

Slovenščina:

Network presentation document

ALL-MICRO

ALL-MICRO je napredna mikroskopska mreža, ki zagotavlja vrhunske rešitve na področju optične in elektronske mikroskopije ter znanstveno in tehnično podporo za javne in zasebne subjekte, ki želijo uporabiti mikroskopijo za tehnološke inovacije. Mreža obsega italijansko-slovensko makroregijo in vključuje ključne akademske in raziskovalne ustanove, kot so Univerza v Trstu, Univerza v Novi Gorici, Nanocenter v Ljubljani, CNR-IOM v Trstu, PTP v Novi Gorici in Tec4i v Vidmu. To sodelovanje spodbuja odprt dostop in partnerstva s podjetji vseh velikosti ter javnimi organizacijami.

Glavni cilj mreže je povečati zavedanje o ogromnem potencialu, ki ga prinašajo nedavni napredki na področju optične in elektronske mikroskopije, zlasti za povečanje konkurenčnosti regije in sosednjih območij. Tradicionalno so bile te napredne mikroskopske tehnike omejene na specializirane ustanove zaradi visokih stroškov opreme in hitrega tehnološkega napredka. Posledično so te metodologije pogosto nedostopne industrijam, ki želijo vključiti mikroskopijo v razvoj izdelkov in inovacije storitev. ALL-MICRO si prizadeva zapolniti to vrzel in olajšati prehod naprednih mikroskopskih tehnik iz akademskih in osnovnih raziskav v praktične aplikacije v industriji in storitvah.

ALL-MICRO omogoča dostop do široke palete mikroskopskih storitev, ki jih zagotavljajo visoko usposobljeni strokovnjaki, vključno z:

- **Vrste elektronske mikroskopije z vrstično sondo (SEM)¹:** vključno z okoljsko SEM (ESEM) in hibridnimi tehnikami SEM s fokusiranim ionskim snopom (FIB)

¹ SEM ustvari sliko z zaznavanjem elektronov, ki jih vzorec odbija ali izbija. Tehnika je primerna za pridobivanje informacij o površini vzorca. ESEM deluje pri nižjem vakuumu kot SEM, kar omogoča slikanje neprevodnih vzorcev brez prevleke. Tehnika ESEM je še posebej primerna za biološke vzorce. Instrument FIB je podoben instrumentu SEM, vendar se vzorec skenira z uporabo fokusiranega ionskega snopa namesto elektronskega snopa. Instrumenti FIB-SEM imajo dvojni način analize, tako z ioni kot elektroni. Tehnika je primerna za vzorce iz materialne znanosti.

- **Presevna elektronska mikroskopija (TEM)²**
- **Mikroskopije z vrstično sondo³:** vključno z mikroskopijo na atomsko silo (AFM) in skenirno tunelsko mikroskopijo (STM)
- **Optična mikroskopija**
- **Ramanova mikroskopija**

S podporo projekta Interreg Italija-Slovenija mreža ALL-MICRO omogoča dostop do svojih virov prek pilotnih projektov, ki vključujejo dokazovalne eksperimente, izvedene z najsodobnejšo opremo. Poleg pilotnih projektov mreža spodbuja sodelovanje z eno ali več sodelujočimi institucijami.

Ta dokument opisuje vrhunsko opremo, ki je na voljo v mreži, in podrobno opisuje različne aplikacije znanstvenih zmogljivosti mreže.

² TEM ustvari sliko z zaznavanjem elektronov, ki prehajajo skozi vzorec. Tehnika omogoča vizualizacijo struktur na atomski ravni tako za vzorce materialne znanosti kot za biološke vzorce.

³ Mikroskopije z vrstično sondo zaznavajo površino vzorca z uporabo atomske velike sonde, z nanometrsko ločljivostjo.

Mikroskopija z vrstično elektronsko sondo (SEM)

SEM je tehnika, ki se uporablja za pridobivanje podrobnosti o površinski morfologiji vzorcev katerekoli narave, vse do nanometrské ločljivosti. V vrstičnem elektronskem mikroskopu je nanometrsko velik snop elektronov osredotočen na zaporedne točke, pri čemer skenira vzorec točko za točko. Za vsak položaj različni detektorji, nameščeni znotraj mikroskopa, omogočajo zbiranje informacij o različnih pojavih, ki jih povzroči vpliv elektronov na vzorec. Med temi so sekundarni elektroni, ki so iztisnjeni iz površinskih plasti vzorca in prikazujejo njegovo morfologijo, vse do podrobnosti manjših od 1 nm (10^{-9} m, oziroma tisočinka μ m). Povratno sipani elektroni so višje energijski elektroni, ki izhajajo iz globljih plasti in omogočajo razlikovanje kemično različnih področij vzorca.

Zaradi vpliva elektronov se iz vzorca iztisnejo tudi rentgenski žarki, ki razkrivajo kemično sestavo v vsaki točki vzorca. Analiza z energijsko disperzijsko rentgensko spektroskopijo (EDS), izvedena s SEM instrumentom, lahko razkrije elementarno sestavo z uporabo rentgenskih žarkov, ki jih vzorec odda ob vplivu elektronov. Tehnika omogoča pridobitev kvantitativne ali polkvantitativne določitve kemične sestave na točno določenih mestih analiziranega območja.

Na splošno morajo biti vzorci, uporabljeni v SEM mikroskopiji, sposobni prevajati elektrone. Za ta namen so vzorci pogosto prevlečeni s kovinsko plastjo. Poleg tega morajo biti vzorci suhi, sveži biološki vzorci pa morajo biti fiksirani in dehidrirani. Da bi dosegli najvišjo ločljivost in povečavo, mora biti vzorec raven ali zelo tanek, npr. monoplast nanomateriala ali polirana sekcijska.

SEM deluje z različnimi vrstami vzorcev, vključno (vendar ne omejeno na) kompozite, kamnine, minerale in biološke vzorce. Z analizo povratno sipanih elektronov je mogoče enostavno zaznati razlike med elementi z različnimi atomskimi masami, npr. organske kontaminacije na kovinskih materialih ali obratno kovinske nanodelce na organskih materialih.

Tehnike SEM z nizkim vakuumom in SEM v okolju omogočajo slikanje neprevodnih vzorcev v pogojih nizkega vakuumu, brez potrebe po kovinski prevleki. Ta način se lahko uporablja za analizo mokrih ali suhih vzorcev, ki niso prevodni in za katere bi fiksiranje in dehidracija povzročila strukturno škodo, ali za katere kovinskih prevlek ni mogoče uporabiti. Na primer, materiali, posejani s celicami, vzorci, pridobljeni iz rastlin, in enocelični organizmi se lahko analizirajo z ESEM, čeprav z nižjo ločljivostjo kot pri visokovakuumskih pogojih.

Instrumenti FIB-SEM združujejo skeniranje vzorca z elektronskim snopom SEM z dodatnim ionskim snopom, običajno z uporabo ionov galija. Za razliko od elektronov je ionski snop uničujoč za vzorec, kar omogoča rezkanje in rezanje za izpostavitve preseka materiala ali pripravo majhnih delov vzorca. FIB stolpec, v kombinaciji s SEM stolpcem, se lahko uporablja za analizo mikroskopske strukture notranjosti vzorca z izrezovanjem različnih sekcij.

SEM instrumenti, dostopni prek mreže:

Mikroskop ZEISS Supra 40 SEM

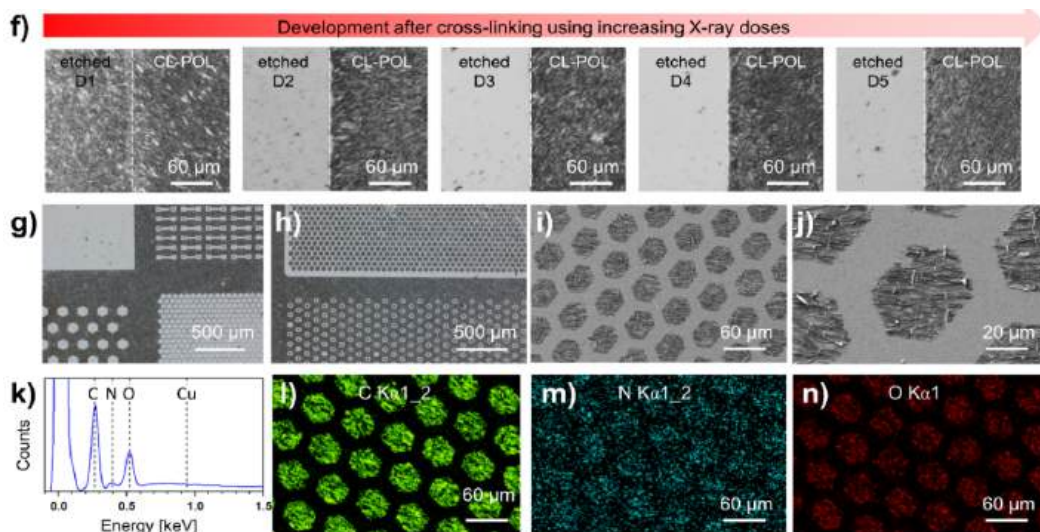
Instrument Supra 40 je SEM, opremljen z virom emisije polja (FEG⁴), ki se uporablja za slikovno upodabljanje visoke ločljivosti. Večdetektorska oprema, zasnovana in nameščena za specifične analize, od morfoloških do slikovnega kontrasta faz, omogoča natančno in poglobljeno preiskavo vzorcev. STEM detektor omogoča slikanje z uporabo prepuščenih elektronov z izboljšano končno ločljivostjo (1 nm). Na voljo je tudi nosilec za TEM mreže, ki lahko sprejme do 12 mrežic.

Poleg tega je možno zasnovati in izdelati posebne nosilce. Velika komora lahko sprejme vzorce velikosti do 10 cm. Sistem vključuje tudi najsodobnejši EDS detektor (iz Oxforda) za elementno mikroanalizo, vključno s sposobnostjo elementnega preslikavanja.

Trdi materiali so tipični vzorci, preiskovani z mikroskopom Supra 40. STEM je učinkovit pri nanopartiklih, paličicah ali vlaknih za katalitične in biološke vzorce (po ustreznem postopku sušenja). Na sliki 1 so prikazani primeri karakterizacije kovinsko-organskih ogrodij (MOFs) s SEM-EDS z uporabo mikroskopa Supra 40⁵.

⁴ Elektronski topovi z emisijo polja proizvajajo manjše in bolj koherentne elektronske žarke, z do tremi velikostnimi redi večjo svetlostjo (tj. gostoto toka) kot običajni termionski oddajniki.

⁵ Brandner, Lea A., et al. "Ordered Transfer from 3D-oriented MOF Superstructures to Polymeric Films: Microfabrication, Enhanced Chemical Stability, and Anisotropic Fluorescent Patterns." *Advanced Materials* (2024): 2404384.



