

М.И. Баранов

## АНТОЛОГИЯ ВЫДАЮЩИХСЯ ДОСТИЖЕНИЙ В НАУКЕ И ТЕХНИКЕ. ЧАСТЬ 23: ИЗОБРЕТЕНИЕ МИКРОСКОПА И ИЗУЧЕНИЕ МИКРОМИРА

*Наведено короткий нарис з всесвітньої історії винаходу мікроскопів. Описані основні види мікроскопів, вказані напрямки і деякі результати їх застосування при вивченні мікросвіту.*

*Приведен краткий очерк из всемирной истории изобретения микроскопов. Описаны основные виды микроскопов, указаны направления и некоторые результаты их применения при изучении микромира.*

### ВВЕДЕНИЕ

Для того, чтобы различные ученые и специалисты из таких научно-технических областей знаний как медицина, зоология, биология и материаловедение могли лечить и учить людей, изучать вещество и раскрывать тайны его микроскопического устройства им был необходим соответствующий физический инструментарий. Последним исторически оказался физический прибор под названием *микроскоп* (этот термин происходит от греческих слов "mikros" – "малый" и "skopeo" – "смотрю" и обозначает "прибор для получения увеличенного изображения мелких объектов и их внутренних структур, неразличимых невооруженным глазом человека" [1]). Заметим, что человеческий глаз представляет собой биологическую оптическую систему, характеризующуюся определённым разрешением. Под данным разрешением понимается наименьшее расстояние между элементами наблюдаемого человеком объекта, воспринимаемыми как точки или линии, при котором они ещё могут быть отличены один от другого [2]. Для нормального человеческого глаза при его удалении от объекта наблюдения на расстояние наилучшего видения (порядка 300 мм), на основании медицинских данных среднестатистическое нормальное разрешение составляет около 0,17 мм [2]. Поэтому наш глаз способен в лучшем случае различать детали объектов, отстоящие друг от друга не менее, чем на 0,1 мм [2, 3]. Размеры же микроорганизмов, большинства растительных и животных клеток, деталей кристаллической микроструктуры металлов и сплавов и иных мелких предметов значительно меньше этой величины. Для наблюдения и изучения подобных физических объектов и были предназначены микроскопы различных типов. С помощью микроскопов люди научились определять форму, размеры, внутреннее строение и многие другие характеристики микрообъектов. Изобретение очень важного для мировой науки прибора – микроскопа было обусловлено, прежде всего, успехами в развитии такого раздела физики как оптика. Некоторые оптические свойства изогнутых и хорошо отполированных поверхностей были известны ещё великим древнеегипетским ученым Евклиду Александрийскому (365-300 гг. до н. э.) и Клавдию Птолемию (127-151 гг. н. э.) [2, 3]. Однако, их увеличительная способность не нашла тогда своего практического применения. Поэтому первые очки, увеличивающие для человека рассматриваемое изображение (например, мелких ювелирных изделий, букв, ушка иголки и др.), были изобретены известным итальянским мастером Сальвино Арлеати только

в 1285 году [2, 3]. Увеличительные свойства наполненных водой стеклянных сосудов упоминались ещё древними римлянами (например, ученым-философом Сенекой) [4]. Небольшие увеличительные стеклянные линзы в мире стали производиться с 1500-х годов. В 16-ом веке великий итальянский ученый-изобретатель и художник Леонардо да Винчи (1452-1519 гг.) показал, что малые предметы лучше всего рассматривать и изучать с помощью простой стеклянной линзы. Кроме того, способность систем из двух стеклянных линз увеличивать изображение любых предметов была известна древним мастерам, изготавливавшим очки для людей. Считается, что термин "*микроскоп*" был впервые предложен римским оптиком И. Фабером в 1625 году [4]. Кто же изобрел первый в мире микроскоп?

### 1. КРАТКАЯ ИСТОРИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ И УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ МИКРОСКОПОВ

Принято считать, что в 1590 году нидерландские мастера очков Ханс Янсен и его сын Захариус Янсен изобрели первый микроскоп (рис. 1), состоящий из двух выпуклых линз, смонтированных в одном тубусе [2]. В 1665 году знаменитый английский естествоиспытатель Роберт Гук (1635-1703 гг.) опубликовал свой научный труд "*Микрография*", в котором на основе использования микроскопа собственной конструкции (рис. 2), построенного с применением в одной трубе трех оптических линз, впервые в истории человечества описал устройство растительной клетки [5].



Рис. 1. Первый в мире оптический микроскоп голландских изобретателей Ханса и Захариуса Янсенов (1590 год) [4]

Прочитав эту книгу, голландский мастер оптики Антони ван Левенгук (1632-1723 гг.) проявил интерес к изучению жизни в окружающей человека природной фауне с помощью оптических линз, увеличивающих ее микроорганизмы. Считается, что именно А. Левенгук (рис. 3) первым стал использовать свои микроскопы, представляющие собой небольшие изделия с одной малой (величиной с крупную горошину) и очень сильной неахроматической двояковыпуклой линзой (рис. 4), для биологических исследований.

© М.И. Баранов

По сути, эти микроскопы А. Левенгука представляли собой короткофокусные лупы. Линзы для них он получал из затвердевших капель расплавленного стекла путем их тщательной шлифовки на станке собственной конструкции. Если увеличение в микроскопе голландских мастеров оптики Х. и З. Янсенов составляло до 10 крат, то А. Левенгук довел его до 300 крат [2, 4].



Рис. 2. Внешний вид трехлинзового микроскопа, созданного известным английским ученым Р. Гуком (1665 год) [5]

В 1681 году члены Лондонского Королевского общества (Академии наук Англии) на своем заседании живо обсуждали опытные результаты, полученные А. Левенгуком при микроскопическом исследовании капли воды. Этот ученый тогда написал следующее [2]: *"С величайшим изумлением я увидел в капле воды великое множество зверюшек, оживленно двигающихся во всех направлениях, как щука в воде"*.



Рис. 3. Известный голландский оптик А. Левенгук, внесший большой вклад в становление оптической микроскопии [4]

Заметим, что изготовленные вручную **однолинзовые микроскопы** А. Левенгука из-за отсутствия в них главных недостатков составного микроскопа (наличие дефектов изображения по причине использования в них ряда линз) позволяли детально рассматривать изображения мелких тел. Согласно [4] понадобилось около 150 лет развития мировой оптики, чтобы **сложный микроскоп** смог давать такое же качество изображения, как и простые микроскопы А. Левенгука. Великий голландский мастер **простейших микроскопов** А. Левенгук впервые погрузился в мир микро-

скопических одноклеточных водорослей и некоторых бактерий, где, как известно, лежит граница между животным и растительным мирами. Благодаря применению микроскопа, перед ним и его коллегами открылся совершенно новый бесконечный мир маленьких живых существ. Мир не менее разнообразный и более оригинальный, чем видимый нами макромир.



Рис. 4. Внешний вид реплики простейшего однолинзового научного микроскопа известного нидерландского мастера оптики А. Левенгука (1674 год) [2]

В 1668 году Е. Дивини, присоединив к окуляру полевую линзу, создал окуляр современного типа. В 1673 году Гавелий ввел в рассматриваемый прибор микрометрический винт, а Гертель предложил под столик микроскопа для подсветки объекта наблюдения помещать зеркало [2, 4]. В этот временной период микроскопы стали изготавливать практически из тех же основных деталей, которые входят в состав современного биологического микроскопа. В середине 17-го столетия великий английский физик и математик Исаак Ньютон (1643-1727 гг.) [6] открыл сложный состав белого света и разложил его призмой на семь цветов. Рёмер доказал, что белый свет распространяется с конечной скоростью и измерил ее. Тогда же И. Ньютон предложил, что свет является потоком летящих частиц необычайной мелкости и частоты (**корпускулярная теория света**). Известный голландский (нидерландский) ученый-физик Христиан Гюйгенс (1629-1695 гг.) [6] в это время впервые заговорил о волнообразной природе света (**волновая теория света**). Научный спор между этими физическими идеями И. Ньютона и Х. Гюйгенса продолжался целое столетие. Несмотря ни на что, решен он тогда так и не был. Данный проблемный вопрос в физике был разрешен лишь через сто с лишним лет после высказанных И. Ньютоном и Х. Гюйгенсом гипотез о природе света известным французским физиком Огюстом Френелем (1788-1827 гг.). Открытые и изученные им явления интерференции (сложение когерентных волн [1]) и дифракции (огибание волнами препятствий [1]) белого света убедительно доказали неоспоримость волновой теории света [4]. Из полученных результа-

тов, касающихся явления интерференции, О. Френель измерил длину волны белого света, составившую около 0,5 микрона [2, 4]. Так была доказана правота волновой природы света и показана исключительная тонкость (острота) проникновения человека с помощью микроскопа во внутреннюю сущность живого и неживого вещества. С появлением *сложного микроскопа* (например, микроскопа Гука в 1665 году [4]), содержащего несколько оптических линз, на повестку дня встал актуальный вопрос по устранению в нем искажений изображения наблюдаемого микрообъекта. Для устранения хроматической абберации (этот термин происходит от латинского слова "*aberratio*" – "отклонение" и обозначает "искажение изображений, получаемых в оптических приборах" [1]), вызываемой дисперсией (рассеянием) света в линзах и проявляющейся в образовании цветной каймы у изображения, в микроскопе потребовалось наличие двух стекол – крона и флинта [2]. Стекло-флинт представляет собой стекло, в котором одной из основных частей является тяжелая окись свинца, обладающая непропорционально большой дисперсией. Оптическая система, в которой устранена хроматическая абберация, называется ахроматической [2, 7]. Поэтому в дальнейшем в микроскопах стали применять *ахроматические линзы*. На рис. 5 приведены музейные экспонаты оптических микроскопов, выпускавшихся в 18-ом веке [4].



