

Prof. dr. sc. Mirela Leskovic

MIKROSKOPIJA

mikroskopija

**Karakterizacija materijala**

# Vidjeti okom nevidljivo



**Carl Zeiss (1816-1888)**



**Ernst Abbe (1840-1905)**

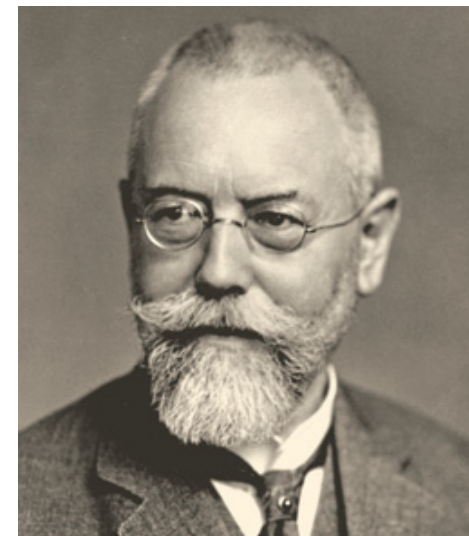
## Novo razdoblje u razvoju mikroskopije

- 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.

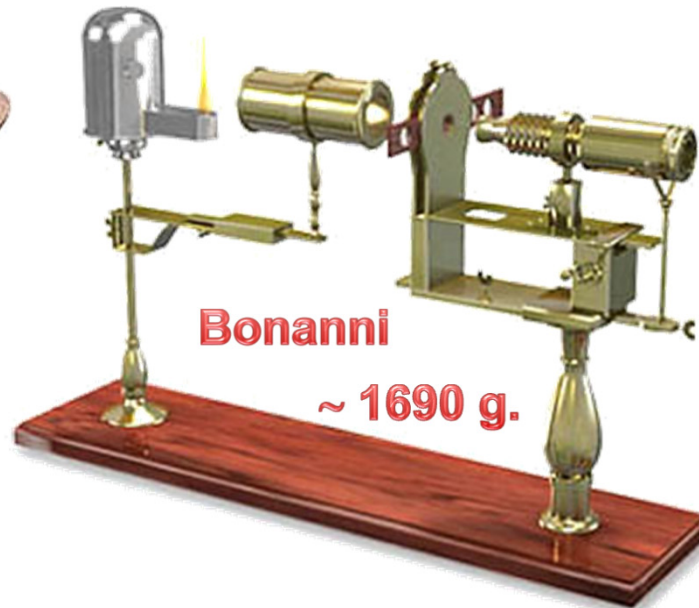
**Janssenov mikroskop**  
~ 1595 g.



**Leeuwenhoek**  
~ 1600 g.



**Galileo**  
~ 1600 g.



**Bonanni**  
~ 1690 g.



**Depovilly**  
~ 1686 g.



**Hook**  
~ 1670 g.

## Mikroskopi XVIIIst. i XIX st.



**Cuff**  
~1700 g.

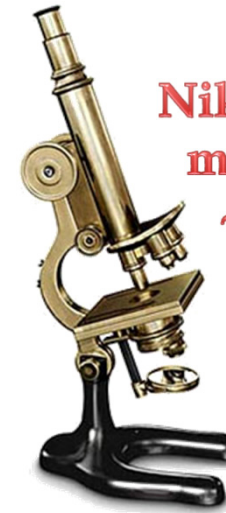


**"Monkey"**  
~1850 g.



**Henry Crouch**  
kasno 19. st.

## Mikroskopi XXst.



**Nikonov prvi  
mikroskop**  
~1900 g.

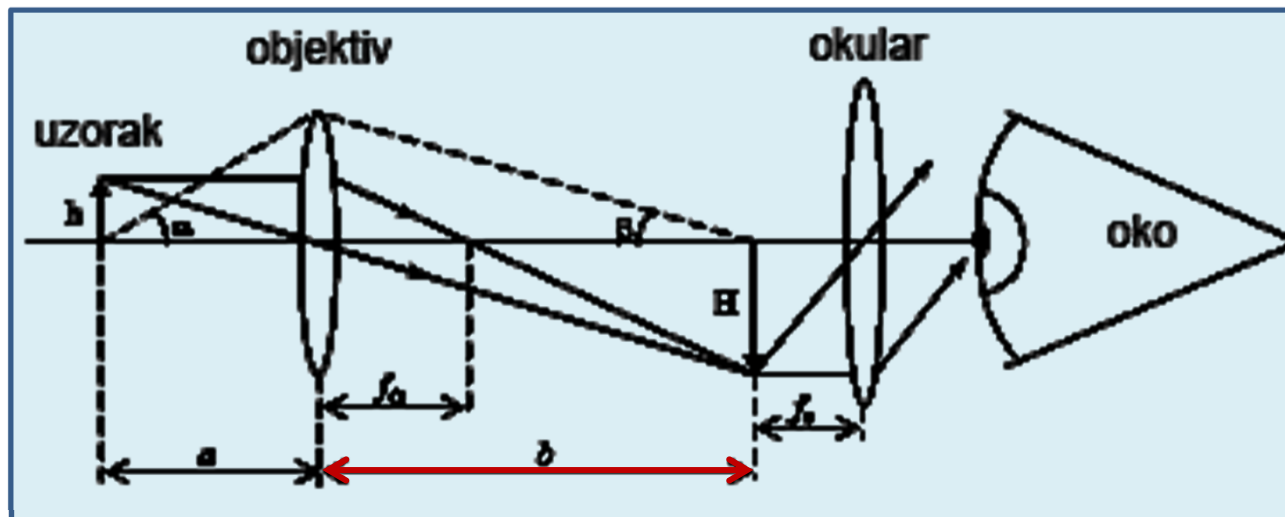
**Olympus  
Provis AX-70**  
~1998 g.