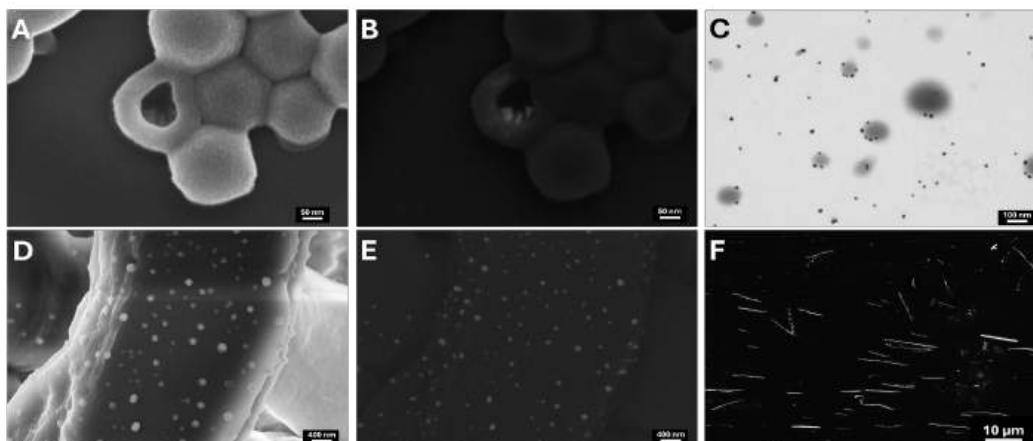
Slika 1: SEM slikanje kovinsko-organskih ogrodij

Mikroskop Supra 40 se nahaja v CNR Electron Microscopy Facility (Zgradba Q2 - Area Science Park Strada Statale 14 km 163.5 - 34149 Basovizza - Trst). V laboratoriju se lahko vzorci pripravijo s sušenjem s CPD obdelavo, z ogljičenjem ali s plazemsko obdelavo. Vsi instrumenti za obdelavo in shranjevanje vzorcev so na voljo v SEM laboratoriju.

Vodja objekta: Simone Dal Zilio (vodja objekta, tehnolog). Tehnično osebje: Behnaz Abbasgholi Nejad Asbaghi (postdoktorand, podpora uporabnikom).

Mikroskop Zeiss GEMINI 300 SEM/CLEM

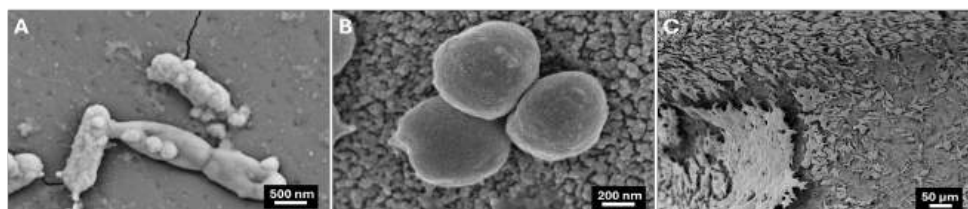
Elektronski mikroskop za vrstično slikanje Gemini 300 ima vir poljske emisije (do 30 kV) in je opremljen z Everhart-Thornley detektorjem sekundarnih elektronov za morfološko analizo ter 6-segmentnim detektorjem povratno sipanih elektronov (BSD) za kemijski kontrast in slikanje podobno TEM. Slikanje z visoko ločljivostjo pri velikih povečavah je mogoče doseči z detektorjem InLens za sekundarne elektrone in detektorjem povratno sipanih elektronov z izbiro energije (EsB). Poleg tega se lahko izvede kemična mikroanaliza s sondo Bruker XFluor 610M EDS z detektorjem silikonskega driftnja. Instrument je tudi opremljen z detektorjem STEM za analizo TEM vzorcev.



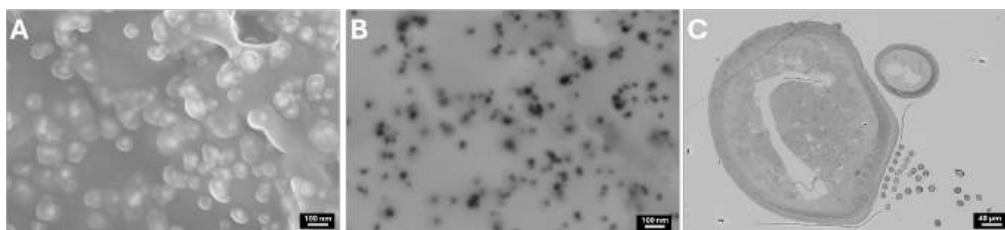
Slika 2: Različni primeri slikanja z visoko ločljivostjo. Metalne nanodelce vgrajene v polimerne mikropartikle (vljudnost prof. Macor) pridobljene s sekundarnimi (A) in povratno sipanimi (B) elektroni ter v STEM načinu (C). Polimerne nanovlaknine, obložene z nanodelci srebra, pridobljene s sekundarnimi (D) in povratno sipanimi (E) elektroni. Nanokompozit na osnovi polimera, obogatene z metalnimi flaki, pridobljen s povratno sipanimi elektroni (F, vljudnost prof. Lughi).

Instrument Gemini izvaja SEM analize na različnih vzorcih, od nanomaterialov do dehidriranih in fiksiranih bioloških vzorcev (Slika 3). Dosegljivi so detajli le nekaj nanometrov. Kemična sestava vzorcev katere koli narave se lahko preuči z uporabo povratno sipanih elektronov. Analiza zahteva polirano sekcijo, ki mora biti suha in prevodna.

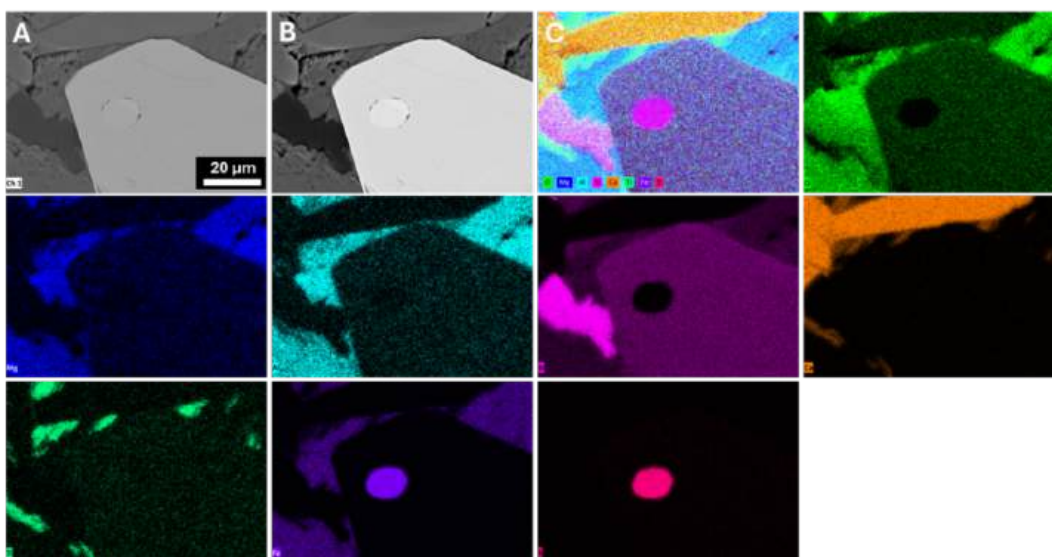
Ta instrument lahko tudi izvaja STEM slikanje ultratankih sekcij ali nanomaterialov (Slika 2). Vzorec mora biti pripravljen za TEM analizo in postavljen na TEM mrežice. Vendar je način STEM manj vsestranski v primerjavi z analizo TEM. Sekcije bioloških vzorcev se lahko slikajo po obarvanju s kontrastnimi sredstvi (npr. OsO₄). Teme podobne TEM se lahko pridobijo tudi z delovanjem z BSD na SEM vzorcih (Sliki 2 in 4).



Slika 3: Slikanje morfologije celic: bakterije, obdelane z antibakterijskim spojinom (A, vljudnost prof. Bandiera), bakterije, pritrjene na vsadek (B), osteoblasti, pritrjeni na vsadek (C).



Slika 4: Srebrove nanopartikle, deponirane na polimernih nanofibrah, pridobljene z sekundarnimi elektroni (A) in retrodifuznimi elektroni v načinu, podobnem TEM (B). Tanka sekcijska vzorca mikroorganizmov, pridobljena z retrodifuznimi elektroni v načinu, podobnem TEM (C, vljudnost prof. Giulianini).



Slika 5: Tanka sekcijska vzorca kamna, pridobljena s sekundarnimi elektroni (A) in retrodifuznimi elektroni (B), skupaj z EDS zemljevidom glavnih elementov, združenim v C (vljudnost prof. Ziberna).

Instrument je zelo vsestranski glede na energijo in intenzivnost elektronskega žarka. Uporablja se lahko na velikih vzorcih za slikanje na širokem polju pri nizkih povečevanjih in za slikanje z visoko ločljivostjo na nanometrski ravni pri nizkih energijah. Analizirati je mogoče široko paleto vzorcev: nanomateriale, nanokomposite, fiksirane in dehidrirane biološke vzorce, tanke sekcije, da omenimo le nekatere. Sredstvo za emisijo polja in sonda EDS omogočata hitro in natančno mikroanalizo v različnih nastavitvah, od spektrov do analiz točk, profilov in zemljevidov. Mikroskop Gemini 300 SEM se lahko uporablja z mikroskopom Elyra 7 SIM (glej spodaj) za izvedbo korelativne optične elektronske mikroskopije ter za kombiniranje fluorescenčne slike z sliko skenirajočega elektronskega mikroskopa.

Mikroskop Gemini 300 je nameščen v Interdepartmaentalnem centru za napredno mikroskopijo (CIMA) na Univerzi v Trstu (soba 2, via Fleming 31/A, Trst). Instrument je na voljo za 15 odstotkov časa delovanja stroja za dejavnosti mreže. V centru so na voljo različne tehnike priprave vzorcev: kritična sušenje, prevleka vzorcev z zlatom, kromom ali ogljikom (za analize v načinu podobnem TEM in v povratno sipani način ter za EDS).

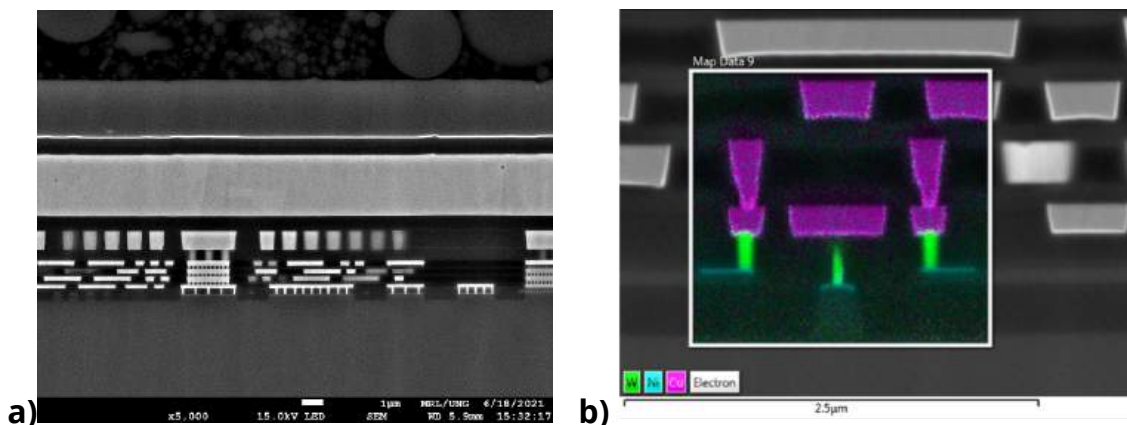
Specializirano osebje bo pomagalo pri manipulaciji in pripravi vzorcev pred analizo ter svetovalo pri analizi slik.

