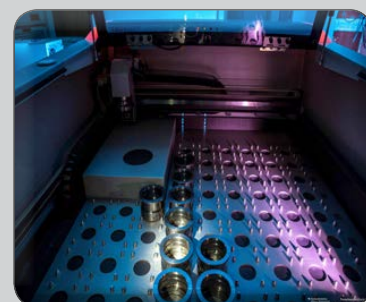




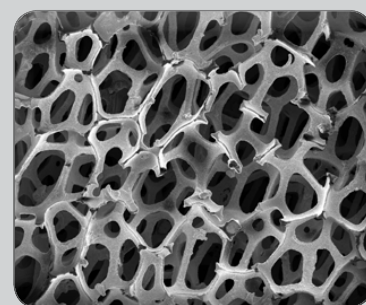
میکروسکوپ
نیروی اتمی سیالی
و کاربردهای آن
در زیست‌شناسی
سلولی و مولکولی

نشست مدیران مراکز عضو شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی برگزار شد

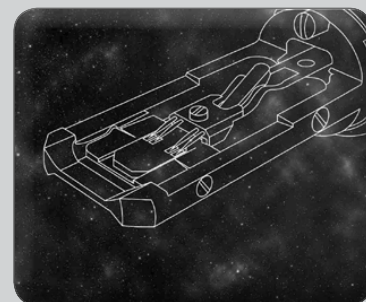
افزوده شدن خدمات جدید به سبد حمایتی شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی



روش‌های آماده‌سازی نمونه در آنالیز
به روش طیف‌سنجی فلورسانس
اشعه ایکس



معرفی روش واشتابی پرتو به‌منظور
بهبود عملکرد تصویربرداری در
میکروسکوپ الکترونی روبشی



پیشرفت‌های اخیر در حوزه
میکروسکوپ الکترونی عبوری پویا



ریاست جمهوری
معاونت علمی و فناوری

صبر و حیا در خرد است و ایران در حکمت و تقوی
این نمایشگاه دیدیم و خدا را سپاس گفتیم
۱۳۹۸، ۲۹ آذرماه



جمهوری اسلامی ایران
وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

پژوهش اثر بخش، فناوری ارزش آفرین، رونق تولید

بیستمین نمایشگاه دستاوردهای پژوهش، فناوری و فن بازار | هفتمین نمایشگاه تجهیزات و مواد آزمایشگاهی

ایران ساخت

۲۶ تا ۲۹ آذرماه ۱۳۹۸
نمایشگاه بین المللی تهران

عرضه و تقاضای فناوری



شماره تماس دبیر خانه:
۸۸۷۳۱۱۹۷-۸۸۵۰۳۹۳۰
iranlabexpo.ir

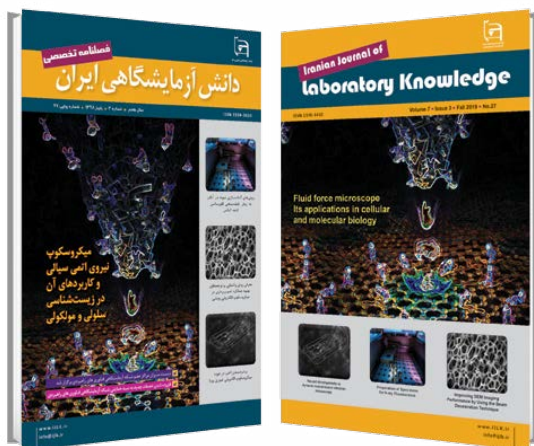
شماره تماس دبیر خانه:
۰۱۳-۲۳۴۶۱۵۴۰-۲۳۴۶۱۵۶۷
irantechhub.ir

سالن های ۲۷، ۲۵، ۷، ۶، ۵ | سالن های میلاد (۳۱)، خلیج فارس (۴۴)، ۴۰ و ۴۱

مرکز ارتباطات و اطلاع رسانی
www.isti.ir

اداره کل روابط عمومی
وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
www.msrt.ir





فصلنامه تخصصی

دانش آزمایشگاهی ایران

سال هفتم ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۸ ■ شماره پیاپی ۲۷

ISSN 2538-3450

فهرست مطالب

نشست مدیران مراکز عضو شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی
برگزار شد

۲ <

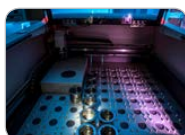
افزوده شدن خدمات جدید به سبد حمایتی شبکه آزمایشگاهی
فناوری های راهبردی

۴ <



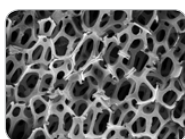
مشخصات استاندارد برای آب مصرفی در آزمایشگاه
Designation: D1193 – 06 (Reapproved 2011)

۶ <



روش های آماده سازی نمونه در آنالیز به روش
طیف سنجی فلورسانس اشعه ایکس

۷ <



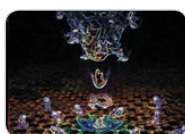
معرفی روش واشتابی پرتو به منظور بهبود عملکرد
تصویربرداری در میکروسکوپ الکترونی روبشی

۱۳ <



پیشرفت های اخیر در حوزه میکروسکوپ الکترونی
عبوری پویا

۲۰ <



میکروسکوپ نیروی اتمی سیالی و کاربردهای
آن در زیست شناسی سلولی و مولکولی

۳۳ <

صاحب امتیاز: شبکه آزمایشگاهی فناوری نانو

سرمدبیر: رضا اسدی فرد

مدیرمسئول: مجتبی نسب

مدیریت اجرایی: شبکه آزمایشگاهی فناوری نانو

دبیر مقالات: داود قزایلو

همکاران این شماره: دکتر بهزاد ادیبی مطلق، شفق ولی پور
افسون نارویی، حمیدرضا نبوی، مینا محبی مراد، مریم خسروی
غلامرضا دهقان، ساناز شبیکه، فاطمه خاکراه، فاطمه ناصری
زینب زعفرانی

طراحی و صفحه آرایی: سیمین رفیع پور لنگرودی

ویراستار: زینب زرینچه

نشانی: تهران . صندوق پستی ۱۴۵۶۵-۳۴۴

تلفن: ۰۲۱ ۶۳۱۰۳۴۵۳

پایگاه اینترنتی: www.IJLK.ir

پست الکترونیکی: info@ijlk.ir



شبکه آزمایشگاهی فناوری نانو

اخبار

استاندارد

مقالات



نشست مدیران مراکز عضو شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی برگزار شد

گردهم آبی مدیران مراکز عضو شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی به میزبانی بنیاد علوم کاربردی رازی چهارشنبه ۲۹ آبان در تهران برگزار شد. در این نشست نزدیک به ۲۵۰ نفر از مدیران مراکز عضو شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی حضور داشتند.

دویست هزار خدمت توسط این مراکز ارائه شده است. این خدمات به طیف وسیعی از مشتریان از بخش دانشگاهی و صنعت ارائه شده است.

مدیر شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی درباره اعضای جدید این شبکه گفت: «در ابتدای کار شبکه، بیشتر اعضا از آزمایشگاه های مراکز و سازمان های دولتی بودند اما اخیراً نقش شرکت های خصوصی بسیار پررنگ شده به طوری که در حال حاضر سهم قابل توجهی از اعضای شبکه را بخش خصوصی به خود اختصاص داده است و این امر نشان از عملکرد رو به رشد شرکت ها و آزمایشگاه های خصوصی دارد. با وجود مشکلات اقتصادی، بخش خصوصی به خوبی توانسته است نقش خود را در این حوزه ایفا کند». دکتر اسدی فرد درباره برنامه های شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی گفت: «سه سال پیش، حمایت از تحقیقات با اعطای یارانه برای گروه های مختلف در شبکه

در ابتدای این نشست، دکتر پرویز دوامی، بنیان گذار بنیاد علوم کاربردی رازی، به تشریح توانمندی های این بنیاد پرداخت. دکتر دوامی، ضمن معرفی بنیاد، تجهیزات و زیرساخت ها، اطلاعاتی درباره عملکرد این مجموعه طی یک سال گذشته ارائه کرد.

در ادامه دکتر رضا اسدی فرد، مدیر شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی، با ارائه گزارشی از وضعیت فعالیت های شبکه، روند تکامل شبکه را یک روند تدریجی و با برنامه ریزی عنوان کرد. وی با بیان این که شبکه آزمایشگاهی ۱۵ سال پیش کار خود را با تعداد کمی آزمایشگاه شروع کرد، گفت: «تا کنون بیش از ۵۵۰ مجموعه آزمایشگاهی عضو شبکه شده اند که بیش از ۱۲ هزار دستگاه خود را در شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی به اشتراک گذاشته اند. این آزمایشگاه ها در حال حاضر نزدیک به ۵۲ هزار آزمون ارائه می کنند که در طول یک سال گذشته، دو میلیون و



آغاز شد و این روند اکنون نیز ادامه دارد. هر چند که اختصاص یارانه بار مالی سنگینی برای معاونت علمی ریاست جمهوری دارد اما طی این مدت تلاش شده تا این یارانه به محققان پرداخت شود. در ابتدا تنها به اساتید برخی از دانشگاه ها یارانه اختصاص داده می شد اما اکنون همه اعضای هیئت علمی از سراسر کشور می توانند از تخفیف ۴۰ درصدی خدمات آزمایشگاهی بهره مند شوند. در سال جاری برای محققان پسادکتری نیز یارانه ویژه ای اختصاص داده شده و برای حمایت از محققان در مقطع کارشناسی ارشد نیز در حال برنامه ریزی هستیم».

دکتر اسدی فرد ضمن اشاره به رشد اعضای باشگاه مشتریان شبکه آزمایشگاهی، تعداد اعضای این باشگاه را بیش از ۳۵۰۰۰ نفر اعلام کرد و گفت: «امیدواریم رشد اعضای باشگاه مشتریان به خوبی ادامه پیدا کند به طوری که تا پایان فصل پاییز به ۳۹۰۰۰ عضو در این باشگاه برسیم».

در نشست مدیران مراکز عضو شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی، از مراکز برگزیده تقدیر و جوایزی به آنها اعطا شد.

لازم به ذکر است، مرکز پژوهش متالورژی رازی، بنیاد علوم کاربردی رازی و شرکت خدماتی آموزشی و تحقیقاتی مرجعان خاتم، به ترتیب رتبه های اول تا سوم را به خود اختصاص دادند.

در بخش بعدی برنامه ها، دکتر پرویز دوامی، رئیس هیئت مدیره بنیاد علوم کاربردی رازی به ارائه مدل عملیاتی مراکز تحقیقاتی موفق پرداخت که مورد توجه شرکت کنندگان در این نشست قرار گرفت.

در پایان این نشست، در جلسه پرسش و پاسخ که با حضور مدیر و دبیر شبکه آزمایشگاهی برگزار و به سوالات حاضرین پاسخ داده شد، چالش ها و مسائل مختلف پیش روی آزمایشگاه ها، راهکارهای توسعه فعالیت آزمایشگاه ها و شبکه آزمایشگاهی، ایجاد و افزایش همکاری های بین مراکز در ارائه خدمات آزمایشگاهی و همکاری های بین المللی، از جمله موارد مورد بحث و بررسی در این بخش از برنامه بود.

حاضرین در نشست، پس از اقامه نماز و صرف ناهار، از توانمندی ها و امکانات آزمایشگاهی بنیاد علوم کاربردی رازی بازدید کردند.

بنیاد علوم کاربردی رازی، از آزمایشگاه های موفق عضو شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری است که توانمندی ها و خدمات این مجموعه در پایگاه اینترنتی شبکه در دسترس علاقمندان قرار گرفته است.



افزوده شدن خدمات جدید به سبد حمایتی شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی

شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی چند خدمت جدید را به سبد حمایت‌های خود از آزمایشگاه‌های کشور، اضافه کرد. بسیاری از شرکت‌ها و آزمایشگاه‌ها با مشکلاتی مانند آشنا نبودن با مسائل بیمه و مالیات روبرو هستند که لازم است آموزش و مشاوره در این زمینه به آنها داده شود. علاوه بر این، بازاریابی دیجیتال و راهبردهای توسعه کسب و کار از جمله مسائل عمومی هستند که برخی از فناوران و استارت‌آپ‌ها به دلیل ناآشنایی با این موضوعات در حوزه کاری خود به موانعی برخورد می‌کنند که برای آنها چالش برانگیز می‌شود.

شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی با هدف کمک به رشد آزمایشگاه‌ها در زمینه مدیریت منابع انسانی، بهبود و توسعه فضای کسب و کار خدمات آزمایشگاهی و بهبود فرایندهای ارتباط با مشتری، بسته حمایت خدمات مشاوره را به سبد حمایت از مراکز عضو اضافه کرده است؛ بر این اساس سه پیشخوان مختلف برای بهره‌مندی آزمایشگاه‌های عضو شبکه از خدمات مشاوره در نظر گرفته شده است:



پیشخوان مشاوره بیمه و مالیات

- مشاوره بیمه تامین اجتماعی
- مشاوره مالیاتی



پیشخوان مشاوره توسعه بازار و فروش

- مشاوره بازاریابی دیجیتال



پیشخوان مشاوره عمومی مدیریت

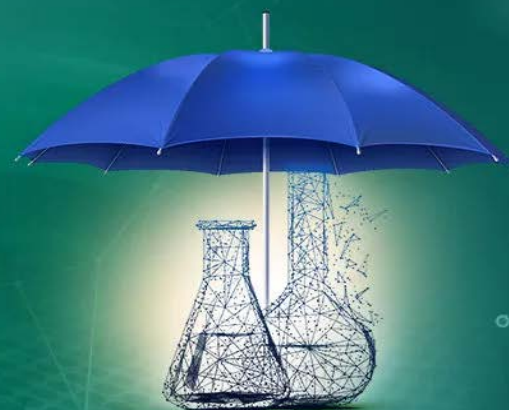
- مشاوره استراتژی و توسعه کسب و کار
- مشاوره منابع انسانی و آسیب شناسی
- مشاوره روابط عمومی و مدیریت ارتباط با مشتری

مراکز عضو شبکه آزمایشگاهی معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری برای بهره‌مندی از پیشخوان‌های مشاوره با حمایت ویژه شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی، لازم است به پورتال جامع خدمات کسب و کار مراجعه کرده و با استفاده از نام کاربری و کلمه عبور خود در سامانه شبکه آزمایشگاهی، به پنل کاربری وارد شوند. فهرست خدمات قابل ارائه به مراکز عضو، و امکان ثبت درخواست به صورت الکترونیکی از طریق این پورتال فراهم شده است.

لازم به ذکر است، شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی طیف وسیعی از خدمات را در قالب برنامه‌های توانمندسازی آزمایشگاه‌ها، شبکه‌سازی توانمندی‌ها و همچنین یارانه خدمات آزمایشگاهی به محققان و صنایع سراسر کشور ارائه می‌کند.

توانمندسازی آزمایشگاه‌ها

- ✓ استقرار نرم افزار مدیریت فرآیندهای آزمایشگاهی
- ✓ تعمیر، نگهداری و کالیبراسیون تجهیزات
- ✓ خرید نمونه‌های مرجع
- ✓ شرکت در دوره‌های آموزشی
- ✓ استقرار استانداردهای آزمایشگاهی
- ✓ خرید تجهیزات آزمایشگاهی



۲۰ میلیون ریال اعتبار

ویژه اعضای بنیاد ملی نخبگان

۹۰ درصد تخفیف



۴۰ میلیون ریال اعتبار

ویژه اعضای هیئت علمی سراسر کشور

۴۰ درصد تخفیف

آغاز ثبت نام: ۱۵ شهریور ۱۳۹۸

شروع استفاده: مهرماه ۱۳۹۸

ویژه فصل پاییز



مترجم

بهزاد ادیبی مطلق^{۱*}
شفق ولی پور^۲

adibi2002@gmail.com

۱. مدیر کیفیت مرکز خدمات تخصصی زیست فناوری
۲. کارشناس کیفیت، مرکز خدمات تخصصی زیست فناوری



مشخصات استاندارد برای آب مصرفی در آزمایشگاه

Designation: D1193 – 06 (Reapproved 2011)

در یک آزمون ممکن است وجود آلاینده‌های زیستی نقش مهمی داشته باشند. بنابراین اندازه گیری آنها و حتی طبقه‌بندی سطوح باکتری، اگر از نظر انجام آزمون مهم باشد، باید توسط کاربر انجام شود. بنابراین لزوم استفاده از یک استاندارد برای بررسی آب مصرفی در آزمایشگاه کاملاً احساس می‌شود.

در این استاندارد ویژگی‌های آب مناسب برای استفاده در آزمون‌های تحت پوشش استانداردهای ASTM آمده است. این استاندارد چهار نوع آب با سه درجه مختلف را تعریف می‌کند که این درجه بندی می‌تواند برای هر چهار نوع آب اعمال شود. این درجه‌بندی‌ها به طور ویژه آلودگی‌های با منشأ میکروبیولوژیکی را مورد توجه قرار می‌دهند. اگرچه این انواع آب و درجه‌بندی‌های مرتبط با آنها به طور ویژه برای استفاده در استانداردهای ASTM تعریف شده‌اند، اما ممکن است برای کاربردهای دیگری نیز مناسب باشد.

نویسندگان این استاندارد تلاش دارند تا کاربران این استاندارد اطمینان داشته باشند که نوع یا درجه آبی که انتخاب می‌کنند برای هدف تعیین شده آنها مناسب باشد. انواع آب‌های I، II، III، IV مرتبط با فرآیندهای ویژه تولید آنها است و بر این نکته تاکید می‌شود که این انواع آب می‌تواند با فناوری‌های جایگزین تولید شوند تا زمانی که تمامی مشخصات اصلی آن رعایت شود و آب تولید شده برای کاربردهایی که برای آن در نظر گرفته شده مناسب باشد.

در بخشی از این استاندارد راهنمایی برای کاربرد، آماده سازی، استفاده و نظارت، ذخیره‌سازی، حمل و نقل، توزیع، آزمایش آب‌ها و ارزیابی سیستم تصفیه آب ارائه شده است.

نویسندگان

افسون نارویی^{۱*}حمیدرضا نبوی^۲

*Aanarooie7792@gmail.com

روش‌های آماده‌سازی نمونه در آنالیز به روش طیف‌سنجی فلورسانس اشعه ایکس

واژه‌های کلیدی

طیف‌سنج فلورسانس اشعه ایکس، آماده‌سازی نمونه، نمونه همگن، روش قرص‌های فشرده، روش قرص‌های ذوبی، نمونه‌های جامد، نمونه‌های مایع، پودرهای نرم.

چکیده

مشابه هر روش آزمایشگاهی دیگر، آماده‌سازی بهینه نمونه برای انجام آنالیز شیمیایی با کیفیت بالا در آزمون فلورسانس اشعه ایکس^۴ ضروری بوده و یافتن روش مناسب برای این منظور، حائز اهمیت است. پنج روش رایج برای تهیه نمونه به‌منظور آنالیز به روش XRF وجود دارد. نمونه می‌تواند به یکی از صورت‌های قرص فشرده یا ذوبی، نمونه‌های جامد یا مایع و پودر نرم شده باشد که این اولین و مهم‌ترین مرحله در دستیابی به نتایج دقیق است. ما باید اطلاعات مطلوب را براساس نیاز، به‌طور دقیق، با تکرار (توسط اپراتورهای مختلف)، با روش‌های آسان، کم هزینه، دقیق و سریع ارائه دهیم.

در شروع کار، نمونه باید با استفاده از الک و احساس آردی شدن نمونه، مدت زمان آسیاب برای اطمینان از ریز شدن، بهینه‌سازی شده تا نمونه‌ای همگن تهیه شود. قرص‌هایی از نمونه تهیه می‌شود که دو نوع هستند: قرص‌های ذوبی و قرص‌های فشرده.

در قرص‌های ذوبی، نمونه با استفاده از کمک ذوب‌ها که بیشتر از ترکیبات عنصر بور (به ویژه بورات لیتیوم) هستند، ذوب می‌شود. در مورد قرص‌های فشرده، پودر نمونه با یک ماده چسبنده بی‌اثر مخلوط شده و در اثر فشار به قرص‌هایی تبدیل می‌شود که می‌توان آن‌ها را در دستگاه قرار داد. دیگر نمونه‌ها می‌توانند نمونه‌های جامد، مایع و یا پودرهای نرم باشند [۱ و ۲].

طیف‌سنجی فلورسانس اشعه ایکس یک روش تجزیه شیمیایی مقایسه‌ای بوده که قادر است بخش بزرگی از عناصر جدول تناوبی در مواد مختلف را شناسایی کند. از این روش، در صنعت و مراکز پژوهشی برای آنالیز لایه‌های سطحی مواد استفاده می‌شود. همچنین این دستگاه توانایی انجام آنالیز عنصری به صورت کمی برای نمونه‌های معدنی مانند: نمونه‌های زمین‌شناسی، کانی‌ها، سنگ‌ها، شیشه، سیمان، سرامیک‌ها، آلیاژهای فلزی و غیره را دارد. XRF تنها روش برای آنالیز عناصر است که اجازه می‌دهد اندازه‌گیری مستقیم نمونه بدون تخریب و هضم قبلی انجام شود.

یکسان بودن روش آماده‌سازی نمونه مورد مطالعه و نمونه استاندارد، یکنواخت و هموار بودن سطح مورد آزمایش نقش مهمی در دقت و صحت نتایج به دست آمده دارد؛ لذا روش‌های آماده‌سازی در این روش بسیار حائز اهمیت هستند.

برخلاف دیگر روش‌ها، آنالیز XRF نیازی به برنامه‌های آماده‌سازی سخت ندارد و روش‌های آماده‌سازی آن، ارزان، ساده، سریع و آسان هستند [۱ و ۳].

انواع نمونه‌های قابل استفاده در آنالیز به روش طیف‌سنجی فلورسانس اشعه ایکس

نمونه‌های بالک

نمونه‌های جامد شامل قطعاتی از نمونه‌های برش و جلا داده شده فلزی، الکترونیکی و یا پلاستیکی هستند که نیازی به آماده‌سازی ندارند. نمونه ایده‌آل برای تجزیه به روش XRF دارای یک سطح به طور کامل صاف است. اگر سطوح نمونه نامنظم باشد، فاصله بخش‌های مختلف نمونه تا منبع اشعه ایکس تغییر می‌کند؛ در ضمن پراکندگی پرتو اتفاق می‌افتد که باعث ایجاد خطا در نتایج حاصل از آنالیز خواهد شد. از آنجایی که تمام تجهیزات XRF براساس فاصله ثابت نمونه تا منبع اشعه ایکس، کالیبره می‌شوند، تغییر فاصله می‌تواند شدت هر عنصر موجود در نمونه را افزایش یا کاهش دهد. حتی برای نمونه‌های خیلی صاف، پرداخت سطح می‌تواند بر نتیجه آنالیز به ویژه برای عناصر سبک تاثیرگذار باشد.

نمونه‌های پودر

در مرحله نمونه‌برداری ۱۰ کیلوگرم برداشت می‌شود. ۱۰ تا ۱۰۰۰ گرم پودر از آسیاب آن مهیا شده و ۱ تا ۱۰ گرم نمونه ذوب شده بدست می‌آید. برای جدا کردن نمونه جامد به منظور آزمایش نکات زیر رعایت شود:

- مقدار نمونه انتخابی نماینده کل نمونه مورد آنالیز باشد؛
- همگن باشد؛
- اندازه ذرات به اندازه کافی کوچک باشد؛
- سطح مورد آنالیز صاف و بدون بی‌نظمی باشد [۱، ۲ و ۶].

هدف از آماده‌سازی، بدست آوردن نمونه‌ای معرف و نرم است که مراحل آن برای نمونه‌های جامد عبارتند از:

۱. خشک کردن: در ابتدا تمام نمونه‌ها با حرارت لازم به طور کامل خشک می‌شوند؛

۲. خردایش: در این مرحله، نمونه‌ها با استفاده از سنگ‌شکن‌های فکی تا ابعاد حدود ۳ الی ۷ میلی‌متر خرد می‌شوند؛
۳. نمونه‌گیری: از نمونه خرد شده به طور حدودی ۵۰ گرم با استفاده از تقسیم کننده‌های شانه‌ای انتخاب می‌شود؛
۴. نرمایش: نمونه آماده شده با استفاده از آسیاب دیسکی در مدت زمان لازم تا حدود ۷۵ میکرون (مش ۲۰۰) نرم می‌شود. در صورت لزوم قرص‌هایی از نمونه تهیه می‌شود که دو نوع هستند: قرص‌های ذوبی و قرص‌های فشرده.

پودرهای نرم

در آنالیز مواد پودری، نمونه به طور معمول در یک نگهدارنده پلاستیکی با محافظ فیلم پلاستیکی قرار داده می‌شود. سطح نمونه که در معرض پرتو ایکس است باید صاف باشد. به طور دقیق‌تر، نمونه به صورت همگن و بدون فضای خالی برای آنالیز مناسب است. برای اطمینان از شناسایی تمام عناصر باید ضخامت مناسبی از پودر ایجاد شود؛ لذا به طور متداول حدود ۱۵ گرم نمونه استفاده می‌شود.

قرص‌های فشرده

فشرده‌سازی پودر تشکیل دهنده قرص‌ها، امری حساس است. این فرآیند شامل آسیاب کردن نمونه برای بدست آوردن یک پودر خوب با حالت ایده‌آل، اندازه ذرات کمتر از ۷۵ میکرومتر و سپس مخلوط کردن آن‌ها با چسب مناسب و اعمال فشار حدود ۲۰ تا ۳۰ نیوتن بر مخلوط همگن درون قالب برای تولید قرص نمونه‌ها است. چسب به طور معمول از ترکیبات بی‌اثر مانند موم سلولزی، نشاسته و غیره است که با نسبت ۲۰ تا ۳۰ درصد با نمونه مخلوط می‌شود. این روش آماده‌سازی نمونه به دلیل آسیاب کردن، فشرده‌سازی نمونه‌های همگن و ایجاد قرص با ضخامت کافی و بدون فضای خالی، نتایج آنالیز بهتری نسبت به پودر نرم می‌دهد.

قرص‌های فشرده به اثر اندازه ذرات حساس هستند. بزرگترین محدودیت این روش، اثرات ساختار نمونه (بافت^۵ نمونه) است که به طور عمده بر آنالیز عناصر اصلی تاثیر می‌گذارد. تهیه قرص‌های

محافظ مناسبی به‌منظور جلوگیری از نفوذ آلودگی استفاده شود. در زمان آنالیز مایعات باید محیطی شفاف در مقابل اشعه ایکس قرار گیرد، لذا باید پوشش محافظ مناسبی بکار برد. طیف گسترده‌ای از پوشش‌های محافظ ضخیم مانند کاپتان^۶، پلی پروپیلن^۷ و مایلر^۸ برای استفاده وجود دارند. این فیلم‌ها در شرایط کنترل شده زیست محیطی طراحی شده تا عاری از آلاینده‌هایی باشند که بر اطلاعات XRF تأثیر می‌گذارد.

مایلر انتخابی عالی برای نگهداری و آنالیز نمونه‌های مایع است و بیشتر برای شناسایی گوگرد در سوخت‌ها و روغن‌ها استفاده می‌شود. این فیلم محافظ، استحکام کششی بالایی داشته و باعث انعکاس پرتو نمی‌شود. با این حال، از لحاظ شیمیایی با استرها، آروماتیک‌ها، کتون‌ها و یا الکل‌های آلیفاتیک سازگار نیست.

پلی پروپیلن فیلم نازک پلاستیکی است که دارای درصد عبور بالای پرتو هم برای عناصر سبک و هم برای عناصر سنگین، حتی در غلظت‌های پایین است. به‌طور معمول ضخامت ۶ تا ۱۲ میکرومتر دارد که افزایش ضخامت آن به امنیت فیلم در برابر پاره شدن تصادفی آن می‌افزاید. پلی پروپیلن دارای انتقال پرتو بهتری به نسبت مایلر بوده، اما دارای استحکام کششی کمتری است.

کاپتان یک ماده پلی ایمید قوی با رنگ نارنجی یا زرد درخشان در طیف گسترده‌ای از درجه حرارت پایدار است و به‌طور معمول ضخامتی حدود ۷/۵ میکرومتر دارد. کاپتان به‌صورت تقریبی هر نمونه‌ای را پشتیبانی می‌کند.

هنگامی که بهترین فیلم محافظ انتخاب شد، در بالای کاپ نمونه قرار می‌گیرد و یک عدد حلقه پلاستیکی که کمی بزرگتر از کاپ نمونه است روی آن به آرامی اما محکم، فشار داده می‌شود. این فیلم باید تا حد ممکن صاف باشد زیرا هر چروکی روی نتیجه آنالیز تأثیر می‌گذارد.