# 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  $b$  između stražnjeg žarišta objektivna 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  
 $\lambda$  - valna duljina  
n – indeks loma medija  
 $\alpha$  - 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,  $\lambda$  upotrijebljene svjetlosti

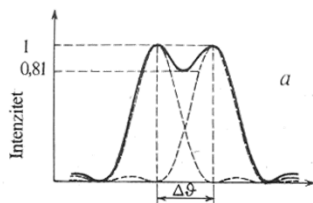
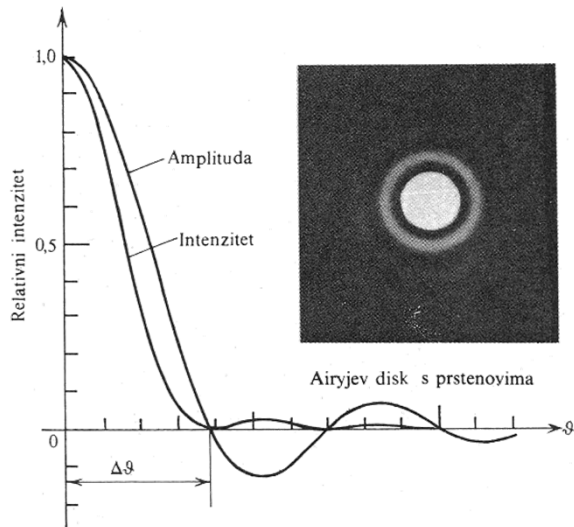
## ● numerička apertura (zaslon – otvor)

- 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

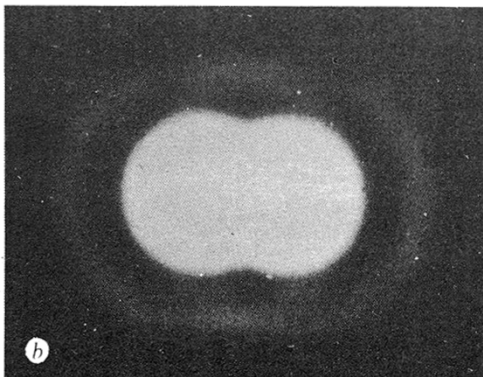
$$A_N = n \sin \alpha_m$$

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

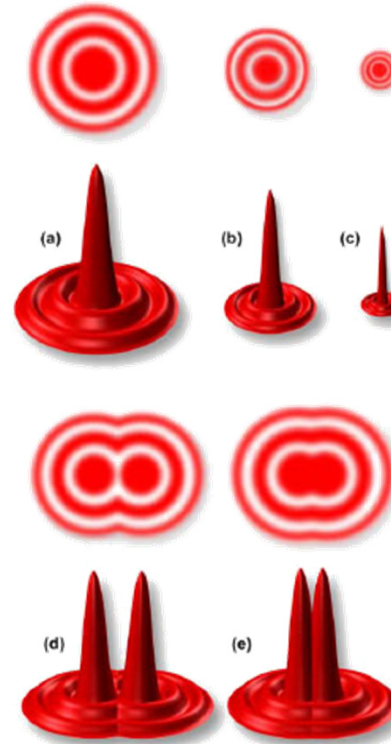
# MOĆ RAZLUČIVANJA (REZOLUCIJA)



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



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

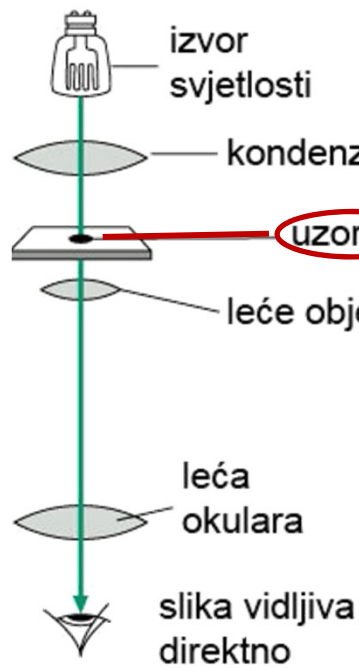
## SVOJSTVA RAZLIČITIH TIPOVA MIKROSKOPA

INSTRUMENT	OPTIČKI MIKROSKOP	PROPUSNI (TRANSMISSION) ELEKTRONSKI MIKROSKOP	PRETRAŽNI (SCANNING) ELEKTRONSKI MIKROSKOP	MIKROSKOP ATOMSKIH SILA
	OM	TEM	SEM	AFM
REZOLUCIJA	300 nm	0,5 (0,2*) nm	4 (1) nm	4 (0,3) nm
POVEĆANJE	2 - 2000	200 - 2x10 <sup>6</sup>	20 - 1x10 <sup>5</sup>	1000 - 2x10 <sup>6</sup>
MOŽE SE UOČITI	površina ili unutrašnjost <i>proziran uzorak</i>	unutrašnjost (bulk) <i>tanak film , &lt; 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