Odgovoren za instrument: Dr. Davide Porrelli (magistrski študij medicinskih biotehnologij - nanobiotehnologije, doktorat na področju nanotehnologije).

Mikroskop SEM JSM 7100f-TTL JEOL

Ta SEM ima napetost pospeševanja v razponu od 1-30 keV (HV<1 keV je mogoče, z uporabo tehnologije Gentle Beam). Opremljen je z EDS napravo (X-MAX 80, Oxford instruments) in napravo za spektroskopijo katodoluminiscence (MonoCL4, GATAN). Opremljen je tudi s segrevalno ploščo za segrevanje in situ (razpon: RT-700 °C) in doziranje plina in situ.

Mikroskop se lahko uporablja za slikanje prevodnih in suhih površin z ločljivostjo nekaj nm. Poleg površinske morfologije (sekundarni elektroni) in slikanja, občutljivega na fazo (retrodifuzni elektroni), se analiza lahko razširi na sestavo (EDS, spektroskopija ali zemljevide) in optično emisijo (spektralna katodoluminiscenca in mappiranje). Spektralna katodoluminiscenca se lahko uporablja za karakterizacijo nekaterih elektronskih in strukturnih lastnosti vzorca, kot je na primer optični energijski pas ali prisotnost napak v materialu (Slika 6). Možno je segrevati vzorec (in dozirati plin) in situ (tj. med analizo SEM).



Slika 6: Morfologija nanoparticlov katalizatorjev, preučenih z SEM. (a) Presek integriranega vezja, pridobljen z poliranjem z argonovimi ioni (na voljo na UNG) in opazovan z SEM. (b) Podrobnost preseka integriranega vezja, kjer so prikazane koncentracijske karte nekaterih elementov (W, Ni in Cu), pridobljenih z EDX (na voljo na UNG).

Ta SEM je na voljo v Laboratoriju za raziskave materialov Univerze v Novi Gorici (soba P8, Univerza v Novi Gorici, Vipaska 11c, 5270 Ajdovščina, Slovenija), z razpoložljivostjo 6 ur na teden za dejavnosti mreže ALL-MICRO.

V laboratoriju je na voljo tudi oprema za pripravo vzorcev, vključno z žago z diamantnim žičnim rezilom (Well), sistemom za natančno jedkanje in prevleko (PECS, GATAN), sistemom za natančno ionsko poliranje (PIPS, GATAN), ultrazvočnim rezalnikom diskov (GATAN), grinderjem za vdolbine in grinderjem diskov (GATAN), polirno napravo za preseke (JEOL), rotacijsko polirko (STRUERS), skupaj z dodatno pomožno opremo (ogrevalne plošče, vakuumске škatle, peči, deionizator vode, stereomikroskop itd.).

Odgovorna oseba za instrument: izr. prof. Mattia Fanetti. Tehnično osebje: dr. Blaž Belec.

ESEM instrumenti, na voljo preko mreže:

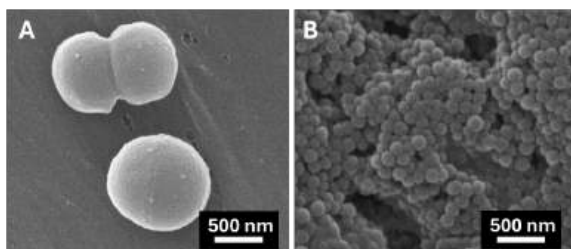
SEM mikroskop QUANTA 250 FEI

Mikroskop Quanta 250 ima termionsko žrčevje (do 30 kV) opremljeno z detektorjem sekundarnih elektronov Everhart-Thornley za morfološko analizo in detektorjem povratnih elektronov za slike kemičnega kontrasta. Opremljen je tudi z detektorjem širokega polja in detektorjem plinastih sekundarnih elektronov za delo v nizkem vakuumu in okolju, da analizira neprevodne, suhe ali vlažne vzorce.

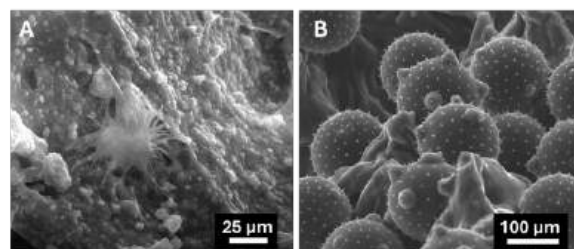
Ta mikroskop je vsestransko orodje, ki lahko izvaja slike tako v visokom vakuumu (Sliki 7 in 10), nizkem vakuumu, kot tudi v okoljskih (vlažnih) pogojih (Sliki 8, 9 in 11). Morfologijo vzorcev katere koli narave je mogoče analizirati v pogojih visokega vakuum s pomočjo sekundarnih elektronov, do ločljivosti nekaj nanometrov. Poleg tega lahko mikroskop izvaja slike morfologije vzorcev v pogojih nizkega vakuumu. Ta način se lahko uporablja za analizo suhih vzorcev, ki niso prevodni, ko bi prevleka lahko poškodovala ali spremenila strukturo vzorca, vzorec pa je treba ohraniti v svoji obliki. Na primer, keramika, polimerni nanokompoziti in plastika se lahko analizirajo v nizkem vakuumu, čeprav z nižjo ločljivostjo kot v pogojih visokega vakuumu.

Mikroskop QUANTA 250 se nahaja v Interdepartmentalnem centru za napredno mikroskopijo (CIMA) Univerze v Trstu (soba 4, via Fleming 31/A, Trst). Orodje je na voljo za 15% časa stroja za dejavnosti mreže. Laboratorij omogoča tudi pripravo vzorcev z nanošeni z zlatom, kromom ali ogljikom. Laboratorij je prav tako opremljen s kritičnim sušilnikom za dehidracijo bioloških vzorcev.

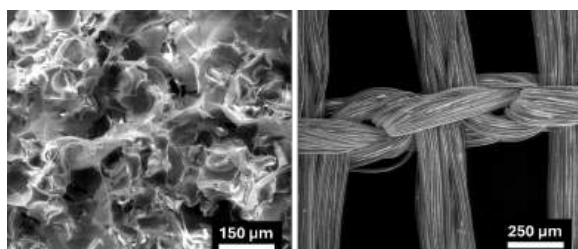
Odgovorna oseba za instrument: dr. Davide Porrelli (MSc v medicinskih biotehnologijah - nanobiotehnologije, PhD v nanotehnologiji).



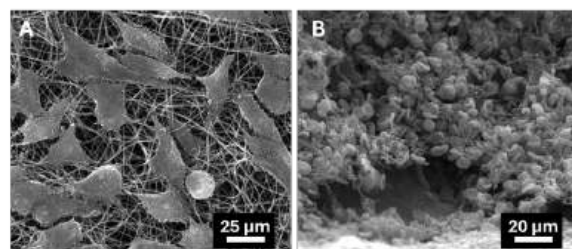
Slika 7: Visoko povečane slike bakterijskih celic (A) in polimernih nanodelcev (B).



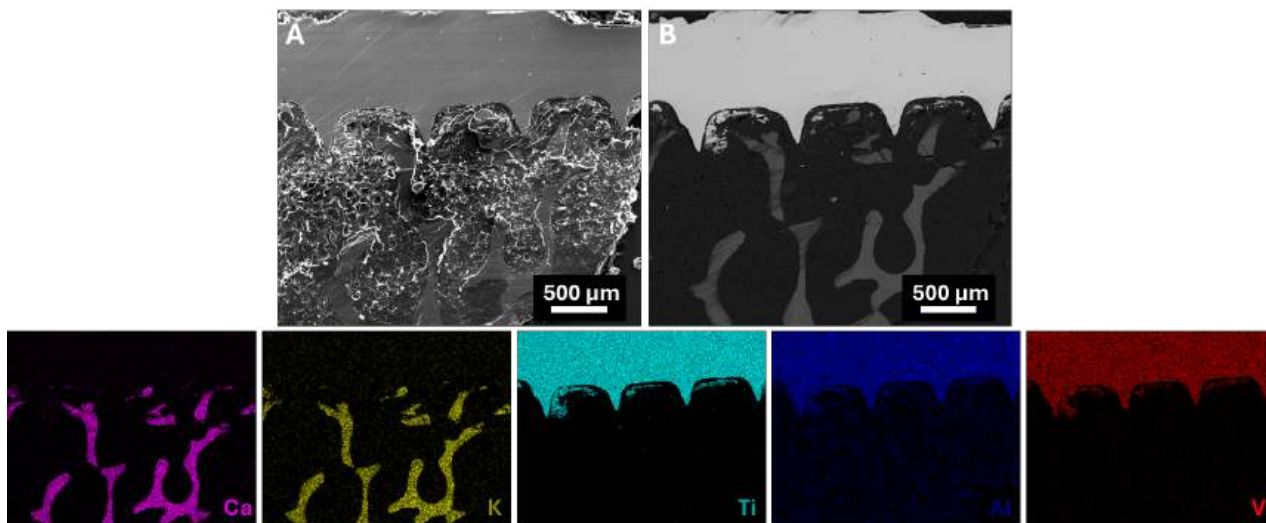
Slika 8: Osteoplastna celica gojena v biomaterialu (A) in cvetni prah (B, prijaznost prof. Candotto Carniel) analizirani v okolijskih pogojih.



Slika 9: Morfološka analiza poroznega polimernega materiala (A) in polimernega povoja (B) pridobljenih v nizkovakuumskih pogojih.



Slika 10: Interakcije evkariontskih celic z biomateriali: osteoplasti na nanofibrach (A), krvni strdek na titanovem vsadku (B).



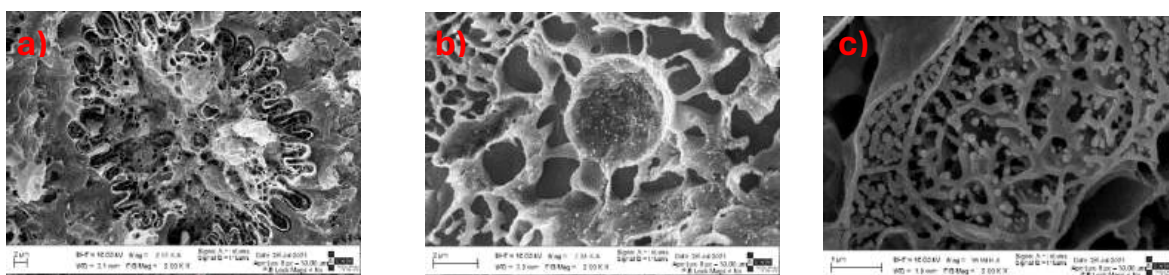
Slika 11: Tanka sekција kostne biopsije s titanovo zlitino, pridobljena s sekundarnimi (A) in povratnimi (B) elektroni, skupaj z EDS karto glavnih elementov.