پس از این که کاپ نمونه با فیلم مناسب پوشش داده شد، سل به طیف‌سنج XRF منتقل و آنالیز نمونه انجام می‌شود. پس از تکمیل آنالیز، می‌توان سل را برای آزمایش و استفاده مجدد بازیابی کرد و یا اینکه دیگر از آن استفاده نکرد [۱، ۲، ۴ و ۵].

نکات مهم در آماده‌سازی نمونه برای آنالیز دقیق XRF

از الزامات آماده‌سازی نمونه برای آزمون اطمینان از ریز بودن نمونه به اندازه کافی است تا در نهایت نمونه همگنی فراهم آید بدین منظور پس از خردایش، نمونه را از الک با مش مناسب عبور داد. لذا باید مدت زمان مناسبی برای آسیاب کردن نمونه تعیین کرد. زمان دستگاه آسیاب از روی تأثیر آن در ریز شدن نمونه مشخص می‌شود.

در صورت نیاز به داشتن قرص، قرص فشرده از نمونه تهیه می‌شود، لذا باید اندازه ذرات نمونه یکنواخت باشد. به‌منظور کاهش گرما و خنک کردن هنگام آماده‌سازی نمونه‌ها، تا ۱۰ درصد از

فشرده به نسبت ساده و ارزان بوده و برای آماده‌سازی آن‌ها فقط دستگاه آسیاب پودر و پرس نمونه نیاز است. این قرص‌ها برای اندازه‌گیری عناصر در محدوده ppm عالی هستند.

قرص‌های ذوبی

قرص ذوبی، نمونه یکنواختی برای XRF است؛ به همین دلیل به‌عنوان روشی ایده‌آل برای آماده‌سازی جامدات محسوب می‌شود. قرص ذوبی با مخلوطی از نمونه نرم شده (اندازه ذرات کمتر از ۷۵ میکرومتر) و ماده‌ای گدازآور (کمک ذوب) با نسبت مشخص (ماده گدازآور/ نمونه از ۱:۵ تا ۱:۱۰) با حرارتی در دمای ۹۰۰ تا ۱۰۰۰ درجه سانتیگراد درون بوته پلاتینی تولید می‌شود. نمونه در مخلوط تترابورات لیتیوم یا مخلوط متابورات/تترابورات حل شده و در یک قالب ته صاف ریخته می‌شود. دیسک شیشه‌ای حاصل شده یا قرص ذوبی بدست آمده، نماینده‌ای همگن از اکسیدهای آزاد مواد معدنی است [۹].

از مزایای این روش، کاهش اثرات کانی‌شناسی یا اثرات بافت است که منجر به نتایج دقیق‌تر و توانایی ترکیب چندین نوع نمونه با برنامه کالیبراسیون مشابه است.

استفاده کمتر از قرص‌های ذوبی بدلیل رقت نسبی بالای نمونه است که اثر منفی بر آنالیز عناصر کمیاب دارد. قرص‌های ذوبی معمولی ضخامتی حدود ۳ میلی‌متر دارند و به علت ضخامت برای عناصر سنگین‌تر حساس هستند. قرص‌های ذوبی معمولاً به هزینه‌های اولیه بالاتری نیازمندند.

نمونه‌های مایع:

برای مایعاتی همچون روان کننده‌ها، سوخت‌ها و روغن‌ها، بهبود کیفیت و فرمول‌های جدید و پیچیده به‌منظور کاهش هزینه‌ها در حال بررسی است. در نتیجه، محققان باید میزان و نوع آلودگی مایعات را بررسی کنند. فلورسانس اشعه ایکس، آلاینده‌ها و مقادیرشان را به درستی ردیابی و شناسایی می‌کند. XRF روش مناسبی برای پایش بنزین، سوخت‌های دیزلی، نفت، نفت گاز، نفت خام، سوخت‌های زیستی، افزودنی‌های روان کننده و زباله‌های پالایشگاه‌های نفت است.

این روش مطابق با استانداردهای بین‌المللی ASTM است، بطور مثال:

■ D۲۶۲۲: روش استاندارد برای بررسی گوگرد در محصولات نفتی [۱۰]؛

■ D۶۳۳۴ و D۵۰۵۹: روش‌های استاندارد برای تشخیص گوگرد و سرب در بنزین [۱۱ و ۱۲].

یک کاپ نمونه XRF، یک فویل شفاف و یک طیف‌سنج XRF لوازم اساسی مورد نیاز هستند. انواع کاپ‌های نمونه با توجه به نیاز، وجود دارند که به‌صورت یکبار مصرف طراحی شده‌اند.

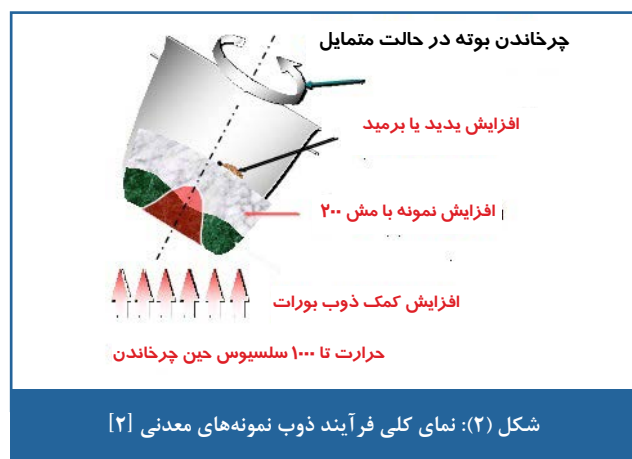
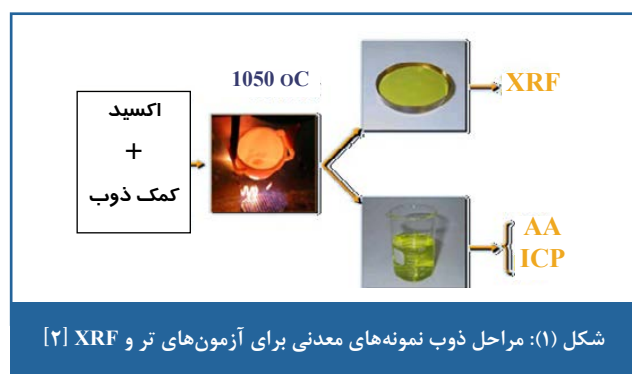
مایعات با روشی مشابه به نمونه‌های پودری نرم داخل ظرف نمونه پلاستیکی ریخته می‌شوند. برای آنالیز نمونه‌های مایع محدودیت‌های زیادی وجود دارد اما نکته اصلی این است که از فیلم

جدول (۱): مقایسه نتایج حاصل از آنالیز یک نمونه مشابه با اندازه ذرات متفاوت [۱]

روش ذوبی	<75 μm	>75 μm
SiO ₂	۳۶/۹	۳۱/۸
TiO ₂	۰/۴۴	۰/۳۱
Al ₂ O ₃	۹/۴۰	۱۰/۶۱
Fe ₂ O ₃	۰/۰۷	۰/۰۷
MnO	۰/۲۹	۰/۲۴
MgO	۱۲/۳	۱۰/۵
CaO	۳۴/۳	۴۱/۳
Na ₂ O	n/d	n/d
K ₂ O	۰/۰۱	۰/۰۲
P ₂ O ₅	۰/۰۰۲	۰/۰۰۸
Cr ₂ O ₃	۴/۲۸	۲/۹۳
V ₂ O ₅	۰/۰۵	۰/۰۵
SO ₃	۰۷/۰	۱/۰

دستوالعمل عمومی به منظور تهیه قرص ذوبی

به منظور آماده‌سازی در روش ذوبی، همانطور که در شکل‌های (۱) و (۲) آمده است باید نمونه را هنگام چرخاندن تا ۱۰۰۰ درجه سانتیگراد حرارت داد. بوته حاوی بورات مذاب را توزین نمود و به آن نمونه ۲۰۰ مش اضافه کرد. یدید یا برومید به عنوان عامل جلوگیری کننده از چسبندگی قرص به قالب افزوده می‌شود.



میکرو سلول‌ها استفاده می‌شود. قابل توجه است که قرص‌های آماده شده باید پایدار، بدون ترک خوردگی و بدون گرد و غبار آلوده کننده باشند [۱ و ۷].

دستوالعمل عمومی به منظور تهیه قرص فشرده

خرد کردن در آسیاب (ظرف ۱۰۰ سی‌سی) به مدت ۹۰ ثانیه، که گاهی بسته به بافت نمونه ۴۵ تا ۱۲۰ ثانیه به زمان نیاز دارد. ۵ تا بیش از ۲۰ گرم از نمونه مجهول در ظرف ۱۰۰ سی‌سی، ریخته می‌شود.

مقدار سلولز مصرفی ۰/۵ گرم (حداکثر ۲ گرم) است. سلولز در صورت نیاز براساس حجم نمونه و روش آماده‌سازی (به عنوان مثال، برای نمونه‌هایی که با روش کاپ یا ساندویچ فشرده آماده می‌شود) مورد استفاده قرار می‌گیرد. نمونه به مدت زمان ۱۵ ثانیه در فشار ۲۰ تا ۳۰ نیوتن در قالب یا رینگ‌های مخصوص فشرده می‌شود [۱ و ۲].

چرا و چه زمانی از آماده‌سازی به روش قرص فشرده استفاده می‌شود؟

آنجا که مواد مرجع با بافت یکسان در دسترس بوده و از طرفی مرجع (استاندارد) و نمونه به اندازه کافی مشابه هم باشند ارتباط بین استانداردها و نمونه به خوبی برقرار می‌شود. لذا آنالیز اجزای مجهول، به طور مطلوب صورت می‌پذیرد. همچنین به دلیل سهولت استفاده و راحتی آموزش به اپراتور، هزینه پایین و سرعت بالا، برای نمونه‌هایی که دارای قابلیت آماده‌سازی با این روش هستند، برای ردیابی عناصر مورد نظر و تشخیص نمونه‌های مجهول این روش پیشنهاد می‌شود [۱، ۲ و ۶].

اثر اندازه ذرات بر پودرهای در معرض فشار برای آنالیز با XRF

شکل و اندازه ذرات، تعیین کننده میزان فشار مورد استفاده در مرحله آماده‌سازی است. همچنین ضخامت لایه مورد آنالیز تحت تاثیر اندازه و چگونگی توزیع ذرات است. قابل ذکر است که اندازه ذرات، شکل و اثر مسطح بودن را در بیشتر مواقع نمی‌توان پیش‌بینی کرد و با نوع بافت متفاوت خواهد بود [۱]. در جدول شماره (۱)، مقایسه نتایج حاصل از آنالیز یک نمونه مشابه با اندازه ذرات متفاوت، ارایه شده است [۱].

مزایا و معایب روش فشرده‌سازی پودر

■ مزایا:

همان گونه که ذکر شد از مزایای این روش، سرعت بالا، هزینه کم، سهولت در یادگیری، دقت بالا و حد تشخیص خوب آن است.

■ معایب:

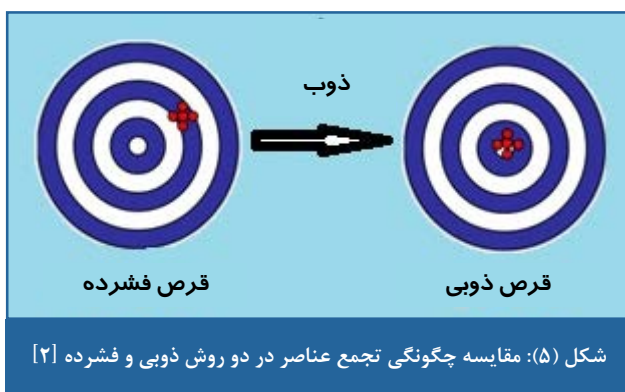
معایب قابل بیان این روش، اثر اندازه ذرات، زبری سطح، ناهمگنی و مشکلات مربوط به بافت نمونه است [۱، ۲ و ۶].

مزایای استفاده از این روش

- حذف اثر اندازه ذرات؛
- حذف اثر کانی‌شناسی؛
- حذف اثر زبری؛
- تامین سطح یکنواخت عالی؛
- ایجاد استانداردهایی با بافت یکنواخت ناشناخته؛
- اجازه تصحیح بافت؛
- ارائه بالاترین دقت؛
- ارائه صحت بالا؛
- اجازه استفاده از استانداردهای با بافت غیرهمسان؛
- اجازه ایجاد استانداردهای ترکیبی؛
- استفاده آسان.

دقت و صحت اندازه‌گیری در روش ذوبی

همان‌طور که در شکل (۵) مشاهده می‌شود دقت (نزدیکی و توافق بین نتایج در آزمون‌های تکراری) و صحت (نزدیکی نتایج به نتیجه واقعی) در روش قرص ذوبی قابل ملاحظه است. اما با توجه به آنچه که در شکل (۵) سمت چپ و جدول (۲) نمایان است نتایج آزمون XRF که نمونه به روش پودر فشرده آماده شده، علی‌رغم دقت نتایج دارای صحت به نسبت متوسطی است.

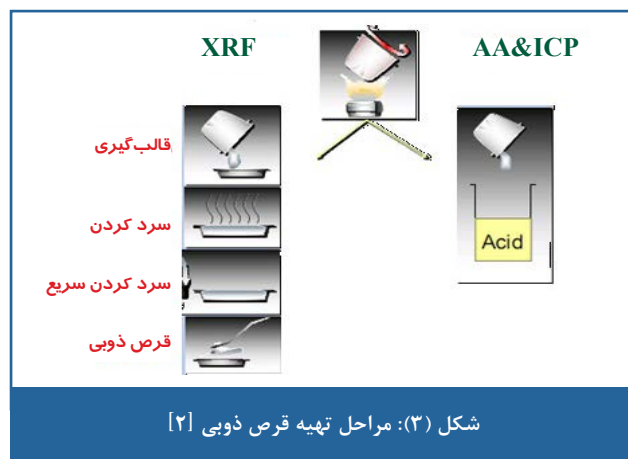


شکل (۵): مقایسه چگونگی تجمع عناصر در دو روش ذوبی و فشرده [۲]

جدول (۲): مقایسه پودر فشرده با ذرات ذوب شده در یک نگاه (۱ و ۲)

روش ذوبی	ذرات ذوب شده	پودر فشرده
اندازه مطلوب پودر (میکرون)	۱۰۰ تا ۲۰۰ (راحت)	۵ تا ۳۰ (سخت)
استانداردهای دریافتی	راحت (ترکیبی)	سخت
تأثیرپذیری از اندازه ذرات	خیر	بله
تأثیرپذیری کانی‌شناسی	خیر	بله
زمان مورد نیاز برای یک نمونه (دقیقه)	۱۵	۵
زمان مورد نیاز برای سه نمونه (دقیقه)	۱۵ (در صورتی که دستگاه سه نمونه هم‌زمان ذوب کند)	۱۵
دقت	۱/۱ تا ۱ درصد	۱/۱ تا ۱۰ درصد

برای آماده‌سازی مطابق شکل (۳)، نمونه را در قالب مخصوص ریخته، ابتدا به تدریج در معرض هوای آزاد سپس با خنک کننده قوی سرد می‌شود، در پایان قرص شیشه‌ای بدست می‌آید [۱، ۲ و ۸].



شکل (۳): مراحل تهیه قرص ذوبی [۲]

این روش برای خاک‌ها، خاک رس در زمین‌شناسی، کاتالیزورها، شیشه‌ها و سنگ‌های معدنی مورد استفاده است (شکل (۴)).



شکل (۴): نمونه‌هایی از قرص‌های مذاب تهیه شده، از نمونه‌های خاک، خاک رس و زمین‌شناسی، کاتالیزورها و شیشه‌ها [۲]

اما یک سوال اساسی در اینجا مطرح است که در تهیه قرص‌های ذوبی برای عناصر S, Cl, F, Br موجود در نمونه‌ها چه اتفاقی می‌افتد؟

قرص ذوبی نمونه‌های حاوی عناصر مذکور، مشابه دیگر نمونه‌ها با اضافه کردن کمک ذوب تهیه می‌شود. در مواردی که احتمال فراریت عناصر مذکور باشد از ممانعت کننده‌های مناسب استفاده می‌شود.

چه زمانی از روش ذوبی استفاده می‌شود؟

اگر استانداردها یا نمونه‌هایی با بافت یکسان وجود نداشته باشد، این مورد بیشترین استفاده را دارد. به عبارت دیگر، زمانی که شما می‌دانید نمونه و استانداردها دارای بافت همسانی نیستند، یا وقتی محدوده کالیبراسیون بزرگتری برای مواد مورد نیاز باشد از روش ذوب استفاده می‌شود [۱، ۲ و ۸].

نتیجه‌گیری

روش‌های بسیاری برای تهیه نمونه به‌منظور آنالیز با دستگاه XRF وجود دارد که روش انتخابی به نوع نمونه، میزان هزینه مورد نظر و کیفیت نتایج مورد نیاز وابسته است.

روش آماده‌سازی خوب و اندازه مناسب ذرات باعث می‌شود تا تاثیر تداخل بافتی و تداخل طیفی کمتر شده و در نتیجه، دقت و صحت نتایج افزایش یابد، لذا در اولین گام، مهمترین مرحله به‌منظور دستیابی به نتایج دقیق دستیابی به روش مناسب برای آماده‌سازی نمونه است. توجه در یکسان بودن روش آماده‌سازی نمونه مجهول و نمونه استاندارد نقش مهمی در دقت و صحت نتایج حاصله دارد؛ لذا روش‌های آماده‌سازی در این روش بسیار حائز اهمیت هستند.

پی‌نوشت

۱. کارشناسی ارشد شیمی معدنی، سازمان زمین‌شناسی و اکتشافات معدنی کشور، مرکز زاهدان
۲. کارشناسی ارشد شیمی فیزیک، مرکز پژوهش متالورژی رازی
۳. عضو کارگروه تخصصی پرتو ایکس

4. X-Ray Florescence (XRF)
5. Matrix
6. Kapton
7. Polypropylene
8. Mylar

مراجع

- [1] Dave Coler, The 5 most common ways to prepare samples for XRF analysis, 2015
- [2] John A. Anzelmo, Mathieu Bouchard, Marie-Ève Provencher, X-ray Fluorescence Spectroscopy, Part II: Sample Preparation, Spectroscopy, Volume 29, Issue 7, Jul 01, 2014
- [3] James P. Willis, Clive E. Feather, Ken Turner, Guidelines for XRF Analysis, 2014
- [4] Victor E. Buhrke, Ron Jenkins, Deane K. Smith, Preparation of specimens for X-ray fluorescence and xray diffraction analysis, ISBN 0-471-19458-1, New York, USA, 1998
- [5] V. Buhrke, R. Jenkins, D. Smith, Preparation of Specimens for X-ray Fluorescence and X-ray Diffraction Analysis, Wiley-VCH, New York, pp. 83–100, 1998
- [6] Denver X-ray Conference XRF sample preparation workshop, available at: <http://www.dxcicdd.com/14/program.htm#workshops>
- [7] M. Bouchard, J.A. Anzelmo, S. Rivard, A. Seyfarth, L. Arias, K. Behrens, S. Durali-Muller, Adv. X-Ray Anal, 53, 263–279, 2010
- [8] Corporation Scientifique Claisse Inc., Advances in XRF sample preparation by fusion, Sainte-Foy (Quebec), Canada, 2001
- [9] Ming-Xing Ling, Ying Liu, Hong Zhang, Weidong Sun, Sample Preparation and X-Ray Fluorescence Analysis of Sulfide Ores, Pages 1598-1605, Received 04 Nov 2013, Accepted 10 Dec 2013, Accepted author version posted online: 24 Feb 2014, Published online: 24 Feb 2014
- [10] ASTM D2622-16, Standard Test Method for Sulfur in Petroleum Products by Wavelength Dispersive X-ray Fluorescence Spectrometry, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2016, www.astm.org
- [11] ASTM D6334-12(2017)e1, Standard Test Method for Sulfur in Gasoline by Wavelength Dispersive X-Ray Fluorescence, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2017, www.astm.org
- [12] ASTM D5059-07, Standard Test Methods for Lead in Gasoline by X-Ray Spectroscopy, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2007, www.astm.org

نویسندگان

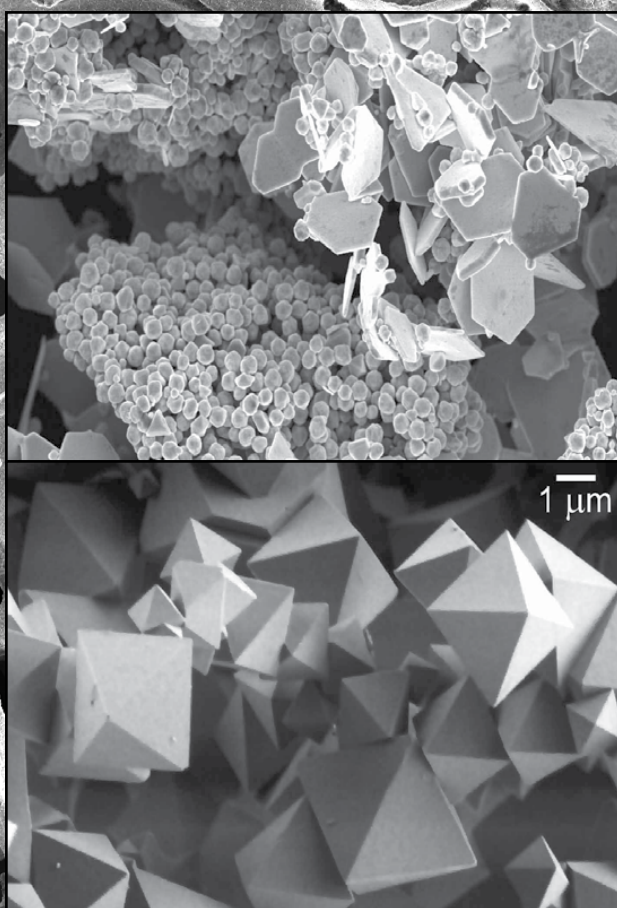
مینا محبی مراد^۴*مریم خسروی^۴غلامرضا دهقان^۴

*M_mohebi32@yahoo.com

معرفی روش واشتابی پرتو به منظور بهبود عملکرد تصویربرداری در میکروسکوپ الکترونی روبشی

چکیده

واشتابی پرتو^۵ روشی به نسبت ساده برای کاهش انرژی پرتو الکترونی و بهبود عوامل تصویربرداری مانند قدرت تفکیک و کنتراست است. میکروسکوپ الکترونی روبشی^۶ از یک پرتو الکترونی به شدت کانونی شده برای روبش سطح نمونه استفاده می‌کند. انرژی الکترون‌های تشکیل دهنده یک پروب با پتانسیل الکتریکی منبع الکترونی که به ولتاژ تسریع کننده یا ولتاژ بالا^۷ معروف است، تعیین می‌شود. تعداد دفعات شتابدهی یا واشتابی الکترون‌ها در داخل ستون الکترونی اهمیتی نداشته و الکترون‌ها با یک انرژی متناظر با ولتاژ بالا ستون را ترک می‌کنند. ولتاژ بالا به‌طور معمول در یک دامنه از ۲۰۰ ولت تا ۳۰ کیلو ولت برای بیشتر دستگاه‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی قابل کنترل است و به اپراتور اجازه می‌دهد تا انرژی پرتو الکترونی متناسب با کاربرد مورد نظر را انتخاب کند. تصویربرداری با پرتو الکترونی با انرژی خیلی کم، که در سال‌های اخیر نشان از توسعه دستگاهی میکروسکوپ الکترونی روبشی بوده، بسیار حائز اهمیت است. امروزه کاربرد میکروسکوپ در ولتاژ پایین، موضوع مورد بحث در بسیاری از کنفرانس‌های علمی مرتبط با میکروسکوپ است و به‌طور کلی این امر با یک لنز شناور^۸ و تفنگ الکترونی گسیل میدانی در دستگاه SEM، به دلیل دانسیته بهتر جریان پرتو میسر می‌شود. قابل ذکر است در میکروسکوپ‌های الکترونی با منابع الکترونی ترمیونی نیز با استفاده از روش واشتابی پرتو، پرتو الکترونی حاصل در ولتاژ پایین به مقدار قابل توجهی بهبود می‌یابد.



واژه‌های کلیدی

میکروسکوپ الکترونی روبشی، واشتابی پرتو، الکترون‌های برگشتی، لنز کاتدی، انرژی فرودی.

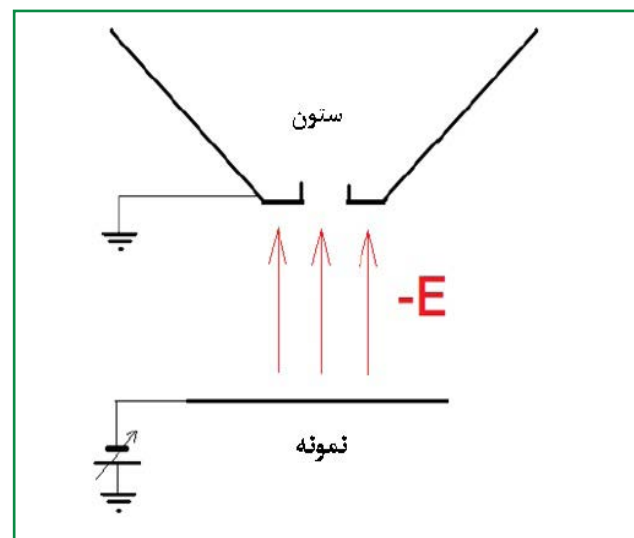
مقدمه

امروزه تحقیقات گسترده‌ای برای دستیابی به وضوح و قدرت تفکیک بالاتر روی میکروسکوپ‌های الکترونی انجام شده‌است. در حال حاضر اوج هنرنمایی دستگاه‌های موجود در حدود ۱ نانومتر برای دستگاه میکروسکوپ الکترونی گسیل میدانی از نوع شاتکی است. بهترین وضوح تصویر به‌طور معمول در ولتاژهای بالا بین ۱۵ تا ۳۰ کیلو ولت به‌دست می‌آید. در حالی که وضوح تصویر در اصل به دلیل افزایش خطاهای کروماتیک در ولتاژهای پایین، کمتر اتفاق می‌افتد. به هر حال، ولتاژهای پایین برای بررسی مواد نارسانا، نیمه‌رسانا، پلیمرها، نمونه‌های زیستی و مواد مقاوم حساس به اشعه در لیتوگرافی مناسب است و به کاربر میکروسکوپ اجازه می‌دهد که جزئیات خیلی ظریف سطح را که نمی‌توان در ولتاژهای بالا مشاهده کرد، تشخیص داد. چندین پیشنهاد در رابطه با بهبود عملکرد SEM در ولتاژهای پایین ارائه شده‌است که یکی از آنها لنز کاتدی^۹ است که در طول ستون با استفاده از یک ولتاژ منفی در نمونه، باعث کند شدن سرعت پرتو الکترونی که ولتاژ بالایی دارد، می‌شود. در این مورد، الکترون‌های ثانویه با استفاده از بایاس منفی نمونه، شتاب داده می‌شوند و شبیه به الکترون‌های برگشت داده شده^{۱۰} با انرژی بالا آشکارسازی می‌شوند. اساس این روش، فناوری واشتابی پرتو نامیده می‌شود که در ادامه به تعریف، کاربرد، مزایا و محدودیت‌های آن پرداخته شده‌است [۱].

واشتابی پرتو چیست؟

کلیات فیلتراسیون غشایی

واشتابی پرتو روشی به نسبت ساده برای کاهش انرژی پرتو الکترونی اولیه بعد از ترک ستون است که به نوبه خود، وضوح یا کنتراست تصویر را بهبود می‌بخشد. مشخصه اصلی روش این است که نمونه در یک ولتاژ بایاس منفی بالا^{۱۱} نگه داشته شود؛ بنابراین، الکترون‌های ترک کننده ستون قبل از اینکه به سطح نمونه برسند از سرعت آنها کاسته می‌شود. این میدان الکتریکی واشتاب شده به‌صورت لنز نفوذی اضافی (لنز کاتدی) عمل می‌کند [۲، ۳ و ۶].



شکل (۱): اصول واشتابی پرتو: نمونه در یک بایاس منفی ولتاژ نگه داشته می‌شود و الکترون‌ها در حال ترک کردن ستون قبل از رسیدن به نمونه، واشتاب می‌شوند [۴].