Рис. 5. Оптические микроскопы конца 18-го столетия [2, 4]

На рис. 6 показан первый ахроматический микроскоп, созданный в начале 19-го века известным российским ученым-физиком Францем Эпинусом [2, 4].

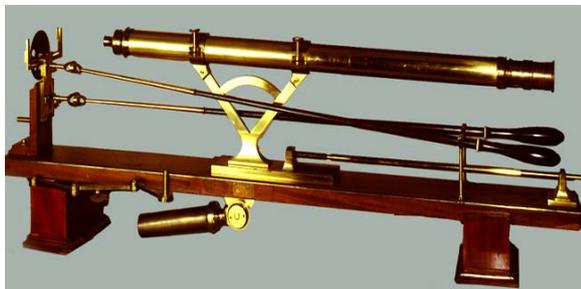


Рис. 6. Первый в мире ахроматический микроскоп (разработчик – Ф.У. Эпинус, Петербургская академия наук) [2, 4]

*Ахроматический микроскоп* Эпинуса (1802 год) стал нашумевшим изобретением того далекого времени. Действительный член Петербургской академии наук, ставшей впоследствии Российской академией

наук, Ф.У. Эпинус (1724-1802 гг.) в этом микроскопе предусмотрел использование шести сменных объективов и возможность плавного изменения увеличения исследуемых предметов путем перемены расстояния от предмета до его изображения. Россия благодаря этому ахроматическому микроскопу стала страной, где впервые в мире была выдвинута и воплощена в жизнь научно-техническая идея создания микроскопа переменного увеличения [4]. Заметим, что в последующие годы замысел изменения увеличения микроскопа за счет регулировки длины его тубуса не прижился. Сейчас это осуществляется за счет применения в оптическом микроскопе револьвера со сменными объективами, имеющими различное увеличение. Но сам факт практического внедрения такой идеи стал значимым вкладом в историю развития оптических микроскопов. В 1824 году серьезный успех для микроскопии дала одна техническая идея Саллига, реализованная французской фирмой Шарля Шевалье. Суть этой идеи свелась к изготовлению объектива оптического микроскопа не с одной линзы, а из ряда ахроматических линз, образующих подобранные ахроматические пары, включающие двояковыпуклую (положительную) и двояковогнутую (отрицательную) линзы [2]. Его увеличение при этом достигло до 1000 крат. Граница предельного видения человеком через окуляр микроскопа вещества передвинулась от двух к одному микрону. На рис. 7 представлен общий вид микроскопа 19-го века для использования в учебном процессе Санкт-Петербургской медико-хирургической академии (ныне Военно-медицинская академия), разработанного по технической идее Ивана Перверзева.



Рис. 7. Микроскоп для наблюдения непрозрачных анатомических микропрепаратов (разработчик – И.П. Перверзев, Санкт-Петербургская медико-хирургическая академия) [4]

С создания в начале 19-го столетия первого ахроматического микроскопа (см. рис. 6) начался новый этап в совершенствовании оптических микроскопов. В этот период известный итальянский оптик, астроном и ботаник Джованни Амичи (1786-1863 гг.) разработал оригинальную конструкцию *катодиоптрического микроскопа* (1827 год), в котором система оптических линз объектива была заменена на систему зеркал. Изобретение Дж. Амичи (рис. 8) подобного иммерсионного объектива микроскопа позволило избавиться в нем от такого вида искажения изображения наблюдаемого микрообъекта как хроматизм (возникновение радужного ореола вокруг изображения) [4]. Связано это было с тем, что при отражении бело-

го света от зеркальных поверхностей подобного объектива микроскопа не происходило его разложения.

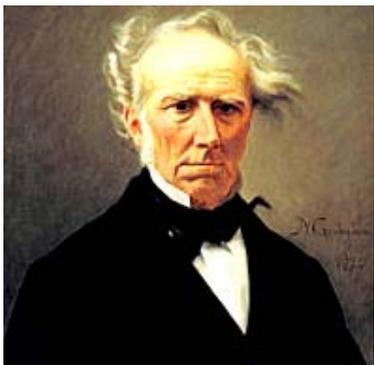


Рис. 8. Итальянский оптик Дж. Амичи, впервые применивший в микроскопе иммерсионный объектив (1827 год) [4]

В первой половине 19-го века на основе идеи Александра Фишера (1803-1884 гг.), работавшего профессором Московского университета им. М.В. Ломоносова, был создан **панкратический микроскоп** [4]. На рис. 9 представлен общий вид такого микроскопа, изготовленного французским инженером Винсентом Шевалье, являвшимся королевским оптиком.

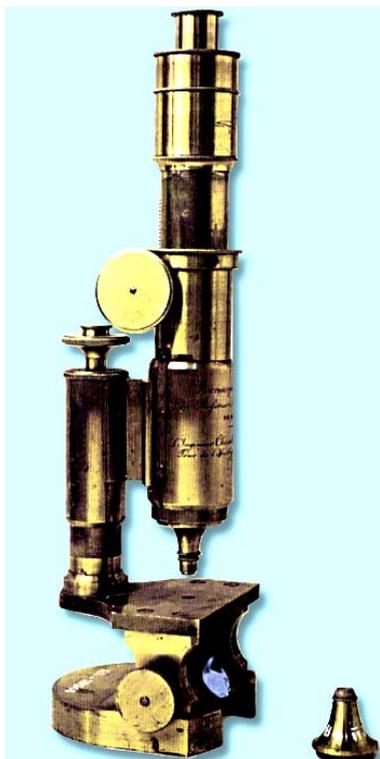


Рис. 9. Внешний вид панкратического микроскопа Фишера-Шевалье, изготовленного в г. Париже (1839 год) [4]

Построен панкратический микроскоп был по принципиально новой оптической схеме, позволяющей плавно изменять увеличение изображения в процессе наблюдения исследуемого предмета без замены объектива и окуляра. Увеличение изображения предмета изменялось благодаря плавному перемещению объектива микроскопа относительно его предметного столика, на котором размещался наблюдаемый препарат. **Панкратический микроскоп** Фишера открыл новый этап в эволюции оптических микроскопов. Заметим,

что с появлением револьверных механизмов, позволяющих просто и быстро изменять в микроскопе масштаб наблюдения сменой объектива, схема панкратического микроскопа была вытеснена из микроскопии. Тем не менее, идея А. Фишера получила свое развитие в современных панкратических окулярах микроскопов, а сам тип этого микроскопа является на сегодня уникальным памятником науки и техники.

Разработанный и изготовленный Дж. Амичи для оптического микроскопа указанный выше объектив-ахромат (1827 год) при хорошей коррекции аберраций позволял достигнуть лишь числовой апертуры 0,60 [4]. Напомним, что в оптике под термином "*числовая апертура*" понимается "*произведение показателя преломления среды, отделяющей предмет наблюдения от передней линзы объектива микроскопа, на синус половины апертурного угла*" [1]. В свою очередь, термином "*апертурный угол*" называется "*угол между крайними лучами светового конуса, попадающего в объектив оптического прибора*" [1]. Именно числовая апертура объектива определяет освещенность изображения и разрешающую способность микроскопа. Чем выше апертура объектива, тем лучше разрешающая способность оптического микроскопа [2]. В 1844 году Дж. Амичи провел опыты по применению в объективах микроскопов водной и масляной иммерсии, приведшие его в 1850 году к созданию объектива-ахромата с водной иммерсией при апертуре 1,30 [4].