SEM-FIB instrumenti na voljo preko mreže:

Zeiss Leo 1540XB SEM-FIB Mikroskop

Mikroskop Zeiss Leo 1540XB je Cross Beam SEM instrument s FEG emisijsko puško in Zeiss elektromagnetično optiko, ki omogoča dosego ločljivosti do 2 nm v SEM načinu in 150 nm v FIB načinu. FIB emisijska puška temelji na Ga viru, kar omogoča freziranje vzorca za preiskavo preseka. Sistem je integriran z EDS detektorjem. Poleg tega cryo-stanje omogoča pregled zamrznjenih vzorcev, kar je koristna tehnika za vzorce, ki vsebujejo vodo, kot so biološki vzorci, ali za vzorce, občutljive na poškodbe zaradi toplote. Navzoč je tudi load-lock za cryo-sampliranje, ki omogoča in situ sputter prevleko vzorca, brez prekinjanja hlajenja med celotnim procesom zamrzovanja in slikanja.

Instrument je zasnovan za analizo materialov, od morfološke do elementarne preiskave. Cryo-stanje odpira možnosti za biološke vzorce ali vzorce z visokim vsebnostjo vode, brez invazivnih postopkov sušenja (Slika 12). Celice, hrana, biološke vrste in geli so nekateri od vzorcev, ki jih je mogoče enostavno slikanje s tem instrumentom. Prisotnost FIB kolone omogoča freziranje vzorca za slikanje preseka, da se preuči morfologija pod površino vzorca.



Slika 12: Karakterizacija bioloških tkiv— a) pljuča, b) jetra in c) ledvica— z Cryo-SEM.

Mikroskop Leo 1540XB se nahaja v CNR Nano-Fabrication Facility (Zgradba MM - Area Science Park Strada Statale 14 km 163.5 - 34149 Basovizza - Trst). Instrument je na voljo za omrežne aktivnosti za 25% časa delovanja naprave. V objektu je tudi mogoča priprava in shranjevanje vzorcev, z občasnim dostopom.

Upravitelj objekta: Simone Dal Zilio (upravitelj FNF). Tehnično osebje odgovorno: Martina Conti (tehnolog).

SEM-FIB mikroskop Aquilos2 ThermoFisher

Mikroskop Aquilos2 podjetja ThermoFisher je vrhunski SEM za slikanje z visoko ločljivostjo (vir do 30 kV) z FIB stolpom za rezanje (vir Ga ionov do 30 kV). Sistem je opremljen s kriogenim stojalom z dušikom, kar odpira možnosti za analizo bioloških vzorcev. Sistem lahko sprejme TEM mreže in omogoča enostaven prenos med pripravo vzorcev, s čimer se izognete onesnaženju z vodo. Sistem vključuje tudi sistem za nanos s pršenjem *in situ*. Poleg tega je Aquilos2 opremljen s fluorescenčnim korelativnim slikanjem za skenirajočo elektronsko in svetlobno mikroskopijo. V instrumentu je nameščen mikromanipulator za ekstrakcijo lamel, primernih za analizo TEM.

Zahvaljujoč kriogenemu stojalu je ta mikroskop primeren za biološke vzorce, zlasti celice ali tkiva. Celice morajo biti (v tem trenutku) posejane in gojene v TEM mrežah, ki jih je treba vstaviti v mikroskop. Prav tako je mogoče delati z drugimi materiali, občutljivimi na toploto, kot so polimeri ali materiali na osnovi litija.

Mikroskop Aquilos2 je gostitelj CNR Cryo-EM Facility (Zgradba MM - Area Science Park Strada Statale 14 km 163.5 - 34149 Basovizza - Trst). Instrument je na voljo za omrežne aktivnosti za 15% časa delovanja naprave.

Objekt omogoča pripravo vzorcev z sušenjem z uporabo CPD zdravljenja in potapljaškega zamrzovalnika za nadzorovano zamrzovanje vzorcev (trenutno le za TEM mreže). Laboratorij ima tudi sistem za nanos za karboniranje ali obdelavo s plazmo. Na voljo je tudi laboratorij za biokemično pripravo. Prisotni so tudi dodatni instrumenti in orodja za karakterizacijo (optični mikroskop, kemijska omara, vir ultrapure vode).

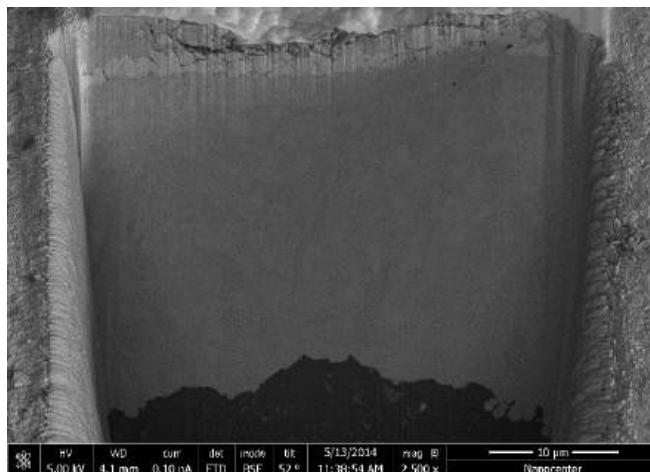
Upravitelj objekta: Simone Dal Zilio (upravitelj objekta, tehnolog).

Mikroskop DualBeam FIB

Mikroskop DualBeam FIB je napreden instrument, ki vključuje ionski žarek z elektronskim mikroskopom (FEG-SEM, ki doseže ločljivost 0,8 nm, kar omogoča milijonsko povečavo) za pritrjevanje, nanostrukturiranje, 3D tomografijo materialov in tankih filmov ter analizo presekov naprav.

Uporaba tega instrumenta sega od industrijske kakovosti in analize napak do priprave vzorcev za TEM raziskave prek mikromanipulacije in proizvodnje ter analize presekov. Karakterizacija industrijskih materialov z uporabo mikroskopa DualBeam FIB vključuje nadzor kakovosti sestavin, analizo homogenečnosti, odkrivanje napak in nezaželenih faz ter določanje faz in prostornine por z nanometrsko ločljivostjo (Slika 13). Instrument je primeren tudi za pripravo nano-objektov in elektronsko litografijo.

Mikroskop DualBeam FIB je opremljen za analizo EDS v situ, kar omogoča kemijsko analizo površin in nastalih presekov (profiliranje globine). Detektor EDS lahko izvede kvalitativno in kvantitativno elementalno analizo, analizo elementalnih linij in elementalno kartiranje.



Slika 13: Primer analize kakovosti in napak na materialu.

V akademskih študijah je ta mikroskop uporabljen za površinsko analizo materialov, 3D tomografijo, proizvodnjo TEM lamel v različnih orientacijah, nanometriške kroge (npr. superprevodne kroge, kot je nTron), raziskave z visoko prostorsko in globinsko ločljivostjo, analizo polprevodnih elementov na silicijevih substratih, proizvodnjo in analizo prereza, proizvodnjo nano-objektov in litografijo ter karakterizacijo heterostruktur (grafen, h-BN, FET monoplastni).

Mikroskop DualBeam FIB lahko izvaja mikromanipulacijo, pri čemer uporablja vgrajen mikromanipulator. Majhni predmeti se lahko pritrdijo znotraj mikroskopa in prenesejo na substrat ali montirajo za nadaljnjo obdelavo na drugi lokaciji (npr. z uporabo High-Angle Annular Dark Field STEM ali High-Resolution TEM). Instrument se lahko uporablja, na primer, pri mikromanipulaciji nanonitk, pripravi spominskih elementov na osnovi TaS₂ (CCM) in izdelavi naprav nanometriških velikosti na E-Chip za in situ TEM eksperimente (električne in toplotne).

Ta mikroskop je tudi primeren za 3D tomografijo, napredno tehniko, ki omogoča konstrukcijo 3D modelov volumna vzorca z ločljivostjo 10 nm. Z uporabo te tehnike lahko določimo tridimensionalno sestavo specifičnih faz znotraj volumna in kvantitativno opišemo višje mikrostrukturne parametre, kot so specifična površina, specifična površina stika, povezanost faz, gostota trojne fazne meje, tortuoznost, poroznost itd.

Mikroskop DualBeam FIB je nameščen v Nanocentru v Ljubljani (Jamova 39, Zgradba B, Inštitut Jožef Stefan). Instrument je na voljo za 20% časa stroja za dejavnosti v okviru mreže.

V isti zgradbi se nahaja laboratorij AQDL Advanced Quantum Devices Laboratory (Slike 14-16), ki ponuja rigorozne meritve nadzora kontaminacije in zagotavlja vrsto orodij in procesov za načrtovanje, izdelavo in analizo struktur in naprav v mikro- in nano-razsežnosti. Tipične storitve in oprema v obratih za nanofabriko vključujejo nanolitografijo, metrologijo in inšpekcijo, obdelavo brez kisika in toplotno obdelavo.

Upravitelji objekta:

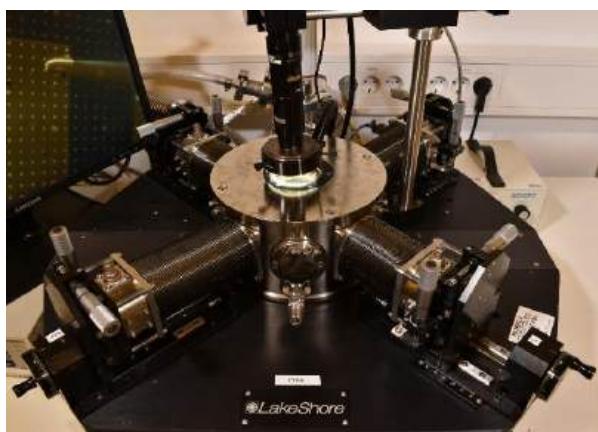
- Dr. Bojan Ambrožič, raziskovalec s strokovnim znanjem na področju geologije in znanosti o materialih, priprave vzorcev FIB, analize FIB in priprave lamel FIB, vodilni slovenski strokovnjak na področju meteoritike. Dr. Bojan Ambrožič je tudi vodja laboratorija AQDL.
- Dr. Gregor Kapun, raziskovalec s strokovnim znanjem na področju znanosti o materialih, nanotehnologije, baterij na trdni osnovi, gorivnih celic, priprave in analize vzorcev FIB, naprednih FIB procesov, FIB tomografije, priprave lamel FIB, priprave vzorcev FIB za eksperimente In Situ TEM, analize UHR-SEM.



Slika 14: AQDL gosti veliko hermetično škatlo brez zraka za obdelavo občutljivih vzorcev v dušikovi atmosferi. Metode, ki so redno na voljo znotraj zaščitne atmosfere, vključujejo optično mikroskopijo, AFM mikroskopijo, spin-coating, pečenje ali segrevanje na vročih ploščah ter nanosene tanke kovinske filme z evaporacijo z elektronskim žarkom.



- **Slika 15:** AQDL lahko ponudi nekatere litografske storitve. Laserska litografija s sistemom neposrednega laserskega pisanja (DWL) Midalix DaLI omogoča ustvarjanje vzorcev brez maske in osvetlitev UV-občutljivih filmov (fotoresisti). Uporablja se predvsem za prototipiranje, testiranje oblikovanja vezij, izdelavo prilagojenih elektronskih naprav in proizvodnjo majhnih količin čipov. Standardni litografski procesi, kot so spin-coating fotoresista, razvoj, odstranitev in lift-off, se lahko izvajajo v čisti sobi AQDL ali celo v hermetični škatli.