«انرژی فرودی^{۱۲}» عبارتی است که برای شرح انرژی الکترون‌های واشتاب داده شده‌ای که به نمونه برخورد می‌کنند، به کار می‌رود. انرژی فرودی با استفاده از فرمول زیر قابل محاسبه است:

$$LE = -e (HV - SB)$$

که در آن: LE انرژی فرودی الکترون‌های پروب بر حسب الکترون‌ولت (eV)، e شارژ اولیه، HV ولتاژ بالا (منفی) و SB ولتاژ بایاس نمونه (منفی) است.

برای مثال، اگر ولتاژ تفنگ الکترونی ۵ کیلو الکترون ولت و بایاس نگه‌دارنده نمونه ۴ کیلو الکترون ولت باشد، الکترون ابتدا در ستون به انرژی ۵ کیلو الکترون ولت شتاب داده می‌شود. همان‌طور که پرتو الکترونی ۵ کیلو الکترون ولتی ستون الکترونی را ترک می‌کند، به واسطه بایاس منفی ۴ کیلو الکترون ولت، از سرعتشان کاسته شده و به انرژی فرودی ۱ کیلو الکترون ولت می‌رسند. بنابراین، الکترون‌های اولیه با همان انرژی که اگر ولتاژ تفنگ الکترونی ۱ کیلو الکترون ولت (بدون واشتابی پرتو) بود، به سطح نمونه می‌رسند.

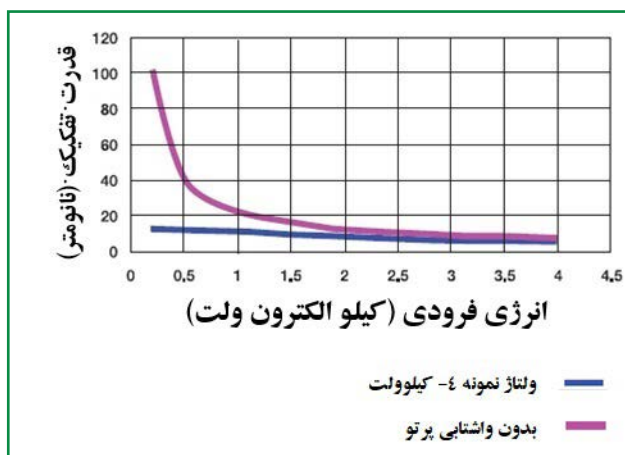
انگیزه اصلی برای این کار، دستیابی به تصویری قابل قبول در انرژی‌های فرودی خیلی پایین به چند ده یا چند صد الکترون ولت است. واشتابی پرتو و روش‌های مشابه موضوع‌های جدیدی نیستند و خیلی از مقالات علمی درباره این موضوع به چاپ رسیده‌اند. با این حال آنچه که جدید است، استفاده از این روش در دستگاه‌های تجاری برای دامنه گسترده‌ای از کاربردهاست، نه فقط برای دستیابی به شرایط تصویری بهتر، بلکه برای بهبود عملکرد شرایط اپراتوری نیز است [۵].

در یک صورت‌بندی هندسی، قدرت لنز کاتدی فقط با یک عامل شرح داده می‌شود، «نسبت شناوری»^{۱۴}. نسبت شناوری (K) نسبتی بین انرژی پرتو اولیه و انرژی فرودی است که با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$K = -e HV / LE = HV / (HV - SB)$$

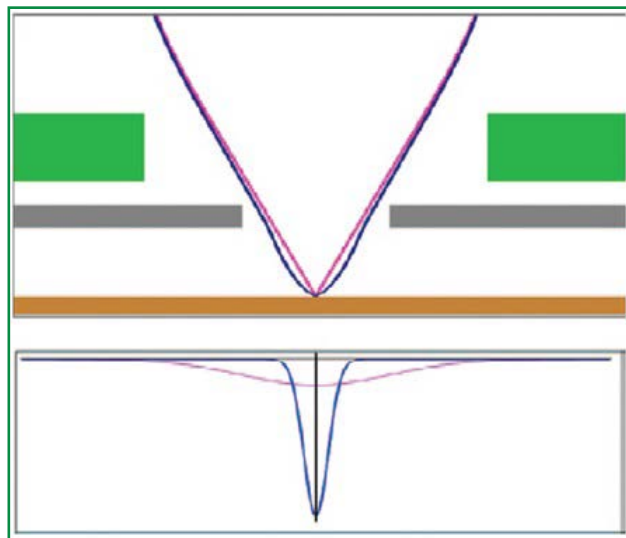
هر چه نسبت شناوری بیشتر باشد، قدرت لنز شناور بیشتر می‌شود. جالب‌ترین ویژگی لنز از نقطه نظر قدرت تفکیک، نقایص محوری است که نقایص کروماتیک^{۱۵} و کروی^{۱۶} نیز نامیده می‌شوند. ضرایب هر دوی این نقایص محوری، با افزایش نسبت شناوری k، به‌طور چشمگیری افت می‌کند. برای مثال، ضریب نقایص کروماتیک Cc که تأثیر عمده‌ای در قدرت تفکیک در انرژی‌های فرودی پایین دارد، بیشتر نسبت عکس با نسبت شناوری k دارد. این امر منجر به جبران جزئی زوال قطر پرتو در پرتو کم‌انرژی می‌شود که در مواردی که واشتابی پرتو استفاده نشده، مشاهده شده‌است. این موضوع در شکل (۳) نشان داده شده‌است.

شکل (۳) مثالی از قدرت تفکیک محاسبه شده از تنظیمات واشتابی پرتو در دستگاه SEM با منبع الکترونی ترمیونی (فیلمان تنگستن) است، لنزهای رایج و بایاس نمونه $SB = -4 \text{ kv}$ ، با نمونه بایاس نشده، مقایسه شده‌است. همان‌گونه که مشاهده می‌کنید، قدرت تفکیک در انرژی‌های فرودی پایین در مورد واشتابی پرتو، بخصوص در انرژی‌های پایین‌تر از ۲ کیلو الکترون ولت به‌طور چشمگیری بهبود یافته است.



شکل (۳): قدرت تفکیک محاسبه شده در تنظیمات واشتابی پرتو در یک SEM با منبع الکترون ترمیونی و لنزهای مغناطیسی رایج با و بدون واشتابی پرتو (بایاس نمونه $SB = -4 \text{ kv}$) [۴].

حتی یک مقدار نسبتاً کم برای نسبت شناوری، به‌طور قابل توجهی قطر پرتو را بهبود می‌دهد. این موضوع در شکل (۴) در تصاویر گرفته شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی گسیل میدانی، با لنز نهایی رایج و نه شناور نشان داده شده‌است. قدرت تفکیک انرژی فرودی با مقدار ۱ کیلوولت با استفاده از واشتابی پرتو، به مقدار ۱/۵ برابر بهبود می‌یابد.



شکل (۲): نمای مسیر پرتو الکترونی در یک صورت‌بندی کلی زمانی که لنز کاتدی فعال نیست (رنگ ارغوانی) و زمانی که لنز کاتدی فعال است (رنگ آبی) و پروفایل متناظر پرتو (شکل پایین). قسمت سبز رنگ قسمت پایینی لنز مغناطیسی است. پرتو بین آشکارساز الکترون برگشتی (ناحیه طوسی رنگ) و نمونه (ناحیه قهوه‌ای رنگ) واشتاب می‌شود. با اینکه پرتو واشتاب شده زاویه باز بالاتری دارد اما قطر تیزتر را ایجاد می‌کند [۴].

مزایای پرتو واشتاب شده

ازجمله مزایای تصویربرداری با استفاده از روش واشتابی پرتو می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱. میدان الکتریکی بین نمونه و ستون، یا هر آشکارسازی که به‌طور مستقیم زیر ستون قرار دارد، یک لنز الکترواستاتیک (لنز کاتدی) ایجاد می‌کند که تأثیر خیلی زیادی روی خواص اپتیکی الکترونی دستگاه دارد. همان‌طور که بعداً نشان داده خواهد شد، لنز کاتدی می‌تواند قدرت تفکیک تصویر را در انرژی فرودی پایین بهبود دهد.

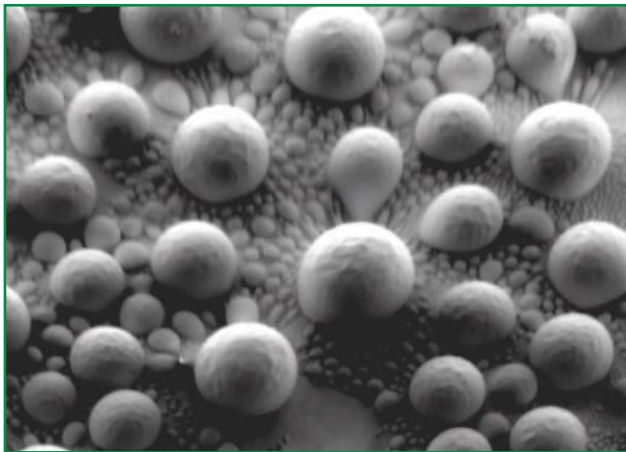
۲. تمامی سیگنال‌های الکترونی که از نمونه بایاس منفی شده خارج می‌شوند به سمت پایین‌ترین جزء محفظه نمونه تسریع داده می‌شوند. سیگنال‌های الکترونی زمانی که به آشکارساز می‌رسند، انرژی بالاتری دارد و مسیرهای^{۱۳} سیگنال الکترونی اصلاح می‌شوند. این امر، کارایی سیگنال جمع‌آوری کننده را افزایش می‌دهد.

۳. تصویربرداری با انرژی‌های فرودی پایین به‌طور معمول با منابع الکترونی و ستون‌های طراحی شده برای کار در ولتاژهای بالاتر انجام می‌شود. از این رو، نیاز به دستگاه میکروسکوپی جداگانه نیست.

معرفی لنز کاتدی

در حالی که پرتو الکترونی، ستون اپتیکی را ترک می‌کند با لنز نهایی کانونی می‌شود. میدان الکتریکی حاصل از واشتابی به‌صورت یک لنز همگرای شناور (لنز کاتدی) عمل کرده و از سرعت الکترون‌ها کاسته می‌شود. در این روش، پرتوی الکترون اولیه در طول واشتابی، بیشتر کانونی می‌شود.

که سطح روبش شده مسطح، صاف، بزرگ و عمود بر محور اپتیکی باشد، به طور کامل کار می کند و در میدان الکتریکی اختلالی ایجاد نمی شود. در غیر این صورت مشکلات متعددی مانند اعوجاج تصویر و آستیگماتیسم می تواند رخ دهد (شکل (۶)). زمانی که نسبت شناوری بالاتر و لنز کاتدی قوی تر است، محدودیت های نمونه بیشتر اهمیت پیدا می کند. خوشبختانه در بیشتر کاربردهای عملی، توانایی لنز کاتدی محدود نشده است. برای مثال، با مانت کردن مناسب نمونه حتی نمونه های کوچک می توان تصویربرداری موفقی انجام داد [۳].



شکل (۶): مثالی از تصویری با اعوجاج زیاد با استفاده از لنز کاتدی با قدرت زیاد در ترکیب با یک نمونه زاویه دار (توپ های ظریف روی کرین). توپک ها به طور نرمال گرد و متقارن هستند اما بعضی از آن ها نقص تصویر را نشان می دهند که به دلیل عدم بهینه تنظیمات تصویر ایجاد شده است [۴].

بهبود آشکارسازی سیگنال الکترون ها با واشتابی پرتو

بررسی محدودیت های تصویربرداری در انرژی های فرودی خیلی پایین:

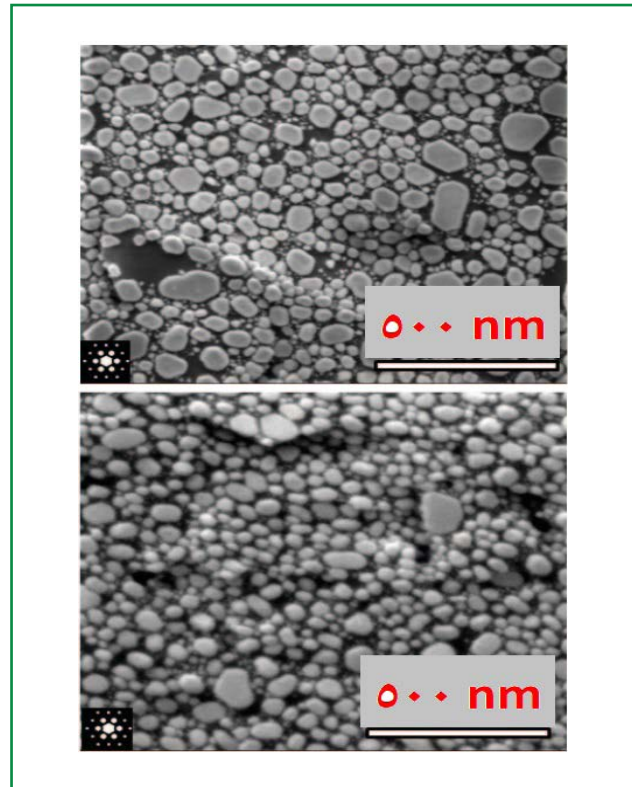
معمولاً دامنه ولتاژ بالا در SEM های رایج از ۲۰۰ ولت شروع می شود. تنظیم تصویربرداری با ولتاژهای تسریع کننده پایین تر، برخی مشکلات فنی زیر را به وجود می آورد:

- پایداری ولتاژ بالا؛
- کالیبراسیون و تنظیم ستون؛
- برهم کنش های کولومب در پرتو و غیره.

همه این عوامل طوری عمل می کنند که قطر پرتو را افزایش داده و قدرت تفکیک را کاهش دهند. واشتابی پرتو نیز روشی به نسبت ساده برای کاهش محدودیت های انرژی فرودی قابل استفاده است در حالی که تمامیت^{۱۷} پرتو را نیز حفظ می کند.

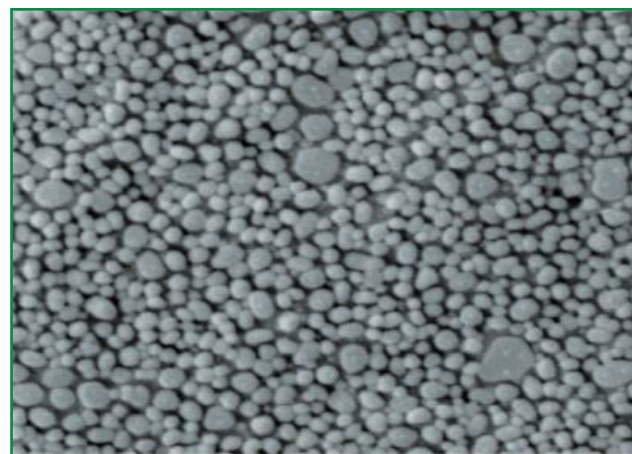
اثر واشتابی بر الکترون های برگشتی (BSE):

در غیاب واشتابی پرتو، الکترون های برگشتی با همان انرژی که هنگام ترک سطح نمونه داشتند، نزدیک به انرژی فرودی الکترون های اولیه به آشکارساز می رسند. ساده ترین و بیشترین



شکل (۴): بهبود قدرت تفکیک تصویر با استفاده از لنز کاتدی در تصویر بالا (واشتابی پرتو). انرژی فرودی $LE = 1 \text{ keV}$ تصویر حاصل بدون استفاده از واشتابی پرتو ($k=1$) در شکل پایین و بایاس پایه نگهدارنده نمونه $SB = -3 \text{ kV}$, $(k=4)$ [۴].

قابل ذکر است، با افزایش نسبت شناوری در انرژی های فرودی پایین تر امکان دستیابی به قدرت تفکیک بالاتر ($>50\%$ درصد) نیز فراهم می شود (شکل (۵)).



شکل (۵): قدرت تفکیک تصویر با لنز کاتد و نسبت بالای شناوری. انرژی فرودی $LE = 100 \text{ eV}$ و بایاس پایه نگهدارنده نمونه $SB = -4 \text{ kV}$, $(K = 41)$ [۴].

زمانی که لنز کاتدی با لنز مغناطیسی شناور ترکیب شود، روندی مشابه در بهبود قدرت تفکیک نیز وجود دارد. با وجود مزایای مطرح شده برای لنز کاتدی، وابستگی توانایی این لنز به ویژگی های سطح نمونه از جمله محدودیت های آن است: با واشتابی پرتو، سطح نمونه بخشی از سیستم الکترو اپتیکی می شود. این سیستم در صورتی

انرژی پایین‌شان، زمانی که از حالت واشتابی پرتو استفاده می‌شود، به‌طور شدیدی با محور اپتیکی موازی می‌شوند. در این مورد آن‌ها می‌توانند در انتهای محور اپتیکی نزدیک به لنز نهایی شناسایی شوند.

معایب و اثرات ناخواسته واشتابی پرتو

پیاده‌سازی و اجرای حالت واشتابی پرتو پیامدهای زیادی برای طراحی یک دستگاه میکروسکوپ الکترونی دارد. اولین الزام، امنیت کاربران است. به‌منظور دستیابی به چندین کیلوولت روی سطح نمونه، قسمت بالایی میز نمونه باید کاملاً ایزوله و متصل به یک نگه دارنده با ولتاژ بالا باشد. هم‌زمان، تا وقتی که کاربر در تماس با نمونه است، پایه نگهدارنده نمونه نباید شارژ باشد. این امر باید با استفاده از یک سیستم قفل امنیت داخلی مستقل از کنترل نرم‌افزاری تضمین شده باشد. همچنین اگر نمونه بایاس شده با هر قسمت از محفظه نمونه در تماس باشد، ستون یا آشکارساز در طول کار کردن، نباید موجب خطری برای اپراتور یا دستگاه شود.

نگه دارنده نمونه در قسمت بالای نمونه باید به خوبی ایزوله شده باشد تا در برابر ولتاژ بالای چندین کیلوولت پایدار باشد. این امر بدیهی نیست زیرا ولتاژ به کار گرفته شده باید خیلی پایدار باشد. هر جریان نشت کننده یا میکرو - تخلیه بار^{۱۸} باعث نوسان ولتاژ نمونه و از دست رفتن کیفیت تصویر می‌شود. این به آن معناست که واشتابی پرتو کاملاً با حالت خلأ پایین سازگار نیست. همچنین در جایی که تقاطع قوی میدان الکتریکی و مغناطیسی در فاصله کاری کوتاه باعث ایجاد شرایط ایده‌آل برای تخلیه گازهای باقی‌مانده حتی در اتاقک نمونه با خلأ بالا می‌شود، ایزوله کردن پایه نگهدارنده نمونه چالشی برای لنز مغناطیسی شناور ستون‌ها است. چالشی دیگر، تجمع حالت واشتابی پرتو در نرم‌افزار کنترل کننده عناصر اپتیکی ستون الکترونی است. لنز کاتدی یک لنز بزرگ و منعطف است و در هر ترکیبی از ولتاژ بالا، ولتاژ بایاس نمونه و فواصل کاری کار می‌کند. برای تمامی این ترکیبات، صحت حالت اپتیکی، که فاصله کاری نامیده می‌شود، بازخوانی شده و دقت بزرگنمایی، نباید دستخوش تغییر شود. سیستم کالیبراسیون و روند تنظیمات نیز باید به خوبی توسعه یابد.

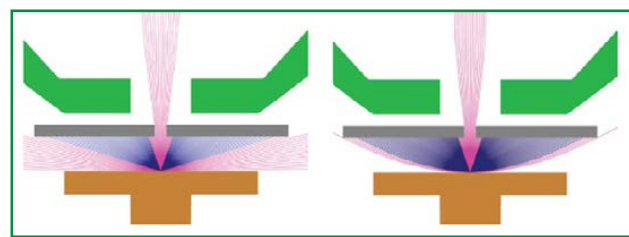
از طرفی دیگر، واشتابی پرتو، توانایی دستگاه را بهبود می‌بخشد. برای دستیابی به انرژی فرودی مشخص با واشتابی پرتو، ستون با افزایش ولتاژ بالا عمل می‌کند، که به‌طور خودکار حساسیت کمتری به میدان مغناطیسی خارجی و تیرانس^{۱۹} بالاتری برای شارژ قسمتی از ستون و کیفیت درجه^{۲۰} دارد.

امکان تصویربرداری‌های غیرممکن با به کارگیری روش واشتابی پرتو

تصویربرداری در انرژی کم با استفاده از الکترون‌های برگشتی بیشتر آشکارسازهای BSE رایج در دسترس، تصاویر با کیفیت

استفاده از روش آشکارسازی الکترون برگشتی در بیشتر دستگاه‌های SEM، جذب مستقیم آن‌ها در یک آشکارساز نیمه‌هادی (حالت جامد) یا آشکارساز نوع جرقه‌زن در پتانسیل پایه است. در آشکارسازهای حالت جامد، همان‌طور که انرژی الکترون فرودی به چند کیلو الکترون‌ولت افت می‌کند، حساسیت خود را از دست می‌دهند و با اینکه امروزه آشکارسازهای حساس‌تری در دسترس است که این محدودیت را بهبود می‌بخشد، ولی این محدودیت اساسی در این قبیل آشکارسازها وجود دارد. در حالت واشتابی پرتو، الکترون‌های برگشتی به سمت آشکارساز، تسریع داده می‌شوند که این امر موجب می‌شود که سیگنال و محدودیت تشخیص شده بهبود یابد و همچنین قادر به شناسایی خوب سیگنال حتی در انرژی‌های فرودی خیلی پایین می‌شود.

نتیجه دیگر استفاده از واشتابی پرتو این است که مسیرهای الکترون‌های برگشت داده شده توسط میدان الکتریکی اضافی به‌صورت منحنی در می‌آیند. شکل (۷) مثالی از ساختار آشکارسازی BSE با یک آشکارساز قرار گرفته زیر لنز نهایی است.

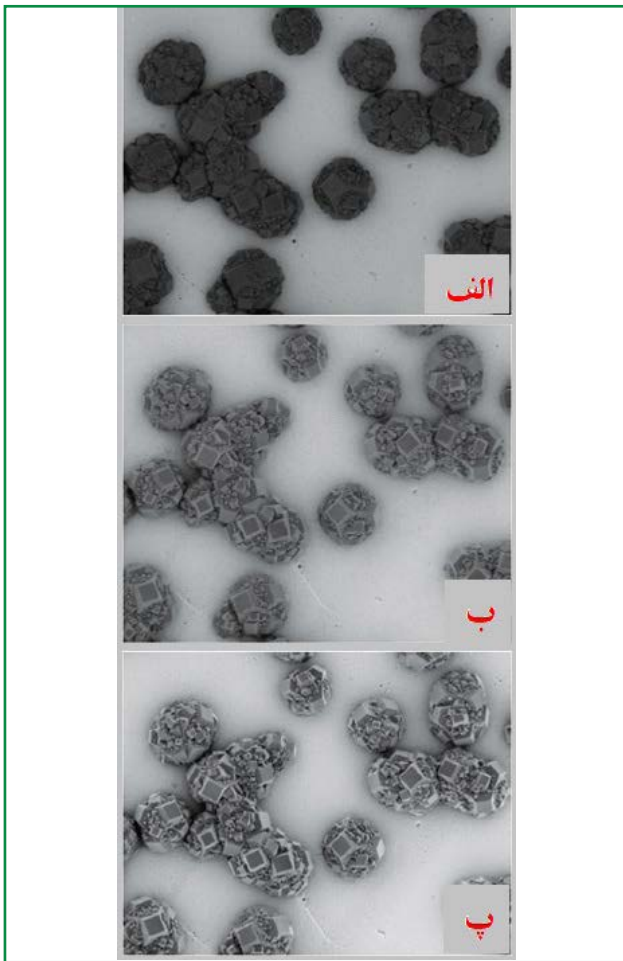


شکل (۷): مسیرهای تشخیص داده شده (رنگ آبی) و تشخیص داده نشده (رنگ ارغوانی) الکترون‌های برگشتی بدون (چپ) و با (راست) واشتابی پرتو. جمع‌آوری پرتو با آشکارساز الکترون برگشتی (رنگ طوسی) با واشتابی پرتو بهتر انجام شده است [۴].

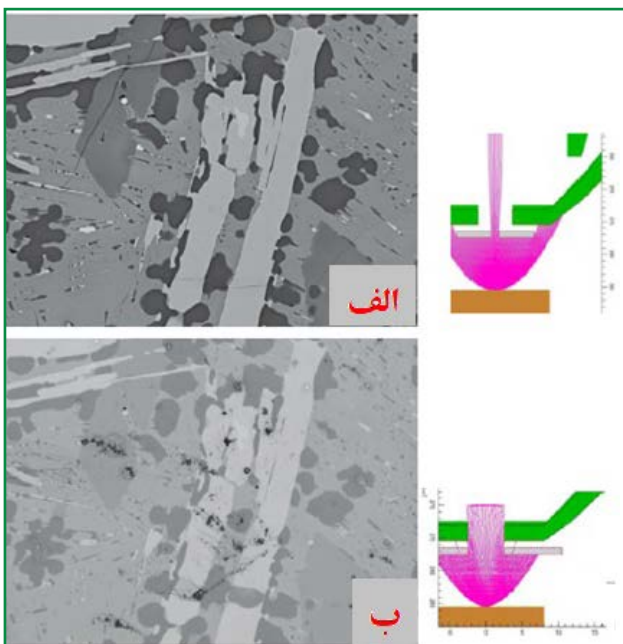
همان‌گونه که در شکل (۷) مشاهده می‌کنید (شکل سمت چپ) بدون اثر واشتابی پرتو هیچ بایاس نمونه‌ای به کار نرفته است و مسیرهای BSE مستقیم هستند. توزیع زاویه‌ای الکترون برگشتی به‌صورت هندسی مشخص شده است و با واشتابی پرتو به‌عنوان نتیجه فوکوس لنز کاتدی، بیشتر الکترون‌های برگشتی با توزیع زاویه‌ای پهن‌تر جمع‌آوری شده‌اند (شکل سمت راست). علاوه بر این، با تغییر نسبت شناوری (قدرت لنز کاتدی)، کاربر می‌تواند به‌طور مستمر طبیعت سیگنال شناسایی شده را یا به سمت کنتراست توپوگرافی با جزئیات سطح از الکترون برگشتی کم زاویه تغییر دهد (زوایای پایین‌تر با سطح نمونه موازی‌تر هستند) و یا به سمت کنتراست ترکیبی با الکترون‌های برگشتی زاویه بالا تغییر دهد.

اثر واشتابی پرتو بر الکترون‌های ثانویه:

الکترون‌های ثانویه (SE) در انرژی‌های خیلی پایین‌تر از الکترون‌های برگشتی (کمتر از ۵۰ الکترون‌ولت) نشر می‌کنند و به‌طور معمول توسط یک آشکارساز جرقه‌زن در محفظه نمونه جمع‌آوری می‌شود (بدون سیستم لنز شناور). به علت

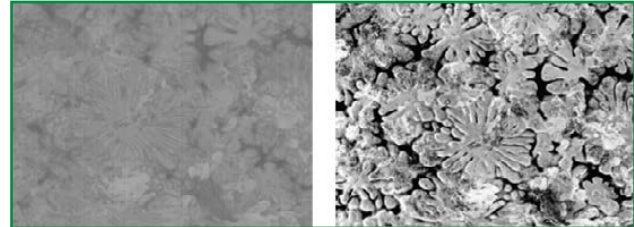


شکل (۹): تصاویر میکرو بلور ذرات الماس قرار گرفته روی بستر سیلیکونی است که با استفاده از آشکارساز الکترون برگشتی جمع‌آوری شده‌است. انرژی فرودی $LE = 3 \text{ keV}$ با نسبت‌های شناوری متنوع است. (الف) $k = 1$ ، (ب) $k = 1/33$ ، (پ) $k = 2$ [۴].



شکل (۱۰): سرباره‌ی کوره بلند مشاهده شده با استفاده از آشکارساز الکترون برگشتی در (الف) انرژی پرتو اولیه $PE = 10 \text{ keV}$ و (ب) با واشتابی پرتو در انرژی فرودی $LE = 1 \text{ keV}$ [۶-۳].

و خوب را فقط با پرتو الکترونی که انرژی‌های بالای ۲ کیلو الکترون‌ولت دارد، فراهم می‌کند. این محدودیت به آسانی با شتاب دادن BSE در حالت واشتابی پرتو (شکل (۸)) رفع شد. به‌طور طبیعی، ترکیبی از الکترون‌های برگشتی با زاویه زیاد و کم در جریان تغییر مسیرهای BSE، شناسایی شده که نمایی از آن در شکل (۷) نشان داده شده‌است.



شکل (۸): تصویر جوش آلیاژ مس/پالادیوم در انرژی فرودی مشابه ۱ کیلو الکترون‌ولت بدون واشتابی پرتو (چپ) و با واشتابی پرتو (راست)، نسبت شناوری $k = 3$ [۴].

