



Co skrývá budoucnost?

Doufáme, že budoucnost skrývá úspěch metody precizní elektronové difrakce a úspěchy při stanovování struktur z práškových dat. Dále doufáme v naplnění naší vize, že program Jana dosáhne takového stupně ovládnutí, že bude moci být zaveden na univerzitách jako výukový nástroj pro krystalografii. Věříme, že budoucnost neskrývá stav, kdy každý vědecký výsledek bude okamžitě přepočítáván na peníze z případných aplikací, protože to by znamenalo konec pokročilé krystalografie, jejíž metody profitují rovným dílem z vzorků průmyslově důležitých a ze vzorků momentálně nevyužitelných. Také doufáme, že vlády v České republice se budou nadále střídat takovým tempem, že žádná z nich nestihne zrušit Akademii věd.

Závěr

Je vyzkoušenou pravdou, že vývoj vědeckých i jiných oborů závisí především na jednotlivcích. Oddělení struk-

turní analýzy mělo to štěstí, že klíčové osoby přicházely a přicházejí ve správnou dobu. Kontinuita vyjádřená schématem Línek-Petříček-Dušek-Palatinus nám dává naději na dalších 15 let plynulého vývoje. Rád bych se ve věku 87 let zúčastnil oslav stého výročí strukturální analýzy ve Fyzikálním ústavu.

Literatura

1. V. Petříček, M. Dušek, L. Palatinus (2006). Crystallographic computing system Jana2006, <http://jana.fzu.cz>.
2. M. Evain, V. Petříček, Y. Moelo, C. Maurel, *Acta Cryst.*, **B62**, (2006), 775-789.
3. E. Makovický, V. Petříček, M. Dušek, D. Topa, *Am. Mineral.* **93**, (2008), 1787-1798.
4. L. Palatinus, G. Chapuis, *J. Appl. Cryst.*, **40**, (2007), 786-790.

L16

Electron Microscopy, Microanalysis and Diffraction at the Institute of Macromolecular Chemistry, Academy of Sciences of the Czech republic

ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE, MIKROANALÝZA A DIFRAKCE NA ÚMCH AV ČR

M. Šlouf, E. Pavlova, D. Králová, J. Hromádková, H. Vlková, M. Lapčíková

*Ústav makromolekulární chemie AV ČR, v.v.i., Heyrovského nám. 2, 16206 Praha, ČR
slouf@imc.cas.cz*

Abstract

Institute of macromolecular chemistry (IMC) is equipped with two modern electron microscopes: field-emission gun scanning electron microscope Quanta 200 FEG (SEM; produced by FEI, Czech Republic) and transmission electron microscope Tecnai G2 Spirit Twin 12 (TEM; produced by FEI, Czech Republic). Both microscopes are equipped with a detector for energy-dispersive analysis of X-rays (EDX), by means of which the elemental microanalysis can be performed. Research at IMC is focused on synthetic polymers, copolymers, their blends and composites. Nevertheless, the microscopes are employed also in the studies of inorganic materials and/or crystals. The inorganic materials are either used as fillers in polymer composites or they originate from external collaborations.

Due to resolution, field of view and other aspects of microscopic work, SEM microscopy is usually used for studies of microcrystals, whereas TEM microscopy is usually applied on nanocrystals. Morphology of microcrystals is easily observed in SEM/SE (detection of secondary electrons in SEM), while morphology of nanocrystals is readily visualized in TEM/BF (bright field imaging in TEM). Elemental composition of the micro- and nanocrystals can be assessed by SEM/EDX and TEM/EDX (detection of characteristic X-rays in SEM and TEM, respectively). Crystal structure can be studied by TEM/SAED and TEM/ED (selected area electron diffraction and aperture-less electron diffraction in TEM). This contribution illustrates the application of all above mentioned modes (SEM/SE, SEM/

EDX, TEM/BF, TEM/EDX and TEM/SAED) on studies of inorganic crystalline materials.

As for the electron diffraction studies, the microscopic laboratory at IMC has experimental and software equipment for microcrystalline and nanocrystalline powders. Single crystals are studied only within external collaborations, mostly due to the fact that they are very rarely used in the field of synthetic polymers.