Slika 16: V AQDL je možno izvesti tudi nekatere električne meritve in karakterizacijo prevodnih vzorcev. Za to so na voljo dve merilni postaji LakeShore z 4 sondami za DC in AC meritve v temperaturnem razponu od 4K do 400K in v navpičnem magnetnem polju od 0T do 2,6T. Postaje so opremljene z vsemi potrebnimi instrumenti, računalnikom in programsko opremo za rutinsko zajemanje merjenih podatkov.

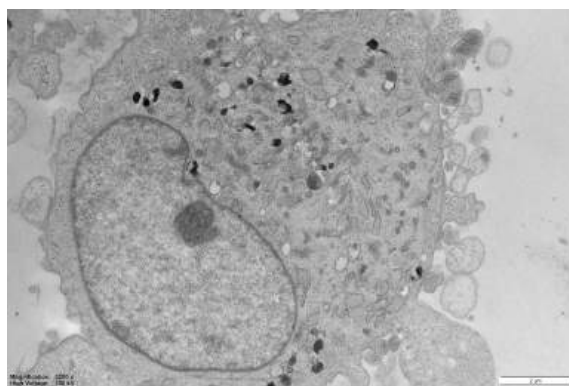
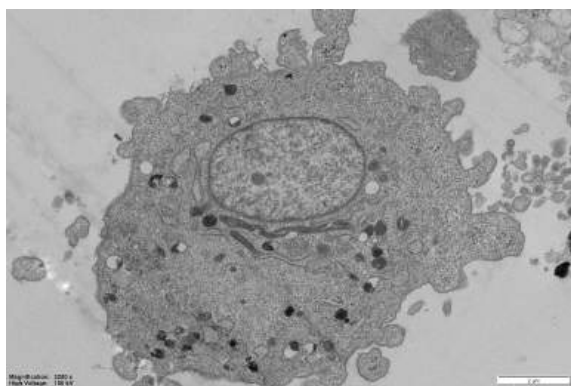
TRANSMISIJSKA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA

Transmisijski elektronski mikroskop je sposoben analizirati tanke vzorce različnih materialov, tako bioloških (od celic do celičnih organelov, do posameznih beljakovin) kot anorganskih (od nanotehnoloških materialov do mineralnih vzorcev). V transmisijskem mikroskopu se elektronov snop proizvaja v visoko vakuumski koloni, usmerja ga sistem kondenzatorskih leč in prehaja skozi vzorec. Ko prehajajo skozi vzorec, se elektroni razpršijo v različne smeri in so delno absorbirani s samim vzorcem. Objektivna leča omogoča oblikovanje slike vzorca iz razpršenih elektronov, ki so prešli skozi vzorec. Sistem projekcijskih elektromagnetnih leč omogoča povečavo pridobljene slike. S transmisijskim elektronskim mikroskopom je mogoče pridobiti slike z ločljivostjo do približno desetine nanometra (10^{-10} m).

TEM instrumenti, na voljo preko omrežja:

EM208 TEM mikroskop

Ta transmisijski elektronski mikroskop deluje pri napetosti 20-100 kV in je opremljen s kamero Quemesa (Olympus Soft Imaging Solutions). Pridobivanje slik se doseže z uporabo programske opreme RADIUS. Ta elektronski mikroskop združuje dobro povečavo in ločljivost z enostavno uporabo ter je še posebej primeren za organske in biološke vzorce. Nizka pospeševalna napetost (100 kV) tega mikroskopa je idealna za opazovanje vzorcev, ki so nagnjeni k strukturnim poškodbam zaradi elektronskega snopa, s čimer se izognemo uničenju vzorca. EM208 ima ločljivost približno 2 nm za biološke vzorce, ki se običajno opazujejo pri nizki povečavi ($\leq 20.000 \times$) (Slika 17).



Slika 17: Človeški fibroblasti (fiksacija z glutaraldehidom in osmijevim tetoksidom, vgrajevanje v smolo in barvanje odsekov debeline 90 nm z UranylLess in svinčevim citratom, EM barvilo)

Mikroskop EM208 je primeren za raziskovanje mnogih področij celične biologije in medicine z uporabo različnih preparativnih metod. Analiza vzorcev celic ali tkiv se redno izvaja na tem mikroskopu. Resolucijska moč mikroskopa omogoča slikanje celičnih organelov, med katerimi so vezikli, kot so eksosomi in liposomi, ter raziskovanje, na primer, učinka nanomaterialov na celice. Ti vzorci se pripravljajo s kemijskimi barvili.

Mikroskop EM208 se nahaja v Mednarodnem centru za napredno mikroskopijo (CIMA) Univerze v Trstu (via Fleming 31/B, Trst). Instrument je na voljo za 15 % časa delovanja za aktivnosti omrežja.

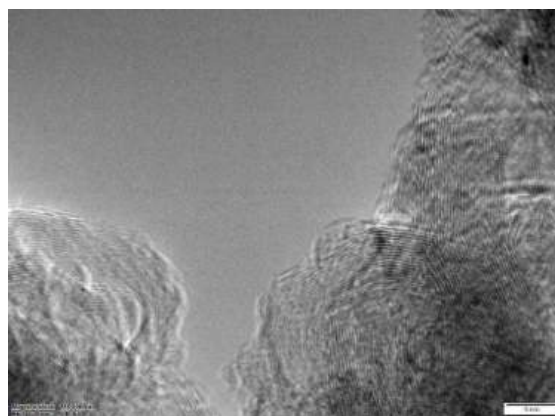
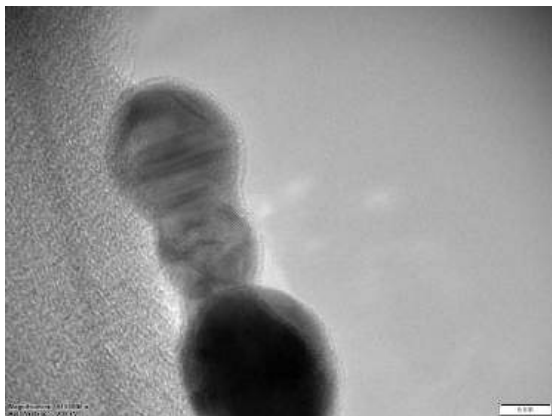
Rezultati analize z mikroskopom EM208 so odvisni od vrste ključnih postopkov, med katerimi so postopki fiksacije, vključevanja v smolo, priprava rezin z ultramikrotomom (debelina 60-100 nm) in opazovanje. CIMA ima zmogljivosti in specializirano osebje za pripravo tankih rezin vzorcev.

Upravitelj instrumenta: Dr. Roberta Bortul (doktorat iz človeških morfoloških znanosti, odgovorna za pripravo bioloških vzorcev).

Mikroskop TEM CM200

Ta prenosni elektronski mikroskop deluje pri napetosti 20-200 kV in je opremljen s popolnoma motoriziranim delovnim mizom, visokozmogljivo super twin a-lečo in izvorom LaB6. Vse te lastnosti skupaj z energijsko disperzivnim rentgenskim spektrometrom (EDAX, Oxford Instruments) naredijo ta mikroskop vsestransko orodje v smislu analitičnih in slikovnih sposobnosti. Ponuja visoko ločljivost slik do ločljivosti črte 0,10 nm in je opremljen s kamero Quemesa (Olympus Soft Imaging Solutions). Pridobivanje slik poteka z uporabo programske opreme RADIUS.

CM200 je zelo vsestranski prenosni mikroskop, primeren za karakterizacijo nanomaterialov na atomski ravni, prav tako pa je primeren za konvencionalno karakterizacijo morfologije. Dodatna oprema EDS sonda (Oxford) lahko hitro in intuitivno zagotovi kvalitativne informacije o površinski sestavi vzorca. Analiza nanomaterialov je razmeroma enostavna in ne zahteva posebne priprave vzorcev. Vzorec je treba preprosto položiti na kovinsko mrežico in temeljito posušiti pred vstavljanjem v mikroskop. Ta TEM je še posebej primeren za karakterizacijo metalnih nanodelcev (Slika 18), kristalov (s pomočjo analize difrakcije), organskih in anorganskih (makro)molekul, kompozitov in polimerov.



Slika 18: Zlate nanodelce (levo) in grafitiziran ogljik (desno) pri povečavi 1,1 Mx.

Mikroskop EM200 se nahaja v Meddepartmajnem centru za napredno mikroskopijo (CIMA) Univerze v Trstu (via Fleming 31/B, Trst). Instrument je na voljo za 15 odstotkov časa delovanja stroja za aktivnosti omrežja.

Upravitelj objekta: dr. Susanna Bosi (magisterij iz kemijskih in farmacevtskih znanosti, doktorat iz farmacevtskih znanosti z dolgoletnimi izkušnjami na področju kemije in karakterizacije ogljikovih nanomaterialov in polisaharidov).

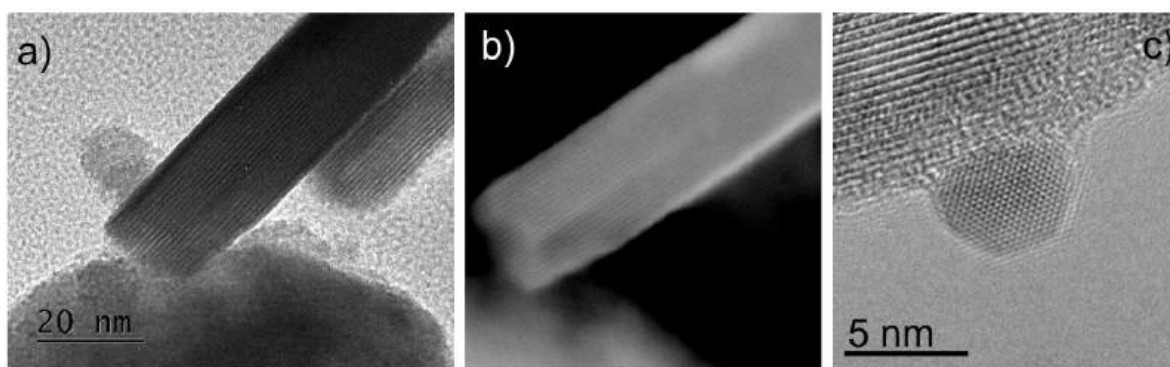
JEM 2100f-UHR JEOL TEM mikroskop

Mikroskop JEM 2100f-UHR Field Emission Transmission Electron Microscope (JEOL) deluje pri pospeševalni napetosti od 80 do 200 kV in lahko doseže ločljivost do desetine nanometra. Uporablja se lahko tudi v STEM načinu (0,2 nm ločljivost), tako v temnem kot svetlem polju. Opremljen je z napravo za spektroskopijo z energijsko disperzijo (EDS, X-MAX 80T, Oxford Instruments).

Mikroskop se lahko uporablja v klasičnem načinu TEM visoke ločljivosti (HR-TEM) za slikovno upodabljanje vzorcev z atomsko ločljivostjo (0,1 nm pri 200 KeV) in za difrakcijo na izbranih območjih (Slika 19). Enota STEM v temnem polju se lahko uporablja za identifikacijo faz na podlagi kontrasta atomskega števila z ločljivostjo nekaj nanometrov. Analiza se lahko razširi na kompozicijsko analizo (spektri EDX ali zemljevidi). Za nestabilne vzorce je možno zmanjšati energijo žarka na 80 keV. Poleg strukturne, morfološke in kompozicijske analize se ta TEM uporablja tudi kot ena izmed standardnih metod za analizo velikosti delcev. Druge tipične aplikacije instrumenta vključujejo: analizo sestave in napak, raziskovanje učinkov proizvodnih procesov ter velikostno porazdelitev (nano)delcev v vzorcu.