Однако, современные объективы оптических микроскопов с масляной **иммерсией** (термин "*иммерсия*" происходит от латинского слова "*immersio*" – "*погружение*" и обозначает "*размещение между первой линзой объектива микроскопа и рассматриваемым предметом жидкости для увеличения разрешающей способности микроскопа*" [1]) при числовой апертуре 1,50 стали возможными только после работ выдающегося немецкого оптика Эрнста Аббе (1840-1905 гг.) [4, 7]. Э. Аббе (рис. 10) разработал **теорию образования изображения** наблюдаемого предмета в оптическом микроскопе. Именно им была внесена ясность в вопрос о разрешающей способности такого вида микроскопа. Под его руководством в 1872 году была рассчитана и изготовлена немецкой фирмой "Карл Цейс" в г. Йене серия первоклассных микрообъективов-ахроматов с апертурой до 1,50 [4]. В 1886 году получившая мировую известность фирма "Карл Цейс", руководимая Э. Аббе, выпустила серию микроскопов с объективами из восьми апохроматов (с компенсационными окулярами), а в 1888 году она создала апохромат с монобромнафталиновой иммерсией при апертуре 1,60 [2, 7]. Характеризуя роль Э. Аббе в развитии микроскопии, известный советский физик-оптик, академик АН СССР Д.С. Рождественский (1876-1940 гг.), ставший в 1918 году первым директором Государственного оптического института, в свое время написал [4]: "*Э. Аббе впервые ясно показал, что каждой остроте инструмента соответствует свой предел возможности. Нельзя грубыми пальцами обрабатывать даже мягкий материал с точностью до сотой доли миллиметра, для этого нужны тонкие инструменты. Тончайший же из всех инструментов – это длина волны. Нельзя видеть объекты меньше полудлины световой волны – утверждает дифракционная теория Э. Аббе и нельзя полу-*

чить изображение меньше полудлины волны, то есть меньше 0,25 микрона. Таким образом, гением Э. Аббе было установлено сознательное творчество в микроскопии и достигнуты пределы возможного".



Рис. 10. Выдающийся немецкий оптик Э. Аббе, внесший значительный вклад в развитие оптической микроскопии [4]

Следует заметить, что теория образования изображения объектов в оптических микроскопах Э. Аббе получила свое дальнейшее развитие в 20-ом столетии в трудах таких признанных международными научными кругами отечественных ученых-академиков как Л.И. Мандельштам и Д.С. Рождественский [8-10]. Кстати, последним было введено понятие относительной некогерентности освещения предмета наблюдения, выражаемой отношением числовых апертур осветительного устройства (*конденсора*) и объектива микроскопа. В 1939 году с целью создания оптимальных условий освещения объекта в микроскопе сотрудниками указанной выше немецкой фирмы "Карл Цейс" было запатентовано осветительное устройство, содержащее панкратическую систему [4]. Назначение данной системы состояло в плавном изменении апертуры осветительного светового пучка при одновременном изменении величины освещаемого участка объекта наблюдения. Необходимо указать, что отечественный вариант такого осветительного устройства серийно выпускался в СССР под шифром ПК-3 и входил в комплект исследовательского биологического микроскопа МБИ-15 [4]. Тем не менее, судя по результатам проведенного автором по известным литературным источникам (книгам и многочисленной интернет-информации) краткого научно-исторического обзора в области оптической микроскопии, проблема согласования параметров осветительной системы (конденсора) микроскопа с параметрами его сменных объективов и на сегодня представляется непростой. В заключении подчеркнем, что во второй половине 19-го столетия немецкой научной школой оптической микроскопии, возглавляемой доктором Э. Аббе, были достигнуты следующие основные результаты [2, 4]:

- предельное разрешение микроскопа передвинулось от полумикрона до одной десятой микрона;
- в построение микроскопа вместо грубой эмпирики была введена высокая степень научности, основанная на разработанной теории оптического микроскопа;
- установлены возможные пределы по разрешающей способности оптического микроскопом и эти пределы были завоеваны на реальных конструкциях (рис. 11).



Рис. 11. Внешний вид промышленно выпускавшегося немецкой фирмой "Карл Цейс", ставшей благодаря разработкам Э. Аббе мировым лидером в области практической микроскопии, оптического микроскопа конца 19-го столетия [4]

Английский оптик Дж. Сиркс своими научными трудами от 1893 года положил начало интерференционной микроскопии [10]. В 1903 году Р. Жигмонди (R. Zsigmondy) и Х. Зидентопф (H. Siedentopf) создали *ультрамикроскоп*. В 1911 году М. Саньяком (M. Sagnac) был описан первый двухлучевой *интерференционный микроскоп*, а в 1935 году Ф. Цернике (F. Zernicke) предложил использовать метод фазового контраста для наблюдения в оптических микроскопах прозрачных и слабо рассеивающих белый свет объектов. За изобретение *фазово-контрастного микроскопа* профессор по кафедре теоретической физики Ф. Цернике в 1953 году был удостоен Нобелевской премии по физике [10]. В 1951 году Эрвин Мюллер изобретает полевой ионный микроскоп и первым видит атомы. В первой половине 20-го века был изобретен *электронный микроскоп* (о нем более подробно будет изложено ниже в разделе 5), а в 1953 году финским физиологом А. Вильской (A. Wilska) был изобретен *аноптральный микроскоп* [4, 10]. В 1967 году Э. Мюллер за счет добавления масс-анализатора к своему полевому ионному микроскопу создает первый *зондирующий атомный микроскоп*, позволивший ему производить химическую идентификацию каждого индивидуального атома [10]. О современных достижениях в создании разных видов *оптического микроскопа* речь пойдет в разделе 4. Далее в разделе 6 будут приведены краткие сведения о *рентгеновском микроскопе*. О новейших достижениях мировой микроскопии в разработке *сканирующих микроскопов* автор остановится в последующих разделах 7-10.

## 2. КРАТКИЕ ОСНОВЫ ФИЗИКИ МИКРОСКОПИИ

Для приближенного описания основных процессов, протекающих в оптической системе микроскопа, нам необходимо, прежде всего, использовать основы волновой теории света [11]. Как известно, в соответствии с этой теорией световые волны представляют собой сверхвысокочастотные электромагнитные волны, которым соответствует диапазон видимого света на классической шкале электромагнитных волн [11]. Согласно этой классификационной шкале видимый свет характеризуется следующими диапазонами: по длинам волн от  $10^{-6}$  до  $10^{-7}$  м; по частотам волн от  $3 \cdot 10^{14}$  до  $3 \cdot 10^{15}$  Гц [11]. В оптике, предметно изучающей свойства света, его физическую природу и его

взаимодействие с веществом, указанные диапазоны имеют более широкие границы и образуют оптическую область спектра электромагнитного излучения: по длинам волн от  $2 \cdot 10^{-3}$  до  $10^{-8}$  м; по частотам волн от  $1,5 \cdot 10^{11}$  до  $3 \cdot 10^{16}$  Гц [11]. Отметим, что в оптической области спектра электромагнитных волн их частота становится сравнимой с собственными частотами колебаний атомов и молекул вещества. В данной области электромагнитного излучения наряду с волновыми проявляются и квантовые свойства света. В соответствии с формулой Планка энергия световых фотонов  $E_0$  равна энергии кванта света  $E_0 = h \cdot \nu$  [11], где  $h = 6,626 \cdot 10^{-34}$  Дж·с – постоянная Планка;  $\nu$  – частота фотонного излучения. Тогда границам видимого света, имеющим для красного цвета длину волны  $\lambda_{0к} = 700$  нм, а для фиолетового цвета длину волны  $\lambda_{0ф} = 400$  нм, будут соответствовать энергии их фотонов, равные примерно  $E_{0к} = 1,8$  эВ и  $E_{0ф} = 3,1$  эВ. Напомним, что внесистемная единица энергии 1 эВ =  $1,602 \cdot 10^{-19}$  Дж [11], а источниками фотонов являются энергетические переходы атомов, молекул и атомных ядер вещества из возбужденных состояний в состояния с меньшей энергией. Из теории дифракции электромагнитных волн следует, что разрешающая способность (способность различать тонкие детали) светооптического микроскопа ограничивается длиной волны фотонов видимого света. Известно, что разрешающая способность в светооптических микроскопах, равная минимальному радиусу  $\rho_0$  кружка дифракционного рассеяния света на предметном столе наблюдения микроскопа, определяется следующим соотношением [12]:

$$\rho_0 = 0,61 \cdot \lambda_0 / (n_0 \cdot \sin \alpha_0), \quad (1)$$

где  $\lambda_0$  – длина световой волны;  $n_0$  – показатель преломления среды, расположенной между исследуемым предметом и первой линзой объектива микроскопа;  $\alpha_0$  – апертурный угол наблюдения рассматриваемого микропредмета на предметном столике микроскопа.

Из (1) следует, что при  $\lambda_0 = 400$  нм,  $n_0 = 1,5$  и  $\alpha_0 = 70^\circ$  (при  $\sin \alpha_0 = 0,94$ , характерном для лучших иммерсионных объективов светооптических микроскопов) величина  $\rho_0$  приближается к значению  $\lambda_0/2$  и может численно составить в нашем случае около 0,2 мкм. Первым к подобным результатам пришел талантливый немецкий оптик Э. Аббе на основе разработанной им дифракционной теории применительно к оптическому микроскопу [4, 10]. Он еще в конце 19-го века утверждал, что нельзя видеть объекты меньше полудлины световой волны  $\lambda_0/2$  и что нельзя получить в оптическом микроскопе изображение микропредмета меньше полудлины данной волны  $\lambda_0/2$ . Заметим, что современные оптические микроскопы (кроме *наноскопа*) могут обеспечить наблюдение деталей объекта с размером до (0,1-0,2) мкм. Если исследователю необходимо увидеть более тонкие детали микропредмета, то ему потребуется сократить длину волны, которая освещает объект исследования на предметном столике светооптического микроскопа. Для этого следует использовать уже не фотоны видимого света, а к примеру нерелятивистские электроны, длина волны  $\lambda_{0е}$  которых может быть намного меньше длины волны  $\lambda_{0ф}$  фотонного излучения в составе белого света.

