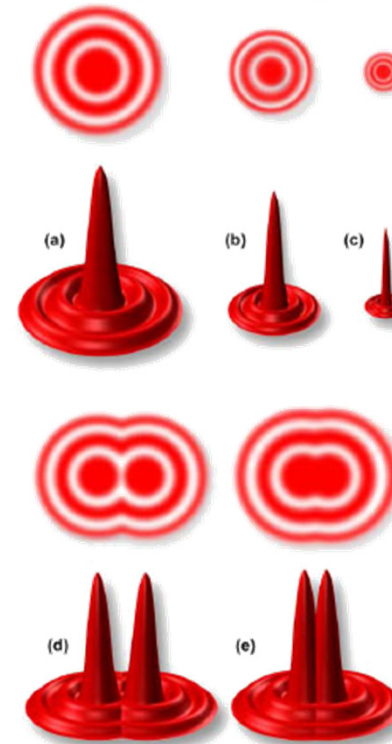
MOĆ RAZLUČIVANJA (REZOLUCIJA)



$$d_{min} = \frac{0,61 \lambda}{n \sin \alpha}$$



Airy diskovi i rezolucija



Slika **točkastog izvora** nije točka nego **svijetli disk** (tzv. Airyjev disk) konačnih dimenzija, **okružen prstenima sve manje intenzivnosti**

Prema difrakcijskoj teoriji, dva točkasta izvora koja se **prema Reyleighovu kriteriju** još mogu razlučiti nalaze se na udaljenosti **d minimalno = 0,61 x valna duljina svjetlosti kroz indeks loma svjetlosti i sinus kuta svjetlosnog konusa**

a – c

veličina i intenzitet u ovisnosti o numeričkoj aperturi objektiva
- smanjenje s porastom numeričke aperture

d

udaljenost Airy diskova na granici razlučivanja

e

Airy diskovi su tako blizu da se centralne točke preklapaju

MOĆ RAZLUČIVANJA RAZLIČITIH TIPOVA MIKROSKOPA

Mikroskopija

- proučava finu strukturu i morfologiju objekta primjenom mikroskopa

	Područje veličina
Transmisijski (propusni) elektronski mikroskop (TEM)	0,2 nm – 0,2 mm
Scanning (pretražni) mikroskopi sa sondom (probe) (STM, AFM, ...)	0,2 nm – 0,2 mm
Scanning (pretražni) elektronski mikroskop (SEM)	4 nm – 4 mm
Optički mikroskop (OM)	200 nm – 200 μm

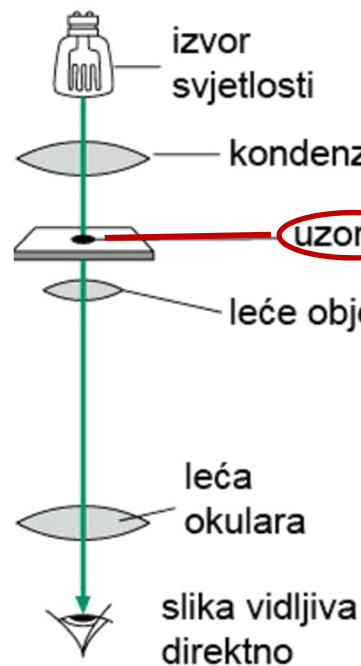
SVOJSTVA RAZLIČITIH TIPOVA MIKROSKOPA

INSTRUMENT	OPTIČKI MIKROSKOP OM	PROPUSNI (TRANSMISSION) ELEKTRONSKI MIKROSKOP TEM	PRETRAŽNI (SCANNING) ELEKTRONSKI MIKROSKOP SEM	MIKROSKOP ATOMSKIH SILA AFM
REZOLUCIJA	300 nm	0,5 (0,2*) nm	4 (1) nm	4 (0,3) nm
POVEĆANJE	2 - 2000	200 – 2x10 ⁶	20 – 1x10 ⁵	1000 – 2x10 ⁶
MOŽE SE UOČITI	površina ili unutrašnjost <i>proziran uzorak</i>	unutrašnjost (bulk) <i>tanak film , < 0,2 μm</i>	površina	površina
OKOLINA UZORKA	zrak ili kapljevina	visoki vakuum	visoki vakuum	zrak, visoki vakuum ili kapljevina
OŠTEĆENJA ZRAČENJEM	NE	JAKA	OZBILJNA	NE
PRIPRAVA UZORKA	JEDNOSTAVNA	KOMPLEKSNA	JEDNOSTAVNA	JEDNOSTAVNA
KEMIJSKA ANALIZA	NE, ako nema μ RAMAN	DA, x-zrake i gubitak energije elektrona	DA, x-zrake	NE
MOLEKULNA ORIJENTACIJA	DA	DA	NE	NE