Ta TEM je na voljo v Laboratoriju za raziskave materialov Univerze Nova Gorica (prostor P9, Univerza v Novi Gorici, Vipaska 11c, 5270 Ajdovščina, Slovenija), s 6 urami na teden za aktivnosti omrežja ALL-MICRO. Poleg standardne depozicije (iz suspenzije) na TEM mreže/podlage lahko laboratorij pripravi vzorce, opazne v TEM, tako za masne materiale kot za prereze, skozi vse pripravljalne korake, od rezanja do stanjšanja, končne polirane in prevleke.

Odgovorna oseba za instrument: Assoc. Prof. Mattia Fanetti. Tehnično osebje odgovorno: dr. Blaž Belec.



Slika 19: TEM in ustrezna slika HAADF STEM anizotropnih nanoplatelet Bi_2Se_3 , usmerjenih robno, z večjimi površinami, ki so paralelne z elektronskim žarkom (a in b, ustrezno) ter slika HRTEM nanopartikla Cu.

MIKROSKOPI S SKENIRNO PROBO

Skenirna mikroskopija (SPM) je družina slikovnih tehnik, ki omogočajo visokoločljivostno vizualizacijo površin materialov na atomski ravni. V nasprotju z optično mikroskopijo, ki uporablja svetlobo za osvetlitev vzorcev, ali z elektronsko mikroskopijo, ki uporablja elektronski žarek, tehnike SPM temeljijo na interakcijah med sondo, ki skenira površino, in samim vzorcem. Te interakcije lahko vključujejo sile ali kvantne pojave, kar omogoča podrobno slikanje in karakterizacijo materialov.

Mikroskopija z atomsko silo (AFM) je ena najbolj razširjenih tehnik SPM. V AFM je izjemno fina sonda pritrjena na fleksibilni cantilever, postavljen le nekaj nanometrov nad površino vzorca. Ko sonda skenira površino, meri sile interakcije—kot so van der Waalove sile, elektrostatične sile in kontaktne sile—ki povzročajo upogibanje cantilevra. To upogibanje se zabeleži za ustvarjanje tridimenzionalne slike površine.

AFM lahko deluje v različnih okoljih: zraku, raztopini ali vakuumu, kar jo naredi vsestransko uporabno za različne vrste materialov, od prevodnikov do bioloških snovi. Njene aplikacije so obsežne, vključno s karakterizacijo nanotub, merjenjem mehanskih lastnosti materialov in preučevanjem biomolekul ter celičnih membran.

Mikroskopija skeniranja tunneling (STM) je še ena ključna tehnika SPM, ki uporablja načelo kvantnega tunnelinga. V STM je prevodna sonda postavljena zelo blizu površine prevodnega ali polprevodnega materiala. Ko se sonda približa na nekaj angstromov od površine, se med sondo in vzorcem ustvari tunelna trenutna, ki je sorazmerna z razdaljo med njima. Z merjenjem te trenutne, ko sonda skenira površino, lahko pridobimo slike visoke ločljivosti topografije vzorca.

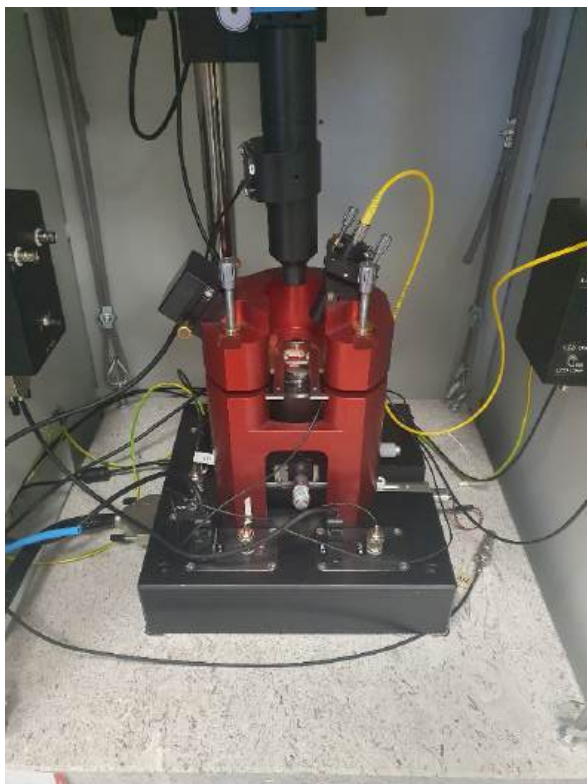
STM je še posebej dragocena za preučevanje prevodnih površin in pridobivanje podrobnih vpogledov v elektronsko strukturo materialov na atomski ravni. Aplikacije STM vključujejo raziskave na področju nanotehnologije, analizo polprevodniških materialov in študij molekularnih interakcij.

Tehnike skenirne mikroskopije se uporabljajo v širokem spektru področij. V znanstvenih raziskavah jih uporabljajo za karakterizacijo novih materialov, nanofabrikacijo in analizo kompleksnih bioloških sistemov. V industrijskem okolju se SPM lahko uporablja za nadzor kakovosti površin in raziskave materialov, s aplikacijami, ki segajo od mikroelektronike do nanotehnologije.

SPM instrumenti, na voljo preko omrežja:

Mikroskop z atomsko silo ApeResearch (AFM)

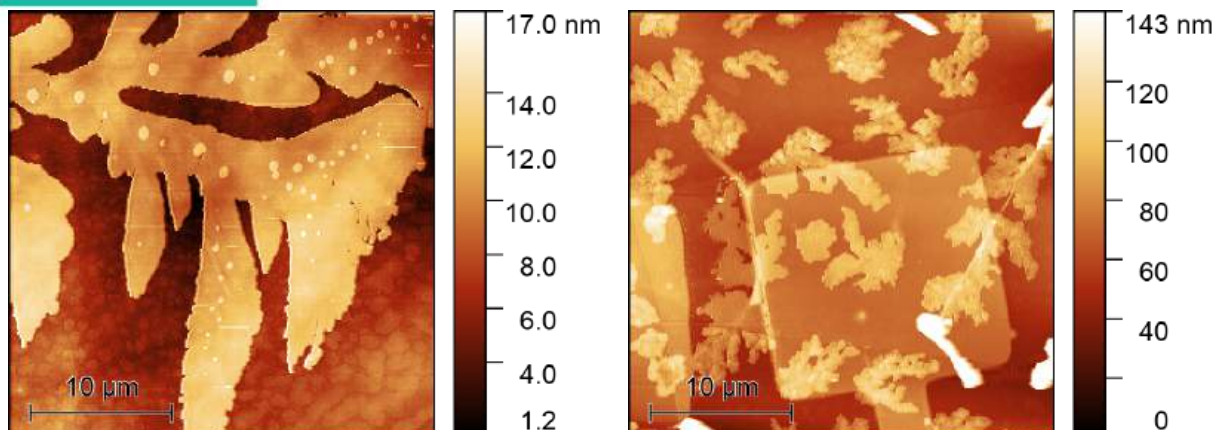
AFM (Slika 20) je opremljen z moduli za standardno slikanje topografije v načinih stika in brez stika, pa tudi z moduli, ki omogočajo slikanje v različnih načinih, kot so: prevodna mikroskopija z atomsko silo (ConAFM), elektrostatična mikroskopija (EFM) in magnetska mikroskopija (MFM). AFM ima piezo pogon, ki omogoča ločljivost do 0,1 nm v vertikalni smeri in do več deset nanometrov v lateralni smeri.



***Slika 20:** Aparat AFM (ApeResearch), na voljo v Laboratoriju za fiziko organske snovi, Univerza v Novi Gorici.*

AFM se lahko uporablja za študij morfologije površine s sub-nanometrsko ločljivostjo, pa tudi za raziskovanje magnetnih, elektrostatčnih in prevodnih površinskih lastnosti vzorca. Ta mikroskop omogoča analizo prevodne sonde in Kelvinove sonde (Bruker CP-II, APE Research A100) in je zasnovan za preučevanje površinske topografije trdnih vzorcev z visoko ločljivostjo (Slika 21).

Aparat AFM (ApeResearch) je na voljo v Laboratoriju za fiziko organske snovi, Univerza v Novi Gorici.



Slika 21: (a) AFM slika, ki prikazuje morfologijo tanke plasti organskih molekul (C8-BTBT), nanesenih na substrat iz hexagonalnega borovega nitrida (h-BN). (b) AFM slika, ki prikazuje morfologijo organskih molekul (C8-BTBT), nanesenih na grafen-baziran tranzistor z učinkom polja.

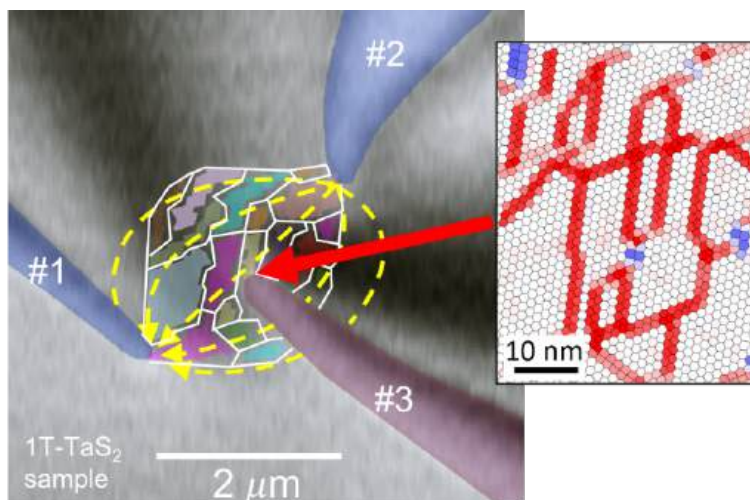
Instrument je na voljo v Laboratoriju za fiziko organske snovi, Univerza v Novi Gorici (Vipaska 11c, 5270 Ajdovščina, Slovenija), 6 ur na teden je namenjenih dejavnostim mreže ALL-MICRO.

Odgovorna oseba za instrument: dr. Vadym Tkachuk.

Mikroskop 4-probe STM UHV System

Sistem 4-probe STM UHV je mikroskop za skeniranje s tunnelingom (STM) pri nizkih temperaturah s okni za optični dostop z laserjem. Gre za edinstveno specializirano orodje, ki združuje več naprednih funkcij, da omogoči edinstvene poskuse na nanosmeri. STM je opremljen z nizkonošnimi ojačevalniki za merjenje tunneling tokov, ki so tako majhni kot 10-11 A (z bandwidthom nad 800 Hz) ali 10-9 A (nad 20 kHz).

Za razliko od standardnega STM z eno sondo, ima STM s štirimi sondami več sond, kar omogoča lokalne meritve napetosti (Slika 22). Ta funkcija je lahko ključna za preučevanje nehomogenosti v vzorcih ali pridobivanje informacij o odpornosti brez vpliva kontaktnih odporov. Poleg tega je mogoče na ločene sonde uporabiti različne napetosti, kar omogoča napredne poskuse.