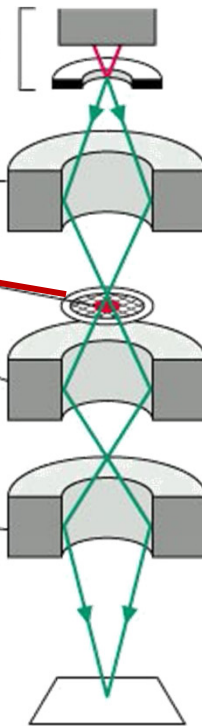
elektronski top

uzorak

projektorska leća

ekran ili fotografski film

TEM

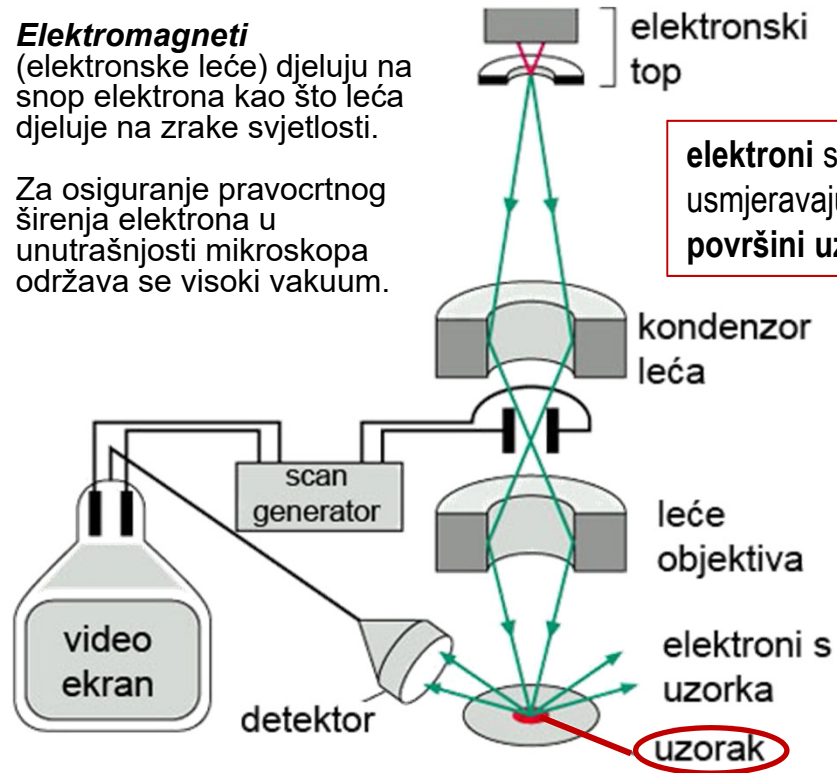


izvor elektrona je užarena volframova nit – katoda

**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

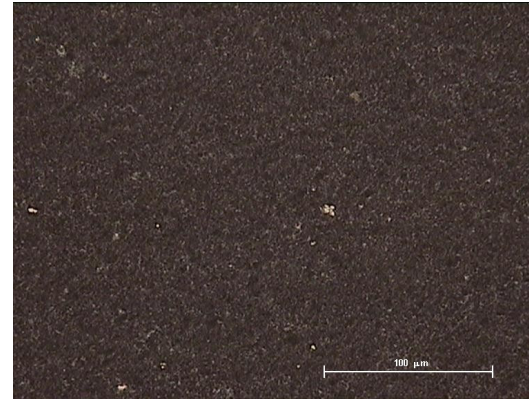
## OM

### MORFOLOGIJA

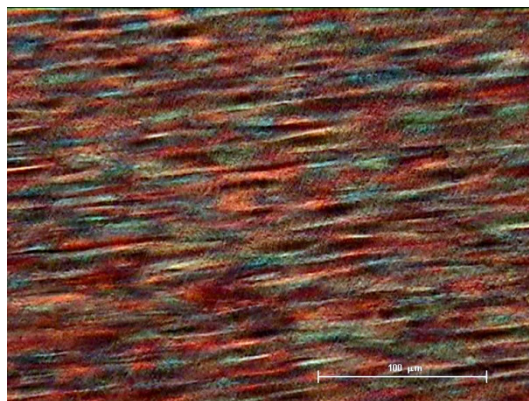


sferulitna struktura –  
povezani radijalni  
sferuliti

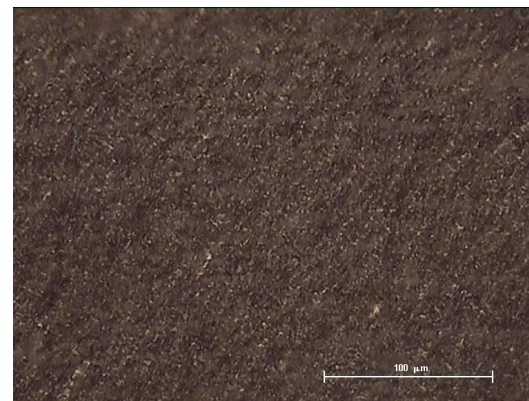
PU matrica



PU + nano CaCO<sub>3</sub>



PU matrica  
područje suženja (vrat)



PU + nano CaCO<sub>3</sub>  
područje suženja (vrat)

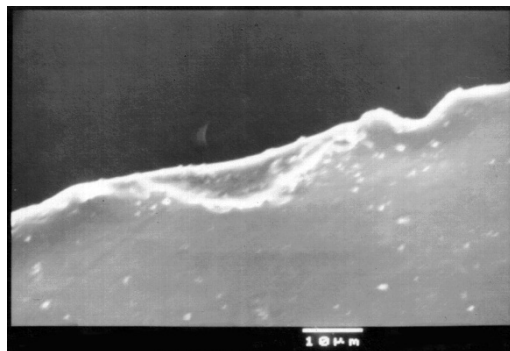
**obojenje – posljedica različitih refrakcijskih  
indeksa različito orijentiranih fibrilnih kristala**