Úvod

Ústav makromolekulární chemie AV ČR, v.v.i (dále ÚMCH) je vybaven dvěma moderními elektronovými mikroskopy: rastrovacím elektronovým mikroskopem s autoemisní tryskou (SEM; typ Quanta 200 FEG) a transmisním elektronovým mikroskopem (TEM; typ Tecnai G2 Spirit). Oba mikroskopy jsou navíc vybaveny detektory pro energiově-disperzní analýzu paprsků X (EDX), pomocí nichž lze provádět mikroprvkovou analýzu vzorků. Výzkum na ÚMCH se zaměřuje především na syntetické polymery, kopolymery, polymerní směsi a kompozity. Oba elektronové mikroskopy se nicméně využívají při studiu anorganických materiálů a krystalů. Existují pro to dva hlavní důvody: za prvé se anorganické materiály často používají jako plnivo do polymerních kompozitů a za druhé jsou anorganické materiály na ÚMCH studovány v rámci spoluprací s externími pracovišti.

Vzhledem k rozlišení, šířce zorného pole a dalším problémům spojeným s vlastnostmi a přípravou vzorků

jsou zpravidla SEM mikroskopy používány pro studium mikrokryсталů, zatímco TEM mikroskopy se využívají převážně pro studium nanokryсталů. Morfologii mikrokryсталů lze pozorovat v režimu SEM/SE (detekce sekundárních elektronů v SEM), morfologii nanokryсталů v TEM/BF (zobrazení světlého pole v TEM). Prvkové složení mikrokryсталů je možné získat v režimu SEM/EDX (detekce charakteristických paprsků X v SEM), prvkové složení nanokryсталů lze analogicky získat v TEM/EDX. U nanokryсталů lze navíc studovat i krystalickou strukturu v režimech TEM/SAED a TEM/ED (elektronová difrakce se selekční clonou nebo bez selekční clony v TEM). Příklady jsou uvedeny v následujícím textu.

Pokud jde o elektronovou difrakci, mikroskopická laboratoř na ÚMCH má přístrojové a softwarové vybavení zejména pro analýzu práškových vzorků. Monokryсталy jsou studovány velmi zřídka a prakticky jen ve spolupráci s externími pracovišti. Hlavním důvodem je skutečnost, že v oblasti syntetických polymerů se monokryсталy vyskytují či používají jen výjimečně.

Krystalické materiály studované na ÚMCH

Anorganické krystalické materiály studované na ÚMCH lze rozdělit do dvou skupin. Do první skupiny patří materiály používané jako plniva do polymerních kompozitů. V současné době jsou populární především nanokompozity. Jako plniva do nanokompozitů se nejčastěji používají 2D-nanomateriály, především vrstevnaté silikáty (montmorillonit a jeho modifikace), LDH (layered-double hydroxides) ap. Lze ovšem použít i 1D-nanomateriály (uhlíková vlákna a nanotrubičky) a ve speciálních aplikacích se uplatňují také 0D-nanomateriály (kovové nanočástice, nanočástice TiO_2 , CaCO_3). Druhou skupinu anorganických krystalických materiálů studovaných na ÚMCH tvoří různorodá směs látek či částic, u nichž jsou prováděny morfologické, mikroprvkové či difrakční analýzy v rámci externích spoluprací (např. ÚAČH AV ČR, PrF UK, Dálniční stavby Praha).

Experimentální vybavení pro elektronovou mikroskopii, spektroskopii a difrakci

SEM mikroskop. Rastrovací elektronový mikroskop Quanta 200 FEG (FEI, Česká republika) má autoemisní trysku (hot FEG), takže při maximálním urychlovacím napětí 30 kV dosahuje rozlišení 2 nm. Standardně pracuje v režimu vysokého vakua ($p \approx 10^{-3}$ Pa), ale dokáže pracovat i v nízkovakuovém ($p \approx 100$ Pa) a environmentálním režimu ($p \approx 1000$ Pa). Z hlediska anorganických materiálů to znamená, že nevodivé anorganické vzorky nemusíme pokrývat tenkou vodivou vrstvou kovu, neboť plyn přítomný v komoře mikroskopu odvádí náboj ze vzorku k (uzemněným) stěnám komory. Mikroskop je vybaven celou řadou detektorů, ale pro studium mikrokryсталických materiálů jsou důležité především detektory SE (secondary electrons) a EDX (energy-dispersive analysis of X-rays). Detektor SE umožňuje sledovat morfologii (tvary a velikosti se zhora uvedeným maximálním rozlišením 2 nm), zatímco detektor EDX umožňuje mikroprvkovou analýzu vzorků (elementární analýza s rozlišením 20 m).

