

The background of the slide is a high-magnification scanning electron micrograph (SEM) showing a dense, repeating pattern of small, rounded, and textured protrusions, resembling a micro-structured surface.

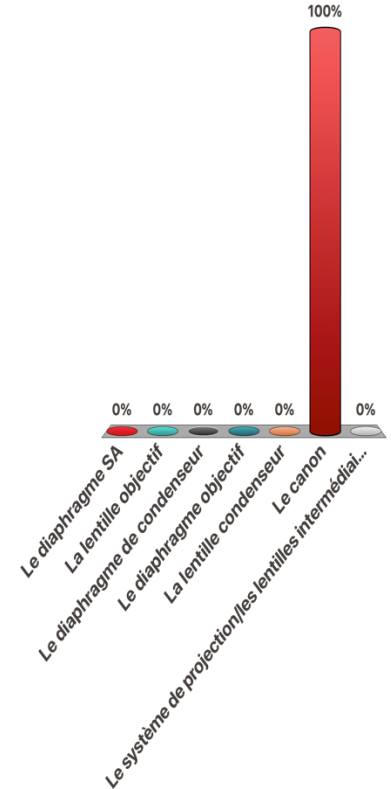
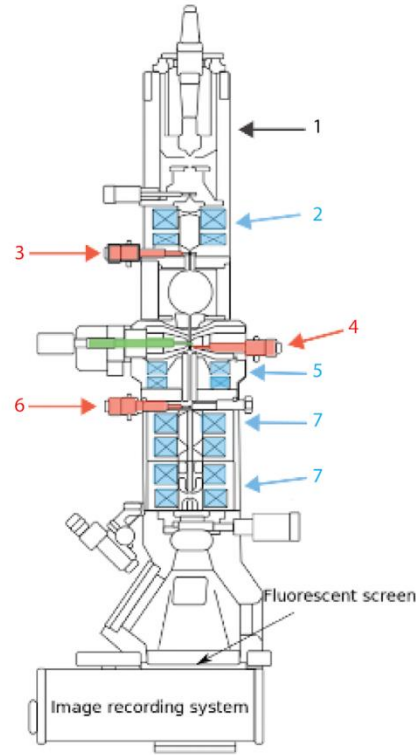
Introduction à la microscopie

Marco Cantoni
Aïcha Hessler-Wyser

CIME, PV-Lab

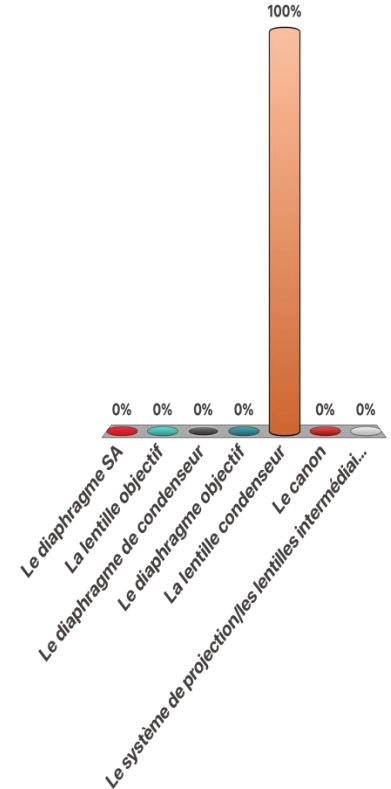
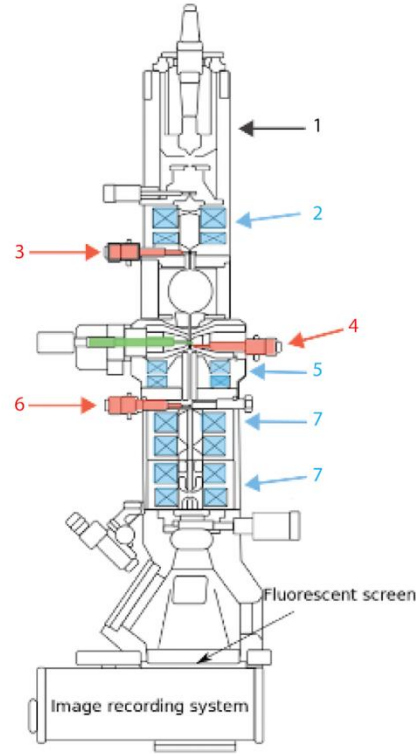
Que montre la flèche n°1?