تشخیص الکترون‌های برگشتی با زاویه انتخابی^{۲۱}

آشکارسازهای الکترون‌های برگشتی اولیه طراحی شده تا تصاویری با اطلاعاتی از ترکیب نمونه با استفاده از جمع‌آوری الکترون‌های برگشتی زاویه بالا فراهم کنند. حالت واشتابی پرتو، بر مسیرهای الکترون‌های برگشتی از قبیل تشخیص الکترون‌های برگشتی با زاویه کم نیز تاثیر می‌گذارد و آن‌ها را به راحتی قابل دستیابی می‌کند. تشخیص الکترون‌های برگشتی با زاویه زیاد یا کم به‌طور عمده‌ای به نسبت شناوری بستگی دارد. تشخیص الکترون‌های برگشتی با زاویه انتخابی در شکل (۹) نشان داده شده‌است. در این شکل، یک سری از تصاویر با کنتراست متفاوت از ترکیب تا توپوگرافی (شکل (۹-پ)) با افزایش نسبت شناوری نشان داده شده‌است.

تصویربرداری از جزئیات سطح

برای مشاهده مشخصه‌های کوچک سطح، پرتو کم انرژی و بنابراین عمق نفوذ ضروری است. همان‌طور که قبلاً توضیح داده شد، واشتابی پرتو می‌تواند یک پرتو الکترونی کم انرژی با وضوح بالا به سطح نمونه بیاورد. شکل (۱۰) یک نمونه سرباره کوره بلند^{۲۲} است که با آشکار $BSE, PE = 10 \text{ keV}$ (انرژی الکترون‌های اولیه) بدون واشتابی پرتو و با واشتابی پرتو در انرژی فرودی ۱ کیلو الکترون‌ولت مشاهده شده‌است. جزئیات جدید در تصاویر با ۱۰ کیلو الکترون‌ولت قابل مشاهده نیست ولی زمانی که انرژی فرودی به ۱ کیلو الکترون‌ولت می‌رسد ظاهر می‌شوند. با استفاده از واشتابی پرتو کنتراست نمونه باقی می‌ماند در حالی که جزئیات اضافی سطح نیز قابل مشاهده هستند (شکل (۱۰-ب)).

واشتابی پرتو، روشی سودمند برای انواع مختلف دستگاه‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی است تا عوامل تصویربرداری مانند قدرت تفکیک و کنتراست را بهبود بخشد. این روش می‌تواند باعث بهبود محدودیت آشکارسازی و افزایش قابلیت استفاده از انرژی کم باشد. واشتابی پرتو نه تنها به تراز شارژ کمک می‌کند، بلکه به طرز مؤثری نقایص لنز را کاهش می‌دهد [۶]؛ بنابراین، باعث بهبود کلی وضوح تصویر می‌شود. برای شناوری دستگاه‌هایی با لنز شناور، واشتابی پرتو قابلیت تصویربرداری نهایی در انرژی کم را ممکن می‌سازد. علاوه بر این، برای میکروسکوپ‌های الکترونی مبتنی بر تفنگ گسیل میدانی^{۲۳} یا نشر حرارتی^{۲۴} با لنزهای رایج، ارتقای عملکرد برای تصویربرداری در انرژی کم می‌تواند به نسبت چشمگیری عملکرد تصویربرداری و انعطاف این دستگاه‌ها را بسط دهد.

مراجع

- [1] J Jiruse1, F Lopour1 and M Havelka, A novel FE-SEM column with beam deceleration technology, Ultra microscopy, 146, (2014), 27- 32.
- [2] I Mullerova, L Frank, Use of cathode lens in scanning electron microscope for low voltage applications, Mikrochim Acta, 114/115 (1994) 389-396.
- [3] R young, T Templeton, L Roussel, I Gestmann, G van veen, T Dingle, and S Henstra, Extreme high-resolution SEM: A paradigm shift, Microscopy Today 16(4) (2008) 24-28.
- [4] D Phifer, L Tuma, T Vystavel, P Wandrol, and R.J Young, Improving SEM imaging performance using beam deceleration, Microscopy Today, 17(4) (2009) 40- 49.
- [5] I Mullerova, L Frank, Scanning low energy electron microscopy, Adv Image and Electr Phys 128 (2003) 309-443.
- [6] M Darus, O Ugurlu, Common rules to follow for Stage Bias and Beam Deceleration imaging, using any FEI Immersion Lens SEM and Dual beam equipped with Stage Bias functionality, FEI Company, (2012), www.fei.com.

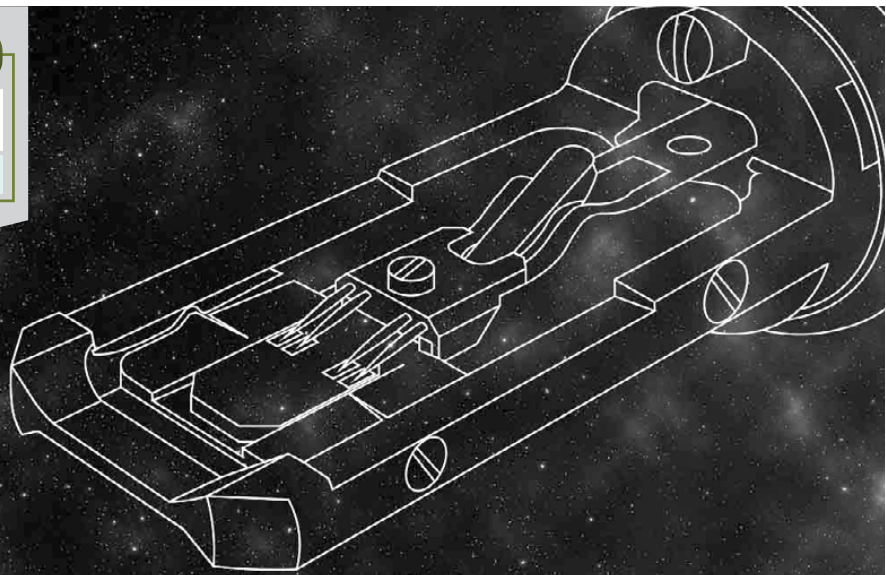
پی‌نوشت

۱. کارشناس ارشد شیمی، پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران
۲. مهندس برق الکترونیک، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران
۳. مهندسی مواد و متالورژی، مرکز پژوهش متالورژی رازی
۴. عضو کارگروه تخصصی میکروسکوپ الکترونی روبشی
5. Beam deceleration
6. scanning electron microscope (SEM)
7. high voltage (HV)
8. Immersion lens
9. Cathode lens
10. Back Scattered Electrons (BSE)
11. High negative bias voltage
12. Landing energy
13. trajectories
14. Immersion ratio
15. Chromatic aberration
16. Spherical aberration
- 17..Beam integrity
18. Mico-discharges
19. tolerance
20. aperture
21. Angularly selective
22. Blast furnace slag
23. Field emission gun
24. Thermionic emitters gun

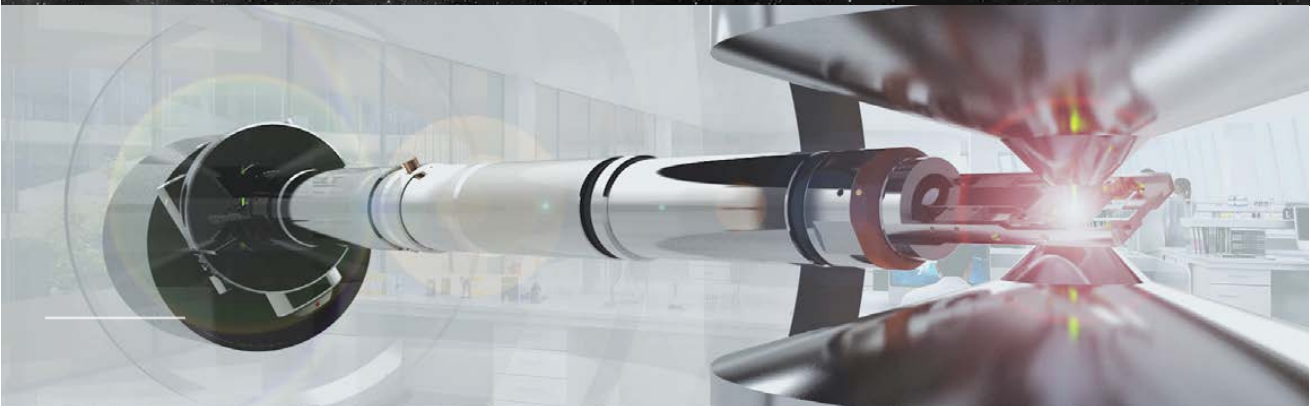
نویسندگان

ساناز شبیکه

researchers4u@yahoo.com



پیشرفت‌های اخیر در حوزه میکروسکوپ الکترونی عبوری پویا



چکیده

امروزه یکی از نیازمندی‌های روزافزون دانشمندان و محققان فعال در حوزه میکروسکوپ الکترونی عبوری^۳ دستیابی به قابلیت مشاهده زنده/هم‌زمان وقوع فرآیندهای مواد به‌صورت درجا و به‌نگام^۴ درون میکروسکوپ مذکور است. در بسیاری از فرآیندها نظیر: هسته‌زایی و رشد، تغییرات فاز و پاسخ‌های مکانیکی در شرایط کرانه‌ای، حتی پیشرفته‌ترین TEMهای دربرگیرنده قابلیت نشر/گسیل میدانی نیز برای دست یافتن به تصاویری با قدرت تفکیک‌پذیری زمانی ($1\mu s$ تا $1ns$) به‌منظور مشاهده درجا و به‌نگام تعاملات/فعل و انفعالات بنیادین نیز قادر به تولید جریان پرتوی کافی نیستند. میکروسکوپ الکترونی عبوری پویا^۵ به‌منظور حل این مسئله از لیزر پالسی کوتاه برای ایجاد پالس الکترونی با پهنای مورد نیاز در طول فرآیند انتشار نور استفاده می‌کند. این پالس برای ایجاد تصویری کامل با قدرت تفکیک‌پذیری بالا از الکترون‌های کافی برخوردار است. در این مقاله با در نظر گرفتن پیشرفته‌ترین میکروسکوپ الکترونی با قدرت تفکیک‌پذیری زمانی بالا، پیشرفت‌های صورت گرفته در زمینه نورشناسی الکترونی و طرح‌های آشکارسازی مورد نیاز برای

واژه‌های کلیدی

میکروسکوپ الکترونی عبوری پویا، تصویربرداری میدان تاریک، میکروسکوپ درجا و به‌نگام، طبقه نگهدارنده با محیط سیال^۶، طبقه نگهدارنده با محیط گازی^۷.

بکارگیری قابلیت کامل این نوع پالس‌های الکترونی در حوزه علم مواد شرح داده می‌شود. علاوه بر این، تحقق پیشرفت‌های مورد انتظار برای تجهیزات و آزمایش‌های امکان‌پذیر در حوزه میکروسکوپ الکترونی عبوری پویا در آینده‌ای نزدیک نیز تشریح شده‌است [۵۳].

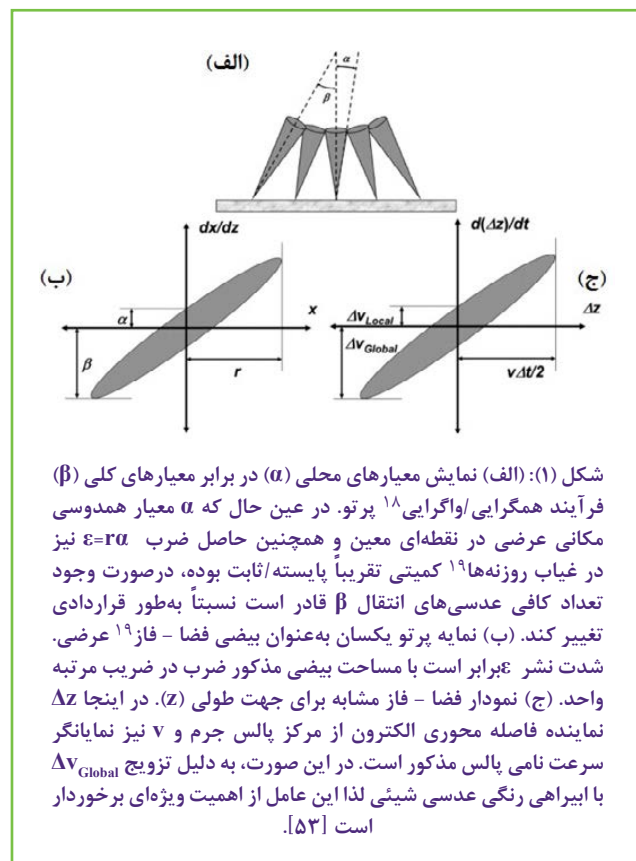
میکروسکوپ الکترونی عبوری در دهه‌های اخیر نقش اصلی و مهمی در زمینه درک علمی نقایص گسترده و تاثیر این نوع نواقص بر کنترل خواص/ویژگی‌های مواد داشته است. نسل کنونی میکروسکوپ‌های الکترونی عبوری با ابیراهی^۸ اصلاح شده و قابلیت تکفام قادرند در زمینه تهیه طیف‌نگاری افت انرژی الکترون^۹ و تصاویر مرسوم به قدرت تفکیک‌پذیری مکانی^{۱۰} فوق‌العاده‌ای (نزدیک به 0.5 nm) دست پیدا کنند [۱ تا ۵]. البته با وجود قابلیت بی‌نظیر این نوع میکروسکوپ‌های جدید در زمینه قدرت تفکیک‌پذیری مکانی، لازم به یادآوری است که نمونه‌های مورد بررسی در این میکروسکوپ‌ها باید بدون حرکت و بدون تغییر باشند. در این شرایط غلبه بر عواملی نظیر: رانش، شارژ شدن، ناپایداری‌های مکانیکی، میدان‌های پراکنده و سرگردان، صدمه پرتو و غیره برای دستیابی به معیار پایداری و ثبات مورد نظر به چالشی سخت تبدیل می‌شود. در این صورت، هدف اصلی محققان به جای فراهم آوردن تجهیزات به اندازه کافی انعطاف‌پذیر برای بررسی رویدادهای پویا، به سمت ایجاد شرایط پایدار/ثبات‌تر متمرکز خواهد شد. تاکنون رویدادهای پویای بسیاری نظیر: تغییر شکل مکانیکی، اثر فشار گاز بر فعالیت کاتالیزوری، رشد و هسته‌زایی نانو ساختارها، صدمه و آسیب پرتو و حتی واکنش‌های به وقوع پیوسته درون مایعات درون حوزه میکروسکوپ درجا/به‌نگام (زیرمجموعه میکروسکوپ الکترونی عبوری مرسوم) بررسی شده‌اند [۶ تا ۱۵]. در تمام موارد مذکور قدرت تفکیک‌پذیری مکانی به دلیل ضرورت دستیابی به شرایط ایده‌آل به‌نگام و یا حصول قدرت تفکیک‌پذیری زمانی مطلوب به شدت محدود می‌شود. در شرایط حضور جریان‌های پرتو معمولی در میکروسکوپ‌های الکترونی نشر/گسیل میدانی و انتشار حرارتی، محدودیت عملی تقریبی 1 ms در قدرت تفکیک‌پذیری زمانی به معنی محدود شدن تعداد الکترون‌های دریافت شده با استفاده از آشکارساز در فاصله زمانی مذکور است. در بسیاری از موارد، این محدودیت به این معنا است که فرآیند تصویربرداری به اندازه‌ای کند بوده که جزئیات بحرانی و مهم پدیده در حال بررسی قابل مشاهده نیست. در این صورت، تنها دستیابی به اندازه‌گیری استاتیک/ایستا امکان‌پذیر خواهد بود. در فاصله زمانی کمتر از 1 ms پدیده‌های پویای گسترده‌ای درون ساختارهای آلی و غیرآلی به وقوع می‌پیوندند. در برخی از موارد نظیر حرکت نابجایی دستیابی به قدرت تفکیک‌پذیری مکانی در سطح اتمی برای مشاهده پدیده مورد نظر الزامی نیست، اما در دیگر موارد همچون: نفوذ/انتشار اتمی دستیابی به قدرت تفکیک‌پذیری مذکور ضروری است. بنابراین، دستیابی به محدوده‌ای از مقیاس‌های زمانی و طولی با استفاده از روش‌های آزمایشی، به‌طور تقریبی برابر با قدرت تفکیک‌پذیری مکانی 1 um تا 1 Å به همراه قدرت تفکیک‌پذیری زمانی 1 fs تا 1 ms در نظر گرفته می‌شود. تمایل دستیابی به قدرت تفکیک‌پذیری زمانی/مکانی بالا مسئله جدیدی نیست، همچنین مشاهدات پویا نیز پیشتر با استفاده از تجهیزات نوری و اشعه ایکس حاصل شده‌است [۱۶، ۱۷ و ۱۸]. اگر چه آزمایش‌های طیف‌سنجی در مقیاس فمتوثانیه^{۱۱} و پمپ-پروب^{۱۲} موفقیت‌آمیز بوده، اما آنها در زمینه قدرت تفکیک‌پذیری مکانی محدودیت دارند و در بیشتر موارد تصویر نهایی از الگوی پراش استخراج می‌شود (تصویربرداری مستقیم انجام نمی‌شود). در صورت استفاده از پالس‌های الکترونی دربرگیرنده مقیاس زمانی یکسان با هدف تحلیل مواد می‌توان بر چالش‌های ذکر شده غلبه نمود [۱۹]. تعامل الکترون‌ها با موادی که در حال بررسی هستند قوی‌تر بوده و در نتیجه سیگنال بیشتری تولید می‌شود که می‌توان این امر را یکی از مزایای بکارگیری الکترون‌ها در نظر گرفت. سال‌ها از این مزیت در حوزه پراش الکترون فوق سریع^{۱۳} استفاده می‌شود [۲۰ تا ۲۳]. در صورت ترکیب نمودن پالس‌های الکترونی با روش‌های TEM ذکر شده، پس از هدایت و متمرکز ساختن پرتو مورد نظر، دستیابی به تصاویر، طیف‌ها و الگوهای پراش از مناطق مختلف نمونه امکان‌پذیر می‌شود و بدون نیاز به تبدیل الگوی پراش نیز می‌توان به‌طور مستقیم به تصاویری با قدرت تفکیک‌پذیری بالا از رویدادهای پویا دست یافت. یکی از انگیزش‌های اصلی در زمینه توسعه میکروسکوپ الکترونی عبوری پویا در آزمایشگاه ملی لاورنس لیومور^{۱۴} دستیابی به قابلیت بررسی فرآیندهای پویا در مقیاس زمانی نزدیک به 1 ns است [۲۴ تا ۳۰]. به‌منظور حصول چنین قدرت تفکیک‌پذیری زمانی بالایی و در عین حال حفظ قابلیت تصویربرداری مستقیم با قدرت تفکیک‌پذیری بالا درون TEM باید اصلاحاتی درون ساختار مرسوم این دستگاه ایجاد شود که به تبع آن محققان قادر به ایجاد و کنترل بسته‌های بزرگ الکترون (حاوی تقریباً $10^6 \sim$ الکترون) باشند [۳۱ و ۳۳]. در این مقاله، اصول فیزیکی پایه در زمینه تولید و کنترل بسته‌های الکترونی و همچنین قدرت تفکیک‌پذیری مورد انتظار تصویر TEM تشریح شده‌است. اصول و تجهیزات نورشناختی الکترونی لازم برای تبدیل نمودن یک TEM مرسوم به DTEM برای دستگاه‌های DTEM موجود و تجهیزات بالقوه جدید در حال شکل‌گیری، بررسی می‌شوند. لازم به ذکر است، هدف اصلی در این مقاله [۵۳]، حصول تصاویر کامل از آزمایش‌های یکباره‌ای بوده که این امر در اصل، متفاوت از اصول کاری TEM‌های فوق سریع یا میکروسکوپ‌های الکترونی عبوری با قابلیت چرخش نمایی^{۱۵} ارائه شده توسط زوایل^{۱۶} و همکاران است [۳۴ و ۳۵].

اصول فیزیکی پالس‌های الکترونی کوتاه در TEM

به ذکر است، فرآیند ناهمدوسی زمانی^{۲۲} (به‌طور معمول با عنوان بسط انرژی شناخته شده) از طریق تزویج با ابیراهی رنگی^{۲۳} به‌طور مشابه کنتراست را کاهش می‌دهد، لذا باید آن را در حداقل میزان ممکن نگاه داشت. میکروسکوپ‌های DTEM تک نما محدودیت جدیدی برای حالت‌های تصویربرداری مرسوم در میکروسکوپ الکترونی عبوری ساده ایجاد می‌کنند.

این محدودیت را می‌توان اینگونه توصیف نمود: یک پالس با مقیاس نانو ثانیه برای ایجاد تصویری با کنتراست و قدرت تفکیک‌پذیری قابل قبول باید حاوی تعداد کافی الکترون باشد. این امر منجر به حذف گزینه افزایش همدوسی مکانی از طریق بکارگیری روزه‌ها، تنظیم عدسی‌های متمرکز کننده و استفاده از زمان‌های طولانی‌تر می‌شود. در این شرایط برای دستیابی به روشنایی و جریان پالس الکترونی مطلوب نیازمندی‌های دقیق‌تری مد نظر قرار می‌گیرند (در حالی که جریان پرتو باید در مقیاس میلی‌آمپر قرار گیرد، روشنایی نیز باید حداقل برابر با steradian^{-1} $10^{-7} \text{ A cm}^{-2}$ و ترجیحاً دربرگیرنده مرتبه بزرگی بالاتری باشد [۳۸]. علاوه بر موارد فوق، این نیازمندی که بسط انرژی باید پایین‌تر از 5 eV نگاه داشته شود، محدودیت زیادی در امر بکارگیری نوع منابع تولید کننده الکترون اعمال می‌کند (به‌عنوان مثال: انتشار نور خطی حاصل شده از تاباندن لیزر پالسی ماوراء بنفش به سطح بزرگی از کاتدهای فلزی. لازم به ذکر است، محققان در جستجوی منابع مطلوب دیگری نیز هستند). DTEM علاوه بر موارد ذکر شده باید اثرات غیرخطی اضافی به‌خصوص مربوط به چگالی‌های فوق‌العاده بالای جریان را نیز کنترل کند. این امر ناشی از یک مسئله فیزیکی پایه است: الکترون‌ها در واقع فرمیون‌های^{۲۴} باردار هستند. لذا الکترون‌ها در فواصل طولانی یکدیگر را دفع کرده، در فواصل کوتاه با یکدیگر برخورد نموده و فضای فاز (فضایی شش بعدی شامل موقعیت سه بعدی و تکانه سه بعدی) را به واسطه چگالی برابر با یک الکترون به ازای حالت کوانتومی پر می‌کنند. در نتیجه پرتوهای الکترونی به مواردی نظیر: اثرات بار فضایی، اثرات پراکندگی ناهمگن و محدودیت‌های بنیادی روشنایی طیفی (یعنی: روشنایی به ازای بسط انرژی معین) وابسته خواهند بود. اثرات بار فضایی در اصل چگالی جریان قابل استخراج از هندسه تفنگ الکترونی را محدود ساخته و به همراه فرآیند بسط انرژی به‌عنوان عاملی مهم در تعیین بیشترین روشنایی دسترس‌پذیر از تفنگ مذکور در نظر گرفته می‌شوند. اثرات ذکر شده علاوه بر موارد فوق، ابیراهی‌های عدسی را تولید نموده و پرتوهای الکترونی را نیز منحرف می‌سازد (در این شرایط، هم‌زمان با تغییر جریان پرتو، اعمال تنظیمات جزئی در قدرت عدسی‌ها الزامی است). سرانجام می‌توان اینگونه برداشت کرد که عملکرد DTEM تک نما با استفاده از عامل روشنایی منبع الکترون کنترل می‌شود. البته این امر برای هر نوع TEM صدق می‌کند، اما برای DTEM تک نما که نیازمند دسترسی به شارش فوق‌العاده زیاد (الکترون‌ها در هر واحد سطح) در زمانی بسیار کوتاه بوده از اهمیت بسزایی برخوردار است. معادله روشنایی B به‌صورت ذیل تعریف می‌شود:

مهندسی ساختار DTEM‌های تک نما/عکس^{۱۷} از طریق درک فیزیکی پالس‌های الکترونی آغاز می‌شود [۳۶، ۳۷ و ۳۸]. به‌منظور حصول قدرت تفکیک‌پذیری زمانی مورد نظر، DTEM باید با حفظ حداقل افت همدوسی مکانی و زمانی (که ضامن شکل‌گیری تصاویر در میکروسکوپ مربوطه است) در شرایط چگالی‌های جریان فوق‌العاده بالا (حدود 10^9 الکترون به ازای هر پالس) فعالیت کند. یکی از مهمترین نکاتی که در فرآیند تصویربرداری DTEM باید به آن توجه نمود، محو شدن کنتراست با زوایای همگرایی محلی بزرگ α در صفحه یکسان (برابر با طول‌های همدوسی مکانی کوچک) است (شکل (۱)). این امر از این نظر حائز اهمیت بوده که نقش مهمی در قانون حفظ روشنایی بر عهده دارد. لازم به ذکر است، افزایش چگالی جریان در نمونه، در اصل منجر به افزایش یافتن α و در نتیجه کاهش پیدا کردن همدوسی مکانی می‌شود.