TEM mikroskop. Transmisní elektronový mikroskop Tecnai G2 Spirit Twin 12 (FEI, Česká republika) má LaB_6 katodu a dosahuje při maximálním urychlovacím napětí 120 kV rozlišení kolem 0,3 nm. TEM mikroskop může pracovat v několika režimech, z nichž pro studium nanokryсталických materiálů používáme zejména tři: TEM/BF (Bright Field imaging, základní režim TEM mikroskopu), TEM/EDX (analogicky jako u SEM mikroskopu výše) a TEM/SAED (selected-area electron diffraction, elektronová difrakce). Pro elektronovou difrakci lze využít i režim TEM/ED (aperture-less electron diffraction), který je v zásadě analogií TEM/SAED až na to, že místo na vzorku nevybíráme pomocí selekční clony, ale přímo pomocí elektronového svazku. V obou difrakčních režimech dokáže mikroskop měřit difrakce zhruba v rozsahu difrakčních vektorů $q = 4 \sin(\theta) / \lambda = 1-20 \text{ \AA}^{-1}$, což by v XRD difrakci při použití záření MoK přibližně odpovídalo rozsahu difrakčních úhlů $\theta = 5-90 \text{ deg}$.

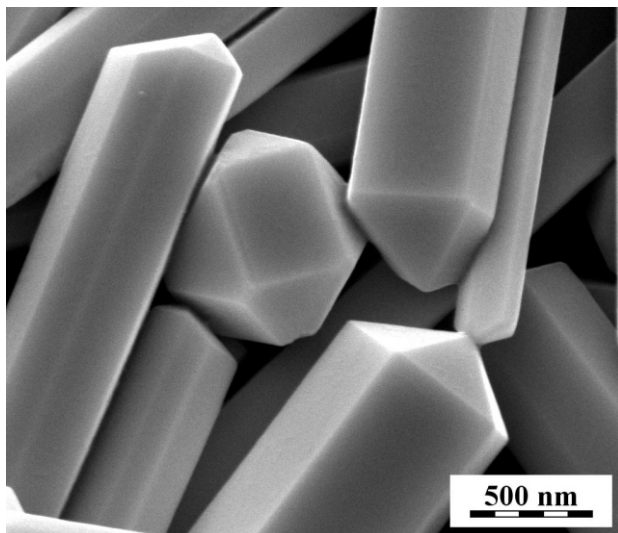
Příprava vzorků. Klíčovou součástí elektronové mikroskopie je příprava vzorků. Lze konstatovat, že kvalita dosažených výsledků je ovlivněna v první řadě vhodnou přípravou vzorku a až v druhé řadě kvalitou mikroskopu. Detailní popis přípravy není tématem tohoto příspěvku, takže se omezíme na konstatování, že na ÚMCH je k dispozici kompletní vybavení pro přípravu tzv. měkkých vzorků (syntetické polymery, biopolymery), ale i základní vybavení pro studium tzv. tvrdých vzorků (anorganické materiály, keramika, kovy) ve formě mikroprášků, nanoprášků i kusových vzorků. Dvě výjimky, které na ÚMCH nejsou v současné době možné: (i) speciální příprava biologických preparátů pro TEM, (ii) speciální příprava ultratenkých vrstev kusových tvrdých materiálů pro TEM.