Slika 22: Eksperimentalna postavitve STM s 3 konicami. Dve zunanji konici (#1, #2) sta pritrjeni v vzorec 1T-TaS₂ in se uporabljata za pošiljanje električnih pulzov. Konica #3 preiskuje območje med njima, da opazuje spremembe v polaronskem urejanju v 1T-TaS₂ v povezavi s pulzi. V vstavljeni sliki je prikazana konstrukcija Wigner-Seitzove celice na posnetih STM slikah, kjer lahko opazujemo dinamiko mej domen in prečkanje mej domen.⁶

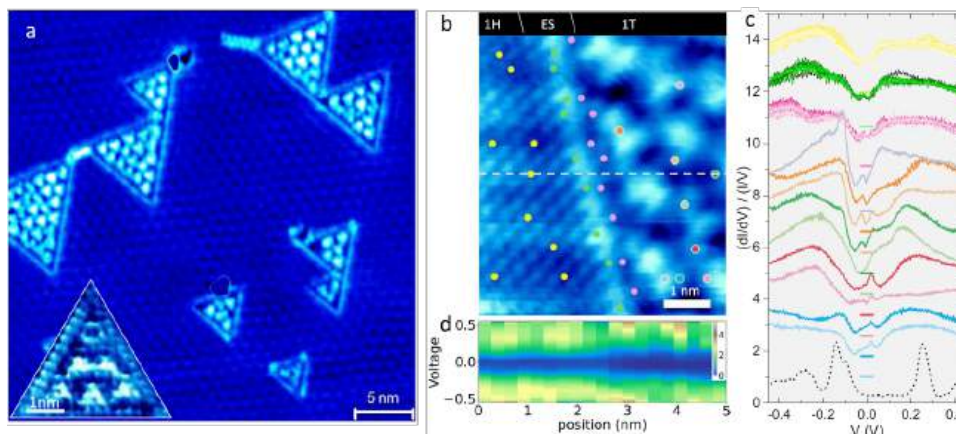
Krioostat STM omogoča delo pri osnovni temperaturi 4,2 K za neprekinjeno obdobje do 36 ur ali pri 77 K do 120 ur. Natančen nadzor temperature vzorca je mogoč s posebnimi ploščicami, ki imajo vgrajen grelec in senzor. Delo pri nizki temperaturi ima prednost pri zmanjševanju toplotnega šuma ter izboljšanju ločljivosti in stabilnosti meritev. Fenomeni pri nizkih temperaturah, ki jih lahko preučujemo s tem instrumentom, vključujejo superprevodnost, kvantne učinke in druge temperaturno občutljive pojave. Izboljšana stabilnost 4-sondnega STM zmanjšuje toplotno premikanje in izboljšuje stabilnost položaja konice mikroskopa.

Vrhunskih elektronski mikroskop, nameščen nad STM, omogoča natančno postavitve konic na razdalje do 2 μm med tunelskimi konicami. Optični sistem omogoča natančno usmerjanje laserskega žarka (majhnega kot 50 x 50 μm) z natančnostjo do 20 μm za optično vzbujanje vzorcev. Vzorci se lahko mehansko eksfolirajo neposredno v UHV pogojih (pod 10⁻¹⁰ mB) ali toplotno obdelajo (žarijo) v ločeni pripravljalni komori.

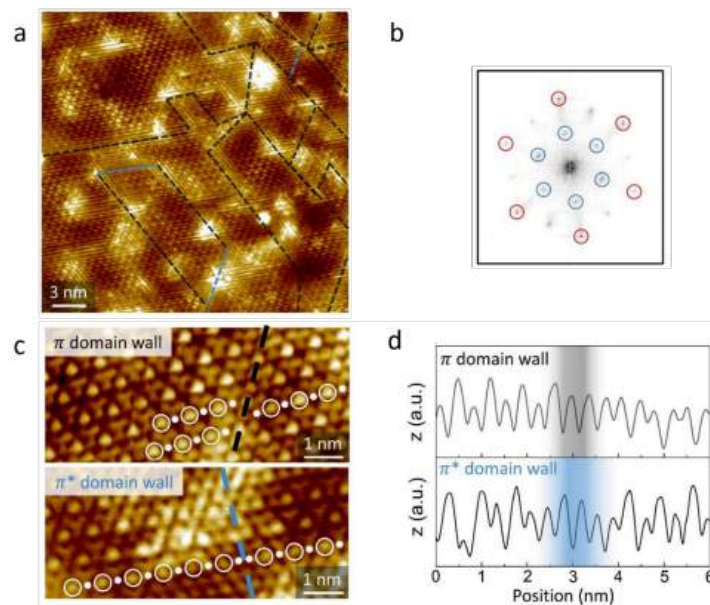
Med najpogostejše uporabe tega instrumenta spadajo: karakterizacija površin z atomsko ločljivostjo, merjenje električnih lastnosti nanostruktur, manipulacija nanostruktur in posameznih atomov, merjenje tokokrogov ter preučevanje lokalne gostote stanj (Sliki 23 in 24).

⁶ <https://doi.org/10.1038/s41467-023-43800-3>

STM mikroskop s 4 sondami se nahaja v Nanocentru v Ljubljani (Jamova 39, Stavba C, Inštitut Jožef Stefan). Instrument je na voljo za 20 % časa za mrežne aktivnosti. Odgovoren za instrument: Dr. Dragan Mihailović.



Slika 23: Nanostrukture, inducirane z laserskimi impulzi na površini kristala TaS₂, in analiza STM in STS. a) STM slika različnih nano-velikih trikotnih struktur 1T-TaS₂, vdelanih bočno v enosloj 1H-TaS₂. b) STM slika roba trikotnika z označenimi mesti, kjer so bile posnete STS krivulje. c) STS krivulje (v ustreznih barvah) za 1H plast, 1T plast in robne stanja. d) STS linijsko skeniranje, ki prikazuje lokalno gostoto stanj čez mejo trikotnika.⁷



Slika 24: Preučevanje razporeditve naboja v dopiranem materialu 1T-Ti_{0.98}Ta_{0.02}Se₂. a) STM slika z označenimi pregradami z rdečimi črtami. b) Fourierjeva transformacija slike a), kjer rdeči krogi označujejo vrhove mreže, modri krogi pa vrhove CDW. c) STM slika faznega zamika v strukturi pregrade, pravokotno na smer CDW (tj. π pregrada) ali vzdolž smeri CDW (tj. π^* pregrada). d) Linijski skeni za obe pregradi π in π^* .⁸

⁷ <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24073-0>

⁸ <https://doi.org/10.48550/arXiv.2407.01261>

OPTIČNA MIKROSKOPIJA

Optična mikroskopija uporablja vidno svetlobo za povečavo in vizualizacijo vzorcev, kar omogoča pomembna spoznanja na področjih, kot so biologija, znanost o materialih in medicina. Ključne tehnike optične mikroskopije vključujejo linearne (npr. konfokalna mikroskopija) in nelinearne metode (npr. večfotonska mikroskopija).

Konfokalna mikroskopija izboljša ločljivost in kontrast z uporabo prostorske odprtine za izključitev svetlobe, ki ni v fokusu. Ta tehnika omogoča zbiranje tridimenzionalnih slik visoke ločljivosti iz debelih vzorcev s skeniranjem vzorca točka za točko. Konfokalna mikroskopija se uporablja v celični biologiji, za vizualizacijo celičnih struktur in dinamike, ter za podrobno slikanje kompleksnih tkiv in organov. Fluorescenčno slikanje omogoča analizo interakcij med proteini in drugimi biomolekulami.

Večfotonska mikroskopija je nelinearna tehnika, ki uporablja dva ali več fotonov z nizko energijo za vzbujanje fluorescenčnih molekul, kar omogoča globlje prodiranje v tkiva in zmanjšuje fototoksičnost. Ta metoda zagotavlja tridimenzionalne slike visoke ločljivosti živih vzorcev in se uporablja v nevroznanosti (npr. slikanje nevronalnih struktur in sinaptičnih aktivnosti v živih možganih), razvojni biologiji (npr. preučevanje embrionalnega razvoja in celičnih interakcij v realnem času) in raziskavah raka (npr. spremljanje rasti tumorjev in odziv na terapije).

Poleg teh bolj običajnih tehnik mreža ALL-MICRO vključuje Digitalni Holografski Mikroskop. Ta instrument zajema interferenčni vzorec svetlobe, odbite od vzorca, kar omogoča kvantitativno fazno slikanje. Ta tehnika omogoča podrobno oceno morfologije in lomnega količnika brez obarvanja ali označevanja.

Konfokalni mikroskop Nikon C1Si

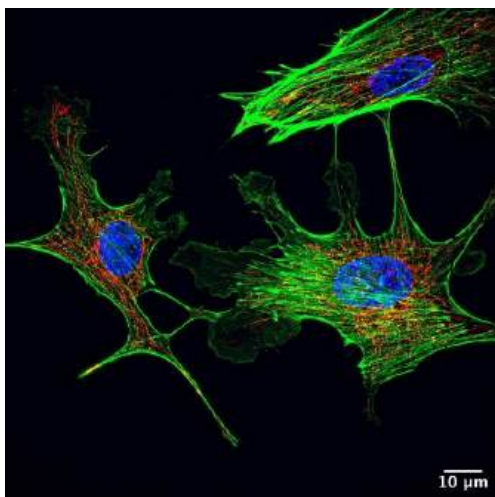
Nikon C1Si je mikroskop s konfokalno konfiguracijo, nameščen na inverzno stojalo Nikon Eclipse. C1Si je opremljen s 4-linijskim laserskim sistemom, ki se uporablja predvsem za fiksne fluorescenčne vzorce.

Konfokalni mikroskop C1Si je na voljo v Medoddelčnem centru za napredno mikroskopijo (CIMA) Univerze v Trstu (soba 2, via Fleming 31/A, Trst). Instrument je na voljo za 15 odstotkov časa uporabe za mrežne dejavnosti.

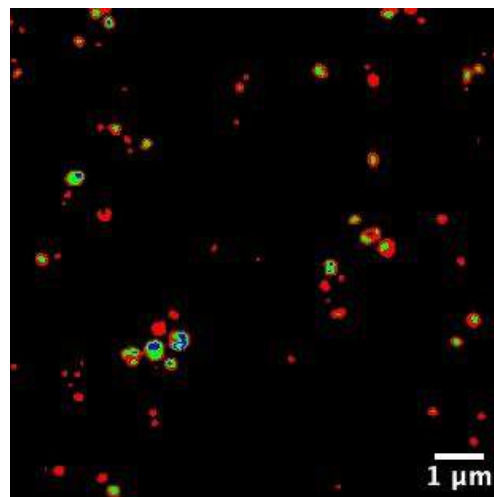
Odgovorna oseba za instrument: prof. Gabriele Baj (izredni profesor, Univerza v Trstu).