OPTIČKI I ELEKTRONSKI MIKROSKOPI

nastajanje slike

OM



elektronski top

TEM

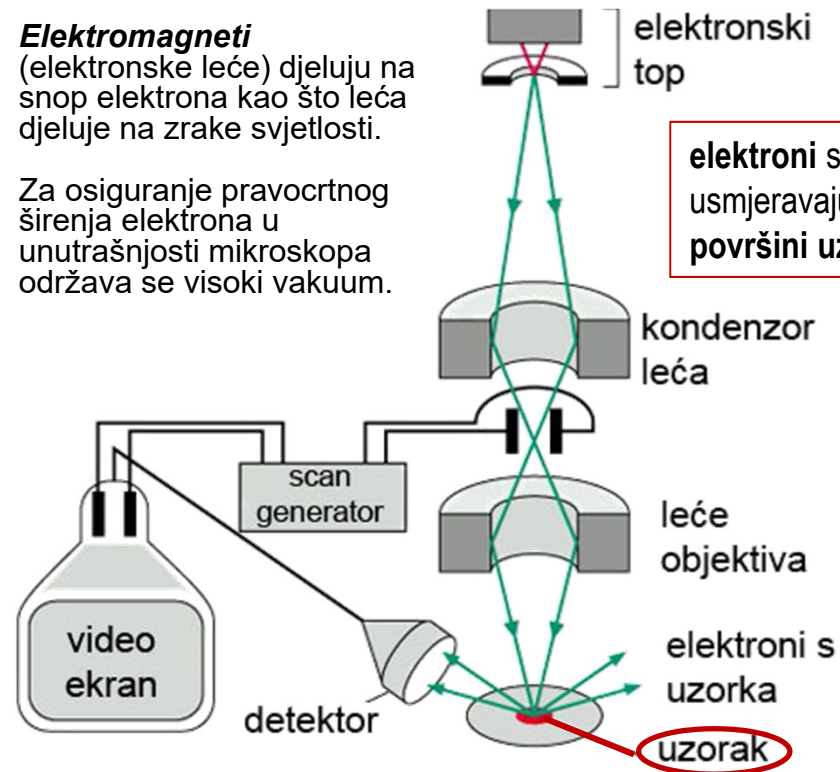


izvor elektrona je užarena volframova nit – katoda

Elektromagneti (elektronske leće) djeluju na snop elektrona kao što leća djeluje na zrake svjetlosti.

Za osiguranje pravocrtnog širenja elektrona u unutrašnjosti mikroskopa održava se visoki vakuum.

SEM



elektroni se usmjeravaju prema površini uzorka

Elektronske leće usmjeravaju elektrone na preparat, nakon prolaska kroz preparat **elektroni ulaze u elektromagnetsko polje objektivna**, koji daje uvećanu sliku predmeta, a nju **elektromagneti projektorske leće još jače povećavaju**.

Slika se projicira na fluorescentnom zaslonu ili snima na fotografsku ploču

Uzorak:

OM – tanki preparat, bojenje bioloških preparata

TEM – ultratanki preparat

SEM – suh, prekriven metalom

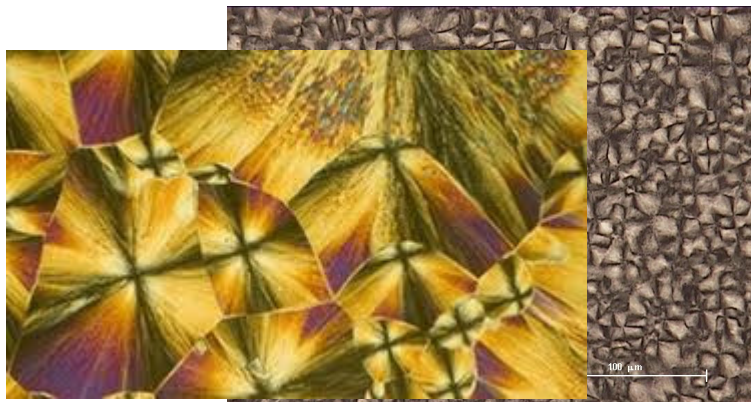


Primjeri

Polimerni kompoziti

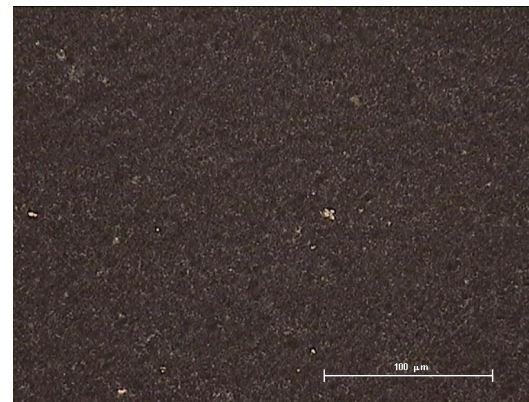
OM

MORFOLOGIJA

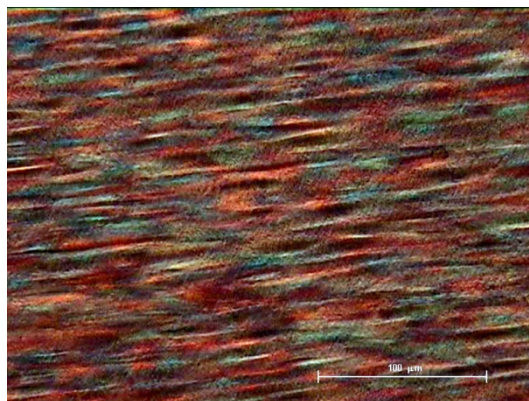


sferulitna struktura –
povezani radijalni
sferuliti

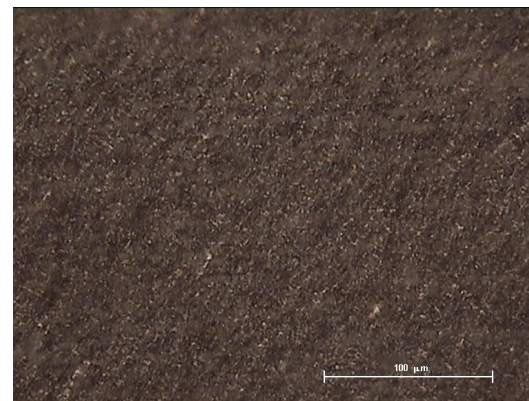
PU matrica



PU + nano CaCO_3



PU matrica
područje suženja (vrat)