# Polimerni kompoziti

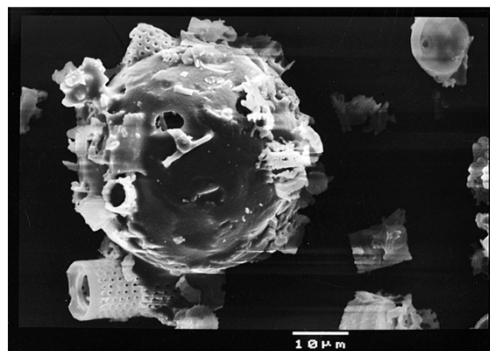
## SEM

### MORFOLOGIJA

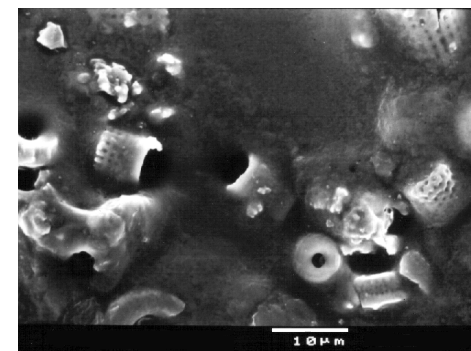
PRIJE  
KIDANJA



PA matrica

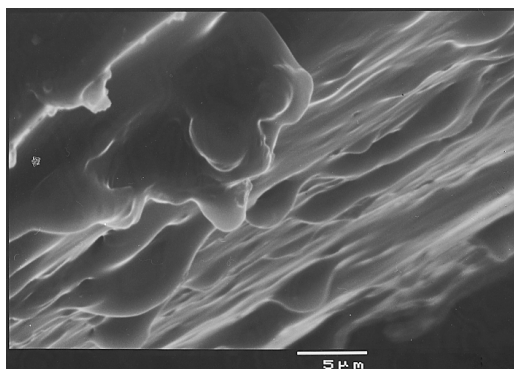


DIJATOM

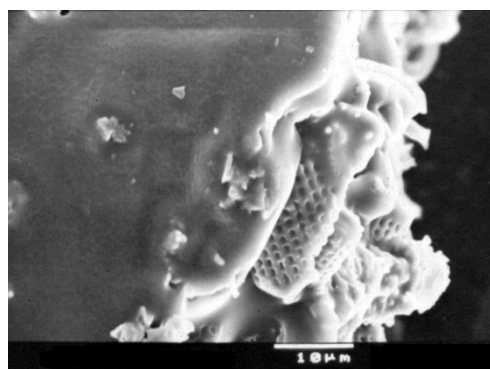


PA + DIJATOM

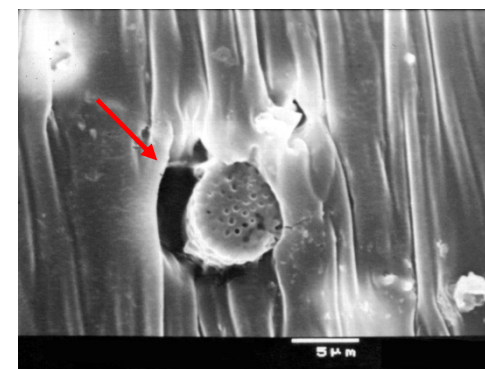
MECHANIZAM  
POPUŠTANJA



PA matrica  
rub kidanja



PA + DIJATOM  
rub kidanja



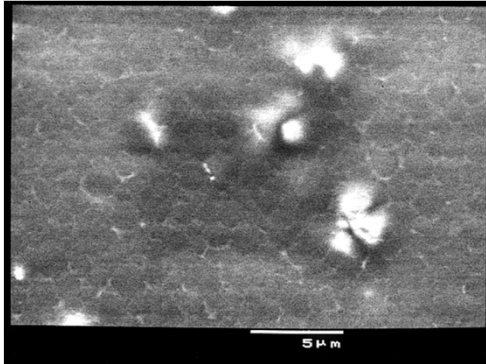
PA + DIJATOM  
područje suženja (vrat)

# Polimerni kompoziti

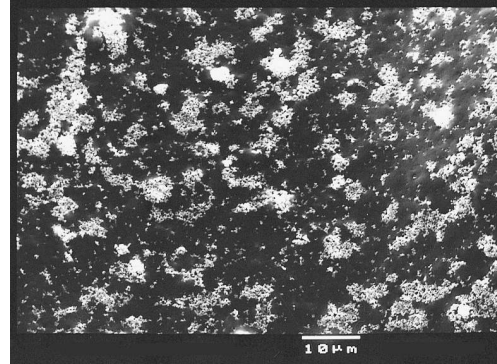
## SEM

### MORFOLOGIJA

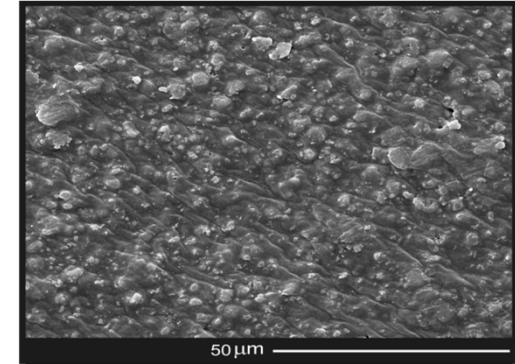
PRIJE  
KIDANJA



PVAc + CaCO<sub>3</sub>  
mikro (520 nm)

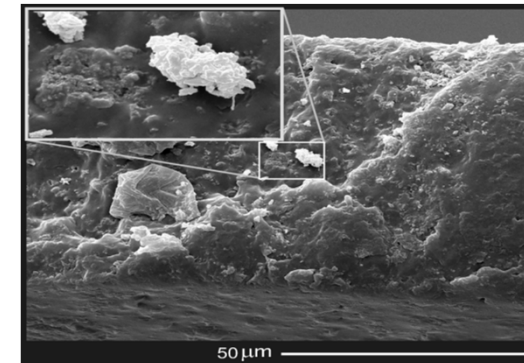
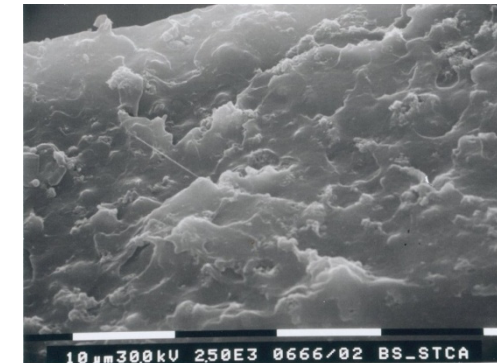
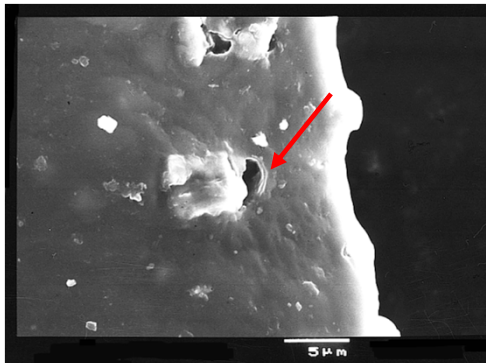