Software pro elektronovou mikroskopii, spektroskopii a difrakci

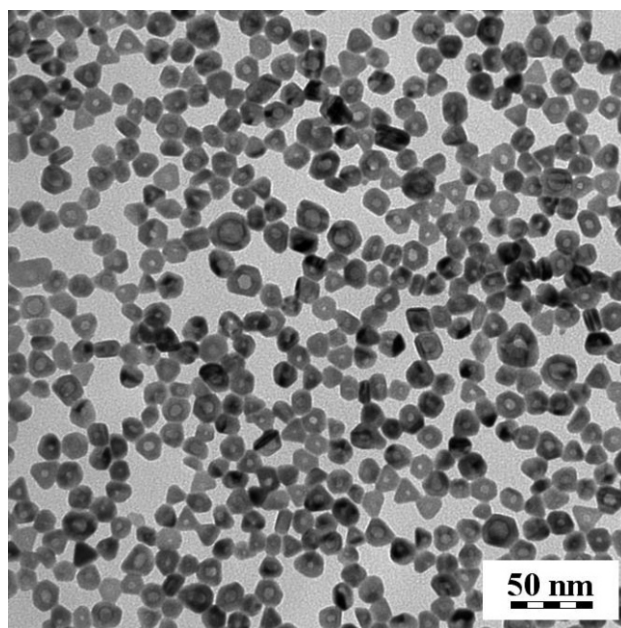
Elektronová mikroskopie v zásadě poskytuje tři druhy výstupů: (i) přímé obrazy, (ii) spektra a (iii) difrakční obrazy. Ze shora uvedených režimů elektronové mikroskopie spadají do kategorie přímých obrazů režimy SEM/SE a TEM/BF, do kategorie spekter SEM/EDX a TEM/EDX a do kategorie difrakčních obrazů spadá režim TEM/SAED a jeho varianta TEM/ED.

Mikroskopie, analýza přímých obrazů. Přímé mikroskopické obrazy neboli mikrofotografie ukazují morfologii neboli strukturu materiálů. V případě mikrokryсталických a nanokryсталických vzorků se jedná zejména o velikosti a tvary objektů. Proces určování velikostí a tvarů objektů na mikrofotografiích se nazývá obrazová analýza (image analysis). Ve většině případů se nejedná o jednoduchou záležitost a je třeba použít specializovaný software (image analysis software). Na ÚMCH používáme zavedený software NIS Elements (dříve prodáváný pod názvem Lucia), který dodává česká firma LIM [1]. Nekomerční alternativou, která ovšem není plnou náhradou, může být například program ImageJ [2].

Spektroskopie, analýza EDX spekter. Mikroskopická spektra se téměř výhradně vyhodnocují pomocí specializovaného komerčního software, který je dodáván přímo s daným mikroskopem. V našem případě se u SEM i TEM mikroskopu jedná o software firmy EDAX [3].



Obr. 1. SEM/SE mikrofotografie ukazující mikrodráty Ag (spolupráce s ÚACH AV ČR, Dr. Tomáš Baše).



Obr. 3. TEM/BF mikrofotografie ukazující core-shell AgAu nanokrystaly (spolupráce s PřF UK, Dr. Ivana Šloufová).

Kvalitativní (nikoli však kvantitativní) interpretace EDX spekter lze ovšem provádět i "ručně", za pomoci libovolného kvalitního programu schopného efektivně zobrazovat data ve formě grafů, v našem případě se osvědčil volně šiřitelný program GNUplot [4], který lze též využít pro přípravu vysoce kvalitních finálních grafů pro publikace.

Difrakce, analýza ED difraktogramů. Elektronové difraktogramy se vyhodnocují poněkud odlišně podle toho, jedná-li se o záznamy monokrystalů či práškových vzorků. Jak již bylo konstatováno v úvodu, na ÚMCH analyzujeme téměř výhradně práškové elektronové difraktogramy. Ke zpracování elektronových difraktogramů používáme volně šiřitelný program ProcessDiffraction [5]. Ke kontrolním výpočtům rentgenových difraktogramů ze známých struktur využíváme volně šiřitelný program PowderCell [6]. Program PowderCell sice umožňuje jen výpočty práškových XRD, nikoli ND, ale praxe ukazuje, že pro kvalitativní srovnání experimentu a teoretického výpočtu je kombinace programů ProcessDiffraction a PowderCell naprosto dostatečná. Pro rutinní srovnání experimentu (výstup z programu ProcessDiffraction) a teoretického výpočtu struktury (výstup z programu PowderCell) využíváme vlastní balík MDIFF, který je kombinací příkazových skriptů Windows, skriptů programu GNUplot [4] a skriptů jazyka Perl [7].