### 3. КЛАССИФИКАЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕКОТОРЫХ МИКРОСКОПОВ

Все современные микроскопы можно классифицировать по следующим основным видам [4, 10]:

- *оптические микроскопы*, включающие монокулярные, бинокулярные, стереоскопические, люминесцентные, темнопольные, контактные, ультраскопические, фазово-контрастные или аноптральные, интерференционные, конфокальные, металлографические, инфракрасные, ультрафиолетовые и поляризационные типы микроскопов;
- *электронные микроскопы*, включающие просвечивающие, растровые, отражательные, эмиссионные, теневые и зеркальные типы микроскопов;
- *рентгеновские микроскопы*, включающие отражательные, проекционные и лазерные типы приборов;
- *сканирующие микроскопы*, включающие измерительные электронные растровые, атомно-силовые, зондовые и туннельные типы микроскопов.

Остановимся далее более подробно на некоторых типах указанных микроскопов, которые не вошли в отдельные пронумерованные разделы, представленные автором ниже. Так, *темнопольный микроскоп* предназначен для рассматривания препаратов при освещении их лишь по краям темнопольным конденсором. При этом структуры, находящиеся внутри светового конуса, отражают свет и становятся хорошо видимыми на темном поле [3]. *Контактные микроскопы* дают возможность проводить прижизненные исследования микроскопических структур отдельных участков тканей путем прижатия объектива к объекту исследования. В этом случае освещение объекта осуществляется через объектив микроскопа обычно коротковолновой частью светового излучения с применением опак-иллюминатора с интерференционным светоделителем [3]. *Ультраскопический микроскоп (ультрамикроскоп)* позволяет наблюдать объекты, размеры которых находятся за пределами разрешающей способности наиболее сильных объективов световых микроскопов [3]. Он имеет боковое освещение объекта исследования на фоне темного поля. Освещенные частицы объекта наблюдения, рассеивая свет, наблюдаются в виде ярких точек, что используется для изучения движения мелких частиц (чаще всего в проточной кювете). *Фазово-контрастный (аноптральный) микроскоп* служит для исследования прозрачных объектов, которые не видны на светлом поле и не подлежат окрашиванию из-за возникновения аномалий в исследуемых образцах. Этот микроскоп широко применяется при лабораторном исследовании микробных клеток, микроскопическом анализе мочи и онкологических препаратов тканей [3, 4]. *Интерференционный микроскоп* дает возможность исследовать объекты с низкими показателями преломления света и чрезвычайно малой толщины. В отличие от фазово-контрастного микроскопа в интерференционном микроскопе луч света, входящий в его конденсор и объектив, раздваивается. Часть света проходит через исследуемый объект, а другая мимо него по той же или дополнительной оптической ветви. В жулярной части микроскопа оба эти луча соединяются

и интерферируются, что позволяет контрастировать и увидеть исследуемую структуру [3, 10]. **Ультрафиолетовый** или **инфракрасный микроскопы** предназначены для исследования объектов на ультрафиолетовом или инфракрасном участке светового спектра. Данный тип микроскопа снабжен флуоресцентным экраном, на котором формируется изображение исследуемого препарата, фотокамерой с чувствительным к этим излучениям фотоматериалом или электронно-оптическим преобразователем для формирования изображения на экране осциллографа. Так как длина волны в ультрафиолетовой части спектра составляет 400–250 нм, то в **ультрафиолетовом микроскопе** можно получить более высокое разрешение, чем в обычном световом микроскопе, где освещение объекта осуществляется видимым световым излучением с длиной волны 700–400 нм. Преимуществом этого типа микроскопа является то, что невидимые в обычном световом микроскопе объекты становятся видимыми, поскольку они поглощают ультрафиолетовое излучение [3, 4]. Ультрафиолетовые микроскопы (например, марки МУФ-5 и МУФ-6) используются в медицине при гистохимических исследованиях. В **инфракрасном микроскопе** наблюдение объектов ведется на экране электронно-оптического преобразователя или фотографируется. С помощью инфракрасной микроскопии изучают внутреннюю структуру непрозрачных объектов [3]. **Поляризационный микроскоп** позволяет выявлять неоднородности (анизотропию) структуры при изучении строения тканей и различных образований в органах живого организма в поляризованном свете. Здесь освещение препарата осуществляется через поляризатор-пластинку, который обеспечивает прохождение волн света в определенной плоскости их распространения. Когда поляризованный свет, взаимодействуя со структурами живой ткани, изменяется, то эти биоструктуры начинают резко контрастировать. Эти физические особенности сейчас широко используются в медико-биологических исследованиях при изучении препаратов крови, гистологических препаратов, зубов, костей и др. [3, 10].

#### 4. ОПТИЧЕСКИЙ МИКРОСКОП

Начнем с устройства этого наиболее распространенного сейчас вида микроскопов. На рис. 12 в схематическом изображении представлены основные элементы обычного светооптического микроскопа [2, 7].

На рис. 13 показан общий вид современного **бинокулярного оптического микроскопа**, предназначенного для проведения разных биоисследований [5].

Согласно рис. 12 оптическая система рассматриваемого микроскопа состоит из двух основных элементов – объектива и окуляра. Закреплены они в подвижном тубусе, расположенном на металлическом основании, на котором имеется предметный столик с объектом наблюдения и конденсором (рис. 14). Между объективом микроскопа и рассматриваемым в нём предметом вводится иммерсионная жидкость для усиления яркости и расширения пределов увеличения изображения [2, 5]. Увеличение оптического микроскопа без дополнительных линз между объективом и окуляром равно произведению их увеличений.

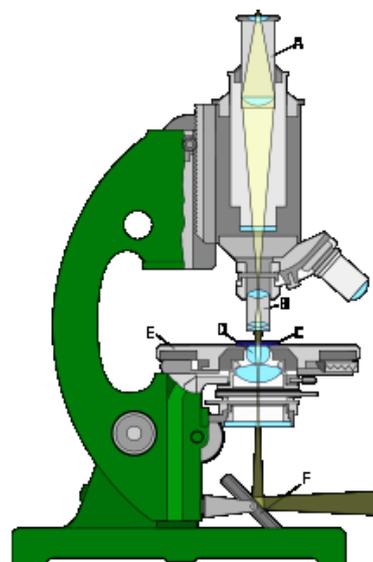


Рис. 12. Схематическое устройство современного оптического микроскопа (A – окуляр; B – объектив; C – объект наблюдения; D – конденсор; E – предметный столик; F – зеркало системы освещения исследуемого объекта) [2, 7]



Рис. 13. Современный оптический бинокулярный микроскоп для лабораторных биологических исследований [5]



Рис. 14. Увеличенный вид предметного столика с препаратом, объективом, конденсором и зеркалом системы освещения объекта наблюдения современного оптического микроскопа для научных исследований [5]

В современном монокулярном или бинокулярном оптическом микроскопе имеется осветительная система (в частности, конденсор с ирисовой диафрагмой), макро- и микро- винты для настройки резкости и сис-

тема управления положением конденсора (см. рис. 14). Конденсор (этот термин происходит от латинского слова "*condensare*" – "уплотнять" [1]) представляет собой короткофокусную линзу или систему линз. Предназначен он для концентрации светового потока и равномерного освещения рассматриваемого или проецируемого предмета. Окуляры данных микроскопов выполняются с мон- или бинокулярной насадкой.

Большинство типов этого класса микроскопов работают только с видимым оптическим излучением с длинами волн в диапазоне от 400 до 700 нм. Оптические микроскопы характеризуются разрешающей способностью не менее полудлины волны опорного излучения с диапазоном длин волн от 0,2 до 0,7 мкм. Максимальное увеличение, которого можно добиться в них, составляет до 2000 крат [5]. Бинокулярные оптические микроскопы позволяют получать два изображения объекта наблюдения, рассматриваемые под небольшим углом, что обеспечивает его объемное восприятие. Общее увеличение оптических микроскопов с бинокулярной насадкой обычно больше, чем у соответствующих монокулярных микроскопов.

**Стереомикроскопы** (рис. 15), по сравнению с обычными оптическими микроскопами, имеют существенно большее фокусное расстояние, что позволяет рассматривать крупные объекты. Кроме того, в отличие от обычных микроскопов, которые дают инвертированное изображение объекта, оптическая система стереомикроскопов не "переворачивает" получаемое изображение [5]. Это позволяет широко использовать их для препарирования микроскопических объектов вручную или с использованием микроманипуляторов.



Рис. 15. Современный оптический бинокулярный стереоскопический микроскоп Альтами ПС II [5]

Стереомикроскопы (например, отечественные марки БМ-56, МБС-1, МБС-2 и МБС-3) обеспечивают исследование объекта под разными углами зрения. При этом создается стереоскопический эффект и наблюдаемое изображение исследуемого объекта воспринимается объемно. **Люминесцентные микроскопы** (например, отечественные марки МЛ-2 и МЛ-3) предназначены для исследования люминесцирующих объектов, что достигается путем освещения послед-

них с помощью ультрафиолетового излучения. В люминесцентных микроскопах (рис. 16) используется оптическое излучение с ближним ультрафиолетом (при длинах волн в диапазоне от 400 до 350 нм) [5].