PVAc + CaCO<sub>3</sub>  
nano (80 nm)



PVAc + CaCO<sub>3</sub>  
nano (20 nm)

MEHANIZAM  
POPUŠTANJA



1 mm = 1000 μm

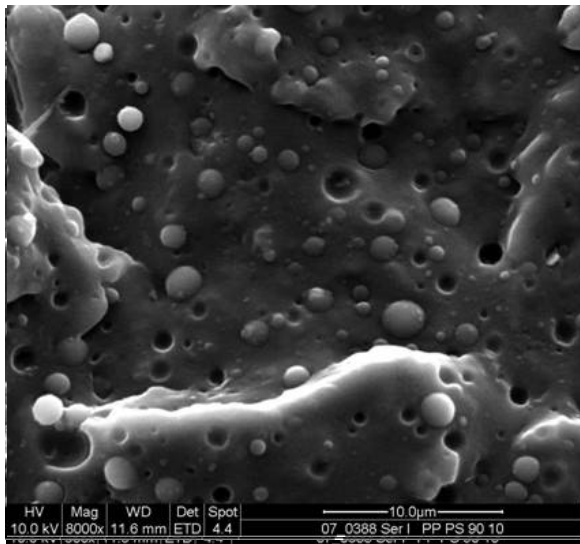
1 μm = 1000 nm

# Polimerne mješavine

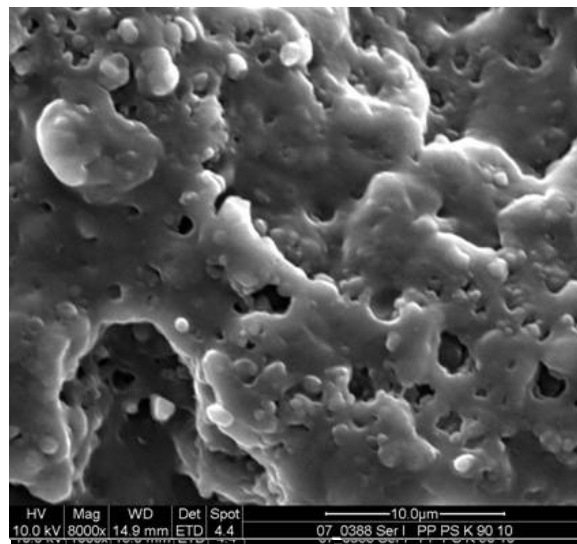
## SEM

### MORFOLOGIJA

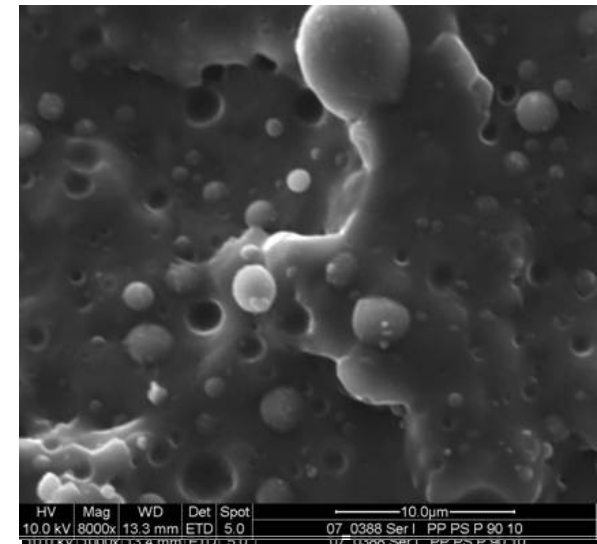
x 8000



PP/PS 90/10



PP/PS/K 90/10/5



PP/PS/P 90/10/5

**PP – matrica**

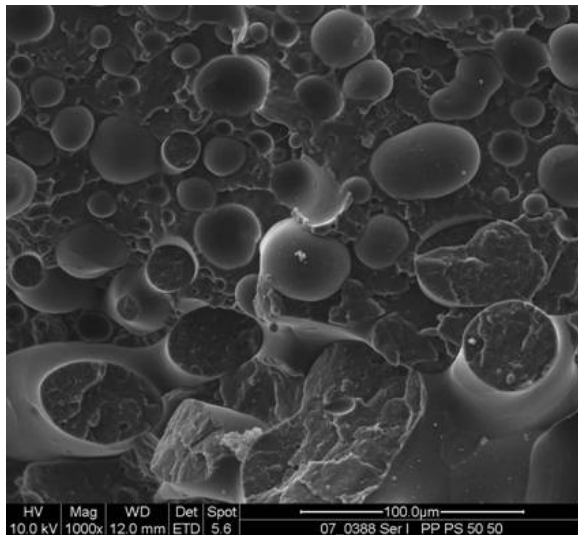