PU + nano CaCO_3
područje suženja (vrat)

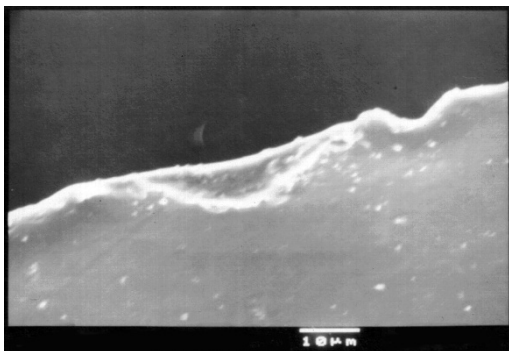
obojenje – posljedica **različitih refrakcijskih indeksa različito orijentiranih fibrilnih kristala**

Polimerni kompoziti

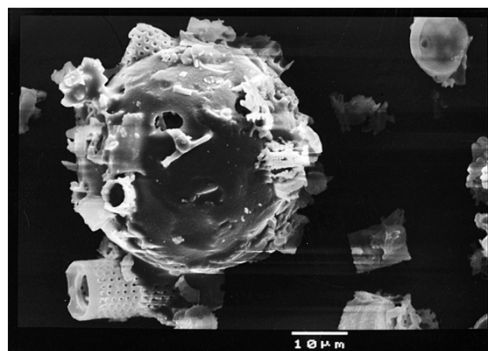
SEM

MORFOLOGIJA

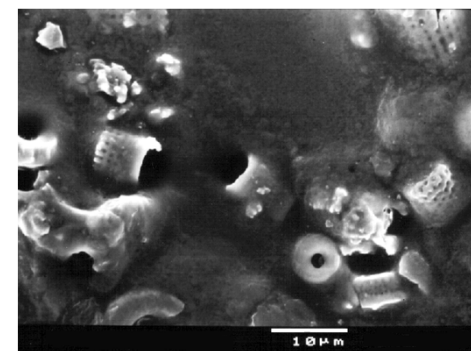
PRIJE
KIDANJA



PA matrica

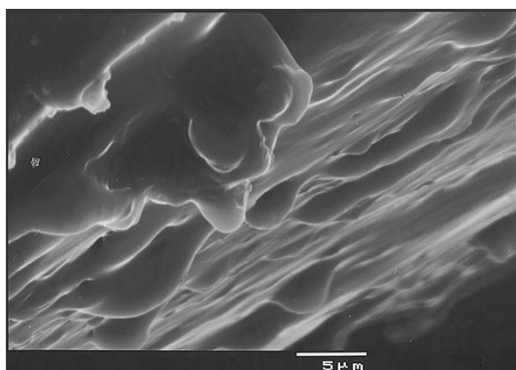


DIJATOM

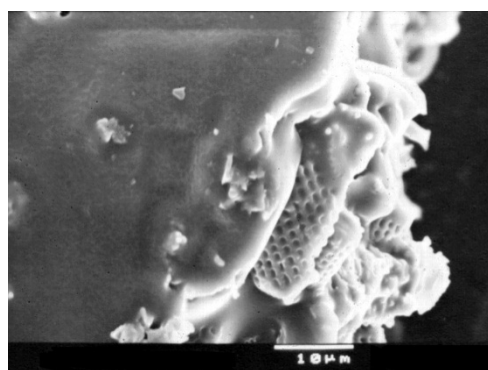


PA + DIJATOM

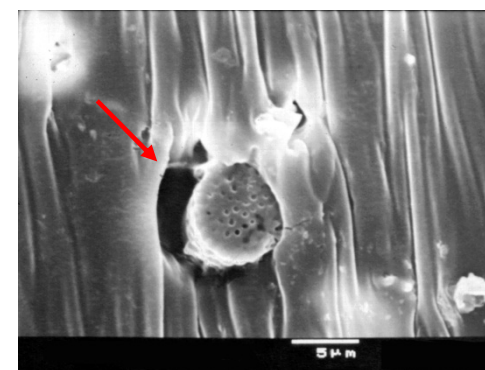
MECHANIZAM
POPUŠTANJA



PA matrica
rub kidanja



PA + DIJATOM
rub kidanja



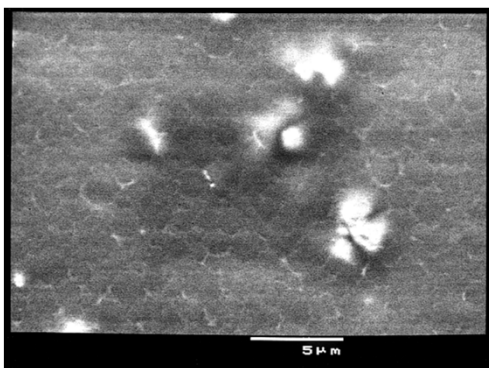
PA + DIJATOM
područje suženja (vrat)