Рис. 16. Внешний вид современного оптического бинокулярного люминесцентного микроскопа Альтами ЛЮМ I [5]

Наблюдая или фотографируя исследуемые препараты в свете их видимой возбужденной флуоресценции (в отраженном свете), с помощью люминесцентного микроскопа можно судить о структуре рассматриваемого в нем образца. Эти микроскопы используются в гистохимии, гистологии, микробиологии и при иммунологических исследованиях [5]. Прямое окрашивание исследуемого образца люминесцентными красителями позволяет специалистам более четко выявлять в клетках такие структуры, которые трудно рассмотреть в обычном оптическом микроскопе. Заметим, что при работе на люминесцентных микроскопах для определения интенсивности видимой флуоресценции исследуемых препаратов служит фотометрическая насадка (например, марки ФМЭЛ-1). **Конфокальный микроскоп** – это оптический микроскоп, обладающий резко повышенным контрастом по сравнению со световым микроскопом. Достигается такой эффект в конфокальном микроскопе (рис. 17) благодаря использованию апертуры, размещенной в плоскости изображения и ограничивающей поток фонового рассеянного света, идущего из глубины исследуемого лабораторного образца [8]. Конфокальный микроскоп имеет такое же разрешение, как и обычный оптический микроскоп. Оно, как нам уже известно из (1), ограничено его дифракционным пределом.

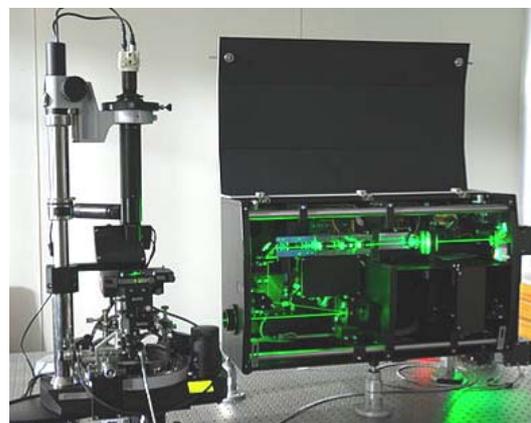


Рис. 17. Внешний вид современного оптического конфокального микроскопа [8]

Создан конфокальный микроскоп был профессором Массачусетского технологического института (США) Марвином Минским (Marvin Minsky). В 1961 году им был получен патент США на конфокальную схему для флуоресцентных микроскопов [8]. Данная разработка была связана с необходимостью увеличения контраста наблюдения для меченых флуорохромами изучаемых объектов в толстых срезах тканей. На рис. 18 приведен наглядный пример изображения в современном конфокальном микроскопе флуоресцирующего микроорганизма [8]. Показатель преломления большинства биологических объектов почти такой же, как и у стекла. В этой связи наблюдение таких объектов, находящихся на поверхности стекла предметного столика микроскопа, в обычном световом микроскопе затруднено. Поэтому конфокальный микроскоп (см. рис. 17), имеющий высокий контраст, даёт исследователю две неопределимые возможности: во-первых, он позволяет исследовать препарированные ткани на клеточном уровне в состоянии их физиологической жизнедеятельности; во-вторых, он даёт возможность оценивать результаты исследования клеточной активности биологических тканей в четырёх измерениях (высота, ширина, глубина и время) [8].

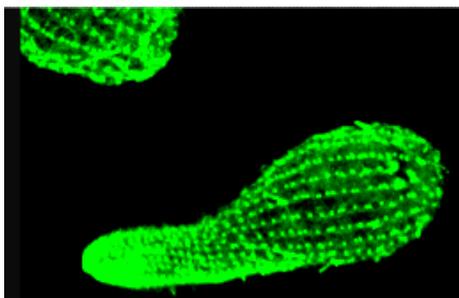


Рис. 18. Микрофотография флуоресцирующего микроорганизма  $\beta$ -tubulin in Tetrahymena, полученная с помощью современного оптического конфокального микроскопа [8]

При металлографическом исследовании различных изделий требуется наблюдать структуру поверхности непрозрачных макротел. Поэтому *металлографический микроскоп* (рис. 19) построен по схеме отраженного света, где имеется специальный осветитель, установленный со стороны объектива прибора.



Рис. 19. Общий вид современного оптического бинокулярного металлографического микроскопа Альтами МЕТЗМ [9]

Система призм и зеркал этого типа оптического микроскопа направляет свет на исследуемый объект. Далее свет отражается от поверхности нашего непрозрачного объекта и направляется обратно в объектив микроскопа. Современные металлографические микроскопы характеризуются большим расстоянием между поверхностью предметного столика и revolverом со сменными объективами, а также большим вертикальным ходом данного столика, что позволяет работать в этом микроскопе с крупными образцами [9].

## 5. ЭЛЕКТРОННЫЙ МИКРОСКОП

Появление *электронного микроскопа* стало возможным после ряда физических открытий, совершенных учеными в период конца 19-го и начала 20-го столетий. Первым в этом ряду открытых людьми тайн микромира стоит открытие электрона, совершенное в 1897 году выдающимся английским физиком Джозефом Томсоном (1856-1940 гг.) [6, 11]. Следует напомнить, что за это открытие Дж. Томсону была присуждена Нобелевская премия по физике за 1906 год [13]. Далее в 1924 году выдающимся французским физиком Луи де Бройлем (1892-1971 гг.) было введено понятие корпускулярно-волнового дуализма для электронов (позже для иных элементарных частиц и атомов), согласно которому эти частицы одновременно являются и волнами особого рода. В 1927 году известный английский физик Джордж Томсон (сын упомянутого выше Дж. Томсона и также лауреат Нобелевской премии по физике) и американские физики Клинтон Дэвиссон и Лестер Джермер, изучая дифракцию электронов на дифракционных решетках и монокристаллах, экспериментально подтвердили наличие у них волновых свойств и соответственно существование электронных волн [11, 14]. Отметим тот важный факт, что в 1929 году Л. де Бройль за пионерские теоретические разработки в области волновых свойств электронов и корпускулярно-волнового дуализма микрочастиц был удостоен Нобелевской премии по физике [13]. Здесь необходимо упомянуть и об известных экспериментах немецкого физика Отто Штерна, проведенных в 1929 году для изучения волновой природы нейтральных атомов и молекул, рассеиваемых на двухмерной дифракционной решетке кристаллов [11, 14]. Кроме того, в 1926 году немецкий физик Г. Буш создал магнитную линзу, позволяющую фокусировать электронные лучи [15]. Это изобретение также послужило предпосылкой для создания в 1930-х годах первого электронного микроскопа. В начале в 1931 году Р. Руденберг первым получил патент на *электронный просвечивающий микроскоп* [15]. Затем в том же году М. Кнолль и Э. Руска построили первый прототип (рис. 20) современного прибора, именуемого электронным просвечивающим микроскопом. Заметим, что в 1986 году известный немецкий физик Эрнст Руска (1906-1988 гг.) за фундаментальные работы по электронной оптике и созданию им еще в 1931 году первого электронного просвечивающего микроскопа стал лауреатом Нобелевской премии по физике [6, 13]. Для сравнения и визуализации научно-технического прогресса в области электронной микроскопии на рис. 21 приведен внешний вид



Рис. 20. Внешний вид первого электронного просвечивающего микроскопа, созданного Эрнстом Руска (1931 год) [10]



Рис. 21. Внешний вид современного электронного просвечивающего микроскопа (2004 год) [15]

современного электронного просвечивающего микроскопа [15]. Первые использования просвечивающего

электронного микроскопа для научных исследований были начаты в конце 1930-х годов и практически тогда же появился первый подобный коммерческий прибор, построенный известной немецкой фирмой "Siemens". Массовое же применение во всем мире данных физических приборов, прежде всего, в научно-технических исследованиях началось в 1960-х годах, когда они достигли значительного технического совершенства. Как функционирует этот микроскоп?

В данном микроскопе, в отличие от оптического микроскопа, вместо обычного светового потока применяются пучки электронов с энергией (1–400) кэВ и более. Для этого он содержит электронную пушку с ускоряющим напряжением в десятки и сотни киловольт [5, 15]. В *электронном просвечивающем микроскопе* пучок электронов, испускаемый электронной пушкой, проходит через тонкий объект и попадает в линзу, которая создает первое электронное промежуточное изображение. Это изображение можно наблюдать на флуоресцирующем экране. Пучок электронов, несущий информацию об исследуемом объекте, проходя через отверстие в центре этого экрана, попадает на проекционную линзу, которая создает второе увеличение на втором экране. Полученное изображение (рис. 22) можно фотографировать встроенным фотоаппаратом. Разрешающая способность электронного микроскопа в ( $10^3 - 10^4$ ) раз превосходит разрешение светового микроскопа и для современных этих приборов численно может быть меньше одного ангстрема ( $10^{-10}$  м). Для получения изображения в электронном микроскопе используются электромагнитные линзы, управляющие движением электронов в вакуумной колонне прибора с помощью своего магнитного поля.