Optični mikroskop Elyra7 Zeiss SIM

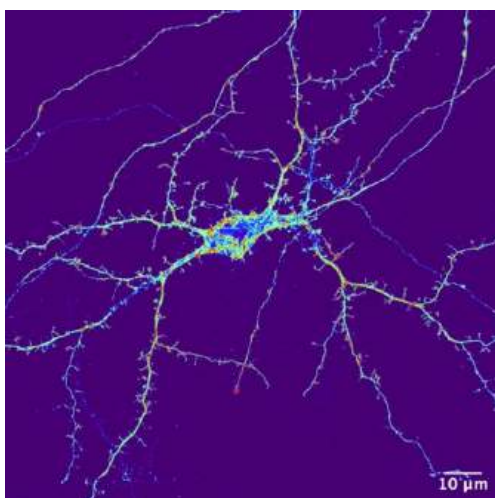
Elyra 7 je inverzni optični mikroskop, zasnovan za izkoriščanje tehnike strukturirane osvetlitve (SIM) za povečanje končne ločljivosti sistema, pri čemer dosega linearno ločljivost do 100 nm. Mikroskop omogoča slikanje z laserskimi linijami (406, 488, 560 in 640 nm) in standardno epifluorescenčno svetilko z uporabo strukturirane ali širokopoljne osvetlitve. Na voljo je celoten nabor objektivov od 5x do 63x: 4x zrak, 10x zrak, 20x zrak, 40x olje, 63x olje. SIM mikroskopija velja za sodobno izbiro za slikanje živih vzorcev in sprejema vse vrste stekelc in vse običajne medije za svetlobno mikroskopijo (slike 25-28). SIM rekonstrukcija omogoča izboljšanje ločljivosti slike za približno 2x v primerjavi s standardno optično ločljivostjo.



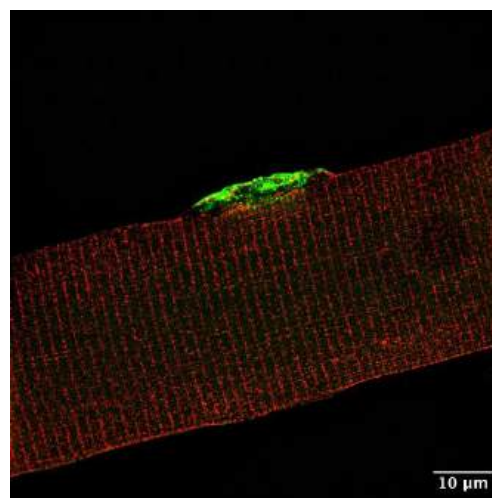
Slika 25: SIM superločljiva slika HeLa celic. Aktin v zeleni, mitohondriji v rdeči, in jedro v modri barvi. Z dovoljenjem Agnes Thalhammer.



Slika 26: SIM superločljiva slika nanodelcev. Z dovoljenjem prof. Marcora (slika Agnes Thalhammer).



Slika 27: SIM superločljiva slika nevronske celice, ki izraža membransko vezani protein. Z dovoljenjem prof. Cingolani (slika Agnes Thalhammer).



Slika 28: SIM superločljivostna slika mišične celice. Z dovoljenjem prof. Lorenzoni (slika Agnes Thalhammer).

Ta mikroskop je idealen za fluorescenčno označene vzorce ali vzorce, ki izražajo fluorescenčne proteine z debelino <20 mikrometrov, kot so celične linije, primarne kulture in tanke sekcije. Rekonstrukcija slik, pridobljenih v načinu SIM (ali Apotome v primeru 20x), najbolje deluje za citoskeletne in punktualne strukture.

Mikroskop je dodatno opremljen s komoro za inkubacijo, ki je nadzorovana glede na temperaturo, vlažnost in CO₂/O₂, kar je idealno za slikanje živih celic, obarvanih (ali izražajočih fluorescenčne proteine) v mediju. Mikroskop omogoča tudi uporabo v načinu TIRF (celotna interna refleksija).

Mikroskop Elyra7 je nameščen v Medoddelčnem centru za napredno mikroskopijo (CIMA) na Univerzi v Trstu (soba 2, Ulica Fleming 31/A, Trst). Instrument je na voljo za 15 odstotkov uporabe časa naprave za mrežne dejavnosti.

Odgovorna za instrument: dr. Agnes Thalhammer (raziskovalka na področju molekularnih in celičnih nevroznanosti od leta 1998, z bogatimi izkušnjami v celičnih kulturah, imunocitokemiji, optični mikroskopiji, slikanju živih celic in analizi podatkov optičnih slik).

Multiphotonski mikroskop Nikon A1R-MP plus

Nikon A1R-MP plus je pokončen mikroskop s pulznim laserjem z dolžino 700-1080 nm (Coherent). Nastavitev je zasnovana za izkoriščanje osvetlitve pri daljših valovnih dolžinah za vizualizacijo in zapisovanje debelih vzorcev. Pri običajnih bioloških vzorcih lahko laser spodbuja fluorofore v vzorcih debelih do 800 mikrometrov. Namenski detektorji se lahko uporabljajo za zbiranje vseh običajno uporabljenih vidnih fluorescentnih označevalcev. Delovna razdalja je do 2 mm.

Ta mikroskop je idealen za fluorescenčne vzorce debeline >250 mikrometrov do 2 mm. Deluje s fluorofori modre, zelene in bližnje rdeče (TRITC) barve. Primeri vzorcev, ki se rutinsko analizirajo z mikroskopom Nikon A1R-MP, vključujejo narezane organske pripravke, ki izražajo fluorescenčne proteine, organoide, obarvane s fluorofori, ali tkivne sekcije, bogate s kolagenskimi vlakni. Za slednji vzorec je mogoče kolagen narediti viden z uporabo druge harmonične generacije brez potrebe po fluoroforu. Mikroskop se lahko uporablja tudi za imunofluorescenčno obarvane celice v 3D kulturi.

Kratkotrajno slikanje živih celic (<30 minut, kot je slikanje kalcija) je mogoče izvajati na organotipičnih rezinah, tkivnih rezinah ali celih organizmih (kot je *C. elegans*), ki so primerno označeni (npr. z barvili za kalcij).

Mikroskop A1R-MP plus je nameščen v Medoddelčnem centru za napredno mikroskopijo (CIMA) na Univerzi v Trstu (stavba Q, Ulica Licio Giorgieri 5, Trst). Instrument je na voljo za 15 odstotkov uporabe časa naprave za mrežne dejavnosti.

Odgovorna za instrument: dr. Agnes Thalhammer (raziskovalka na področju molekularnih in celičnih nevroznanosti od leta 1998, z bogatimi izkušnjami v celičnih kulturah, imunocitokemiji, optični mikroskopiji, slikanju živih celic in analizi podatkov optičnih slik).

Digitalni holografski mikroskop

Digitalni holografski mikroskop (DHM), ki ga je razvil CNR-IOM (2022), deluje s prosojnimi vzorci v statičnem ali dinamičnem načinu. Poleg delovanja kot običajni optični mikroskop, DHM omogoča merjenje višine in/ali lomnega količnika vzorca. Vzorci so lahko v zraku ali potopljene v tekočino (npr. žive celice), statični ali tekoči v kapilari pri hitrostih med 10 in 500 $\mu\text{L}/\text{min}$. Holografski filmi se snemajo pri do 300 sličicah/sek za dinamične vzorce.

Instrument DHM omogoča merjenje višine in/ali lomnega količnika izotropnih prosojnih vzorcev. Na primer, višina in prostornina živih celic v gojišču se lahko natančno merita in spremljata skozi čas. Drugi primer je merjenje nihanj membrane rdečih krvničk, kar je bilo izvedeno z mikroskopom DHM v laboratoriju CNR-IOM in omogoča določitev deformabilnosti in mehanskih lastnosti celic. Alternativno, za vzorce z znano višino, je mogoče izmeriti lokalni lomni količnik. To je bilo uporabljeno za merjenje prostornine jedra glede na celico, v primeru nevtrofilcev. Druga aplikacija je bila zaznavanje in štetje bakterij, levkocitov in rdečih krvničk v toku vzorcev urina za hitro diagnozo pozitivnih in negativnih primerov.

Instrument ima vidno polje $250 \times 160 \text{ mm}$, z optično povečavo 50X, nominalno odprtino 0,6, stransko ločljivostjo 6-700 nm in navpično občutljivostjo 10 nm. Vzorec je osvetljen z rdečim He-Ne laserjem z emisijo pri 632,8 nm in močjo 1 mW. Hologram je posnet s CMOS kamero s 1920×1024 slikovnih pik, 5 mm/piksel. V trenutni konfiguraciji je instrument DHM nameščen na mizo z blaženimi mehanskimi vibracijami, pri sobni temperaturi, vendar je mogoče temperaturo nadzorovati po potrebi.

Mikroskop DHM se nahaja v laboratoriju CNR-IOM v Trstu (Area Science Park Basovizza, S.S. 14 Km 163,5, stavba Q, soba T54). Instrument je na voljo za mrežne dejavnosti za 25%

časa uporabe naprave. Pripravo vzorcev bodo podprli vodje laboratorija in se bo izvajala v posebnem prostoru za ta namen v CNR-IOM. Analizo podatkov bodo nadzorovali strokovnjaki CNR-IOM.

Amplituda in faza polja objekta bosta numerično rekonstruirani po hologrfski registraciji z uporabo posebej razvitih programskih orodij in/ali Fiji vtičnikov.

Odgovorni za instrument: dr. Danut Adrian Cojoc (Višji raziskovalec CNR-IOM, specialist za optično in biofizikalno mikroskopijo, zasnoval in razvil instrument). Tehnično osebje: Catalin Dacian Cubotaru (specialist za optično mikroskopijo in IT).

MIKRO-RAMANOVA SPEKTROSKOPIJA

Mikro-Ramanova spektroskopija združuje optično mikroskopijo z Ramanovo spektroskopijo, da zagotovi podrobne informacije o molekularni sestavi in strukturi materialov na mikroskopski ravni. Pri tej tehniki je laser osredotočen na majhno območje vzorca, razpršena svetloba pa se analizira za identifikacijo vibracijskih načinov molekul. To zagotavlja kemične informacije brez potrebe po obsežni pripravi ali označevanju vzorca.

Mikroskop z Mikro-Ramanovo Napravo

Ta instrument omogoča analizo v Ramanovi spektroskopiji po lokalni vzburjanju s kontinuiranim laserjem (valovna dolžina 532 nm, moč 100 mW), bodisi z točkovno spektroskopijo ali kartiranjem. Spektrometer je Princeton Teledyne IsoPlane s 320 mm in tremi mrežicami (150 linij/mm, 600 linij/mm in 1800 linij/mm) (slika 29). Obseg Ramanovega spektra je med 150 cm^{-1} in 4000 cm^{-1} . Naprava je nameščena na reflektivnem mikroskopu z motorizirano XY skenirno mizo (obseg 12,5 x 12,5 mm, ločljivost 200 nm).

Ramanova spektroskopija se lahko uporablja za identifikacijo prisotnosti specifičnih molekul (ali kristalov), v nekaterih primerih pa tudi dodatnih lastnosti (npr. napake, stehiometrija, debelina). Naprava se lahko uporablja za pridobivanje spektrov vzorcev v različnih pogojih (trdnih, tekočih in prašnih), kot tudi za pridobitev spektralnega linijskega profila in površinske karte.



Slika 29: Aparat za Ramanovo mikroskopijo in spektroskopijo, ki je na voljo na UNG. Na desni strani je spektrometer Princeton Teledyne IsoPlane.

Naprava je na voljo v Laboratoriju za fiziko organske snovi, Univerza v Novi Gorici (Vipaska 11c, 5270 Ajdovščina, Slovenija), 6 ur na teden je namenjenih aktivnostim mreže ALL-MICRO.

Odgovorna oseba za napravo: Dr. Vadym Tkachuk.