Polimerni kompoziti

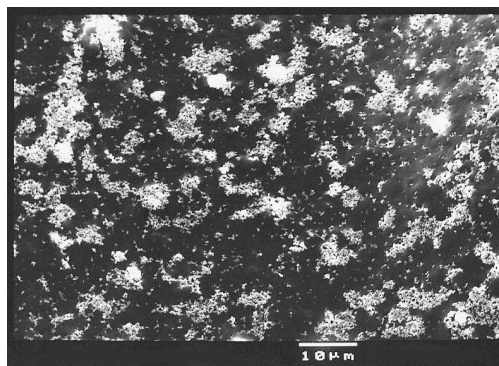
SEM

MORFOLOGIJA

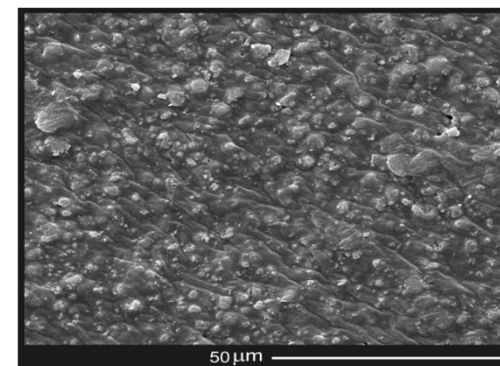
PRIJE
KIDANJA



PVAc + CaCO₃
mikro (520 nm)

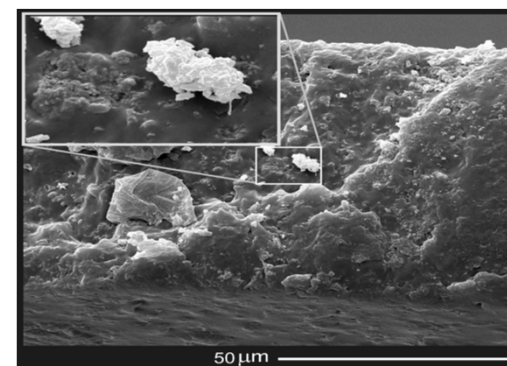
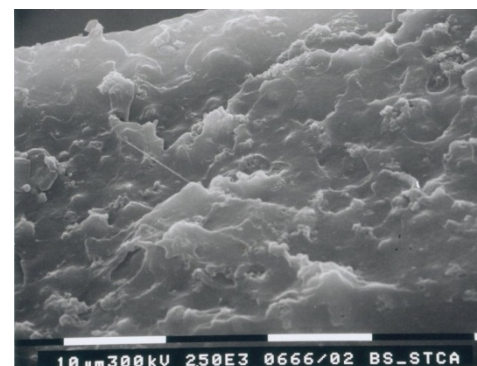
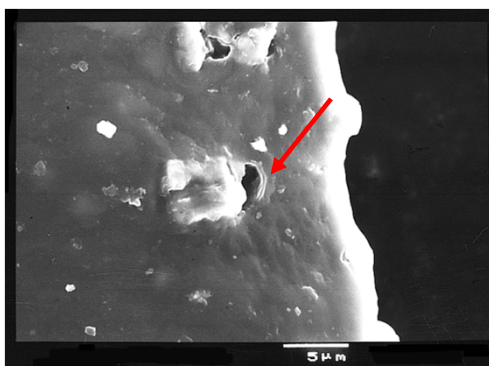


PVAc + CaCO₃
nano (80 nm)



PVAc + CaCO₃
nano (20 nm)