**PS – dispergirana faza**

# Polimerne mješavine

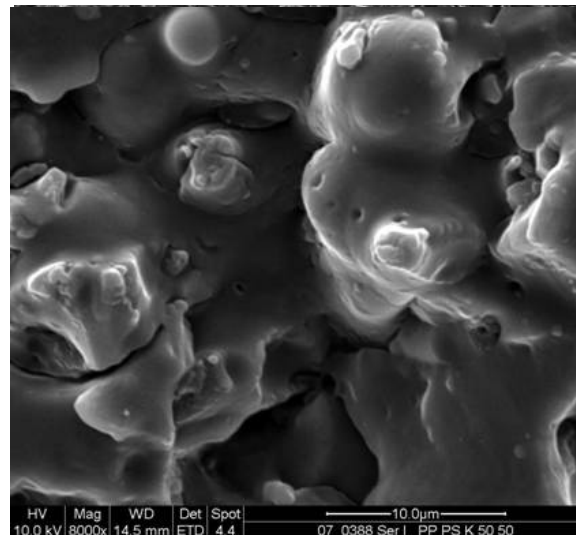
## SEM

### MORFOLOGIJA

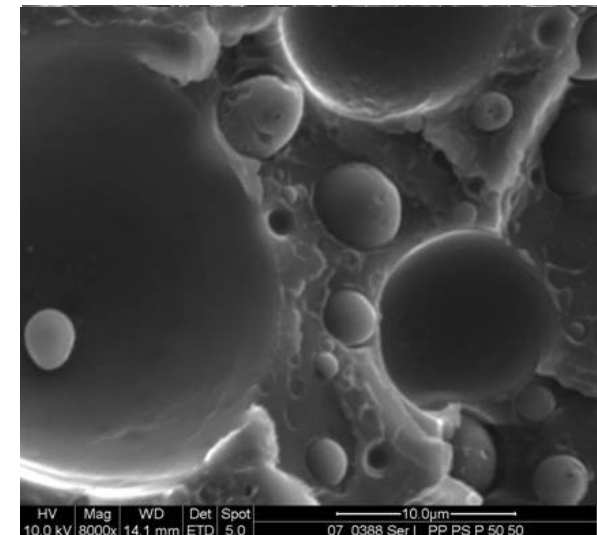
x 8000



PP/PS 50/50



PP/PS/K 50/50/5



PP/PS/P 50/50/5

**PP – matrica 1**

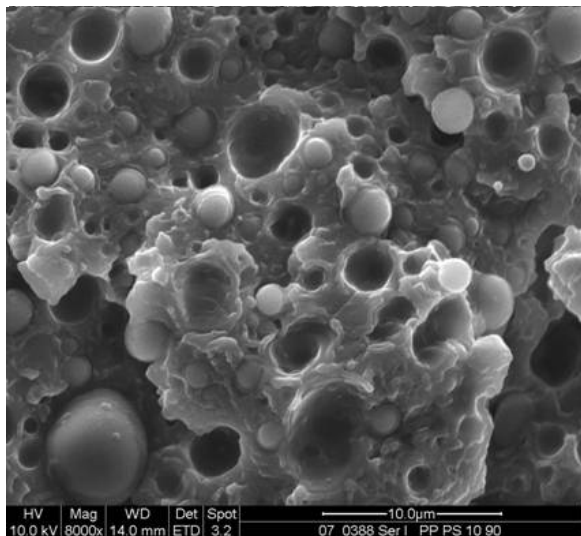
**PS – matrica 2**

# Polimerne mješavine

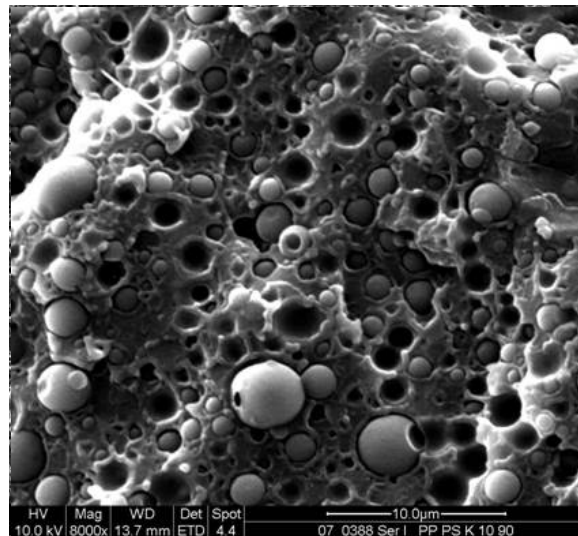
## SEM

### MORFOLOGIJA

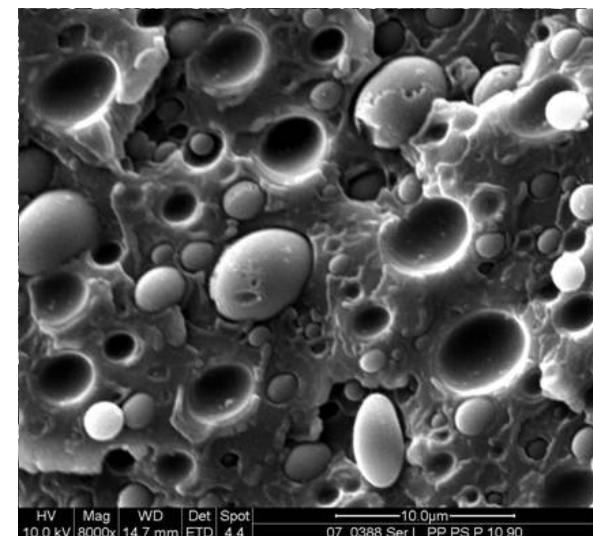
x 8000



PP/PS 10/90



PP/PS/K 10/90/5

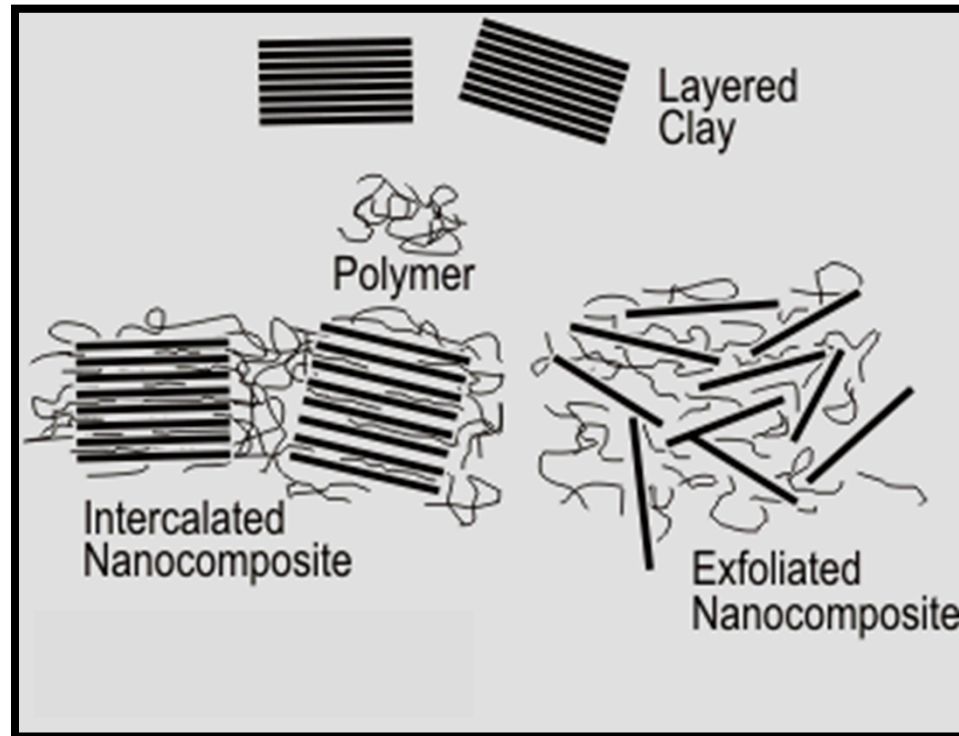