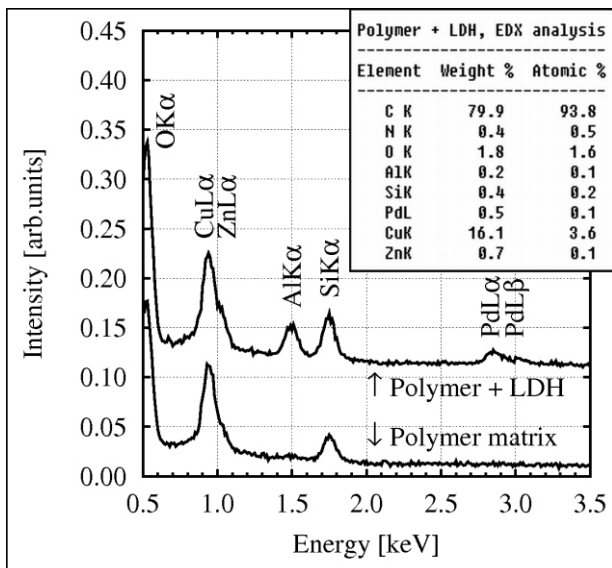
Příklady z praxe

Režim SEM/SE, morfologická analýza mikrokystalů. Pro zviditelnění velikostí a tvarů mikrokystalů se zpravidla používá režim SEM/SE (obr. 1). Rozlišení SEM mikroskopů (u moderních strojů v jednotkách nm) je pro mikrokristaly více než dostatečné. Kontrast je dán především dvěma skutečnostmi. Za prvé je intenzita signálu v SE úměrná sklonu plochy, z níž se sekundární elektrony uvolňují, což je podstatou topografického kontrastu (topographic contrast). Za druhé se z ostrých hran uvolňuje více sekundárních elektronů, což se nazývá hranový jev (edge effect).

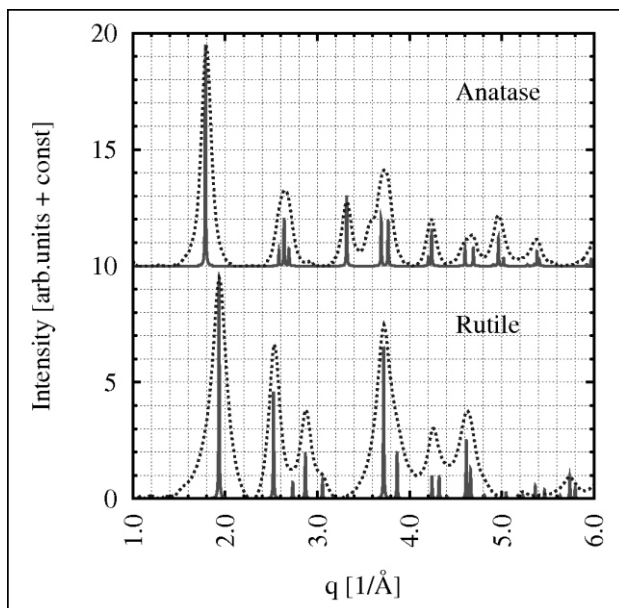
Režim SEM/EDX, prvková analýza mikrokystalů. Pokud potřebujeme znát prvkové složení mikrokystalů, lze využít režimu SEM/EDX. Při kvantitativní analýze EDX spekter se zpravidla používá model ZAF (název modelu vychází se skutečností, že při výpočtu se berou v úvahu atomová čísla prvků Z, absorpce v daném materiálu A a fluorescence v daném materiálu F). Jelikož zpravidla nejsou k dispozici standardy, je nutno použít tzv.

SEM/EDX analýza krystalů CuSO ₄ *5H ₂ O				
(test přesnosti EDX, dvě různá místa, označená jako A, B)				
(kvantifikace: prvky Cu,S,O; vodík nedává EDX signál)				
(použitá metoda: ZAF, standardless analysis)				
	Stechiometrie		EDX experimenty	
	Poměr	at. %	A [at. %]	B [at. %]
Cu	1	9	21	10
S	1	9	16	12
O	9	82	63	78
Součet	11	100	100	100

Obr. 2. SEM/EDX kvantitativní analýza; ilustrace přesnosti nejčastěji používané bezstandardové ZAF analýzy na modelovém příkladu monokrystalu modré skalice CuSO₄ · 5H₂O.