MECHANIZAM
POPUŠTANJA



1 mm = 1000 μm

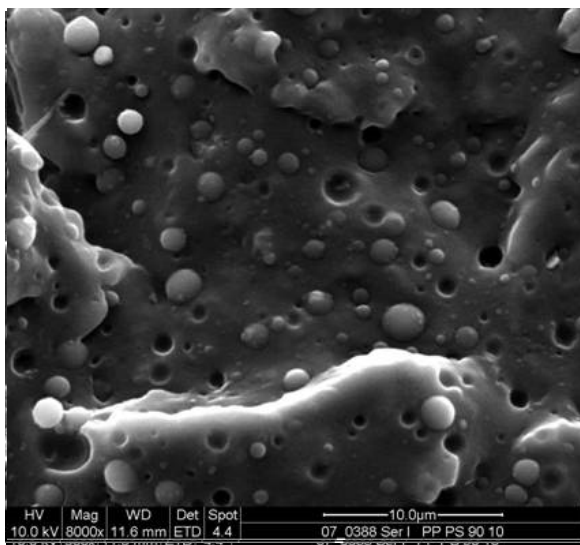
1 μm = 1000 nm

Polimerne mješavine

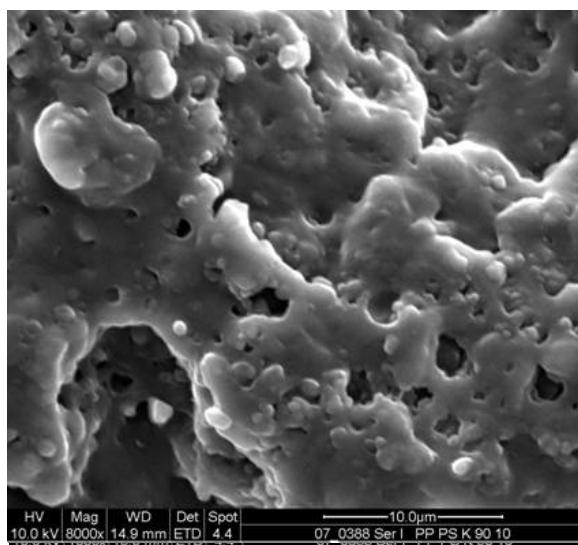
SEM

MORFOLOGIJA

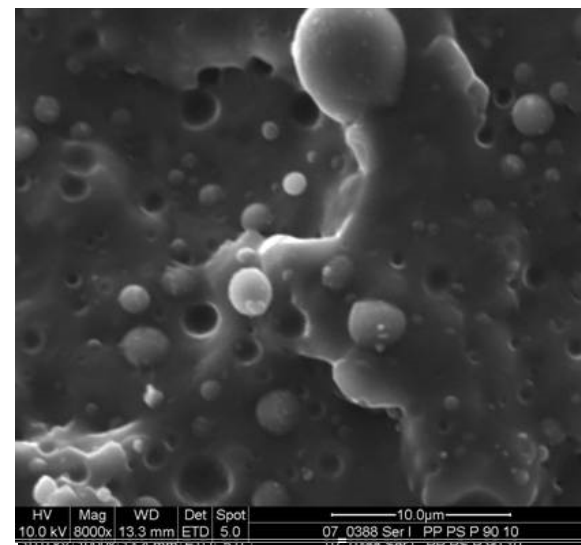
x 8000



PP/PS 90/10



PP/PS/K 90/10/5



PP/PS/P 90/10/5

PP – matrica

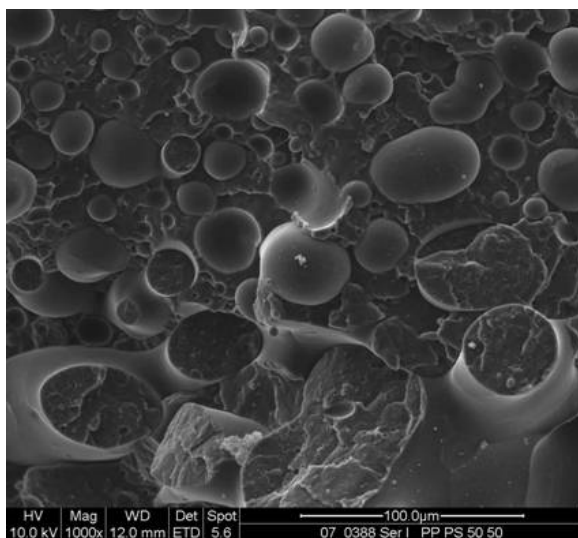
PS – dispergirana faza

Polimerne mješavine

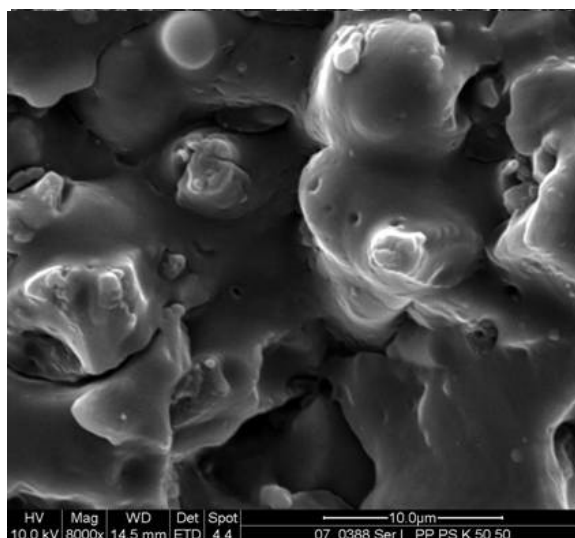
SEM

MORFOLOGIJA

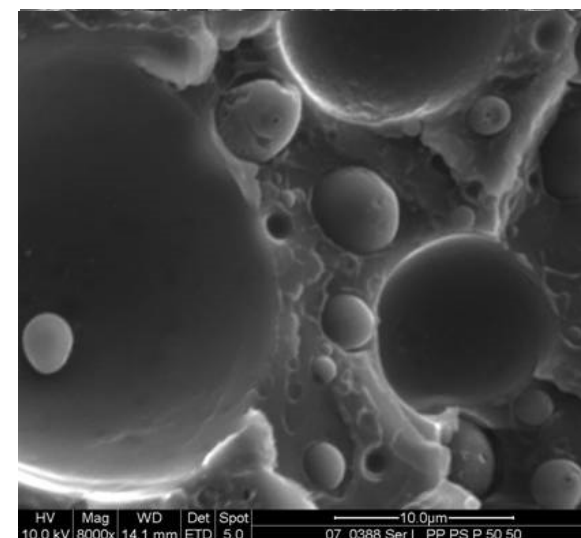
x 8000



PP/PS 50/50