PP/PS/P 10/90/5

**PP – dispergirana faza**  
**PS – matrica**

# Polimerni nanokompoziti - slojeviti silikati

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

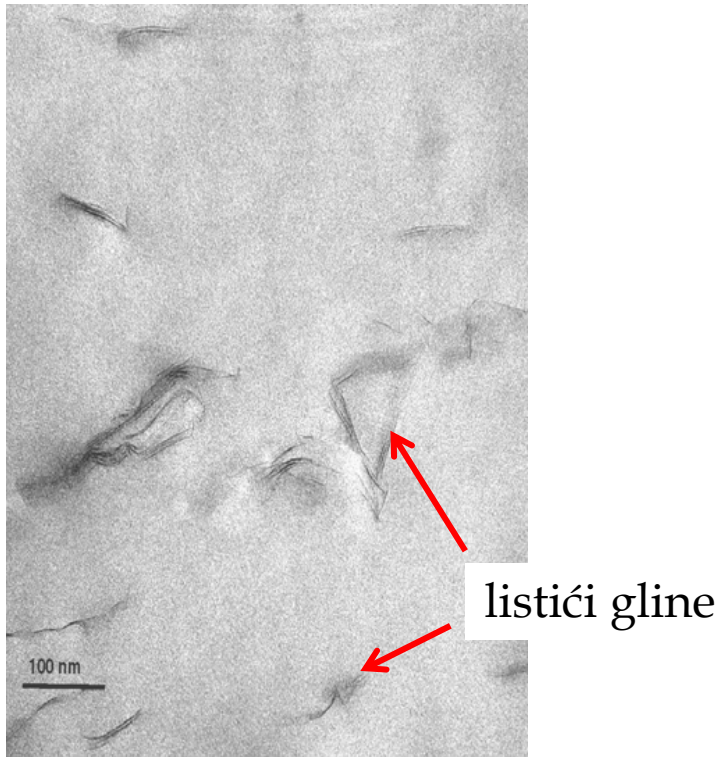


- interkalacija - organska komponenta ulazi između slojeva kaolina- povećava se razmak između slojeva ali slojevi su još uvijek u sređenom odnosu
- najbolje poboljšanje svojstava - kada se slojevi potpuno razdvoje i raspodjeljuju unutar organske matrice - exfoliated