محدوده زوایای همگرایی قابل قبول بسته به نوع سازوکار کنتراست و محدوده فرکانس مکانی مورد نظر متغیر است. در صورت انتخاب هر نوع سازوکاری این امر به وضوح قابل مشاهده بوده که در صورت وقوع کاهش در همدوسی مکانی سرانجام کنتراست تصویر مورد نظر تا حدی تقلیل یافته که ویژگی‌های آن از مصنوعات و نویز تمیزناپذیر می‌شود (برای درک بهتر لطفاً به برش تابع انتقال کنتراست با استفاده از زاویه همگرایی برای فرآیند تصویربرداری فاز - کنتراست^{۲۱} با قدرت تفکیک‌پذیری بالا توجه فرمایید). لازم

اثرگذار بوده)، تزویج شده است. بنابراین، نتیجه حاصل ضرب $B\Delta t$ (وابسته به تعداد الکترون‌های درون یک پالس) نیز تقریباً پایسته خواهد بود. از طریق ترکیب نمودن این اثر با تغییرات روشنایی که با استفاده از ولتاژ شتاب دهنده کنترل می‌شود، می‌توان کمیت بدون بعد را به صورت ذیل بدست آورد:

$$N_C \equiv \frac{\pi^2 \lambda^2 B \Delta t}{e} \quad (2)$$

این کمیت بدون بعد (مشهور به شارش همدوس^{۲۹}) را می‌توان یک معیار شایستگی مطلوب در نظر گرفت که به عنوان تابع فاصله انتشار برای هر پالس الکترونی مورد استفاده تقریباً ثابت خواهد بود. اثبات تعریف فوق به این شرح است: با توجه به این امر که طول همدوسی عرضی/افقی با استفاده از $r_c = \lambda/\alpha$ حاصل شده است، لذا کمیت N_C نیز در اصل نماینده تعداد الکترون‌های مساحت همدوسی عرضی/افقی به ازای هر پالس است. به محض خروج پالس از تفنگ الکترونی دیگر هر گونه بکارگیری عدسی‌ها، روزنه‌ها، شتاب‌دهی یا پویایی شناسی بار - فضا قادر به بهینه‌سازی قابل توجه این کمیت نیست. همان‌طور که شرح داده خواهد شد، شارش همدوس نقش مهمی در نظریه محدودیت‌های قدرت تفکیک‌پذیری فرآیند تصویربرداری پالسی تک نما بر عهده دارد. به عنوان مثال، اگر N_C حول ۱ انتخاب شد آنگاه هر چقدر هم که سیستم عدسی مطلوب باشد تصویربرداری تک نمای همدوس غیرممکن خواهد بود. به منظور تعیین شرایط مطلوب تصویربرداری با هدف برآورد محدوده قدرت تفکیک‌پذیری مکانی به عنوان تابعی از قدرت تفکیک‌پذیری زمانی Δt باید تاثیر متقابل عواملی نظیر: روشنایی، همدوسی، نویز ضربه‌ای و تابع انتقال کنتراست ابزاری بر یکدیگر بررسی شود. در اینجا برای شرح توابع انتقال کنتراست تا اندازه‌ای همدوس ($T(r)$) میکروسکوپ الکترونی عبوری مرسوم (CTEM) برای هر دو کنتراست فاز و دامنه از فرمول استاندارد استفاده شده است [۳۹]. این فرمول دربرگیرنده اثرات ناهمدوسی مکانی و زمانی در طول فرآیندهای مرسوم برآورد پوش^{۳۰} است. فرض بر این است که کاربر تمایل داشته در فرکانس مکانی معین به بهترین کنتراست ممکن با روشنایی و قدرت تفکیک‌پذیری زمانی تک نمای ثابت دست پیدا کند. حصول این امر در صورت وقوع شرایط ذیل امکان‌پذیر است:

- ۱- تنظیم عامل ناکانونی عدسی شیئی به منظور بیشینه‌سازی $|T|$ برای باند فرکانس مکانی معین (این فرآیند به طور ضمنی برای تمام نتایج بدست آمده در این مقاله انجام پذیرفته)؛
- ۲- افزایش چگالی جریان از طریق اعمال فرآیند همگرایی پرتو تا زمانی که α به اندازه‌ای رسیده که ناهمدوسی مکانی به طور قابل توجهی $|T|$ را کاهش دهد. ضریب همدوسی به صورت $f_{\text{coherence}} = \lambda/r_c \alpha$ تعریف می‌شود. در این فرمول، λ نماینده طول موج الکترونی، r_c نشانگر شعاع کوچکترین ویژگی مورد نظر و α نیز نشان دهنده نیم پهنای تابع توزیع زاویه‌ای است. به عبارت دیگر، از طریق ضریب بدون بعد $f_{\text{coherence}}$ اندازه پیکسل نسبت

$$B = \frac{Ne}{(\pi r^2)(\pi \alpha^2) \Delta t} \quad (1)$$

که در آن: N نماینده تعداد الکترون‌ها به ازای هر پالس، e نمایانگر بار الکترونیکی، r نشان دهنده شعاع پرتو الکترونی، α نشانگر نیم زاویه همگرایی محلی و Δt نیز نمایش دهنده طول زمان یک پالس است. B تقریباً برای پرتو منتشر شده با ولتاژ شتاب دهنده ثابت پایسته است. دلیل استفاده از کلمه «تقریباً» در جمله فوق این است که در ستون الکترون ایده‌آل B ثابت بوده، اما در سیستم‌های واقعی، شماری از اثرات فیزیکی (نظیر: اثرات بورش^{۲۵}، ابیراهی‌ها، و اثرات بار - فضا^{۲۶}) هم‌زمان با افزایش فاصله انتشار روشنایی را کاهش می‌دهند. در صورت عدم ثابت بودن ولتاژ، آنگاه روشنایی نرمالیزه/بهنجار برابر با حاصل ضرب ثابت‌های پایه‌ای/بنیادی در B است که λ نماینده طول موج الکترون (بدست آمده از رابطه نسبیتی دوبروی^{۲۷} $\lambda = h/(\beta \gamma m c)$ بوده) به کمیتی پایسته و وابسته حاوی تمام اصلاحات نسبیتی تبدیل می‌شود. کمیت‌های α ، r_c و Δt متناهی بوده و همان‌طور که پیش‌تر نیز تعریف شد، روشنایی میانگین موثر در طول یک مساحت متناهی است. کمیت مربوط به شدت نشر به صورت $\varepsilon = \Gamma \alpha$ تعریف می‌شود. در صورتی که هیچ یک از الکترون‌ها در روزنه‌ها حذف نشوند، آنگاه این کمیت همانند B تقریباً پایسته خواهد بود. هر چه مقدار ε کمتر باشد منجر به دستیابی به پرتویی با کیفیت‌تر به همراه همدوسی مکانی مطلوب‌تر برای اندازه نقطه معین می‌شود. فضای فاز پر شده از الکترون‌ها (شکل (۱-ب)) را می‌توان با استفاده از عدسی‌ها تبدیل کرد، البته تا زمانی که مساحت آن تغییر نکند. اگر عدسی‌های مورد نظر فاقد ابیراهی باشند، آنگاه بیضی فضا - فاز حتی در صورت تغییر کردن نسبت ابعاد و شیب در طول ستون همچنان به صورت بیضی باقی می‌ماند. المان‌های عدسی چند قطبی نظیر المان‌های بکار برده شده در اصلاح کننده‌های ابیراهی قادرند عملیات پیچیده‌تری را انجام دهند (به عنوان مثال: تبدیل شکل S مانند غیراستاندارد به شکل تقریباً بیضی). اصولاً یک سیستم عدسی به اندازه کافی پیچیده قادر است این مساحت فضا - فاز را به هر صورت ارائه کند. در میکروسکوپ الکترونی وابسته به زمان باید فضای فاز طولی (شکل (۱-ج)) که نماینده توزیع سرعت (یا انرژی) الکترون‌ها به عنوان تابعی از زمان ورود (یا موقعیت طولی) نسبت به مرکز جرم بسته مربوطه بوده را نیز در نظر گرفت. ترکیب این فضای فاز طولی با فضاهای فاز عرضی در جهت‌های x و y (شکل (۱-ب)) منجر به شکل‌گیری فضای فاز شش بعدی ذکر شده می‌شود. مساحت فضای فاز طولی نیز تقریباً پایسته بوده و می‌توان آن را از طریق بکارگیری ترکیب‌های مختلف بسط بار - فضا، انتشار پرتابی^{۲۸} و فشردن‌سازهای پالس (که می‌توان آنها را به عنوان عدسی‌های زمانی در نظر گرفت) دستکاری نمود. اثرات بار/شارژ فضای طولی که منجر به افزایش Δt هم‌زمان با انتشار پالس شده در واقع به صورت بسیار ضعیف با ابیراهی‌هایی که در اثر آنها شدت نشر ε افت پیدا کرده (با وجودی که آنها بر نرخ تکامل بیضی فضای فاز عرضی/افقی

عبوری با عنوان میدان تاریک حلقوی زاویه بالا^{۳۲} ناهمدوس برآورد می‌کند. به دلیل ناهمدوس بودن این حالت تصویربرداری دیگر نمی‌توان α را تغییر داد، در عوض مقدار آن را نسبتاً بزرگ (۱۰ میلی‌رادیان) انتخاب می‌کنند. این مقدار تقریباً مشابه شعاع داخلی روزنه HAADF میکروسکوپ الکترونی عبوری است.

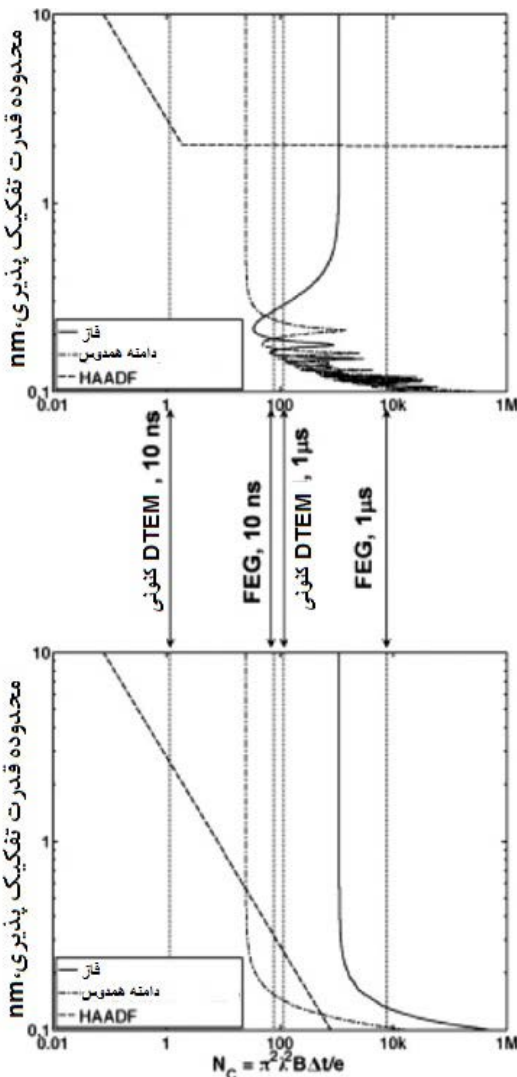
به طول همدوسی عرضی/افقی مقیاس‌بندی می‌شود. با استفاده از تعریف ذکر شده روشنایی، می‌توان تعداد الکترون‌ها به ازای هر مساحت پیکسل πr^2 را به صورت ذیل محاسبه نمود:

$$N = \frac{\pi^2 \lambda^2 B \Delta t}{e} \cdot \frac{1}{f_{coherence}^2} = \frac{N_C}{f_{coherence}^2} \quad (۳)$$

در صورت تحمیل شرط (۲) شارش همدوس نیز به فرمول اضافه می‌شود. هم اکنون زمان اعمال معیار رز [۴۰]^{۳۱} فرا رسیده است. این معیار حداقل تعداد ذرات قابل آشکارسازی پیش از حل شدن پیکسل در حضور نویز ضربه‌ای را تعیین می‌کند. فرمول حاکم برابر است با $f_{Rose} \cdot N^{-1/2} = |T|/f_{Rose}$ معمولاً حول ۵ انتخاب شده و T نیز نماینده تابع انتقال کنتراست است. ترکیب معادله‌های مورد نظر منجر به حصول فرمول ذیل می‌شود:

$$N_C = \left(\frac{f_{coherence} f_{Rose}}{T} \right)^2 \quad (۴)$$

در فرمول فوق، شارش همدوس از ترکیب عوامل بدون بعد بدست می‌آید. در نتیجه این امر، یک منحنی (در حقیقت دو منحنی، یکی برای کنتراست فاز و دیگری برای کنتراست دامنه که مقدار $T(r)$ هر یک متفاوت بوده) بدست آمده که می‌توان به منظور نمایش رابطه متقابل قدرت تفکیک‌پذیری مکانی و زمانی آن را رسم نمود (شکل (۲)). تابع انتقال کنتراست مطلق $|T|$ وابسته به عامل ناکانونی در فرکانس مکانی معین یک چرخه/سیکل به ازای r^2 (نماینده قدرت تفکیک‌پذیری مکانی) بیشینه می‌شود. در اینجا مسئله کاهش دادن N_C مورد نیاز به عنوان تابعی از α نیز به ذهن خطور نموده، اما وابستگی خطی معکوس ($f_{coherence}$) به α بسیار بیشتر از وابستگی به نسبت ضعیف α به تابع انتقال تقریبی T بوده که این امر منجر به ایجاد تداخل در توازن شده و مقدار بهینه در زوایای همگرایی بسیار بزرگ حاصل می‌شود. لازم به ذکر است، فرمول استاندارد مورد استفاده برای پوش همدوسی مکانی از یک تقریب مرتبه اول بدست می‌آید. آنها در شرایط وجود α بزرگ تجزیه شده‌است؛ بنابراین، مقدار بهینه تجربی به احتمال زیاد به $f_{coherence} = 1$ نزدیک‌تر خواهد بود. در واقعیت، فرآیند همگرایی پرتو الکترونی به سرعت نسبت سیگنال به نویز را افزایش داده، اما پس از مدتی ناهمدوسی مکانی خیلی سریع به قدری بد شده (به طوری که دیگر نمی‌توان با استفاده از معادله‌های پایه‌ای آن را محاسبه نمود) که هیچ‌گونه تصویربرداری عملاً امکان‌پذیر نیست. برای کنترل این شرایط، طول همدوسی با قدرت تفکیک‌پذیری هدف برای تمام حالات تصویربرداری همدوس تطبیق داده می‌شود (به عبارت دیگر، $f_{coherence}$ روی ۱ تنظیم می‌شود). در شکل (۲) یک منحنی ساده نیز وجود دارد که حد قدرت تفکیک‌پذیری را برای حالت تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی



شکل (۲): نمایش حدود قدرت تفکیک‌پذیری CS محدود شده (شکل بالایی) و CS اصلاح شده (شکل پایینی) به عنوان تابعی از حاصل ضرب مقیاس‌بندی شده روشنایی و پهنای پالس (یا شارش همدوس) برای تصویربرداری تک نما. همان‌طور که در شکل تعبیه شده، خطوط نقطه چین عمودی نماینده مقادیر N_C برای چهار حالت مختلف هستند. عوامل برابر هستند با: انرژی جنبشی 200 keV ، $C_s = 2 \text{ mm}$ (شکل بالایی)، $C_s = 5 \text{ mm}$ (شکل پایینی)، $\Delta E = 3 \text{ eV}$ ، $C_c = 2 \text{ mm}$ ، روشنایی DTEM برابر با $3 \times 10^7 \text{ A cm}^{-2} \text{ steradian}^{-1}$ ، $f_{coherence} = 1$ ، $f_{Rose} = 5.2 \times 10^9 \text{ A cm}^{-2} \text{ steradian}^{-1}$ برابر با HAADF $= 0.1$ و $f_{collected} = 0.2$. این منحنی‌ها مخصوص نمونه‌های ایده‌آل با کنتراست ۱۰۰ درصد رسم شده‌اند. منحنی‌های مربوط به نمونه‌های دنیای واقعی کمی به سمت راست منحرف می‌شوند [۵۳].

نوع اثرات به احتمال زیاد دلیل اصلی محدودیت قدرت تفکیک‌پذیری در این ناحیه هستند. افزودن صفحه فازی (که به ازای زوایای همگرایی کوچک قابلیت تعویض توابع انتقال کنتراست فاز و دامنه همدوس برای کاربر را فراهم آورده) به سیستم دربرگیرنده مشخصاتی نظیر: روشنایی بالا و اصلاح ابیراهی در صورتی که پراکندگی الکترون - الکترون کمینه باشد اصولاً دستیابی به قدرت تفکیک‌پذیری اتمی در مقیاس ns ۱۰ را امکان‌پذیر می‌سازد. پراکندگی الکترون - الکترون چالشی جدی‌تر از ابیراهی رنگی بوده که کمینه‌سازی آن یا در قسمت منبع انجام شده (از طریق کاهش بسط انرژی الکترون‌های تابانیده شده) و یا در دستگاه تصویربرداری اصلاح می‌شود. این امکان وجود دارد که در صورت بکارگیری منبع الکترون قطبیده چالش پراکندگی الکترون - الکترون حذف شود، اما در حال حاضر این امر در حد گمانه‌زنی است. روش دیگر مقابله با این چالش، استفاده از ولتاژهای شتاب‌دهنده بالاتر است [۲۸]. این روش به‌طور محتمل دارای معایبی نظیر: وارد آمدن آسیب ناشی از تابش اشعه بر نمونه و دشوار ساختن مهندسی ساختار عدسی بوده، اما این تنها روشی است که قابلیت دستیابی به قدرت تفکیک‌پذیری تک نمای تقریباً اتمی را در پالس‌های الکترونی با پهنای زیر نانو ثانیه را فراهم می‌کند [۵۳].

■ تجهیزات کاربردی

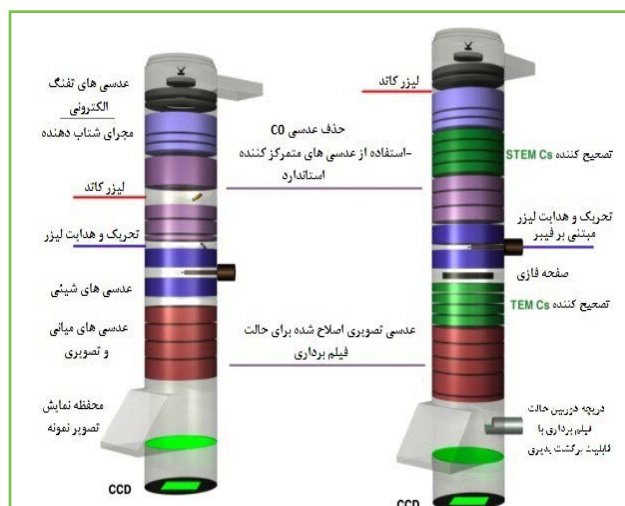
DTEM مورد بررسی واقع در موسسه LLNL بر پایه میکروسکوپ الکترونی عبوری مدل JEOL FX ۲۰۰۰ شکل گرفته است (نمایی از مؤلفه‌های اصلی در شکل (۳) نمایش داده شده‌اند). به‌منظور فراهم آوردن دسترسی لازم لیزر به فتوکاتد^{۳۵} و نمونه، ستون نوری انتشار الکترون اصلاح شده‌است. یک مقطع رانش برنجی^{۳۶} میان سیم پیچ‌های تنظیم تفنگ الکترونی و سیستم نوری متمرکز کننده اضافه شده‌است که حاوی درگاه لیزر ۱" و آینه‌ای از جنس مولیبدن^{۳۷} ۴۵ است. این مقطع در واقع پالس لیزری ۲۱۱ nm روی محور را به سمت فتوکاتد دربرگیرنده دیسک ۸۲۵ um از جنس تانتالیوم^{۳۸} هدایت می‌کند. انتشار پالس لیزری فرابنفش ns ۱۲۱ منجر به تحریک و استخراج پهنای پیک نیمه بیشینه^{۳۹} پالس الکترونی به اندازه ns ۱۵ از کاتد مورد نظر می‌شود. این پالس به واسطه تفنگ الکترونی شتاب یافته و از درون سوراخ مستقر در آینه لیزر Mo عبور نموده و سپس وارد تجهیزات نورشناسی الکترونی ستون TEM می‌شود. پالس الکترونی پس از تنظیم شدن همانند عملیات مرسوم در TEM استاندارد به سمت نمونه هدایت می‌شود. بنابراین، تمام حالات تصویربرداری نظیر: میدان روشن، میدان تاریک، پراش الکترونی برای منطقه‌ای معین دسترس‌پذیر می‌شوند. یکی از گام‌های مهم در راستای مهندسی مجدد ساختار TEM

$$N_C = \left(\frac{\lambda f_{\text{Rose}}}{r\alpha} \right)^2 f_{\text{collected}}^{-1} \quad (5)$$

که در آن: $f_{\text{coherence}}$ نماینده تعدادی از الکترون‌های پراکنده درون روزنه حلقوی موجود در روزنه HAADF-TEM است. این کمیت وابستگی زیادی به اندازه روزنه و ضخامت - جرم نمونه مورد نظر داشته و متناسب با آنها تغییر می‌کند. در اینجا به‌منظور انجام محاسبات تقریبی این کمیت به‌طور قراردادی برابر با ۰/۲ قرار داده می‌شود. قدرت تفکیک‌پذیری در حالت HAADF-TEM با ابیراهی کروی به میزان $r_{\text{min}} \sim C_s \alpha_p$ محدود شد، لذا باید قدرت تفکیک‌پذیری مکانی را برای منحنی‌های HAADF درون شکل (۲) زیر این مقدار نگاه داشت. با در نظر گرفتن این امر که مدل‌های بکار برده شده در این مقاله تنها برای برآوردهای تقریبی صادق بوده، لذا می‌توان چند نکته را از شکل (۲) نتیجه گرفت. نخست، DTEM کنونی در LLNL باید با کمک روزنه HAADF و نمونه ایده‌آل دارای کنتراست ۱۰۰ درصد قادر به تصویربرداری ناهمدوس در مقیاس محدوده ۱۰ نانو ثانیه باشد. در حال حاضر، DTEM در صورت استفاده از نمونه‌های واقعی که به‌طور اجتناب‌ناپذیر کنتراستی کمتر از ۱۰۰ درصد داشته در حالت تصویربرداری میدان روشن (ناهمدوس) با ضخامت - جرم مرسوم به قدرت تفکیک‌پذیری بالای ۱۰ nm ظرف مدت ns ۱۵ دست پیدا نمود [۴۲]؛ بنابراین، در شرایط مقایسه غیرمستقیم محاسبات به‌طور قابل قبولی نزدیک به واقعیت بدست می‌آیند. بسط دادن پهنای باند پالس DTEM به محدوده میکروثانیه علاوه بر فعال ساختن حالات تصویربرداری همدوس، قابلیت تصویربرداری فاز - کنتراست با قدرت تفکیک‌پذیری نزدیک به ۰/۳ nm را نیز فراهم می‌آورد. افزایش روشنایی به‌منظور قیاس‌پذیر ساختن آن با تفنگ الکترونی نشر/گسیل میدانی^{۴۰} منجر به ارائه عملکردی تقریباً یکسان به ازای عامل ns ۱۰ می‌شود. دستیابی به عملکرد مذکور در ۱ μs با روشنایی کنونی نیز امکان‌پذیر است، اما باید توجه داشت که روشنایی FEG در ۱ μs قادر به ارائه فرآیند تصویربرداری با قدرت تفکیک‌پذیری اتمی در طول پهنای باند مکانی گسترده‌ای است. با استناد به مدل‌های ارائه شده، ابیراهی رنگی به‌عنوان یک محدودیت ظاهر شد، اما اصلاح CS (نمودار پایینی شکل (۲)) قابلیت دستیابی به قدرت تفکیک‌پذیری در مقیاس آنگستروم را برای هر سه حالت تصویربرداری فراهم می‌آورد. با توجه به این مسئله که زوایای همگرایی در شرایط همدوسی منطبق بر حول مقدار ۰/۱ nm بسیار بزرگ بوده لذا مقادیر زیر ۰/۱ nm به دلیل بهم ریختن تقریب‌های محاسبات پوش همدوسی مکانی نادیده گرفته می‌شوند. همچنین اثرات پراکندگی الکترون - الکترون^{۴۱} نیز در سیستم عدسی تصویربرداری نادیده گرفته شد، زیرا بررسی محاسبات پیشین [۴۳] اثبات نمود که این

با ورود دومین پالس لیزری درون ستون TEM از طریق درگاه اشعه ایکس زاویه بالا اصلاح شده آغاز می‌شود. برای آزمایش‌هایی با مقیاس زمانی نانوثانیه از لیزرهای ایتريم - آلومینیوم - گارنت^{۴۰} آرایش شده به نئودیمیم^{۴۱} با پهنای پالسی در محدوده ns^{-3} ns ۲۵ به منظور تولید شارش‌هایی به بزرگی 1500 cm J^{-2} روی نمونه (این مقدار برای تبدیل بیشتر نمونه‌ها به پلاسما کافی است) استفاده می‌شود. بنابراین، از طریق کنترل کردن نقطه و انرژی لیزر بر نمونه می‌توان محدوده گسترده‌ای از دماها و نرخ‌های حرارتی را بر نمونه اعمال نمود. طول موج پایه این لیزرها (۱۰۶۴ nm) را می‌توان با در نظر گرفتن مشخصات جذب نمونه و شرایط تجربی مطلوب و بکارگیری بلورهای مولد هارمونیک غیرخطی (به عنوان مثال: دوگانه (۵۳۲ nm)، سه گانه (۳۵۵ nm) یا چهارگانه (۲۶۶ nm)) از نظر فرکانس تبدیل شود. به عنوان مثال، فلزات دارای مشخصه جذب پهن باند هستند بنابراین می‌توان از تمام طول موج‌های مذکور استفاده نمود، اما برخی از نیمه‌هادی‌ها تنها مقدار محدودی از انرژی لیزر را در محدوده نور مرئی یا فرابنفش جذب نموده و به احتمال زیاد به پالس‌های لیزر با فرکانس دوگانه یا سه گانه نیازمند خواهند بود. یکی از واکنش‌های پویای مورد بررسی توسط محققان موسسه LLNL با استفاده از میکروسکوپ DTEM مربوط به ورق‌های چند لایه واکنشی^{۴۲} است. این ورق‌ها برای تولید مولفه‌های بین فلزی از طریق روش سنتز دمای بالا/احتراقی خودانتشار^{۴۳} واکنش گرمادهی را از خود نشان می‌دهند. حرارت آزاد شده از فرآیند مخلوط نمودن لایه‌های متمایز شیمیایی به عنوان نیروی محرکه اصلی در رویداد انتشار آنها (به وقوع پیوسته در سرعت‌هایی حول 40 m/s) به حساب می‌آید [۴۱]. تا قبل از ظهور پیشرفت‌های اخیر در حوزه DTEM [۴۲] تا [۴۴]، بیشتر دانش موجود درباره جزئیات SHS از تحلیل پسا وقوع واکنش‌های فروکش کرده^{۴۴} یا آزمایش‌های گرمایش تدریجی کسب شده بود [۴۵]. هیچ یک از روش‌های فوق به دلایل متفاوتی تحلیل‌های کاملی از SHS ارائه نمی‌دهند. روش نخست به دلیل عدم دسترسی به اطلاعات تکامل فاز در طول وقوع واکنش مورد نظر و روش دوم نیز به دلیل تولید فازهای میانی (به ازای هر نمودار فاز) متفاوت از فازهایی که در طول انتشار SHS موجود بوده به عنوان روشی کامل محسوب نمی‌شوند. در یکی از آزمایش‌های مربوط به رشد چندلایه‌های AlCo در آزمایشگاه ملی ساندا^{۴۵} از DTEM برای بررسی نتایج استفاده شده است. لایه‌های مذکور Al:Co با درصد اتمی ۱:۱/۳۸ رشد نموده و با در نظر گرفتن اینکه اندازه هر دو لایه برابر با ۲۰ nm است لذا می‌توان ضخامت نهایی تعداد ۸ دو لایه را محاسبه نمود. با توجه به این امر که تلفات حرارتی رسانشی و تشعشعی به صورت ناهنگام و بسیار زودتر از موعد مقرر واکنش مورد نظر را حذف نموده، لذا راه‌اندازی لیزر منجر به ایجاد انتشاری محدود می‌شود.

مرسوم به منظور دستیابی به پالس‌های الکترونی با جریان بالا در حالت تصویربرداری تک نما، افزودن تجهیزات نورشناسی الکترونی و مقاطعی از ستون میان بخش‌های متمرکز کننده و شتاب‌دهنده به منظور تزویج بهتر پالس الکترونی انتشار یافته به درون تجهیزات نورشناسی الکترونی متمرکز کننده مورد نظر است. لازم به ذکر است که در قسمت بالایی آینه لیزر Mo و مقطع رانش برنجی یک عدسی ضعیف نصب شده است. این عدسی از طریق متمرکز ساختن پرتو الکترونی پالسی داخل سوراخ مستقر در آینه لیزری مورد نظر و روزنه‌های ورودی سیستم متمرکز کننده جریان را به طور قابل توجهی افزایش می‌دهد. در صورت بکارگیری عدسی تزویج مورد نظر با تنظیمات مناسب عدسی متمرکز کننده و شرایط مطلوب تصویربرداری، این عدسی قادر است روشنایی تفنگ الکترونی را حفظ نموده و از طریق کاهش فرآیندهای ابیراهی (که در اثر تابیده شدن پالس الکترونی پهن باند و به خصوص الکترون‌های خارج از محور با زاویه بزرگ به وقوع پیوسته) کیفیت پرتو اصلی را ارتقاء ببخشد.



شکل (۳): ارتقاء ساختار مرسوم DTEM (شکل سمت چپ) به منظور بکارگیری تجهیزات نورشناسی الکترونی پیچیده‌تر (شکل سمت راست) برای بهینه‌سازی قابل توجه عملکرد میکروسکوپ مورد نظر نمایش داده شده است. تجهیزات نورشناسی مذکور به دلیل فراهم آوردن قابلیت نصب صفحات انحراف و دوربین‌ها برای دستیابی به تصاویر چندگانه از یک رویداد پیمایش لیزر بر نمونه (این قابلیت درون DTEM موسسه LLNL نیز موجود است) و یک صفحه فازی مبتنی بر لیزر باید از انعطاف‌پذیری بالایی برخوردار باشد [۵۳].