PP/PS/K 50/50/5



PP/PS/P 50/50/5

PP – matrica 1

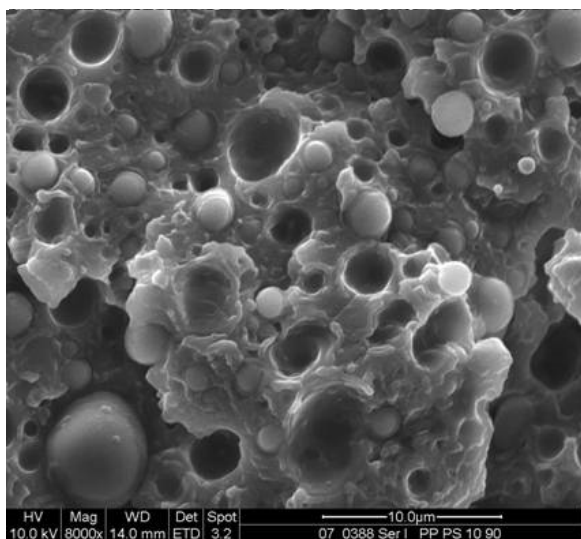
PS – matrica 2

Polimerne mješavine

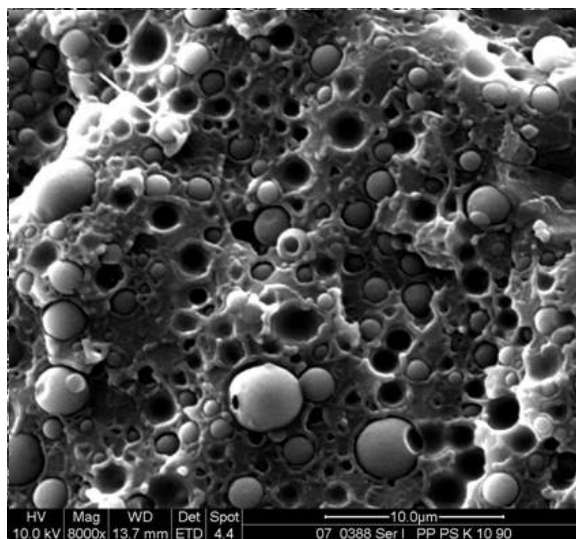
SEM

MORFOLOGIJA

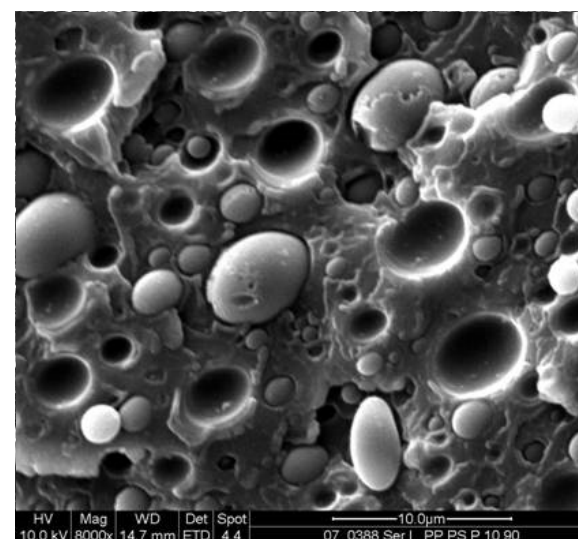
x 8000



PP/PS 10/90



PP/PS/K 10/90/5



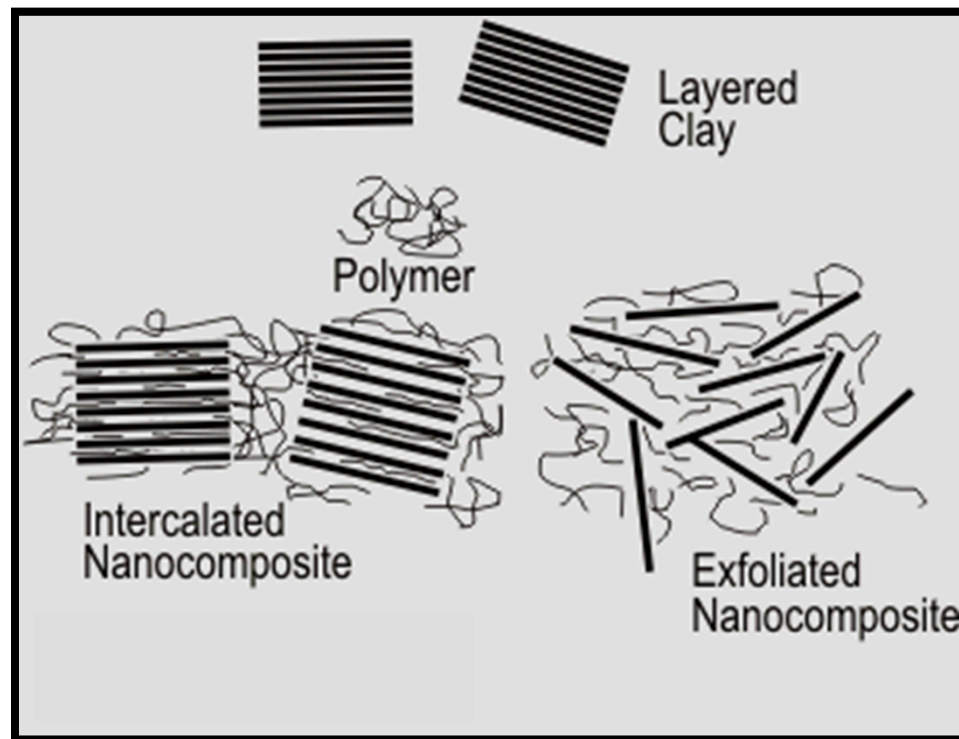
PP/PS/P 10/90/5

PP – dispergirana faza

PS – matrica

Polimerni nanokompoziti - slojeviti silikati

- bolja svojstva su povezana s raspodjelom čestica i nanostrukturom slojevitih silikata