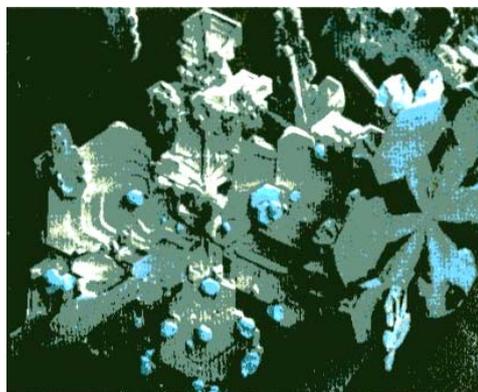


Рис. 22. Микрофотография обычной снежинки, полученная на экране электронного просвечивающего микроскопа [16]

Длину волны  $\lambda_{0e}$  ускоренных электронов в описываемом микроскопе приближенно можно оценить по следующей квантовомеханической формуле [6, 14]:

$$\lambda_{0e} = h / (2m_e e_0 U_e)^{1/2}, \quad (2)$$

где  $m_e = 9,108 \cdot 10^{-31}$  кг – масса покоя электрона;  $e_0 = 1,602 \cdot 10^{-19}$  Кл – электрический заряд электрона;  $U_e$  – разность электрических потенциалов (ускоряющее напряжение) в электронной пушке микроскопа.

Согласно (2) при  $U_e = 200$  кВ величина длины волны  $\lambda_{0e}$  численно составит около  $0,027 \cdot 10^{-10}$  м. Из результатов численной оценки  $\lambda_{0e}$  видно, что отрицательно заряженные электроны, обладающие свойствами не только частицы, но и волны, могут быть

использованы как опорное излучение в просвечивающей микроскопии. Отметим, что электронные просвечивающие микроскопы, являющиеся, по сути, измерительными микроскопами с высоким разрешением, служат в основном для точного измерения угловых и линейных размеров объектов. Используются они широко в лабораторной металлофизической практике и в такой технической области как машиностроение [15].

Широкая распространенность электронных микроскопов просвечивающего типа связана с их наиболее высокой разрешающей способностью по сравнению с микроскопами других типов [17]. Так, в *электронном отражательном микроскопе* изображение объекта видится в отраженных от него электронных лучах, что позволяет непосредственно изучать поверхность объекта [15]. В *электронном эмиссионном микроскопе* изображение объекта формируется с помощью имитируемых им электронов. В *электронном растровом микроскопе* (см. ниже раздел 7) изображение формируется на осциллографическом кинескопе (дисплее), а в *электронном теневом микроскопе* оно создается путем увеличенного теневого изображения объекта на удаленном экране или фотопленке [15]. В *электронном зеркальном микроскопе* основой является электронное зеркало, отражающее электроны от эквипотенциальной поверхности объекта для последующего формирования изображения. Преимущество такого способа получения изображения в микроскопе заключается в том, что объект практически не облучается электронным пучком или облучается электронами слабых энергий, которые не повреждают исследуемые биологические объекты [15, 17].

## 6. РЕНТГЕНОВСКИЙ МИКРОСКОП

*Рентгеновский микроскоп* является прибором, предназначенным для исследования очень малых объектов, размеры которых сопоставимы с длиной  $\lambda_{0r}$  рентгеновской волны. Как известно, для тормозного (непрерывного) и характеристического (линейчатого) рентгеновского излучения величина  $\lambda_{0r}$  изменяется от  $10^{-14}$  до  $10^{-7}$  м [11, 18]. В этом виде микроскопа используется суперкороткое электромагнитное излучение рентгеновского диапазона с длиной волны  $\lambda_{0r}$  от  $10^{-11}$  до  $10^{-9}$  м [19]. Рентгеновские микроскопы по разрешающей способности находятся между электронными и оптическими микроскопами. Разрешающая способность современного рентгеновского микроскопа достигает от 20 до 2 нм, что на порядок больше разрешающей способности современного оптического микроскопа (до 150 нм) [19]. Разработка рентгеновских микроскопов была сопряжена с рядом серьезных технических трудностей. Дело в том, что рентгеновские лучи практически невозможно фокусировать как оптическими, так и электромагнитными линзами. Здесь для фокусировки рентгеновского излучения применяются линзы, действующие на основе эффекта обратного лучепреломления. Работа таких линз основано на различии коэффициентов преломления рентгеновских лучей в конденсированном веществе по отношению к воздуху. Поэтому функцию линзы в рентгеновском микроскопе выполняет линзообразная

полость внутри твердого материала, получившая название "линзы Снигирёва" [19]. Для наблюдения и фиксации результатов воздействия рентгеновских лучей на объект приходится применять фототехнику или электронно-оптические преобразователи. Первый коммерческий рентгеновский микроскоп был создан в 1950-х годах американским инженером Стерлингом Ньюбери (компания General Electric) [19]. Существуют два основных типа рентгеновских микроскопов – отражательные и проекционные. В последнее время к ним добавился еще и лазерный тип этого микроскопа. В *рентгеновских отражательных микроскопах* используется явление преломления рентгеновских лучей при их скользящем падении на объект. *Рентгеновские проекционные микроскопы* используют высокую проникающую способность рентгеновских лучей в исследуемый объект. Благодаря тому, что коэффициент поглощения рентгеновских лучей зависит от размеров атомов вещества, через которые они проходят, то рентген-проекционные микроскопы позволяют получать информацию не только о структуре, но и о химическом составе изучаемого объекта [19]. Рентгеновские микроскопы получили ныне широкое применение в разных сферах науки и техники, включая медицину, биологию, минералогия и материаловедение.

## 7. СКАНИРУЮЩИЙ ЭЛЕКТРОННЫЙ МИКРОСКОП

*Сканирующий (растровый) электронный микроскоп* (Scanning Electron Microscope) является прибором, предназначенным для получения четкого изображения поверхности объекта с высоким (до 0,4 нм) пространственным разрешением, а также информации о составе, строении и некоторых других свойствах приповерхностных слоёв исследуемого объекта [20]. На рис. 23, 24 показаны внешние виды современных растровых электронных микроскопов (РЭМ) Zeiss Leo Supra 35 и JEOL JSM 6430F [20].



Рис. 23. Внешний вид компьютеризированного современного сканирующего (растрового) электронного микроскопа Zeiss Leo Supra 35 (2007 год) [20]

Работа этого вида микроскопа основана на взаимодействии электронного зонда (пучка) с исследуемым веществом. В РЭМ тонкий электронный пучок, генерируемый электронной пушкой (источником электронов) и фокусируемый электронными линзами (обычно электромагнитными, а иногда и электростатическими), направляется на анализируемый образец. Остророфокусированный электронный пучок в РЭМ имеет значения энергий от 200 эВ до 50 кэВ [20].

В результате взаимодействия между электронным зондом и образцом возникают низкоэнергетичные вторичные электроны, которые отбираются детектором вторичных электронов РЭМ. Сканируя электронным пучком поверхность объекта, в РЭМ можно получить карту рельефа анализируемой зоны образца. Современный РЭМ позволяет работать в широком диапазоне увеличений приблизительно от 10 крат (эквивалентно увеличению сильной ручной линзы-лупы) до  $10^6$  крат, что примерно в 500 раз превышает предел увеличения лучших оптических микроскопов. Первые в мире РЭМ, формирующие изображение наблюдаемого объекта путем последовательного перемещения электронного зонда (пучка) диаметром 0,01 мкм по этому образцу, появились в 1938 году (их разработчик – немецкий инженер Манфред фон Арденне) [4, 10].

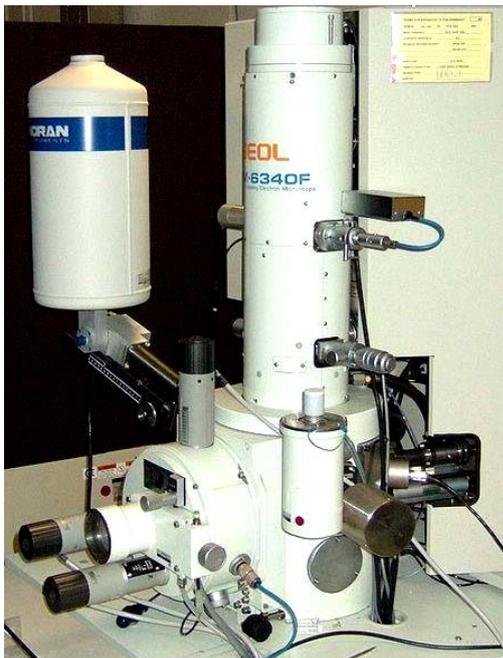


Рис. 24. Внешний вид современного электронного растрового микроскопа JEOL JSM 6430F (2008 год) [20]

В современных РЭМ изображение объекта регистрируется исключительно в цифровой форме. На рис. 25 приведена микрофотография пыльцы, демонстрирующая возможности РЭМ в режиме детектирования низкоэнергетичных вторичных электронов [20].