Obr. 4. Část TEM/EDX spektra polymerního kompozitu (horní spektrum) a samotné polymerní matrice (dolní spektrum); v polymerním kompozitu byl jako plnivo použit vrstevnatý materiál LDH dopovaný porfirinem s malým množstvím navázaného Ag a Pd. TEM/EDX analýza jednoznačně prokázala přítomnost porfirinu, interkalovaného ve vrstevnaté struktuře LDH (spolupráce s ÚACH AV ČR, Dr. Kamil Lang).



Obr. 5. Srovnání experimentálních TEM/SAED (tečkovaná čára) a vypočtených PXRD (plná čára) difraktogramů pro dvě nejčastější modifikace TiO_2 : anatas (horní difraktogram) a rutil (dolní difraktogram). TiO_2 nanočástice s průměrnou velikostí okolo 1 nm se používají jako plnivo do polymerních matic.

bezstandardovou analýzu (standardless ZAF analysis). V takovém případě jsou ovšem výsledky spíše na semikvantitativní úrovni (obr. 2).

Režim TEM/BF, morfologická analýza nanokrystalů. Pro zviditelnění velikostí a tvarů nanokrystalů lze využít režimu TEM/BF (obr. 3). Rozlišení TEM mikroskopů (u moderních strojů v desetínách nm) je pro danou aplikaci více než dostatečné. Kontrast bývá v případě anorganických materiálů také zpravidla dostatečný; uplatňují se

zejména dva typy kontrastu – absorpční kontrast (Z kontrast, mass-thickness contrast; elektrony jsou zčásti či zcela ve vzorku pohlceny) a difrakční kontrast (diffraction contrast; elektrony jsou difraktovány do jiného směru a nedopadnou na detektor).

Režim TEM/EDX, prvková analýza nanokrystalů. Pokud potřebujeme znát prvkové složení nanokrystalů, lze využít režimu TEM/EDX (obr. 4), který je až na drobnosti technického charakteru analogický režimu SEM/EDX (viz výše). V odstavci věnovanému režimu SEM/EDX byla dokumentována omezená přesnost mikroprvkových analýz; toto omezení se týká i TEM/EDX. Nicméně obr. 4 ilustruje, že pomocí EDX dokážeme často detekovat i stopová množství prvků.

Režim TEM/SAED, elektronová difrakce na práškových nanokrystalech. Krystalovou strukturu nanokrystalů lze studovat pomocí režimu TEM/SAED nebo analogického režimu TEM/ED (obr. 5). Na ÚMCH využíváme téměř výhradně elektronovou difrakci na práškových vzorcích. Experimentálně získané elektronové 2D-difraktogramy jsou převedeny na 1D-difraktogramy (tečkované čáry na obr. 5) pomocí programu ProcessDiffraction [5] a srovnány s teoreticky vypočtenými XRD difraktogramy pomocí programu PowderCell [6]. Obr. 5 dokládá, že navzdory dynamickým efektům je elektronová difrakce u nanokrystalických prášků poměrně dobře srovnatelná s rentgenovou difrakcí.

Závěr

Laboratoř elektronové mikroskopie na Ústavu makromolekulární chemie AV ČR se specializuje především na studium morfologie syntetických polymerů. Nicméně k dispozici je i experimentální vybavení, software a zkušenosti, které umožňují studium morfologie, prvkového složení a krystalové struktury mikrokystalů a nanokrystalů. Elektronové mikroskopy jsou využívány nejen pro vlastní projekty ÚMCH zaměřené na syntetické polymery, ale i v rámci externích spoluprací s českými a zahraničními partnery; stroje jsou tudíž k dispozici i pro případné další spolupráce v rámci Československé krystalografické společnosti.

Literatura

1. NIS Elements; <http://www.nis-elements.cz/>
2. ImageJ; <http://rsbweb.nih.gov/ij/>
3. Software for EDX analysis; <http://www.edax.com/products/xray.cfm>
4. GNUplot; <http://www.gnuplot.info/>
5. ProcessDiffraction; <http://www.mfa.kfki.hu/~labar/ProcDif.htm>
6. PowderCell; <http://www.ccp14.ac.uk/tutorial/powdcell/index.html7>. Perl; <http://www.perl.org/>

Poděkování

Autoři děkují za finanční podporu umožňující velmi nákladný provoz elektronových mikroskopů zejména následujícími grantovými projekty: KAN200520704, AVOZ 40500505 (AV ČR) a P205/10/0348 (GAČR).