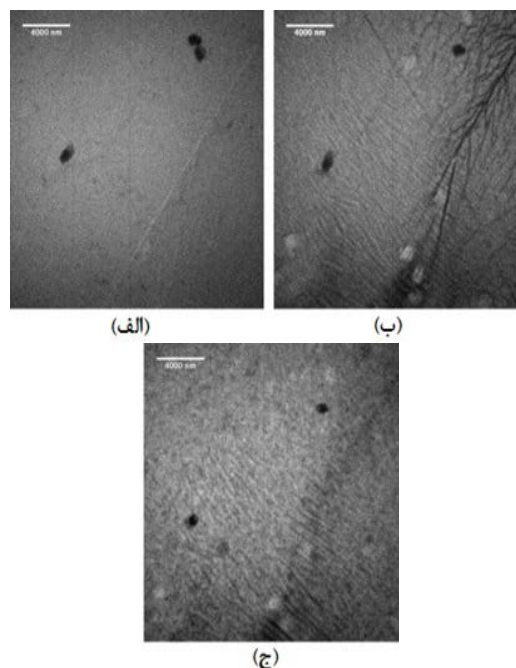
آزمایش‌های وابسته به زمان در میکروسکوپ DTEM به شرح ذیل انجام می‌پذیرند: ابتدا حالتی گذرا در نمونه راه‌اندازی شده و سپس با استفاده از پالس الکترونی ۱۵ ns با تاخیر زمانی مناسب پس از عملیات راه‌اندازی، تصویربرداری لحظه‌ای از فرآیند گذرای مذکور تهیه می‌شود. در بیشتر آزمایش‌های انجام شده با DTEM، حالت گذرا هم‌زمان

شده است. در طرح میکروسکوپ مذکور تفنگ انتشار نور درون چارچوب تفنگ الکترونی نشر/گسیل میدانی پیاده‌سازی شده است (باید توجه داشت که عملکرد این تفنگ مشابه تفنگ الکترونی نشر میدانی نیست). بکارگیری این امکانات منجر می‌شود عدسی اصلی تفنگ الکترونی درون دستگاه مورد نظر بدون نیاز به اعمال اصلاحات اساسی درون ستون قادر به تولید مجدد اثرات عدسی ضعیف تعبیه شده درون دستگاه موسسه LLNL باشد. علاوه بر این، از طریق پنجره مشاهده استاندارد تفنگ الکترونی نیز می‌توان لیزر را وارد سیستم تفنگ الکترونی مذکور نمود. هر دو عامل فوق فرآیند تزویج تفنگ الکترونی با ستون را افزایش و مراحل تنظیمات مورد نیاز DTEM را نیز کاهش می‌دهند. به منظور بهینه‌سازی همدوسی مکانی و جریان در فرآیند روشن‌سازی نمونه به کار برده شده، عدسی شیئی پیش از نگهدارنده نمونه مجهز به فناوری اصلاح ابیراهی کروی است. اصلاح ابیراهی کروی منجر به کاهش بسط یافتن ناهمدوس تابع انتقال کنتراست و بهینه‌سازی نمودن کنتراست فاز حاصل شده از سیگنال‌های کوچک می‌شود (این امر به عنوان مثال برای تصویربرداری زیستی سلول مایع کاربرد قابل توجهی دارد). این امر بکارگیری زوایای همگرایی و روزنه بزرگتر در قسمت نمونه را فراهم می‌کند، لذا دوز مورد نظر بدون وقوع اتلاف قابل توجهی در همدوسی پرتو افزایش می‌یابد. به منظور حصول اطمینان از حفظ کنتراست بیشتر، بعد از برخورد پرتو با نمونه، عدسی شیئی مستقر پس از نگهدارنده نمونه نیز از نظر ابیراهی رنگی اصلاح می‌شود. استفاده از فیلتر درون ستونی با هدف حذف الکترون‌هایی با پراکندگی غیرالاستیک یا بکارگیری این نوع الکترون‌ها برای شکل‌دهی تصاویری با انرژی فیلتر شده (برای دستیابی به اطلاعات ترکیبی در فرآیند تصویربرداری سریع کاربردی است) یکی دیگر از مزایای تصویربرداری با این دستگاه است [۵۳].

▣ طبقات درجا و بهنگام

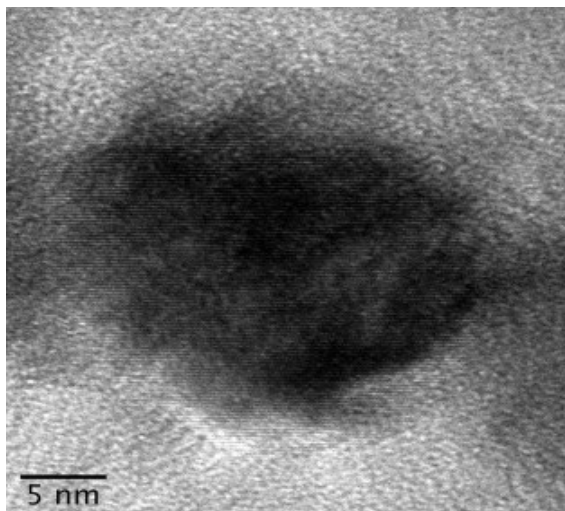
یکی از مزایای DTEM جدید، دستیابی به قابلیت بررسی درجا و بهنگام پویایی شناسی مواد درون میکروسکوپ مورد نظر است. به منظور توسعه کاربرد این روش در حوزه‌های مختلف باید قابلیت بررسی مواد در محیط‌هایی غیر از شرایط خلاء بالا درون ستون میکروسکوپ مذکور دسترس پذیر باشد. در صورت بکارگیری طبقه با محیط گازی درون DTEM مذکور می‌توان مواد مورد نظر را در شرایط متغیر دمایی و فشاری به طور درجا و بهنگام بررسی نمود. طبقه با محیط گازی طراحی شده برای DTEM مورد نظر از ترکیب سیستم فراهم آورنده جریان گاز به همراه نگهدارنده نمونه TEM اصلاح شده به وجود آمده است. نگهدارنده مذکور به گونه‌ای اصلاح شده است که جریان گردشی مخلوط کنترل شده متشکل

با استفاده از روش‌های نوری یا میکروسکوپ دربرگیرنده پروب روبشی حالت واکنش چرخشی و انتشار ناپایدار درون چندلایه‌های Al-Co مشاهده شده اند [۴۶ و ۴۷]. ظاهراً چرخشی و موج در واقع نمایانگر وجود موج حرارتی نوسانی بوده که پس از به هم خوردن توازن میان فرآیندهای تولید حرارت و انتشار آن به وقوع می‌پیوندد [۴۷]. شکل (۴)، قسمت چرخشی جبهه انتشار در بخش پایانی انتشار کلی درست پیش از وقوع فرآیند فروکشی را نمایش می‌دهد. لیزر مورد نظر ابتدا بخش قابل توجهی از ورق فلزی را به منظور فراهم آوردن شرایط انتشار حالت پایدار از پیش حرارت می‌دهد. سپس هم‌زمان با غلبه بر تلفات حرارت تشعشعی و انتشار حرارت بر فرآیند تولید گرما، از مشاهده حالت پایدار می‌توان اینگونه نتیجه گرفت که علاوه بر آغاز نوسان‌ها، سرعت نیز از حالت یکنواخت خارج شده و به طور قابل توجهی کاهش پیدا می‌کند.



شکل (۴): نمایش ورق‌های چند لایه از جنس Al-Co با نسبت درصد اتمی برابر با ۱:۱/۳۸. (الف) پیش از انتشار، (ب) در حال رشد ۲۵ μs پس از راه اندازی لیزر (رگه چرخشی) انتشار ناپایدار که درست پیش از فرآیند فروکشی ثبت شده است) و (ج) ریزساختار پس از فرآیند انتشار [۵۳].

به منظور بهینه‌سازی عملکرد میکروسکوپ مورد نظر (به عنوان مثال: به دست گرفتن کنترل پرتو؛ همان گونه که در بخش (۲) شرح داده شد) تجهیزات نورشناسی الکترونی در DTEM جدید مستقر در دانشگاه کالیفرنیا - دیویس^{۴۷} ارتقاء پیدا کرده‌اند. درون DTEM جدید از دستگاه اصلاح ابیراهی دوگانه مدل JEOL 2200 با فیلتر درون ستونی استفاده



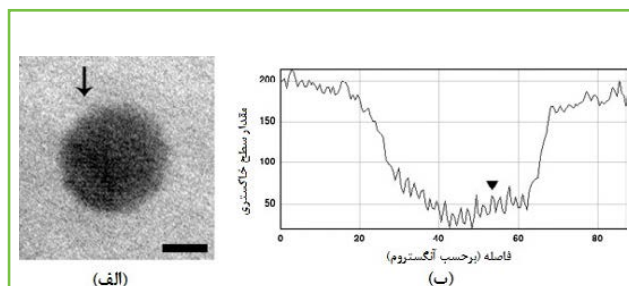
شکل (۵): تصویر میدان روشن با قدرت تفکیک‌پذیری اتمی میکروسکوپ الکترونی عبوری یک نانوذره طلا که از طریق بکارگیری طبقه با محیط گازی میان دو پنجره نیتريد سيليكونی ۵۰ nm ای تهیه شده است [۵۳].

شرایط تصویربرداری مذکور در آزمایش‌های قابل اجرا درون حوزه‌هایی نظیر: واکنش‌های الکتروشیمیایی [۴۸]، رشد نانوذره [۴۹] و مشاهده سلول‌های کامل [۵۰ و ۵۱] غیر قابل انکار است. به‌عنوان مثال، مشاهده سلول‌های کامل اشیریشیا کلائی^{۵۱} به‌صورت درجا و به‌هنگام با استفاده از روش‌های تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی عبوری مرسوم منجر به پدید آمدن حباب‌های گازی و آسیب پرتوکافت^{۵۲} به محیط مایع می‌شود [۵۰]. لازم به ذکر است، حالت تصویربرداری پالسی DTEM مذکور در مقایسه با TEM مرسوم از دوزهای پرتو بسیار پایین‌تری استفاده نموده و همین امر منجر به کاهش قابل توجه آسیب اعمال شده توسط پرتو بر محیط سیال می‌شود. نگهدارنده نمونه سیال از نوع درجا و به‌هنگام (تولید شده توسط شرکت هامينگبرد^{۵۳}) به‌گونه‌ای طراحی شده که دو لایه نازک دربرگیرنده غشاهای عبور دهنده الکترون، سیال مورد نظر را از خلاء موجود درون میکروسکوپ الکترونی عبوری جدا می‌سازد. این لایه‌های نازک به‌طور معمول از سيليكون نيتريد يا اكسيد سيليكون غيرمتبلور ساخته شده و ضخامت غشای آنها در محدوده ۲۵ nm تا ۱۰۰ nm انتخاب می‌شود. این غشاها با یک لایه نگهدارنده سيليكونی ۲۵۰۰ × ۲/۶ mm دربرگیرنده پنجره‌ای به اندازه ۲ μm الی ۴۰۰۰ μm محافظت می‌شوند. تنظیم فاصله میان پنجره‌های مورد نظر از طریق تعبیه طرح لایه نگدارنده روی سطح پنجره مذکور در طول فرآیند تولید [۴۸ و ۴۹]، نشان دادن لایه‌ای از مواد خنثی/غیرفعال در گوشه‌های سطح پنجره [۵۰] یا با استفاده از پر کردن شکاف مورد نظر با اپوکسی (چسب رزینی مخصوص) [۵۱] صورت می‌پذیرد.

از حداکثر ۴ گاز را در محفظه نمونه امکان‌پذیر کند. این نگهدارنده مخصوص به‌منظور حفظ محیط گازی مطلوب از یک سلول محیطی پنجره مانند استفاده می‌کند. در این صورت، حرارت‌دهی به نمونه برای ایجاد واکنش مورد نظر با استفاده از لیزر درون DTEM جدید انجام می‌شود. بنابراین، به‌منظور حصول اطمینان از وقوع واکنش‌ها برای فرآیندهای تصویربرداری و پراش در مقیاس زمانی مطلوب باید آنها را با فشار جزئی گاز درون طبقه مذکور کنترل نمود. سلول محیطی نگهدارنده TEM مورد نظر توسط کارشناسان شرکت فیشیون^{۴۸} طراحی شده و می‌توان نمونه استاندارد ۳ mm میکروسکوپ الکترونی عبوری را درون آن تعبیه نمود. طول مسیر جریان گاز درون سلول محیطی مذکور در حال حاضر برابر با ۲۵۰ μm است. ماده غشایی پنجره مربوطه به‌طور معمول از جنس نیتريد سيليكون غيرمتبلور/آمورف^{۴۹} انتخاب شده، اما می‌توان بر حسب نیازهای آزمایشی، آن را تغییر داد. نرخ جریان گاز مورد نظر را می‌توان از طریق کنترل کننده‌های جریان تعبیه شده بین sccm الی ۵ sccm تنظیم نمود. جریان گاز موجود در سلول مذکور از طریق لوله‌های ورودی (متصل به تجهیزات جریان) و خروجی (متصل به پمپ توربومولکولی) تعبیه شده در طول نگهدارنده تامین می‌شود. بکارگیری این طبقه با محیط گازی درون DTEM مورد نظر منجر به تولید یک ابزار مشخصه‌یابی درجا و به‌هنگام منحصر بفرد شد که قابلیت بررسی پویای نمونه‌ها با قدرت تفکیک‌پذیری مکانی - زمانی فوق‌العاده‌ای را برای کاربران فراهم می‌آورد. در شکل (۵) تصویری از نانوذره طلا با قدرت تفکیک‌پذیری اتمی نمایش داده شده که از طریق بکارگیری طبقه با محیط گازی میان دو پنجره نیتريد سيليكونی ۵۰ nm ای حاصل شده است. استفاده هم‌زمان از چنین قدرت تفکیک‌پذیری مکانی بالایی به همراه قدرت تفکیک‌پذیری زمانی DTEM مذکور منجر به حصول قابلیت مشاهده مستقیم وابسته به زمان تعاملات گاز - جامد (به‌عنوان مثال) در طول فرآیندهای کاتالیزوری در مقیاس نانومتر می‌شود. با استفاده از این قابلیت بینش فراتری در رابطه با بررسی سنتز و مشخصات نانوساختارها و همچنین ویژگی‌های اصلی و بنیادین مواد در طول چندین مقیاس مکانی و زمانی بدست می‌آید.

در فرآیند تصویربرداری محیطی سیالات، استفاده هم‌زمان از قدرت تفکیک‌پذیری بالای زمانی و مکانی DTEM مذکور شرایط کاملاً مطلوبی را فراهم می‌کند. تهیه تصاویر از واکنش‌ها و مواد معلق آزاد در حال حاضر به دلیل وقوع حرکت براونی^{۵۰} و تحرک حاصل شده از اثرات شارژ مربوط به فرآیند تابش پرتو الکترونی به سختی انجام می‌گیرد. DTEM مورد بحث از طریق ثبت تصاویری با قدرت تفکیک‌پذیری زمانی در محدوده ۱۰۰۰ ns - ۱۰ ns و هم‌زمان کمینه‌سازی اثرات پرتو بر نمونه به واسطه بکارگیری شرایط تصویربرداری با دوز پایین بر چالش فوق غلبه می‌کند. بنابراین، اهمیت

و ۵۰ nm به ازای محلول سیال). به منظور بهینه سازی هر چه بیشتر قدرت تفکیک پذیری مکانی باید طول مسیر سیال یا ضخامت غشاء مورد نظر را کاهش داد [۵۳].



شکل (۶): نمایش تصویربرداری مایع به صورت درجا و بهنگام از نانوذرات با قدرت تفکیک پذیری اتمی. (الف) لبه/حاشیه های ۲ نانوذره سولفید سرب در تصویربرداری میدان روشن میکروسکوپ الکترونی عبوری - روشی به وضوح قابل مشاهده هستند. طول مسیر سیال به طور نامی ۵۰ nm بوده که با دو غشای نیتريد سيليكون که ضخامت هر یک ۵۰ nm بوده محصور شده است. (ب) پیمایش خط عمودی ذره نمایش داده شده درون (الف) در امتداد جهت پیکان سیاه رنگ و ضخامت خط برابر با ۱۰ پیکسل نمایش داده شده است. با توجه به سر پیکان سیاه رنگ در این شکل، تنظیم فاصله ۲ Å قابل مشاهده است [۵۳].

نتیجه گیری

به اثبات رسیده است که بکارگیری لیزر برای تحریک فرآیند انتشار الکترون در نهایت قابلیت ایجاد پالس هایی کوتاه از الکترون درون TEM به منظور بررسی حوزه پویایی شناسی در مواد و سیستم های زیستی با قدرت تفکیک پذیری در حد نانومتر و نانوثانیه در حالت تصویربرداری تک نما را فراهم می آورد. در DTEM های کنونی از ابتدایی ترین و ساده ترین مولفه های الکترونی استفاده شده که می توان به منظور بهینه سازی عملکرد زمانی و مکانی آنها را ارتقاء بخشید. در صورت بکارگیری طبقات درجا/بهنگام درون میکروسکوپ الکترونی عبوری پویا می توان فرایندهای پویا را در شرایط محیطی گسترده ای بررسی نمود. در این حالت، دسترسی به کنترل پرتو و محرک از طریق لیزر مورد نظر قابلیت بی نظیر کنترل و تجدیدپذیری برای آزمایش هایی که انجام آنها با میکروسکوپ های الکترونی مرسوم و طبقات گرمایشی امکان پذیر نبوده را فراهم می کند [۵۳].

ضخامت نهایی محلول مورد نظر (یا طول مسیر سیال) با ارتفاع فاصله گذارهایی^{۵۴} به بلندی ۵۰ nm تا چند میکرومتر تعیین می شود. بکار بردن چسب به منظور محصور نمودن کامل نمونه و جداسازی آن از محفظه محیطی با خلاء بالا، دستیابی به مزیت بررسی نمونه درون یک نگهدارنده سیال غیراختصاصی را فراهم می آورد. لازم به ذکر است استفاده از این روش معایبی نظیر: واکنش پذیری چسب مذکور با محلول مورد استفاده، وقوع فرآیند بسپارش و رهش گاز و افزایش قابل توجه طول مسیرهای سیال را بر سر راه برخی از آزمایش ها قرار می دهد. ساختار سلول سیال دربر گیرنده جریان پیوسته برای نگهدارنده اختصاصی نمونه به طوری طراحی شده که پس از فشردن سلول و حلقه های لاستیکی دایره ای شکل^{۵۵} مربوطه محلول مورد بررسی در برابر خلاء میکروسکوپ الکترونی عبوری محفوظ باقی می ماند. در عین حال، دستگاه مذکور با استفاده از تجهیزات پمپ ریزسیال جریانی در فشار محیط را فراهم می آورد [۵۲]. این نگهدارنده نمونه شامل یک پنجره پایینی بوده که همانند سکوی پایه عمل نموده و غشای آن نیز رو به بالا تعبیه شده است. فاصله گذارها به طور معمول در گوشه های پنجره مذکور استقرار یافته و یک قطره از محلول مورد آزمایش نیز روی سطح پنجره دربر گیرنده غشاء قرار می گیرد. سطح غشای پنجره بالایی روی قطره را پوشش می دهد. مرکز حلقه های لاستیکی دایره ای شکل زیر پنجره پایینی و بالای پنجره بالایی مستقر بر زیرلایه Si نسبت به یکدیگر تنظیم می شود، در عین حال حلقه لاستیکی دایره ای شکل سوم به منظور ایزوله نمودن کل محفظه از خلاء میکروسکوپ مورد نظر دور چاه سیال محدوده ای مجزا ایجاد می کند. بنابراین، محلول مورد آزمایش به طور کامل درون ساختار داخلی نگهدارنده نمونه محصور می شود. به منظور تامین مواد تازه یا وارد ساختن محلول های واکنشی درون میدان دید در طول فرآیند تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی عبوری، حجم های مورد نظر و نرخ های جریان معینی از پیش تعیین شده اند. به طور یقین پیشرفت های آتی در حوزه نگهدارنده نمونه قابلیت کنترل الکتروشیمیایی و تنظیم دما را برای کاربر فراهم می آورند.

محققان به منظور فراهم آوردن محیطی مطلوب به منظور بررسی دقیق کلوئیدها^{۵۶}، رشد الکتروشیمیایی و تحلیل ساختار نمونه های زیستی قصد داشته نگهدارنده درجا/بهنگام با قابلیت ارائه جریان پیوسته را درون DTEM بکار گیرند. برای کاهش دوز پیوسته در طول منطقه تصویربرداری از ذرات کلوئیدی به طور عملی از نگهدارنده سیال مورد نظر استفاده شده است. با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری - روشی^{۵۷} مدل JEM-2200-Cs تصویربرداری با قدرت تفکیک پذیری ۲ Å از نانوذره سولفید سرب با لبه/حاشیه های شبکه ای با موفقیت انجام پذیرفته است (شکل ۶). ضخامت نامی کل نمونه برابر با ۱۵۰ nm است (۵۰ nm به ازای هر غشای نیتريد سيليكوني

۱. لیسانس الکترونیک، کارشناس آزمایشگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری دانشگاه شیراز
 ۲. عضو کارگروه تخصصی میکروسکوپ الکترونی عبوری

3. Transmission electron microscope (TEM)
4. In-situ
5. dynamic transmission electron microscope (DTEM)
6. Liquid stage
7. Gas stage
8. aberration
9. electron energy loss spectra (EELS)
10. spatial resolution
11. femtosecond
12. pump-probe experiments
13. ultrafast electron diffraction (UED)
14. Lawrence Livermore National Laboratory (LLNL)
15. Stroboscopic TEM
16. Zewail
17. single-shot
18. convergence/divergence
19. apertures
20. phase-space
21. phase-contrast imaging
22. temporal incoherence
23. chromatic aberration
24. Fermions
25. Boersch
26. Space-charge effects
27. de Broglie
28. Ballistic propagation
29. coherent fluence
30. envelope
31. Rose criterion
32. high-angle annular dark field (HAADF)
33. Field Emission Gun (FEG)
34. Electron-electron scatter
35. photocathode
36. brass drift section
37. Molybdenum (Mo)
38. Tantalum (Ta)
39. Full width at half maximum (FWHM)
40. Yttrium-Aluminum-Garnet (YAG)
41. Neodymium
42. Reactive Multilayer Foil (RMLF)
43. Self-propagating High-temperature Synthesis (SHS)
44. quenched reactions
45. Sandia National Laboratory
46. spin-like vein
47. UC-Davis
48. Fischione
49. amorphous silicon nitride
50. Brownian motion
51. Escherichia coli (E. Coli)
52. radiolysis
53. Hummingbird
54. spacer
55. O-ring
56. colloids
57. Scanning-Transmission Electron Microscope (STEM)

مراجع

- [1] M. Haider, S. Uhlemann, E. Schwan, H. Rose, B. Kabius, K. Urban *Nature*, 392 (1998), pp. 768-769
- [2] P.E. Batson, N. Dellby, O.L. Krivanek *Nature*, 418 (2002), pp. 617-620
- [3] R. Erni, M.D. Rossell, C. Kisielowski, U. Dahmen *Phys Rev Lett*, 102 (2009), p. 096101
- [4] K. Kimoto, T. Asaka, T. Nagai, M. Saito, Y. Matsui, K. Ishizuka *Nature*, 450 (2007), pp. 702-704
- [5] V. Ortalan, A. Uzun, B.C. Gates, N.D. Browning *Nature Nanotechnol*, 5 (2010), pp. 843-847
- [6] R. Sharma *J Mater Res*, 20 (2005), p. 1695
- [7] A.M. Minor, S.A.S. Asif, Z.W. Shan, E.A. Stach, E. Cyrankowski, T.J. Wyrobek, et al. *Nature Mater*, 5 (2006), p. 697
- [8] Z.W. Shan, R.K. Mishra, S.A.S. Asif, O.L. Warren, A.M. Minor *Nature Mater*, 7 (2008), p. 115
- [9] B.G. Clark, I.M. Robertson, L.M. Dougherty, D.C. Ahn, P. Sofronis *J Mater Res*, 20 (2005), p. 1792
- [10] A. Radisic, P.M. Vereecken, J.B. Hannon, P.C. Searson, F.M. Ross *Nano Lett*, 6 (2006), pp. 238-242
- [11] H.D. Espinosa, Y. Zhu, N. Moldovan *J Microelectromech Syst*, 16 (2007), pp. 1219-1231
- [12] P.L. Gai *Top Catal*, 21 (2002), pp. 161-173
- [13] W.Q. Han, L.J. Wu, Y.M. Zhu, M. Strongin *Nano Lett*, 5 (2005), pp. 1419-1422
- [14] K.H. Min, R. Sinclair, I.S. Park, S.T. Kim, U.I. Chung *Philos Mag*, 85 (2005), pp. 2049-2063
- [15] J.M. Howe, H. Saka *MRS Bull*, 29 (2004), pp. 951-957
- [16] A. Loveridge-Smith, A. Allen, J. Belak, T. Boehly, A. Hauer, B. Holian, et al. *Phys Rev Lett*, 86 (2001), p. 2349
- [17] D.H. Kalantar, J.F. Belak, G.W. Collins, J.D. Colvin, H.M. Davies, J.H. Eggert, et al. *Phys Rev Lett*, 95 (1-4) (2005), p. 075502
- [18] J.A. Hawreliak, D.H. Kalantar, J.S. Stolken, B.A. Remington, H.E. Lorenzana, J.S. Wark *Phys Rev B*, 78 (2008), p. 220101
- [19] J. Spence, M.R. Howells *Ultramicroscopy*, 93 (2002), pp. 213-222
- [20] A.H. Zewail *Annu Rev Phys Chem*, 57 (2006), pp. 65-103
- [21] A.H. Zewail *J Phys Chem A*, 104 (2000), pp. 5660-5694
- [22] B.J. Siwick, J.R. Dwyer, R.E. Jordan, R.J.D. Miller *Science*, 302 (2003), pp. 1382-1385
- [23] J. Cao, Z. Hao, H. Park, C. Tao, D. Kau, L. Blaszczyk *Appl Phys Lett*, 83 (2003), pp. 1044-1046
- [24] D.J. Masiel, T. LaGrange, B.W. Reed, T. Guo, N.D. Browning *ChemPhysChem*, 11 (2010), pp. 2088-2090
- [25] M.L. Taheri, S. McGowan, L. Nikolova, J.E. Evans, N. Teslich, J.P. Lu, et al. *Appl Phys Lett*, 97 (2010), p. 032102
- [26] Thomas LaGrange, David S. Grummon, Nigel D. Browning, Wayne E. King, G.H. Campbell *Appl Phys Lett*, 94 (2009), p. 184101
- [27] M.L. Taheri, B.W. Reed, T.B. Lagrange, N.D. Browning *Small*, 4 (2008), pp. 2187-2190
- [28] M.R. Armstrong, N.D. Browning, B.W. Reed, B.R. Torralva *Appl Phys Lett*, 90 (2007), p. 114101
- [29] Michael Armstrong, Ken Boyden, Nigel D. Browning, Geoffrey H. Campbell, Jeffrey D. Colvin, Bill DeHope, et al. *Ultramicroscopy*, 107 (2007), pp. 356-367
- [30] Thomas B. LaGrange, Michael Armstrong, Ken Boyden, Curtis Brown, Nigel D. Browning, Geoffrey H. Campbell, et al. *Appl Phys Lett*, 89 (2006), p. 04410
- [31] O. Bostonjoglo, R. Leidtke *Adv Imag Electron Phys*, 60 (1980), p. 451

- [32] O. Bostonjoglo, R. Elschner, Z. Mao, T. Nink, M. Weingartner Ultramicroscopy, 81 (2000), p. 141
- [33] O. Bostonjoglo Adv Imag Electron Phys, 121 (2002), p. 1
- [34] B. Barwick, H.S. Park, O.H. Kwon, J.S. Baskin, A.H. Zewail Science, 322 (2008), pp. 1227-1231
- [35] F. Carbone, O.H. Kwon, A.H. Zewail Science, 325 (2009), pp. 181-184
- [36] B.W. Reed, T. LaGrange, R.M. Shuttlesworth, D.J. Gibson, G.H. Campbell, N.D. Browning Rev Sci Instrum, 81 (2010), p. 053706
- [37] B.W. Reed, M.R. Armstrong, N.D. Browning, G.H. Campbell, J.E. Evans, T.B. LaGrange, et al. Microsc Microanal, 15 (2009), pp. 272-281
- [38] W.E. King, G.H. Campbell, A. Frank, B. Reed, J.F. Schmerge, B.J. Siwick, et al. J Appl Phys, 97 (2005), p. 111101
- [39] O.L. Krivanek P. Buseck, J. Cowley, L. Eyring (Eds.), High-resolution transmission electron microscopy and associated techniques, Oxford University Press, New York (1992), pp. 519-567
- [40] A. Rose Marston (Ed.), Advances in electronics and electron physics, Academic Press, New York (1948)
- [41] J.P. McDonald, M.A. Rodriguez, E.D. Jones Jr., D.P. Adams J Mater Res, 25 (4) (2010), pp. 718-727
- [42] J.S. Kim, T. Lagrange, B.W. Reed, M.L. Taheri, M.R. Armstrong, W.E. King, et al. Science, 321 (2008), p. 1472
- [43] T. LaGrange, G.H. Campbell, B.W. Reed, M.L. Tehari, J.B. Pesavento, J.S. Kim, et al. Ultramicroscopy, 108 (11) (2008), pp. 1441-1449
- [44] J.S. Kim, T. LaGrange, B.W. Reed, R. Knepper, T.P. Weihs, N.D. Browning, et al. Acta Mater, 59 (2011), pp. 3571-3580
- [45] C. Michaelsen, K. Barmak, T.P. Weihs J Phys D: Appl Phys, 30 (1997), pp. 3167-3186
- [46] D. Aurongzeb Appl Phys Lett, 92 (14) (2008), p. 141914
- [47] J.P. McDonald, V.C. Hodges, E.D. Jones Jr., D.P. Adams Appl Phys Lett, 94 (3) (2009), p. 034102
- [48] M.J. Williamson, R.M. Tromp, P.M. Vereecken, R. Hull, F.M. Ross Nature Mater, 2 (2003), pp. 532-536
- [49] H. Zheng, R.K. Smith, Y. Jun, C. Kisielowski, U. Dahmen, A.P. Alivisatos Science, 324 (2009), pp. 1309-1312
- [50] K.L. Liu, C.C. Wu, Y.J. Huang, H.L. Pang, H.Y. Chang, P. Chang, et al. Roy Soc Chem, 8 (2008), pp. 1915-1921
- [51] N. de Jonge, D.B. Peckys, G.J. Kremers, D.W. Piston PNAS, 106 (7) (2008), pp. 2159-2164
- [52] E.A. Ring, N. de Jonge Microsc Microanal, 16 (2010), pp. 622-629
- [53] N.D. Browning, M.A. Bonds, G.H. Campbell, J.E. Evans, T. LaGrange, K.L. Jungjohann, D.J. Masiel, J. McKeown, S. Mehraeen, B.W. Reed, M. Santala, Recent developments in dynamic transmission electron microscopy, ELSEVIER journal, Current Opinion in Solid State and Materials Science 16 (2012) 23-30

نویسندگان

فاطمه خاکراه^{۱*}فاطمه نصری^۲زینب زعفرانی^۳

*pkhakrah@yahoo.com

چکیده

میکروسکوپ نیروی اتمی سیالی^۵ یک نوع میکروسکوپ پروبی روبشی است که به طور معمول با یک میکروسکوپ نوری معکوس استفاده می شود. ویژگی منحصر به فرد FluidFM، دارا بودن کانال های (مجراهای) میکروسکوپی در پروب میکروسکوپ نیروی اتمی^۶ است. این کانال ها می توانند منافذی کوچکتر از ۳۰۰ نانومتر داشته باشند. این ویژگی های نانومتری، بررسی حجم مایع در مقیاس فمتولیت^۷ را امکان پذیر می سازد. جامع بودن و کارایی بالای FluidFM، آزمایش را در مقیاس کمتر از میکرون نه تنها در زیست شناسی بلکه در فیزیک، شیمی و علم مواد نیز شبیه سازی می کند.