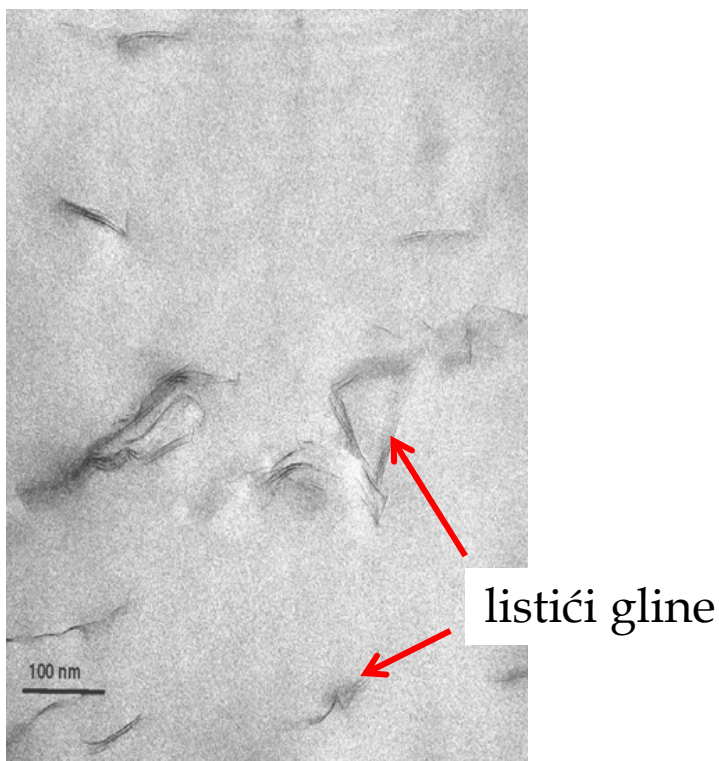


- interkalacija - organska komponenta ulazi između slojeva kaolina- povećava se razmak između slojeva ali slojevi su još uvijek u sređenom odnosu
- najbolje poboljšanje svojstava - kada se slojevi potpuno razdvoje i raspodjeljuju unutar organske matrice - exfoliated

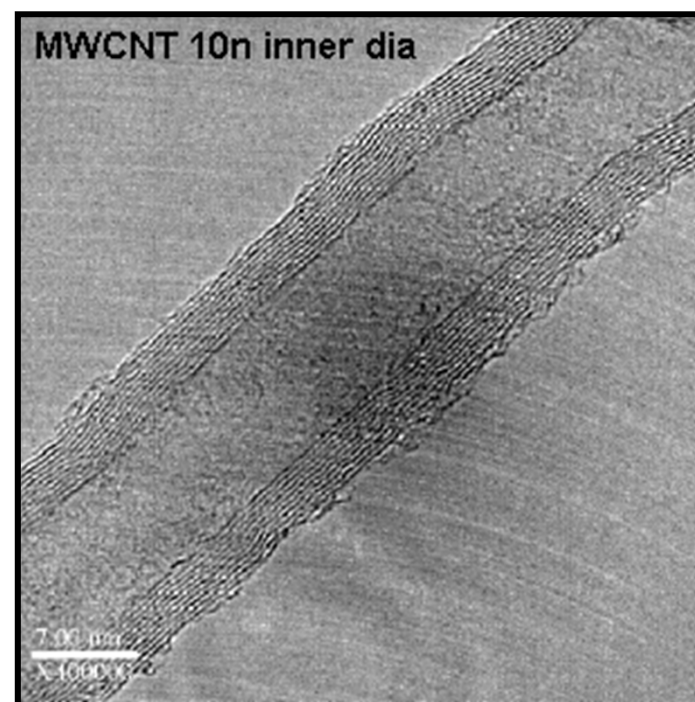
Polimerni nanokompoziti

TEM

- proučavanje unutarnje građe tvari, struktura međupovršine, raspodjela čestica, defekti u strukturi