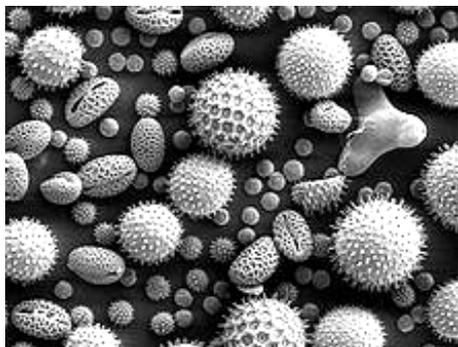


Рис. 25. Микрофотография растительной пыльцы, полученная с помощью электронного растрового микроскопа [20]

Разрешение в РЭМ составляет до единиц нанометров. На 2009 год наилучшее разрешение было дос-

тигнуто на микроскопе Hitachi S-5500 (0,4 нм при ускоряющем напряжении 30 кВ) [20]. Сегодня возможности растровой электронной микроскопии используются практически во всех областях науки (чаще в биологии и материаловедении) и промышленности.

## 8. СКАНИРУЮЩИЙ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОП

*Сканирующий атомно-силовой микроскоп* (Atomic Force Microscope) является сканирующим зондовым микроскопом высокого разрешения [21]. Используется этот вид микроскопа (рис. 26) для определения рельефа как электропроводящих, так и диэлектрических поверхностей объектов наблюдения с разрешением от десятков ангстрем и вплоть до атомарного. Атомно-силовой микроскоп (АСМ) был создан в США в 1982 году Гердом Биннигом, Кельвином Куэйттом и Кристофером Гербером как модификация ранее изобретённого одним из них сканирующего туннельного микроскопа [10]. В отличие от РЭМ, который даёт псевдотрёхмерное изображение поверхности образца, АСМ позволяет получить истинный трёхмерный рельеф его поверхности. Для нормальной работы РЭМ требуется высокий вакуум, в котором размещается и исследуемый образец, а большинство режимов АСМ могут быть реализованы на воздухе или в жидкости [21]. АСМ в состоянии обеспечить реальное атомное разрешение в условиях сверхвысокого вакуума. Показано, что АСМ можно использовать для определения типа атомов в кристаллической решётке вещества. Сверхвысоковакуумный АСМ по разрешению сравним с просвечивающим электронным микроскопом (см. выше раздел 5) и сканирующим туннельным микроскопом (см. ниже раздел 10).

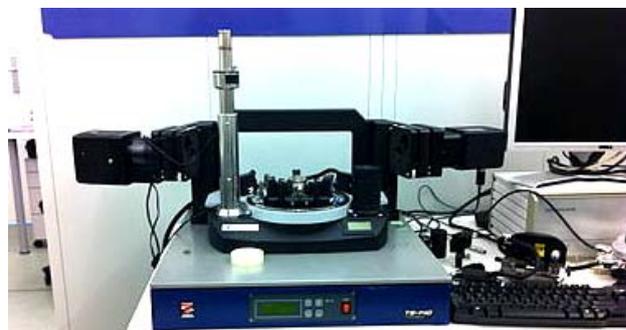


Рис. 26. Внешний вид современного сканирующего атомно-силового микроскопа (2008 год) [21]

Основными конструктивными элементами АСМ являются: жесткий корпус, удерживающий измерительную систему; держатель образца; манипулятор с кантилевером (зондирующей иглой, радиус закругления острия которой составляет порядка десятка ангстрем), контактирующим с поверхностью образца. В большинстве современных АСМ для компьютеризированной регистрации изменения положения кантилевера используется оптическая система, в которой острый луч лазера направляется на внешнюю поверхность кантилевера, отражается от него и попадает на фотодетектор. Регистрируя таким путем величину изгиба кантилевера, перемещающегося по поверхности образца, можно судить о рельефе этой поверхно-

сти. Манипулятор АСМ при своих габаритах в несколько сантиметров позволяет передвигать кантилевер (иглу с наноразмерным острием) с разрешением до 0,1 ангстрема. Заметим, что изменение температуры окружающей кантилевер среды на 0,01 °С приводит к перемещению острия его иглы вследствие теплового дрейфа на 1 ангстрем (диаметр атома) [21]. Продолжая описание характеристик АСМ, отметим, что к недостаткам АСМ, при его сравнении с РЭМ, следует отнести небольшой размер поля сканирования. Если РЭМ в состоянии просканировать область поверхности образца размером в несколько миллиметров в латеральной плоскости с перепадом высот в несколько миллиметров в вертикальной плоскости, то для АСМ максимальный перепад высот составляет несколько микрон, а максимальное поле сканирования в лучшем случае достигает размера 150×150 мкм<sup>2</sup> [21]. Обычный АСМ не в состоянии сканировать поверхность также быстро, как это делает РЭМ. Укажем, что в 1988 году Альфред Церезо, Теренс Годфри и Джордж Смит впервые применили позиционно-чувствительный детектор в зондирующем атомно-силовом микроскопе. Это позволило им с помощью подобного детектора видеть положение атомов вещества в трёхмерном (евклидовом) пространстве [10].

#### 9. СКАНИРУЮЩИЙ ЗОНДОВЫЙ МИКРОСКОП

**Сканирующий зондовый микроскоп** (СЗМ) относится к новому виду микроскопов и изображение в нем по аналогии с АСМ получают путем регистрации взаимодействия между острым зондом (кантилевером) нанометрических размеров и поверхностью образца [22]. На рис. 27 приведена фрагментарная часть современного СЗМ, используемого украинскими металлофизиками в своих научных исследованиях по получению новых наноструктурных материалов [23].

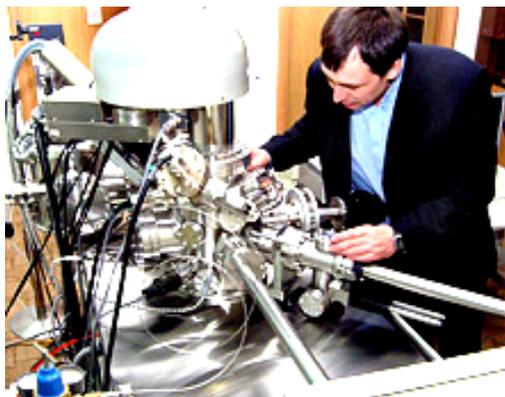


Рис. 27. Внешний вид сканирующего зондового микроскопа, установленного в 2010 году в Институте металлофизики НАНУ для исследования различных наноматериалов [6, 23]

При помощи СЗМ можно регистрировать взаимодействие зонда с отдельными атомами и молекулами изучаемого вещества. При создании СЗМ проявилось значимое научно-техническое влияние передовой области электронной микроскопии – сканирующей зондовой и туннельной микроскопии [22]. СЗМ по своей разрешающей способности сопоставим с электронным просвечивающим микроскопом (до 0,1 нм), а по некоторым параметрам превосходит его [4].

#### 10. СКАНИРУЮЩИЙ ТУННЕЛЬНЫЙ МИКРОСКОП

Одним из возможных вариантов СЗМ является **сканирующий туннельный микроскоп** (Scanning Tunneling Microscope), предназначенный для измерения рельефа проводящих поверхностей с высоким пространственным разрешением [24]. В сканирующем туннельном микроскопе (СТМ) острая металлическая игла (рис. 28) подводится к образцу на расстояние нескольких ангстрем. При подаче на эту иглу относительно проводящей поверхности образца небольшого электрического потенциала в цепи возникает туннельный ток. Величина этого тока экспоненциально зависит от расстояния в системе "образец-игла". При указанном расстоянии около 1 ангстрема типичными значениями туннельного тока служат (1–10<sup>3</sup>) пА [24].



Рис. 28. Платиново-иридиевая игла современного сканирующего туннельного микроскопа крупным планом [10]

В процессе сканирования игла СТМ движется вдоль проводящей поверхности образца. При этом туннельный ток поддерживается стабильным за счёт действия обратной связи, а показания следящей системы изменяются в зависимости от топографии исследуемой поверхности. Такие изменения фиксируются регистрирующим блоком СТМ и на их основе строится карта высот на поверхности образца. СТМ стал первым из класса сканирующих зондовых микроскопов. Его разработали в 1981 году Герд Бинниг и Генрих Рорер [10]. В 1986 году изобретатели этого микроскопа Г. Бинниг и Г. Рорер получили Нобелевскую премию по физике (совместно с Э. Руска за изобретение им в 1931 году электронного просвечивающего микроскопа) [10, 13]. Кроме того, в 1988 году Кинго Итайя (Kingo Itaya) был изобретен электрохимический сканирующий туннельный микроскоп [10].

Из последних важных достижений в микроскопии укажем, что в 2006 году научной группой известного немецкого физика Штефана Хелля (Stefan Hell) из Института биофизической химии научного сообщества Макса Планка (г. Гёттинген, Германия) в сотрудничестве с аргентинским учёным-физиком Мариано Босси (Mariano Bossi) был разработан и создан оптический микроскоп под названием **наноскоп**, позволяющий преодолеть дифракционный предел Э. Аббе и наблюдать объекты размером около 10 нм (к 2010 году этот предельный размер по разрешению стал еще меньше) [5]. При этом в уникальном наноскопе обеспечиваются высококачественные трёхмерные изображения объектов, ранее недоступные для обычной световой и конфокальной микроскопии [10].