واژه های کلیدی

میکروسکوپ نیروی سیال، میکروسکوپ نیروی اتمی، سلول منفرد.

میکروسکوپ نیروی اتمی سیالی و کاربردهای آن در زیست شناسی سلولی و مولکولی

مقدمه

در حقیقت میکروسکوپ نیروی سیال، یک نوع میکروسکوپ نیروی اتمی است که براساس پروب های توخالی (میان تهی) برای توزیع، انتقال^۸ مایع و تحریک سلول های منفرد^۹ زنده در شرایط فیزیولوژیکی استفاده می شود. کانال نانوسیال در پروب، امکان انتقال و رهایش مولکول های محلول را از طریق منفذ (دهانه) با ابعادی کوچکتر از میکرون، در سوزن AFM فراهم می کند. مدار بازخورد نیرو در AFM، نزدیک شدن کنترل شده سوزن به سطح نمونه را برای اصلاح موضعی سطوح در محیط های مایع آسان می کند. همچنین تبادل قابل اعتمادی در تماس آهسته (ملایم) با غشاء سلولی و یا سوراخ کردن آن را فراهم می کند. با استفاده از این تزریق و تبادل، می توان برای تهیه تصویر و دستکاری سلول های منفرد، ساختارها و اجزاء سلول در محیط طبیعی خود استفاده کرد که برای تحقیقات در حوزه های مختلف نظیر کشف دارو و تشخیص بیماری اهمیت زیادی دارد.

اصول و عملکرد میکروسکوپ نیروی اتمی سیالی

در دو دهه گذشته، به کمک میکروسکوپ نیروی اتمی تحول بزرگی در بررسی سطح نانومواد ایجاد شد. با این نوع میکروسکوپ، علاوه بر تهیه تصویر با توان تفکیک اتمی [۱]، امکان جابجایی اتم‌ها [۲]، دستکاری و تغییر شکل مولکول‌های پیچیده [۳] و انتقال (رها سازی) مولکول‌ها به‌طور موضعی در سطح [۴] نیز وجود دارد که به مطالعات زیست‌شناسی سلولی کمک می‌کند. به کمک AFM، ویژگی‌های مورفولوژی غشاء [۵]، خواص مکانیکی [۶]، سازوکار تقسیم [۷]، متابولیسم [۸]، تغییر شکل ولتاژ القایی [۹] یا چسبندگی قابل بررسی است [۱۰ و ۱۱]؛ همچنین به‌عنوان ابزاری ارزشمند برای بررسی و تشخیص سلول‌های سالم، بیمار و تشخیص سرطان به‌کار می‌رود [۱۲]. بنابراین، استفاده از AFM برای دستکاری سلول‌ها تا حد زیادی به فرآیندهای مکانیکی مانند ایجاد خراش، فشردن سازی و کشش محدود می‌شود.

در این مقاله با بهره‌گیری از اصول AFM، کاربرد جدیدی معرفی می‌شود که شامل دستکاری سلول‌های زیستی زنده، از طریق انتقال مستقیم عوامل فعال از محلول است؛ FluidFM موقعیت دقیق نیروی کنترل شده AFM را با استفاده از سیال تلفیق می‌کند که در آن یک کانال میکرونی در پروب AFM تعبیه شده است و از طریق کانال‌هایی در نگهدارنده پایه AFM به یک سیستم انتقال متصل می‌شود؛ بنابراین، کانال پیوسته و بسته‌ای ایجاد می‌شود که می‌تواند با یک محلول دلخواه پر و در محیط مایع غوطه‌ور شود. FluidFM را می‌توان در هوا و یا به‌صورت غوطه‌ور در مایع استفاده کرد. مایع خارجی یا حمام و مایع میکروکانال ممکن است یکسان یا متفاوت باشند. در هنگام توزیع مایع، بستر را می‌توان به‌طور هم‌زمان با میکروسکوپ نوری از طریق نگهدارنده پروب شفاف یا بستر شیشه‌ای مشاهده کرد (شکل ۱-الف)). منفذ در انتهای پروب AFM، امکان توزیع و انتشار مایعات را به‌طور موضعی فراهم می‌کند که با استفاده از آن می‌توان مواد را به درون سلول زنده تزریق نمود. در هنگام نزدیک شدن سوزن به نمونه و انتقال مایع، نیرو با استفاده از سوزن به نمونه اعمال می‌شود. این روش مشابه استفاده از تزریق میکرونی^{۱۰} با استفاده از پیت‌های شیشه‌ای است. اما تفاوت‌هایی بین آنها وجود دارد. در روش تزریق میکرونی، از میکروسکوپ نوری برای کنترل موقعیت سوزن پیت شیشه‌ای در صفحه xy و در جهت z (از طریق تمرکز بر تصویر) استفاده می‌شود. به‌دلیل وضوح محدود میکروسکوپ نوری، ساختارها و اجزاء سلول نشان داده نمی‌شود و تماس سوزن با غشاء سلول را نمی‌توان از نفوذ سوزن در غشاء تشخیص داد و در واقع کنترل و نفوذ سوزن به داخل غشاء امکان‌پذیر نیست. سلول‌ها بیشتر در معرض آسیب هستند؛ بنابراین به مهارت‌های شخصی برای تزریق میکرونی نیاز است [۱۳].

توان تفکیک اتمی محدود این روش و نبود اطلاعات مکانیکی، مانع از تهیه تصویر با توان تفکیک بالا می‌شود. اما در روش تزریق میکرونی با FluidFM، کنترل مستقیم نیروهای اعمال شده با AFM امکان‌پذیر است. استفاده از مدار بازخورد نیرو با دقت بالا، آسیب احتمالی به سلول را کاهش می‌دهد؛ شکل هندسی پروب، نیروهای تماسی معمول روی سلول و لرزش‌های جانبی سوزن را به حداقل می‌رساند که این نیروها می‌توانند غشاء سلول را پاره کنند. کنترل نیرو در سیستم توزیع / تزریق امکان توزیع موضعی روی سطوح را فراهم می‌کند. با استفاده از بازخورد نیرو، سوزن می‌تواند بدون احتمال آسیب به نمونه یا به سوزن، بسیار نزدیک نمونه شود و حداقل مقدار محلول به‌طور مستقیم در محل موردنظر رها شود. توزیع موضعی، امکان تحریک دقیق سلول‌ها را فراهم می‌کند. پروب توخالی به یک پایه سیلیکونی متصل است. میکروکانال‌های بسته پروب وارد پایه سیلیکونی شده و به یک مخزن باز ختم می‌شود. سوزن از جنس سیلیکون نیتريد (Si₃N₄) با ضخامت دیواره ۱۰۰ نانومتر ساخته شده است. منفذ با استفاده از پرتو یونی متمرکز^{۱۱}، با قطری در حدود ۱ میکرومتر تا ۱۰۰ نانومتر ایجاد می‌شود. یک لایه فلزی (طلا و یا پلاتین) در هر دو طرف پروب به‌منظور جلوگیری از تأثیرات شارژ در حین سوراخ‌کاری پوشش داده می‌شود که باعث افزایش انعکاس نور لیزر می‌شود. با توجه به انعطاف‌پذیری FIB، می‌توان موقعیت نسبی منفذ نزدیک به انتهای سوزن (به‌منظور تسهیل آزمایش‌های تزریق به سلول پس از سوراخ‌کردن غشاء آن)، یا در رأس سوزن (برای توزیع بر سطح یا تماس نرم با غشاء سلولی) انتخاب کرد که به ترتیب در شکل‌های (۱-ب) و (۱-ج) نشان داده شده است.

کاربردهای FluidFM:

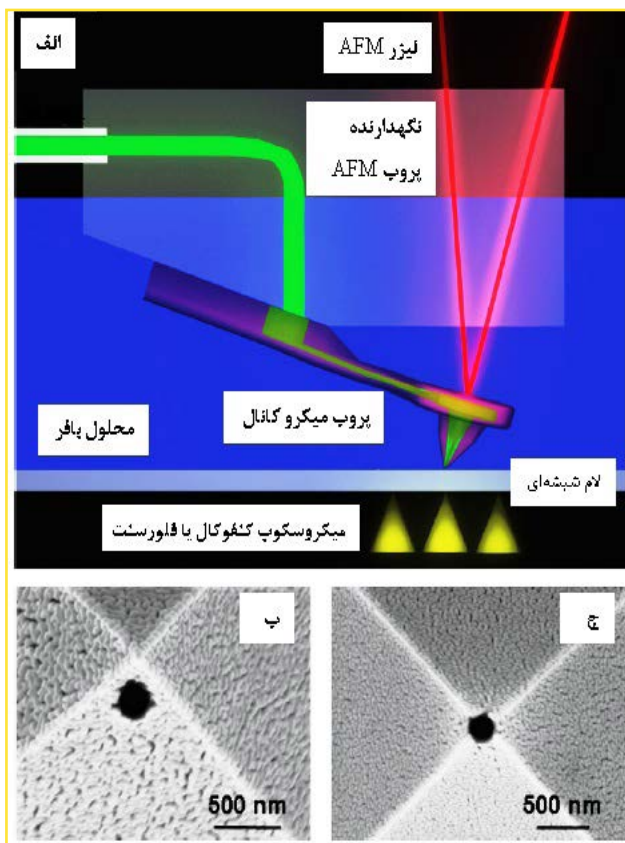
به برخی از مهمترین کاربردهای FluidFM می‌توان به شرح زیر اشاره نمود:

• تزریق مولکول‌های زیستی^۴:

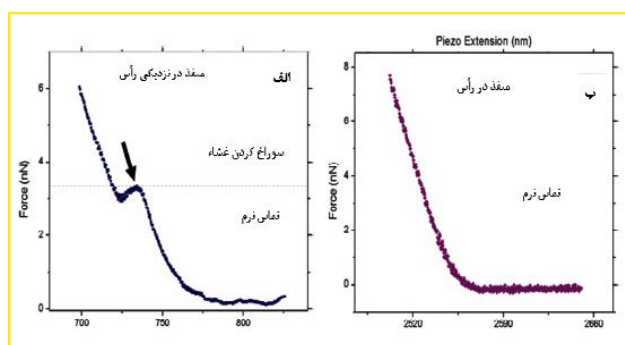
تزریق سلول منفرد، ابزاری مهم در زیست‌شناسی و پزشکی است. برای انجام آزمایش‌های تزریق سلول منفرد، با سوراخ کردن سلول به‌وسیله پروب، ماده تزریق می‌شود. با FluidFM، میزان موفقیت در مقایسه با دیگر روش‌ها تقریباً ۱۰۰ درصد است، زیرا پروب‌ها کوچک، تیز و قوی هستند. یک سلول منفرد می‌تواند از یک سلول چسبیده و حتی مخلوط کشت سلولی یا سوسپانسیون سلولی جدا شود. از FluidFM برای جداسازی سلول‌های پستان، مخمر و باکتری استفاده شده است [۱۴]. با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی سیالی، می‌توان پروب را به درون هسته سلول

فرو برده و سیال و مواد زیستی مورد نظر را درون آن تزریق کرد. از مزیت‌های سیستم آن است که می‌توان نیروی وارد شده به سیتوپلاسم و هسته را رصد کرد، همچنین مقدار فشار اعمال شده برای رهایش سیال مورد نظر، قابل کنترل است. با تعیین مقدار فشار، می‌توان حجم ماده‌ای که قرار است تزریق شود را از یک یا دو پیکولیترا تا چند ده فمتولیترا کنترل کرد. همچنین از این روش برای تزریق‌های استاندارد شده به درون هسته سلول می‌توان استفاده نمود. از سوی دیگر، این میکروسکوپ می‌تواند امکان بررسی نقش یک پروتئین یا ژن را در سلول فراهم کند که این امر در مطالعه سلول‌های بنیادین، سرطان‌شناسی و عصب‌شناسی نقش مهمی دارد. سامانه تشخیص نیروی میکروسکوپ FluidFM به قدری حساس است که واکنش‌های بین نوک سوزن و نمونه را می‌توان به محدوده پیکونیوتن کاهش داد و بررسی نمونه‌های آسیب‌پذیر نظیر سلول‌های زنده را امکان‌پذیر می‌سازد. در یک سلول جوانه ماهیچه^{۱۳} در نقطه تنظیم با نیروی کم، پروب با منفذ نزدیک به رأس سوزن نزدیک سلول‌ها شود. فلش، ناپیوستگی معمول در خراش دادن غشای سلولی را نشان می‌دهد (شکل (۲-الف)) [۱۵]. از سوی دیگر، همان‌طور که در منحنی فاصله - نیروی شکل (۲-الف) نشان داده شده‌است، عمل سوراخ کردن غشاء برای تزریق داخل سلولی به سادگی با انتخاب نیروی بالاتر، با استفاده از سوزن بسیار تیز (شعاع خمیدگی در حدود ده‌ها نانومتر) حاصل می‌شود. با توجه به شکل (۱-ج)، اگر منفذ در رأس قرار گیرد، هیچ جهشی در منحنی فاصله - نیرو مشاهده نمی‌شود (نمودار (۲-ب))، به این معنی که سوزن با «تماس نرم» با غشاء بدون پاره شدن آن باقی می‌ماند.

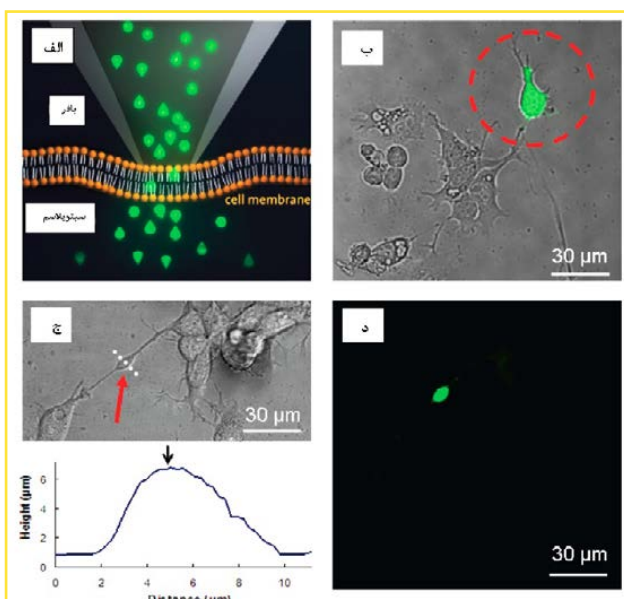
تزریق داخل سلولی با استفاده از نمک سدیم فلورسینایزوسیانات سدیم^{۱۳} به‌عنوان رنگ در شکل (۳-الف) نشان داده می‌شود، زیرا نه به غشاء سلولی متصل است و نه به‌طور خودبه‌خود در آن پراکنده می‌شود. شکل (۳-ب) تصویر توپوگرافی میکروسکوپ نیروی اتمی از یک سلول جوانه ماهیچه است که در حالت مدولاسیون دامنه^{۱۴} (AM) با کانال مایع همراه با محلول فیزیولوژی حاوی رنگ FITC گرفته شده‌است. حالت AM باعث کاهش نیروی اعمال شده بر سلول می‌شود و سلول با دقت سه‌بعدی تا جزئیات ۲۰۰ نانومتر را مشخص می‌کند که قابلیت پروب‌های میکروکانال را برای استفاده به‌عنوان پروب و نانوپیت تأیید می‌کند. پس از تهیه تصویر با AFM، پروب متوقف شده و با کنترل‌کننده AFM، بالای نقطه موردنظر در سلول قرار می‌گیرد. با توجه به منحنی فاصله - نیرو، به‌منظور تعیین نقطه تنظیم برای نفوذ به غشاء سلولی، به حالت تماسی تغییر حالت داده، انتهای سوزن را به سلول نزدیک کرده، محلول فلورسنت به مدت چند ثانیه با فشار هیدرواستاتیک تزریق می‌شود و در نهایت سوزن از سلول دور می‌شود. با شبیه‌سازی نرخ جریان



شکل (۱): (الف) FluidFM. پروب میکروکانال که به نگهدارنده پروب AFM وصل شده‌است. این سیستم تا فشار ۴ بار مقاوم است اما به‌طور معمول، از ۱۰ میلی‌بار استفاده می‌شود. (ب) تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از منفذ نزدیک به انتهای سوزن هرمی شکل AFM برای انجام آزمایش‌های تزریق داخل سلولی. (ج) تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از منفذ در انتهای سوزن هرمی شکل AFM برای آزمایش‌های رنگ‌آمیزی سلول با تماس ملایم [۱۴].



شکل (۲): (الف) روش‌های تماس با غشاء سلولی. (الف) منحنی فاصله - نیرو در یک سلول جوانه ماهیچه برای پروب با منفذی نزدیک به انتهای سوزن (K برابر است با ۰/۳ نیوتن بر متر، سرعت نزدیک شدن ۵۰ نانومتر بر ثانیه)؛ نقطه تنظیم حدود ۳ نانونیوتن، دو روش تماس را از هم جدا می‌کند، تماس نرم روی غشاء سلولی و ایجاد سوراخ به‌منظور تزریق داخل سلولی. (ب) منحنی فاصله - نیرو در سلول‌های جوانه ماهیچه برای پروب با منفذ ۱ میکرومتر در رأس هرم، (K برابر است با ۰/۳ نیوتن بر متر، سرعت نزدیک شدن ۵۰ نانومتر بر ثانیه)؛ در این حالت هیچ ناپیوستگی به‌نظر نمی‌رسد [۱۵].



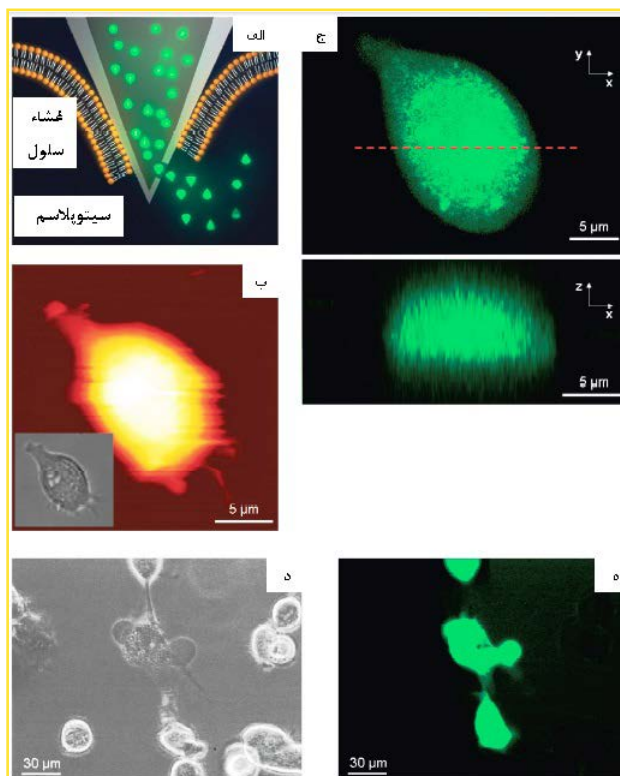
شکل (۴): رنگ‌آمیزی سلول‌های زنده نروپلاستوما با تماس آهسته روی غشاء سلولی. (الف) نمودار روش رنگ‌آمیزی با تماس آهسته (بدون مقیاس). (ب) انطباق تصویر تداخل اختلاف کنتراست و فلورسنت مربوط به یک سلول پس از رنگ‌آمیزی با ردیاب سلولی سبز. (ج) تصویر از تداخل تمایز یافته دو سلول نروپلاستوما که با یک برجستگی در قسمت میانی به هم متصل شده‌اند (فلش قرمز) و مقطع عرضی مربوطه در امتداد نقطه چین سفید رنگ. (حالت AM، دامنه ۵۰ نانومتر، سرعت روبش ۰/۱ ثانیه). (د) تصویر فلورسنت بعد از رنگ‌آمیزی با آکریدین نارنجی رنگ به مدت ۱ دقیقه [۱۶].

میکروکانال با رنگ فلورسنت غشاء به نام ردیاب سلولی سبز رنگ پر شده و با میکروسکوپ نوری روی سلول قرار می‌گیرد [۱۶]. سپس این پروب به سلول متصل شده و با یک تماس آهسته، رنگ مورد نظر به سیتوپلاسم سلول منتقل می‌شود. سوزن توخالی در تماس با غشاء سلولی به کمک بازخورد نیرو نگه داشته می‌شود (نقطه تنظیم کمتر از ۱ نانونیوتن). مواد در مجرای میکرونی به‌طور خودبه‌خودی از غشاء به سیتوپلاسم منتشر می‌شود. ردیاب سلولی سبز رنگ به دلیل ویژگی فلورسنت آن استفاده می‌شود که به فعالیت آنزیمی سلول زنده بستگی دارد.

رنگ سبز ردیاب سلولی، یک رنگ فلورسنت است که برای تهیه تصویر از حرکت و جابجایی سلول مناسب است. این رنگ از طریق غشاء سلول به داخل سلول منتقل و فعالیت آنزیمی سلول باعث انتشار رنگ فلورسنت می‌شود. شکل (۴-ب) سلول‌های نروپلاستوما را روی یک اسلاید شیشه‌ای در یک بافر فیزیولوژی نشان می‌دهد. پروب حاوی رنگ سبز ردیاب سلولی با سلول، تماس برقرار می‌کند که با یک دایره قرمز رنگ روی شکل نشان داده شده است؛ این تماس ۱۵ دقیقه طول می‌کشد که این زمان برای متابولیسم سلول و انتقال رنگ از میان غشاء و ظاهر شدن فلورسنت لازم است. سلول‌هایی که به‌وسیله سوزن در معرض این رنگ قرار می‌گیرند، فلورسنت می‌شوند در حالی که سلول‌های اطراف،

از طریق منفذ پروب توخالی، می‌توان میزان تزریق محلول FITC را تخمین زد که کمتر از ۱۰ فمتولتر است. شکل (۳-ج) تصویر فلورسنت با میکروسکوپ لیزری کنفوکال^{۱۵} همان سلول است که در شکل (۳-ب) نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که ورود مایع به سلول منجر به پیدایش سیگنال فلورسنت بدون تغییر مهمی در حجم سلول شده است. برای نشان دادن این که رنگ درون سلول است، تصاویر Z-stack گرفته شد. مقطع عرضی، شدت فلورسنت را نه تنها در غشای سلولی بلکه در سیتوزول نیز نشان می‌دهد. باقی ماندن رنگ در سلول نشان می‌دهد که غشاء پس از خروج سوزن، بهبود یافته و دوباره استحکام می‌یابد. شکل‌های (۳-د) و (۳-ه)، تزریق داخل سلولی FITC را به سه نوروپلاستوما^{۱۶} در شکل (۴-الف) نشان داده شده است. پروب دستکاری متوالی بدون گرفتگی استفاده کرد.

روش تماس آهسته با رنگ‌آمیزی سلول‌های زنده نروپلاستوما^{۱۶} در شکل (۴-الف) نشان داده شده است. پروب



شکل (۳): (الف) روش تزریق داخل سلولی با سوراخ شدن غشاء را نشان می‌دهد (بدون مقیاس). منفذ به‌صورت عمودی در کنار رأس هرم به‌منظور تسهیل نفوذ در غشاء ایجاد می‌شود (حداقل نقطه تنظیم ۳ نانونیوتن). (ب) انطباق تصویر تداخل جاذبه ماهیچه و تصویر مربوط به AFM (دامنه ۳۰ نانومتر، سرعت روبش ۰/۳ ثانیه). (ج) تصویر CLSM از همان سلول برای $1 \mu\text{m} = Z$ پس از ۱۵ ثانیه تزریق داخل سلولی FITC و مقطع عرضی در امتداد خط چین قرمز؛ ضخامت فلورسنت ۶ میکرومتر مطابق با ارتفاع سلول که با AFM اندازه‌گیری شده است. (د) و (ه) انطباق تصویر تداخل نروپلاستوما و تصویر فلورسنت به محض تزریق داخل سلولی FITC. از سه نوروپلاستوما در مرکز [۱۵].

با دقت میکرونی انجام شود. مواد می‌توانند به‌طور معکوس در منفذ پروب با استفاده از فشار منفی جابه‌جا شوند. سپس مواد را می‌توان روی بستر مورد نظر قرار داد و با استفاده از فشار مثبت رها کرد [۱۷]. با استفاده از این اصل، سلول‌های پستانداران (نورون‌ها)، مخمرها و باکتری‌ها دستکاری شدند. مشابه آزمایش‌های تزریق، دستکاری‌های متوالی با استفاده از پروب امکان‌پذیر است [۱۸].

نیروی چسبندگی سلولی

چسبندگی سلولی فرآیند فیزیولوژیکی شامل تعاملات بسیار منظم سلول‌ها با یکدیگر و یا با بسترشان است؛ با اندازه‌گیری چسبندگی سلول‌های منفرد، می‌توان اطلاعات مهمی برای موضوعات مختلف در زیست‌شناسی و علم مواد به‌دست آورد. نیروی چسبندگی را می‌توان با توان تفکیکی در مقیاس پیکومتر اندازه‌گیری کرد.

روش انجام آزمایش چسبندگی باکتری، همانند سلول منفرد است. این روش اطلاعاتی در مورد چگونگی ارتباط سلول‌های باکتری با یکدیگر و یا با بستر، ارائه می‌کند. FluidFM چندین قابلیت را برای مطالعه چسبندگی در سطح تک مولکول ارائه می‌دهد. همچنین با استفاده از طیف‌سنجی نیروی سلول منفرد^{۱۷} براساس FluidFM، چسبندگی مخمرها و پستانداران مطالعه شده‌است [۱۹].

الکتروفیزیولوژی سلولی

الکتروفیزیولوژی سلولی، مطالعه خواص سلول‌ها و بافت‌های زیستی است. الکتروفیزیولوژی شامل اندازه‌گیری تغییر ولتاژ یا جریان الکتریکی در مقیاس‌های گسترده‌ای از پروتئین‌های دارای یک مجرای یونی تا تمام یک عضو مانند قلب است. کانال‌ها یا مجراهای یونی مسئول انتقال یون‌ها از طریق غشاء سلول هستند. اختلال در عملکرد این پروتئین‌ها همراه با وقوع چندین اختلال انسانی مانند آریتمی قلبی و بیماری‌های نورونیک است [۲۰ تا ۲۲]. در این زمینه، فناوری پیچ کلمپ^{۱۸} برای مطالعه فیزیک زیستی و فارماکولوژی خواص کانال‌های یونی در نظر گرفته شده‌است که برای دسترسی به داخل سلول، با اعمال ولتاژ در یک قسمت از غشاء سلول و با قرار دادن یک میکروپیت شیشه‌ای روی سلول، فشار منفی کمی برای به‌دست آوردن مقاومت الکتریکی بالا (گیگاسل) استفاده می‌شود. در ابتدا، پیت شیشه‌ای به کمک مکش ضعیفی به‌طور کامل به سلول می‌چسبد. سپس، مکش بیشتر در پیت، غشاء را پاره می‌کند

این ویژگی را نشان نمی‌دهند که نشان‌دهنده نفوذ رنگ به سلول‌های موردنظر است. انتقال رنگ به ساختارهای داخل سلولی با تصویر تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ AFM مشاهده می‌شود. ابتدا یک ناحیه با میکروسکوپ FluidFM روبش شده و سپس اطلاعات توپوگرافی برای دستیابی به ساختارها و اجزاء سلول برای سیستم‌های میکروتزریق استفاده می‌شود.