nanokompozit polimer/slojeviti silikat
pripravljen ekstruzijom

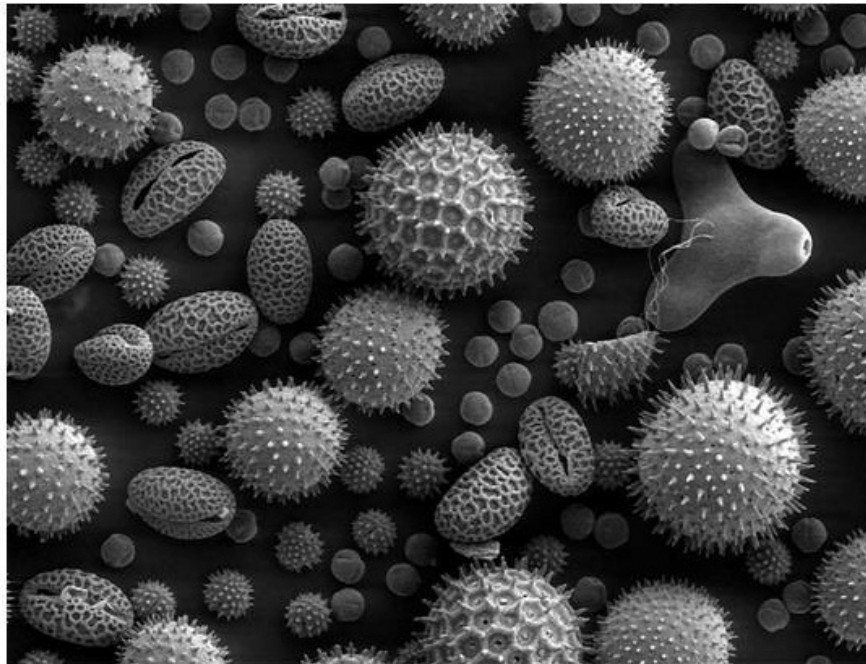


MWCNT
(multi walled carbon nanotube)
više-zidne ugljikove nanocijevi

SEM i TEM

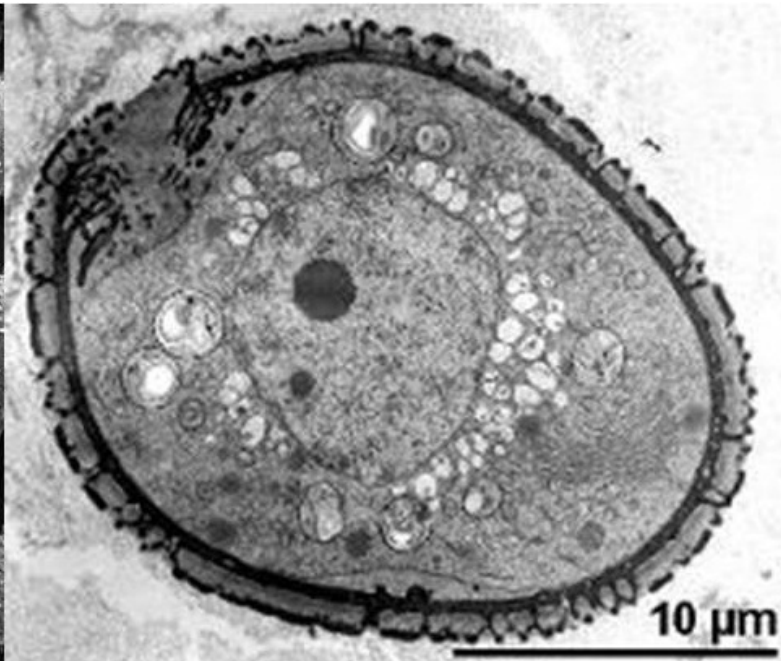
Cvjetni prah (pelud)

SEM



površina

TEM

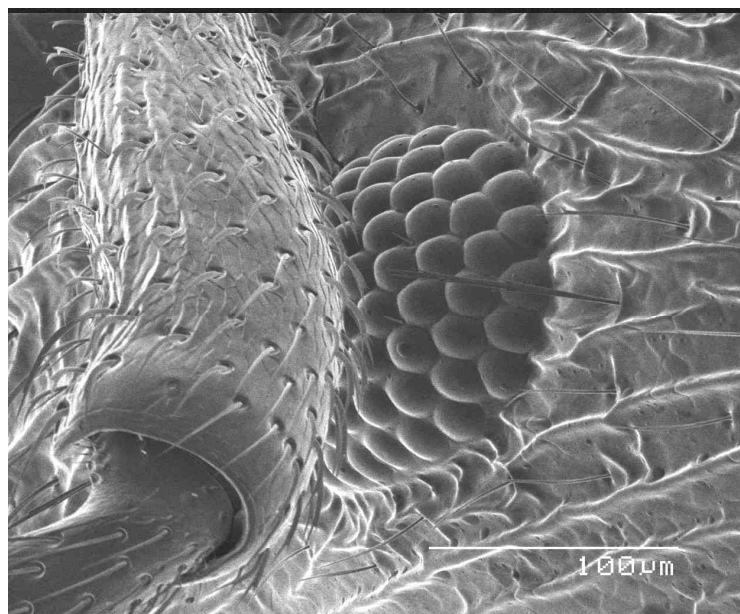


unutrašnjost

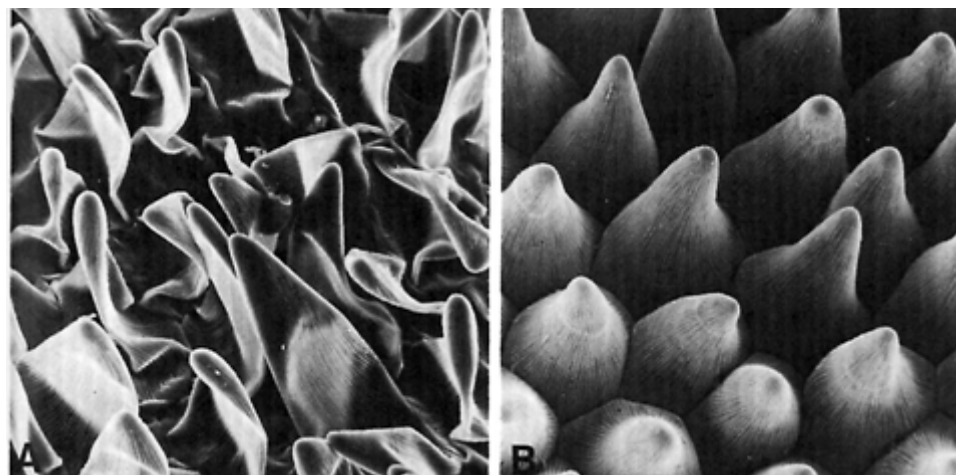
- www.majordifferences.com

Biopreparati

SEM



OKO MRAVA



usporedba latice maćuhice
pripravljene

A) sušenjem na zraku B) smrzavanjem