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Большой иллюстрированный словарь иностранных слов. – М.: Русские словари, 2004. – 957 с.
2. <http://www.vita-club.ru/micros1.htm>.
3. <http://znai.ru/art/400168500.php>.
4. <http://imicroscopy.wordpress.com/история>.
5. <http://ru.wikipedia.org/wiki/%D1%E2%E5%F2%E2%E2%E2%E9>.
6. Баранов М.И. Антология выдающихся достижений в науке и технике: Монография в 2-х томах. Том 1. – Харьков: Изд-во "НТМТ", 2011. – 311 с.
7. Скворцов Г.Е., Панов В.А., Поляков Н.И., Федин Л.А. Микроскопы. – Л.: Машиностроение, 1969. – 511 с.
8. <http://ru.wikipedia.org/wiki/%CA%E2%F4%E2%E0%E2%F0%E2%F0%E2%F0%E9>.
9. <http://ru.wikipedia.org/wiki/Микроскоп>.
10. [http://ru.wikipedia.org/wiki/Хронология\\_развития\\_микроскопа](http://ru.wikipedia.org/wiki/Хронология_развития_микроскопа).
11. Кузьмичев В.Е. Законы и формулы физики / Отв. ред. В.К. Тартаковский. – Киев: Наукова думка, 1989. – 864 с.
12. Пилянкевич А.Н., Климовицкий А.М. Электронные микроскопы. – Киев.: Техніка, 1976. – 168 с.
13. Храмов Ю.А. История физики. – Киев: Изд-во "Феникс", 2006. – 1176 с.
14. Баранов М.И. Избранные вопросы электрофизики: Монография в 2-х томах. Том 1: Электрофизика и выдающиеся физики мира. – Харьков: Изд-во НТУ "ХПИ", 2008. – 252 с.
15. <http://ru.wikipedia.org/wiki/%DD%E2%F0%E2%F0%E2%F0%E2%F0%E9>.
16. Скляренко В.М., Сядро В.В. Открытия и изобретения. – Харьков: Веста, 2009. – 144 с.
17. Хейденрайх Р. Основы просвечивающей электронной микроскопии. – М.: Мир, 1966. – 472 с.
18. Баранов М.И. Избранные вопросы электрофизики: Монография в 2-х томах. Том 2, Кн. 1: Теория электрофизических эффектов и задач. – Харьков: Изд-во НТУ "ХПИ", 2009. – 384 с.
19. [http://ru.wikipedia.org/wiki/Рентгеновская\\_микроскопия](http://ru.wikipedia.org/wiki/Рентгеновская_микроскопия).
20. <http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%E0%F1%F2%F0%E2%F0%E2%F0%E9>.
21. [http://ru.wikipedia.org/wiki/Сканирующий\\_атомно-силовой\\_микроскоп](http://ru.wikipedia.org/wiki/Сканирующий_атомно-силовой_микроскоп).
22. Миронов В.Л. Основы сканирующей зондовой микроскопии. – Нижний Новгород: Институт физики микроструктур РАН, 2004. – 110 с.
23. Якименко Ю., Нарытник Т., Цендровский В. Место Украины в мире нанотехнологий / Газета "Зеркало недели", №29(708) от 9-15 августа 2008 года.
24. <http://ru.wikipedia.org/wiki/%D1%EA%E0%ED%E8%F0%F3%FE%F9%E8%E9>.

**REFERENCES:** 1. *Bol'shoj illjustrirovannyj slovar' inostrannyh slov* [Large illustrated dictionary of foreign words]. Moscow, Russkie slovari Publ., 2004. 957 p. 2. Available at: <http://www.vita-club.ru/micros1.htm> (accessed 03 August 2012). 3. Available at: <http://znai.ru/art/400168500.php> (accessed 03 August 2012). 4. Available at: <http://imicroscopy.wordpress.com/история> (accessed 03 August 2012). 5. Available at: <http://ru.wikipedia.org/wiki/%D1%E2%E5%F2%E2%E2%E2%E9> (accessed 03 August 2012). 6. Baranov M.I. *An anthology of outstanding achievements in science and technology: monograph in 2 volumes. Vol.1*, Kharkov, NTMT Publ., 2011.

7. Skvortsov G.E., Panov V.A., Poliakov N.I., Fedin L.A. *Mikroskopy* [Microscopes]. Leningrad, Mashinostroenie Publ., 1969. 511 p. 8. Available at: <http://ru.wikipedia.org/wiki/%CA%E2%F4%E2%E0%E2%F0%E2%F0%E2%F0%E9> (accessed 03 August 2012). 9. *Mikroskop* (Microscope) Available at: <http://ru.wikipedia.org/wiki/Микроскоп> (accessed 10 August 2012). 10. *Khronologija razvitiia mikroskopa* (Chronology of microscope development) Available at: [http://ru.wikipedia.org/wiki/Хронология\\_развития\\_микроскопа](http://ru.wikipedia.org/wiki/Хронология_развития_микроскопа) (accessed 10 August 2012). 11. Kuz'michev V.E. *Zakony i formuly fiziki* [Laws and formulas of physics]. Kiev, Naukova Dumka Publ., 1989. 864 p. 12. Piliankevich A.N., Klimovitskii A.M. *Elektronnye mikroskopy* [Electron microscopes]. Kiev, Tekhnika Publ., 1976. 168 p. 13. Khramov Yu.A. *Istoriia fiziki* [History of Physics]. Kiev, Feniks Publ., 2006. 1176 p. 14. Baranov M.I. *Izbrannye voprosy elektrofiziki: Monografiia v 2-h tomah. Tom 2, Kn. 1: Teoriia elektrofizicheskikh effektov i zadach* [Selected topics electrophysics: Monographs in 2 vols. Vol.2, Book 1: The theory of electrophysical effects and tasks]. Kharkov, NTU "KhPI" Publ., 2009. 384 p. 15. Available at: <http://ru.wikipedia.org/wiki/%DD%E2%F0%E2%F0%E2%F0%E2%F0%E9> (accessed 03 August 2012). 16. Skljarenko V.M., Sjadro V.V. *Otkrytiia i izobreteniia* [Discoveries and inventions]. Kharkov, Vesta Publ., 2009. 144 p. 17. Kheidenraikh R. *Osnovy prosvetivaiushchei elektronnoi mikroskopii* [Fundamentals of transmission electron microscopy]. Moscow, Mir Publ., 1966. 472 p. 18. Baranov M.I. *Izbrannye voprosy elektrofiziki: Monografiia v 2-h tomah. Tom 2, Kn. 1: Teoriia elektrofizicheskikh effektov i zadach* [Selected topics electrophysics: Monographs in 2 vols. Vol.2, Book 1: The theory of electrophysical effects and tasks]. Kharkov, NTU "KhPI" Publ., 2009. 384 p. 19. *Rentgenovskaia mikroskopiia* (X-ray microscopy) Available at: [http://ru.wikipedia.org/wiki/Рентгеновская\\_микроскопия](http://ru.wikipedia.org/wiki/Рентгеновская_микроскопия) (accessed 10 August 2012). 20. Available at: <http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%E0%F1%F2%F0%E2%F0%E2%F0%E9> (accessed 03 August 2012). 21. *Skaniiruiushchii atomno-silovoi mikroskop* (Scanning atomic force microscope) Available at: [http://ru.wikipedia.org/wiki/Сканирующий\\_атомно-силовой\\_микроскоп](http://ru.wikipedia.org/wiki/Сканирующий_атомно-силовой_микроскоп) (accessed 10 August 2012). 22. Mironov V.L. *Osnovy skaniiruiushchei zondovoi mikroskopii* [Fundamentals of the scanning probe microscopy]. Nizhnii Novgorod: Institut fiziki mikrostruktur RAN Publ., 2004. 110 p. 23. Yakimenko Yu., Narytnik T., Tsendrovskii V. Ukraine's place in the world of nanotechnology. *Gazeta "Zerkalo nedeli" – The newspaper "The Mirror of the Week"*, 2008, no.29(708) from 9-15 August. 24. Available at: <http://ru.wikipedia.org/wiki/%D1%EA%E0%ED%E8%F0%F3%FE%F9%E8%E9> (accessed 03 August 2012).

Поступила (received) 31.08.2012

Баранов Михаил Иванович, д.т.н., с.н.с.,  
НИПКИ "Молния"  
Национальный технический университет  
"Харьковский политехнический институт",  
61013, Харьков, ул. Шевченко, 47,  
тел/phone +38 057 7076841, e-mail: eft@kpi.kharkov.ua

M.I. Baranov  
Scientific-&-Research Planning-&-Design Institute "Molniya"  
National Technical University "Kharkiv Polytechnic Institute"  
47, Shevchenko Str., Kharkiv, 61013, Ukraine

**An anthology of the distinguished achievements in a science and technique. Part 23: Invention of microscope and study of microscopic world.**

A short essay is resulted from world history of invention of microscopes. The basic types of microscopes are described; directions and some results of their application are indicated at the study of microscopic world.

**Key words – history, invention of microscope.**