شکل (۴-ج) تصویر دو سلول نوروبلاستوما را نشان می‌دهد که با یک برجستگی در قسمت میانی به هم متصل شده‌اند. پروب میکروسکوپ AFM حاوی رنگ فلورسنت آکریدین نارنجی به مدت یک دقیقه روی ناحیه برجسته شکل (۴-ج) قرار می‌گیرد و رنگ مورد نظر به آن ناحیه انتقال می‌یابد [۱۶]. تصویر فلورسنت مربوط به شکل (۴-د) یک برجستگی روشن با کاهش شدت رنگ فلورسنت در اطراف سلول نوریت دیده می‌شود که این موضوع نشان‌دهنده این است که یک محلول می‌تواند به سهولت به‌وسیله یک روش کنترل شده از طریق دستگاه AFM مایع به ساختارها و اجزاء سلولی منتقل شود.

انتقال مواد به داخل سلول براساس استفاده از میکروسکوپ AFM توسط دیگر محققان نیز ارائه شده‌است، در یافته‌های آنان سوزن‌های نانویی AFM با مولکول‌های انتخابی پوشش داده شده و سپس با اتصال از طریق غشاء سلول به داخل سلول منتقل می‌شوند.

با این حال، این طرح به ویژگی‌هایی از ساختار مولکول‌ها برمی‌گردد که می‌توانند به‌طور برگشت‌پذیر به سوزن AFM متصل شده و بعد به روش خودبخودی از نوک سوزن به محیط داخل سلول آزاد شوند. از آنجا که مولکول‌های زیستی که به داخل سلول منتقل می‌شوند به آن بلندی نیستند که به نوک سوزن پیوند خورده و یا جذب شوند، به راحتی در محلول انتقالی حل شده که این موضوع یک محدوده وسیع کار برای انتقال مواد به داخل سلول ایجاد می‌کند.

این محدوده از انتقال، امروزه از انتقال ذرات تا مطالعه چگونگی حرکت آنها در داخل سلول براساس عملکرد شیمیایی آنها، همانند انتقال پروتئین‌ها، ژن‌ها (به داخل هسته سلول)، آنزیم‌ها، لیگاندها برای مطالعات بنیادین در زیست‌شناسی سلولی و همچنین مطالعات مهندسی بافت استفاده می‌شود.

به‌علاوه، انتقال آهسته نانوذرات به داخل غشاء سلول، راه را برای مطالعاتی از قبیل رفتار ویروس‌ها در غشاء سلول و یا اثر داروها بر پروتئین‌های غشاء فراهم می‌کند.

دستکاری سلول‌های زنده

دستکاری سلول‌های زنده با استفاده از FluidFM می‌تواند

و دسترسی به سیتوپلاسم امکان‌پذیر می‌شود [۲۳]. به تازگی روش پچ کلمپ را با AFM از طریق فناوری FluidFM تلفیق کرده‌اند^{۱۹} (Fluid-PC). این تلفیق، امکان مطالعه کانال‌های یونی و به‌طور هم‌زمان نیروی اعمال شده به سلول را ممکن می‌سازد [۱۷].

استخراج و تجزیه و تحلیل سلول منفرد

تجزیه و تحلیل سلول منفرد نشان داده است که ناهمگنی سلولی در فرآیندهای فیزیولوژیکی دخالت دارند [۲۴]. برای مطالعات متابولیک سلول منفرد، چند روش براساس یونیزاسیون سلول‌های منفرد توسعه یافته‌اند که باعث استخراج محتوای داخل سلولی آنها می‌شود. محققان بیش از ۳۰۰۰ سلول را تجزیه و تحلیل کرده‌اند که نشان‌دهنده توانایی این دستگاه برای تحقیق ناهمگنی متابولیکی در سطح سلول منفرد است. به‌عنوان مثال، ناهمگنی سلول منفرد جزایر لانگهانس را بررسی کرده‌اند. با این حال، چنین روش‌هایی به‌طور معمول نیاز به استخراج سلول‌ها از محیط فیزیولوژیکی آنها دارد. در نتیجه، جداسازی سلول‌ها ممکن است بر عملکرد فیزیولوژیکی آنها تاثیر بگذارد. برای غلبه بر این محدودیت، فناوری FluidFM امکان‌ات جدیدی را در زمینه تحلیل سلول منفرد ارائه می‌دهد که از این فناوری برای تجزیه و تحلیل مولکول‌های منفرد استخراج شده از

بخش‌های مختلف سلول استفاده می‌کنند [۱۷]. در این راستا، پروب‌های FluidFM به‌صورت نوری روی سلول هدف قرار داده می‌شوند. سپس، طیف‌سنجی نیرو برای دسترسی به محفظه سلولی مورد نظر آغاز می‌شود. پروب یکدفعه وارد می‌شود، فشار منفی از طریق پروب میکروکانال برای استخراج محتوای سلولی اعمال می‌شود. پس از استخراج، عصاره‌ها با استفاده از روش‌های مختلف مانند میکروسکوپ الکترونی، تجزیه و تحلیل زیست شیمیایی می‌توانند مورد تجزیه و تحلیل قرار بگیرند [۲۵].

از دیگر کاربردهای FluidFM می‌توان به آزمایش‌های بررسی ذرات کلوئیدی، امکان اندازه‌گیری نیروهای تعامل بین ذرات کلوئیدی و سطوح اشاره نمود. گستره انجام این آزمایش‌ها نسبتاً کم است زیرا به‌طور معمول باید کلوئیدها را روی یک پروب AFM چسباند. پروب‌های کلوئیدی را می‌توان تحت فشار، به‌صورت برگشت‌پذیر به پروب FluidFM متصل کرد. بنابراین، یک پروب را می‌توان برای بسیاری از آزمایش‌ها و بسیاری از کلوئیدها استفاده کرد.

همچنین از FluidFM می‌توان در نانولیتوگرافی که فرآیند حکاکی، نوشتن یا چاپ ساختارها در محدوده نانومتر است، نیز استفاده کرد. در این روش می‌توان مقدار کمی از مایعات را از طریق سوزن یک پروب جدا کرد. با FluidFM می‌توان حجمی کمتر از ۱ fL تا مقادیر بیشتر از ۲۰ pL را توزیع نمود. FluidFM در محیط‌های هوا و مایع عمل می‌کند [۱۴].

نتیجه‌گیری

از زمان اختراع AFM و FluidFM به بسیاری از مسائل مهم زیستی در زمینه‌های مختلف پژوهش (به‌عنوان مثال، زیست‌شناسی ساختاری، میکروبیولوژی، زیست‌شناسی مولکولی و زیست فیزیک) پاسخ داده شده‌است. در حال حاضر، از FluidFM برای بررسی ساختار سلول‌ها، دستکاری و تزریق سلول‌های منفرد با رنگ‌ها و مولکول‌های زیستی، استخراج و تجزیه و تحلیل متابولیت‌ها از بخش‌های سلولی خاص و همچنین ثبت فعالیت‌های الکتریکی و انقباضی سلول‌ها استفاده می‌شود. در این مقاله، تلفیق میکروسکوپ نیروی اتمی و نانو سیالات با انتقال سیال به کمک پروب‌های دستگاه AFM حاوی منافذ کنترل شده برای کاربردهای متعددی نظیر بررسی سلول منفرد معرفی شد. پروب‌های حاوی میکروکانال به‌طور موفقیت‌آمیزی از طریق یک نگهدارنده پروب AFM به دستگاه متصل می‌شوند، بنابراین، با کنترل نیرو، مولکول‌های انتخابی به داخل سلول‌های منفرد در داخل یک محیط فیزیولوژی منتقل می‌شوند. جامع بودن و کارایی بالای FluidFM راهی برای انجام آزمایش‌ها در طیف گسترده‌ای از رشته‌ها، در فیزیک (فعل و انفعالات قطره‌ای)، علم مواد (حکاکی ابعادی کوچکتر از میکرون)، شیمی (عملکرد موضعی پلیمر) و الکترونیک مولکولی (قرارگیری پلیمر رسانا روی نانو الکترودها) و غیره باز می‌کند.

پی‌نوشت

۱. کارشناس ارشد زمین‌شناسی اقتصادی، آزمایشگاه مرکزی دانشگاه فردوسی مشهد
۲. کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، آزمایشگاه مرکزی دانشگاه فردوسی مشهد
۳. کارشناسی صنایع غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی مشهد
۴. عضو کارگروه تخصصی میکروسکوپ پروبی روبشی

5. Fluid Force Microscope (FluidFM)
6. Atomic force microscopy (AFM)
7. Femtoliter (fL)
8. Delivery
9. Single Cell
10. Microjunction
11. Focused ion beam (FIB)
12. Myoblast
13. Fluorescein isocyanate sodium salt
14. Amplitudemodulation
15. Confocal laser scanning microscopy (CLSM)
16. Neuroblastoma
17. Single cell force spectroscopy (SCFS)
18. Patch Clamp
19. Fluid- Patch Clamp (Fluid-PC)
20. picoliter (PL)

مراجع

- [1] Barth, C.; Reichling, M. Nature 2001, 414, 54–57.
- [2] Sugimoto, Y.; Abe, M.; Hirayama, S.; Oyabu, N.; Custance, O.; Morita, S. Nat. Mater. 2005, 4, 156–159.
- [3] Thalhammer, S.; Stark, R. W.; Muller, S.; Wienberg, J.; Heckl, W. M.J. Struct. Biol. 1997, 119, 232–237.
- [4] Piner, R. D.; Zhu, J.; Xu, F.; Hong, S. H.; Mirkin, C. A. Science 1999, 283, 661–663.
- [5] Henderson, E.; Haydon, P. G.; Sakaguchi, D. S. Science 1992, 257, 1944–1946.
- [6] Simon, A.; Cohen-Bouhacina, T.; Aime, J. P.; Porte, M. C.; Amedee, J.; Baquey, C. Cell. Mol. Biol. 2004, 50, 255–266.
- [7] Matzke, R.; Jacobson, K.; Radmacher, M. Nat. Cell Biol. 2001, 3, 607–610.
- [8] Pelling, A. E.; Sehati, S.; Gralla, E. B.; Valentine, J. S.; Gimzewski, J. K. Science 2004, 305, 1147–1150.
- [9] Zhang, P. C.; Kelesian, A. M.; Sachs, F. Nature 2001, 413, 428–432.

- [10] Benoit, M.; Gabriel, D.; Gerisch, G.; Gaub, H. E. Nat. Cell Biol. 2000,2, 313–317.
- [11] Helenius, J.; Heisenberg, C. P.; Gaub, H. E.; Muller, D. J. J. Cell Sci. 2008, 121, 1785–1791.
- [12] Cross, S. E.; Jin, Y. S.; Rao, J.; Gimzewski, J. K. Nat. Nanotechnol. 2007, 2, 780–783.
- [13] Meister, A.; Gabi, M.; Behr, P.; Studer, Ph.; Voros, J.; Niedermann, Ph.; Bitterli, J.; Polesel-Maris, J.; Liley, M.; Heinzelmann, H.; Zambelli, T. Nano Letters. 2009, 6, 2501-2507.
- [14] WWW.wikipedia.org
- [15] Hategan, A.; Law, R.; Kahn, S.; Discher, D. E. Biophys. J. 2003, 85, 2746–2759.
- [16] The membrane-permeable CellTracker and acridin orange were used in combination with ethidium bromide to differentiate between living and apoptotic cells.
- [17] Amarouch, M.; El Hilaly, J.; Mazouzi, D. Hindawi. 2018, 10 pages.
- [18] P. Dorig, P. Stiefel, P. Behr et al; Applied physics letters, 2010, vol 97, no 2.
- [19] E. Potthoff, O. Guillaume-Gentil, D. Ossola et al; Plos One, 2012, vol 7, no 12.
- [20] H. Abriel, n. Syam, V. Sottas, M. Y. Amarouch and J.S. Rougier; Biochemical Pharmacology, 2012, pp. 873-881.
- [21] H. Abriel, E. V. Zaklyazminkaya, Gene; pp. 1-11, 2013.
- [22] M. Y. Amarouch and H. Abriel, Frontiers in Physiology, vol. 6, 2015.
- [23] D. Ossola, M. Y. Amarouch, P. Behr, J. Voros, H. Abriel, and T. Zambelli; Nano Letters, Vol. 15, no 3, pp. 1743-1750, 2015.
- [24] M. E. Lidstrom and m. C. Konopka, Nature Chemical Biology, Vol. 6, no. 10, pp 705-712, 2010.
- [25] O. Guillaume-Gentil, T. Rey, P. Kiefer et al; Analytical Chemistry, vol 89, no. 9, pp. 5017-5023. 2017.

Author

Fatemeh Khakrah^{1,4*}Fatemeh Naseri^{2,4}Zeinab Zaaferani^{3,4}

*pkhakah@yahoo.com

1. Msc. economic geology, Central laboratory of Ferdowsi University of Mashhad

2. Msc. Animal Physiology, Central laboratory of Ferdowsi University of Mashhad

3. Bsc. Food Industry Engineering, Research Institute of Food Science and Technology of Mashhad

4. SPM Experts work group

Fluid force microscope Its applications in cellular and molecular biology

Keywords

Fluidic force microscopy, Atomic Force microscopy, Single Cell.

Abstract

Fluidic force microscope (FluidFM) is a type of scanning probe microscope, and is typically used on a standard inverted light microscope. The unique characteristic of FluidFM is that it introduces microscopic channels into AFM probes. These channels can have an aperture of less than 300 nm. This nanometric features enables the handling of liquid volumes at the femtoliter (fL) scale.

The universality and versatility of the FluidFM will stimulate original experiments at the sub micrometer scale not only in biology but also in physics, chemistry, and material science.

Author

Sanaz Shobeikheh

*researchers4u@yahoo.com

B.Sc. of Electronic Engineering, SHIRAZ
University Transmission Electron Micro-
scope laboratory Specialist
TEM Experts work group

Recent developments in dynamic transmission electron microscopy

Keywords

Dynamic TEM, Dark-field imaging, In-situ microscopy, Liquid stages, Gas stages.

Abstract

One of the current major driving forces behind instrument development in transmission electron microscopy (TEM) is the ability to observe materials processes as they occur in situ within the microscope. For many processes, such as nucleation and growth, phase transformations and mechanical response under extreme conditions, the beam current in even the most advanced field emission TEM is insufficient to acquire images with the temporal resolution ($\sim 1 \mu\text{s}$ to 1 ns) needed to observe the fundamental interactions taking place. The dynamic transmission electron microscope (DTEM) avoids this problem by using a short pulse laser to create an electron pulse of the required duration through photoemission which contains enough electrons to form a complete high resolution image. The current state-of-the-art in high time resolution electron microscopy in this paper describes the development of the electron optics and detection schemes necessary to fully utilize these electron pulses for materials science. In addition, developments for future instrumentation and the experiments that are expected to be realized shortly will also be discussed [53].

Improving SEM Imaging Performance by Using the Beam Deceleration Technique

Abstract

Beam Deceleration is a relatively simple method to reduce electron beam energy and improve imaging parameters such as resolution and contrast. The scanning electron microscope (SEM) uses a sharply focused electron beam to probe the specimen surface. The energy of the electrons forming such a probe is determined by the electrical potential of the electron source, referred to as accelerating voltage or high voltage (HV). No matter how many times the electrons are accelerated or decelerated inside the column, they leave the column with an energy corresponding to the high voltage. The high voltage is usually controllable within a range of 200 V to 30 kV for most commercially available SEMs, allowing the operator to select the electron beam energy suitable for the application. Imaging with very low electron beam energy has great importance, which is illustrated by SEM instrumentation development over the last few decades. Low voltage microscopy is a topic discussed at most microscopy-related conferences these days, but generally, it is approached with an immersion lens and field emission gun (FEG) SEM system because of the better beam current densities. However, beam deceleration is also a means to bring low kV improvement to SEMs with thermionic electron sources.

Author

Mina Mohebbimorad^{1,4*}

Maryam Khosravi^{2,4}

Gholamreza Dehghani^{3,4}

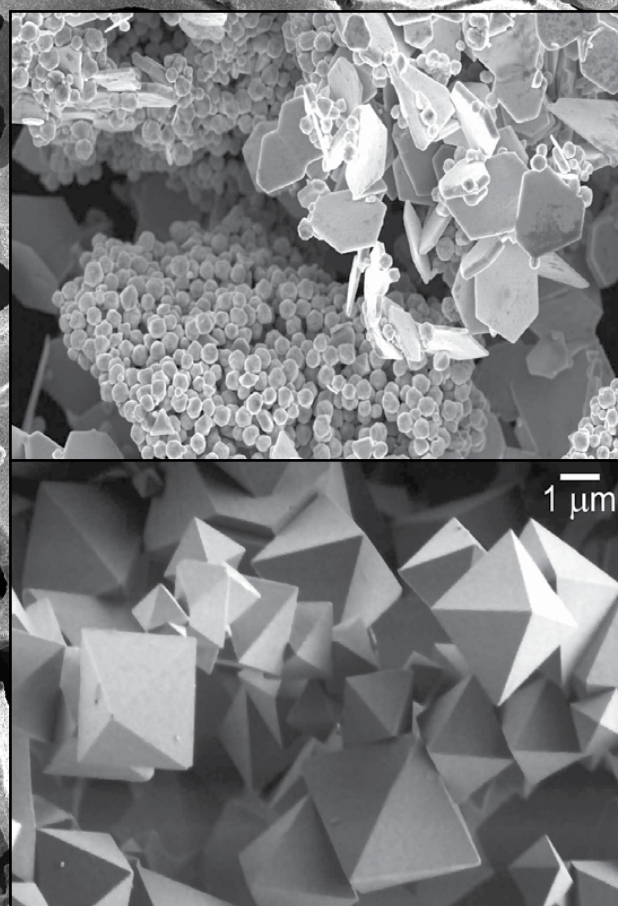
* m_mohebi32@yahoo.com

1. Master of Science, Organic Chemistry, Chemistry and chemical engineering research center of Iran

2. Bachelor of Science, Electronic Engineer, Iran Polymer and Petrochemical Institute

3. Bachelor of science, Materials Engineering, Razi Metallurgical Research Center

4. Workgroup of Scanning Electron Microscope



Keywords

Scanning Electron Microscope, Beam Deceleration, Backscattered Electrons, Cathode lens, Landing Energy

Authors

Afsoon Narooie^{1,3*}Hamidreza Nabavi^{2,3}

*Aanarooie7792@gmail.com

1. Master of Inorganic Chemistry, Geological Survey of Iran, Zahedan Center
2. Master of Physical Chemistry, Razi metallurgical research Center. The member of the X-ray
3. Iran laboratory network Experts X-ray Workgroup

Preparation of Specimens for X-ray Fluorescence

Abstract

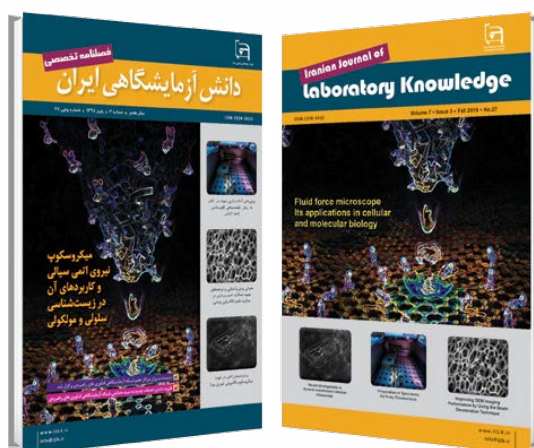
Just as for any other analytical technique, good sample preparation is essential for performing high-quality chemical analysis using X-ray fluorescence (XRF). There are 5 most common ways to prepare samples for XRF analysis.

Whichever samples are being assessed – loose or pressed powders, fused beads, solid samples or liquids – finding the right approach to sample preparation is the first, and one of the most important steps in achieving accurate and reproducible results. We need to provide the requested information, as accurately, as repeatably, by different operators, as easily, as economically cost, as precisely and fast.

At first must optimize grinding time to ensure that sample fineness is reached Sieve, granulometric determination or flour feel that Keeps sample homogeneous. Pellets prepare from the sample, which are two types: fused Pellets and pressed Pellets. In Fused pellets type, sample is melted by fuses, which are mostly compounds of boron (especially lithium borate). In pressed Pellets type, the powder of sample blend with an inert sticky material and then under pressure convert to Pellets, that can be put into the device. The other samples can be solid, liquid or Loose Powders.

Keywords

X-ray fluorescence spectrometer, Sample Preparation, Homogeneous sample, Pressed Pellet method, Fusion Pellets method, Solid Samples, Liquid Samples, Loose Powders.



Iranian Journal of

laboratory Knowledge

Volume 7 ■ Issue 3 ■ Fall 2019 ■ No.27

ISSN 2538-3450

Concessionaire: Iran Nanotechnology
Laboratory Network

Managing Editor: Reza Asadifard

Editor in Chief: Mojtaba Nasab

Executive Management: Iran Nanotechnology
Laboratory Network (INLN)

Article Editor: Davoud Gharailou

Authors:

Fatemeh Khakrah, Fatemeh Naseri
Zeinab Zaaferani, Sanaz Shobikeh
Mina Mohebimorad, Maryam Khosravi
Gholamreza Dehghani, Afsoon Narooie
Hamidreza Nabavi

Designer : Simin Rafipour Langroudi

Editor: Zeinab Zarincheh

Iran, Tehran, Po.Box: 14565-344

www.IJLK.ir

Email : info@ijlk.ir

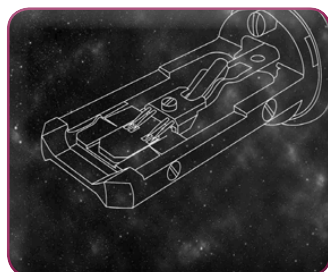
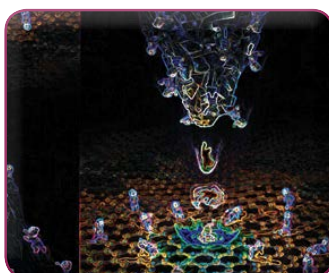


Iran Nanotechnology
Laboratory Network

Contents

**Fluid force microscope Its
applications in cellular and
molecular biology**

41 <

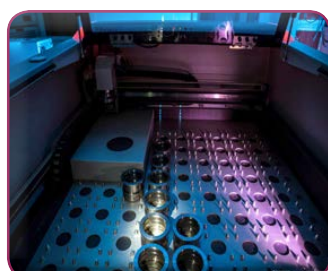
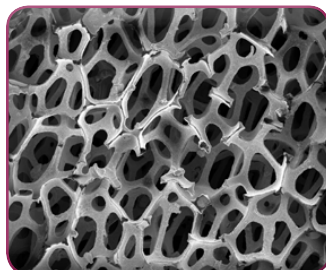


**Recent developments in
dynamic transmission
electron microscopy**

>42

**Improving SEM Imaging
Performance by Using the
Beam Deceleration
Technique**

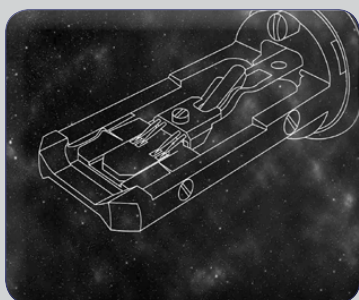
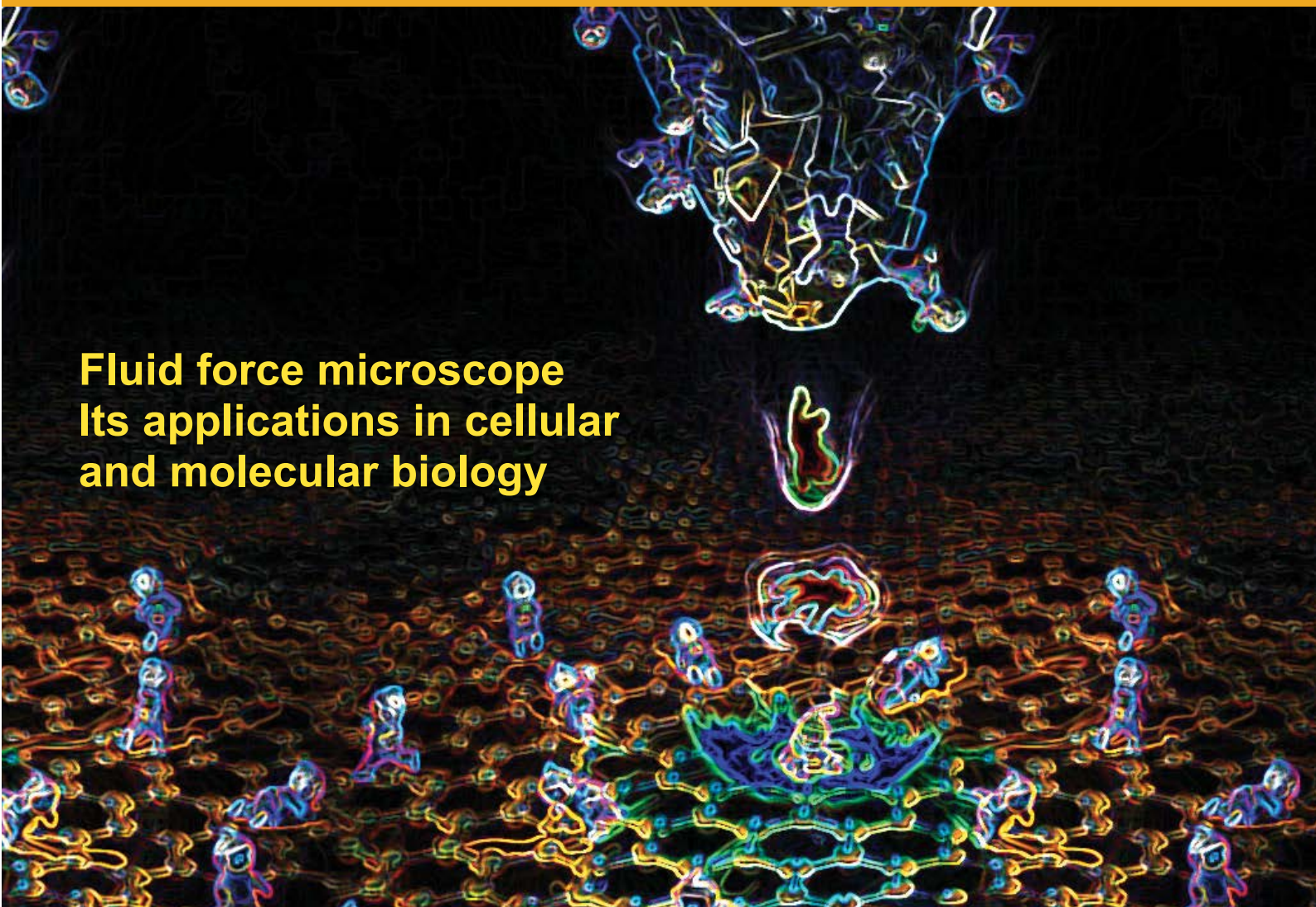
43 <



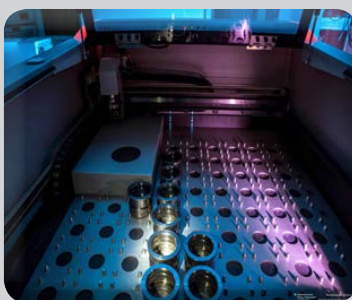
**Preparation
of Specimens
for X-ray Fluorescence**

>44

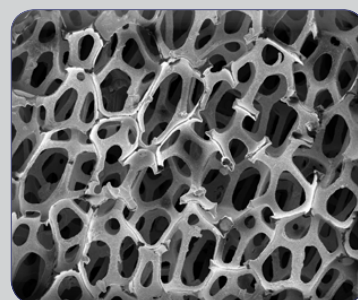
Fluid force microscope Its applications in cellular and molecular biology



**Recent developments in
dynamic transmission electron
microscopy**



**Preparation of Specimens
for X-ray Fluorescence**



**Improving SEM Imaging
Performance by Using the Beam
Deceleration Technique**