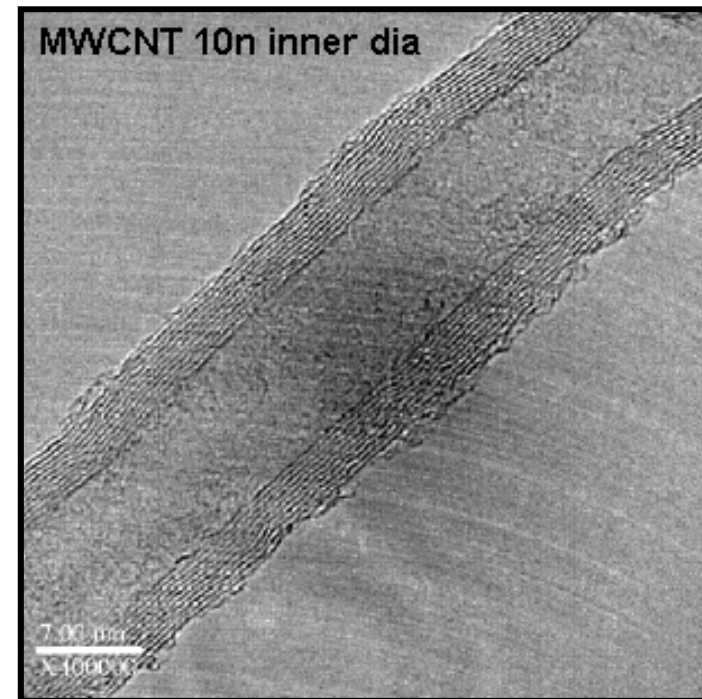
# Polimerni nanokompoziti

TEM

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



nanokompozit polimer/slojeviti silikat  
pripravljen ekstruzijom

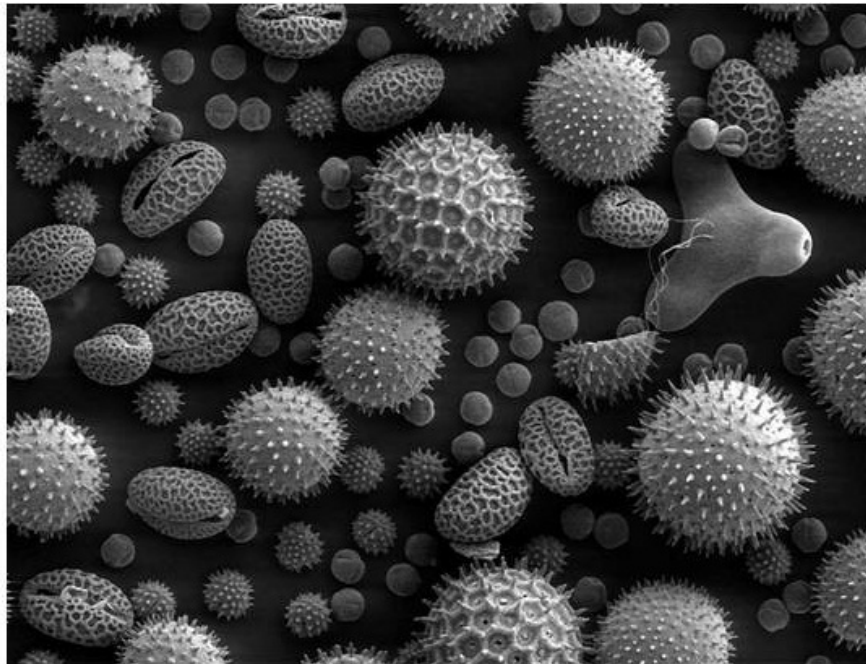


MWCNT  
(multi walled carbon nanotube)  
više-zidne ugljikove nanocijevi

# SEM i TEM

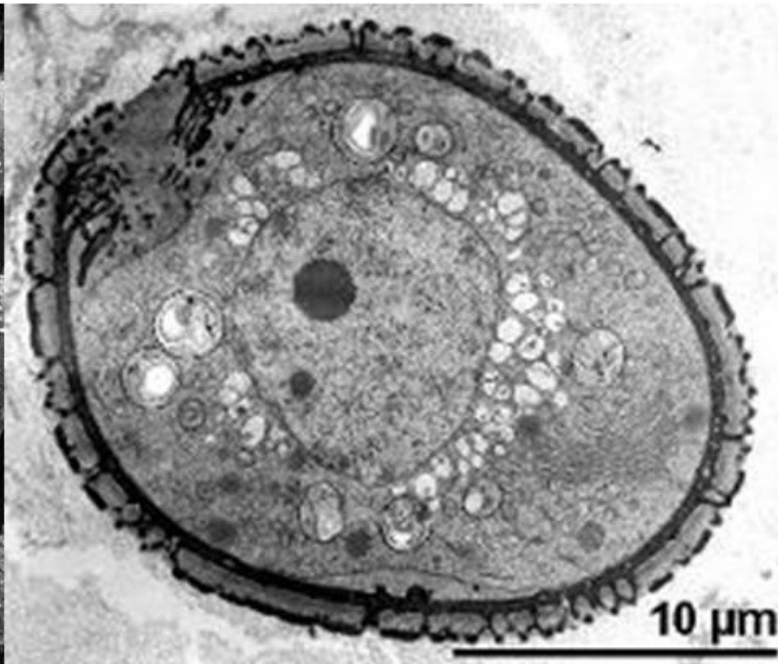
## Cvjetni prah (pelud)

SEM



površina

TEM

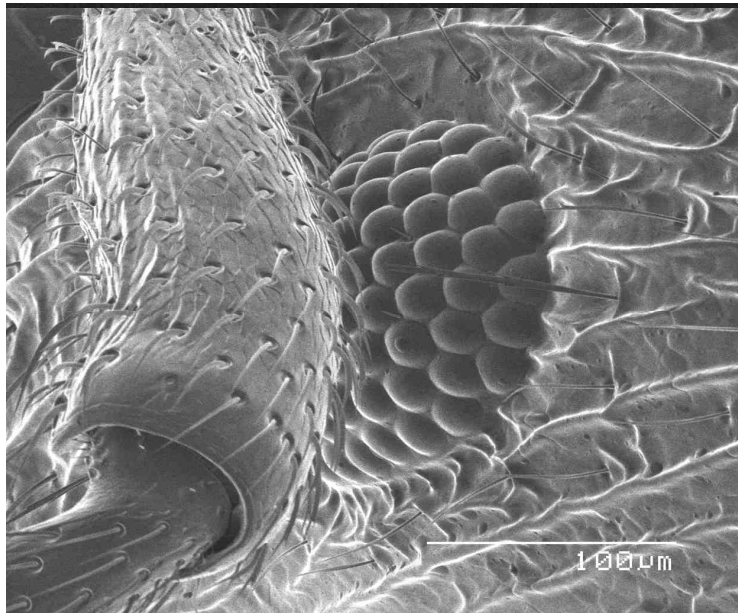


unutrašnjost

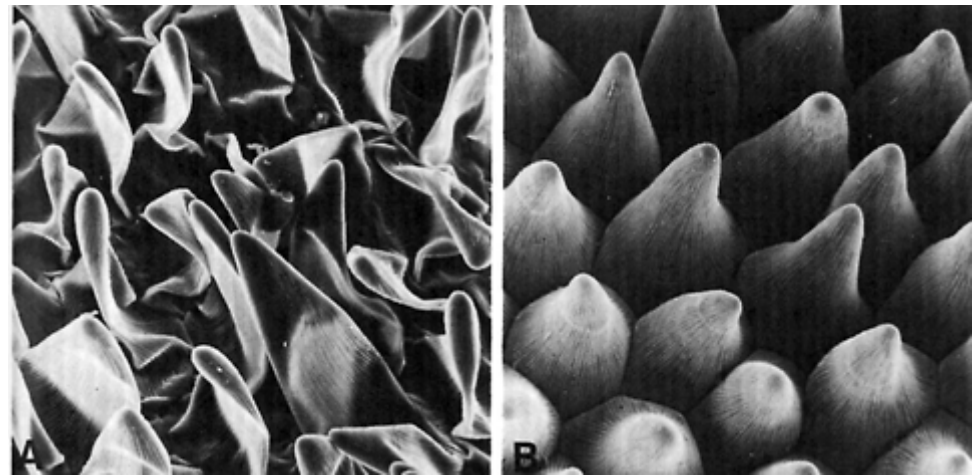
- [www.majordifferences.com](http://www.majordifferences.com)

# Biopreparati

# SEM



OKO MRAVA



usporedba latice maćuhice  
pripravljene

A) sušenjem na zraku B) smrzavanjem