- A. Le diaphragme SA
- B. La lentille objectif
- C. Le diaphragme de condenseur
- D. Le diaphragme objectif
- E. La lentille condenseur
- F. Le canon
- G. Le système de projection/les lentilles intermédiaires



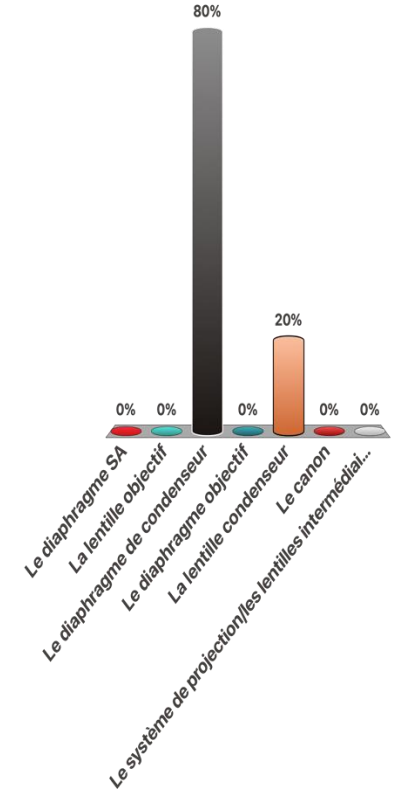
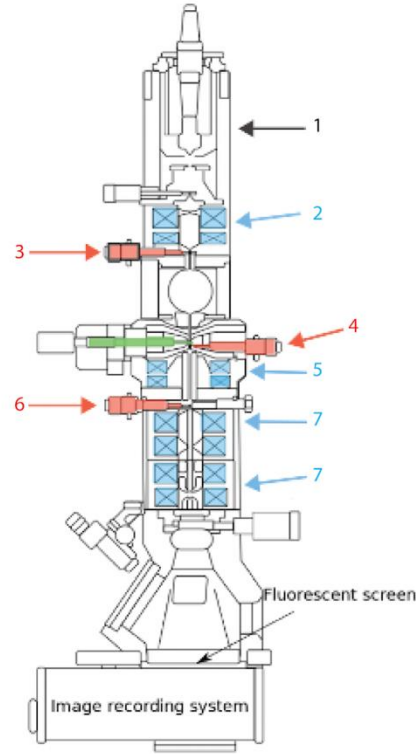
Que montre la flèche n°2?

- A. Le diaphragme SA
- B. La lentille objectif
- C. Le diaphragme de condenseur
- D. Le diaphragme objectif
- E. La lentille condenseur
- F. Le canon
- G. Le système de projection/les lentilles intermédiaires



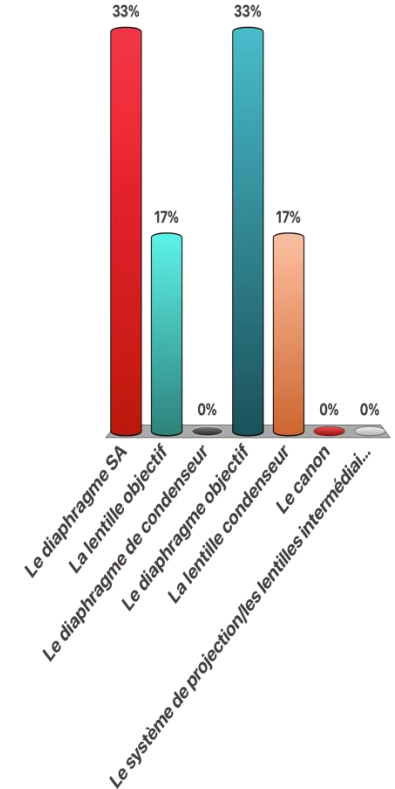
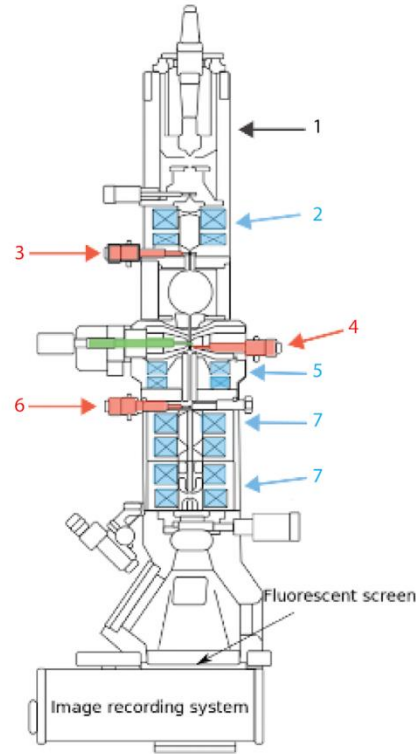
Que montre la flèche n°3?

- A. Le diaphragme SA
- B. La lentille objectif
- C. Le diaphragme de condenseur
- D. Le diaphragme objectif
- E. La lentille condenseur
- F. Le canon
- G. Le système de projection/les lentilles intermédiaires



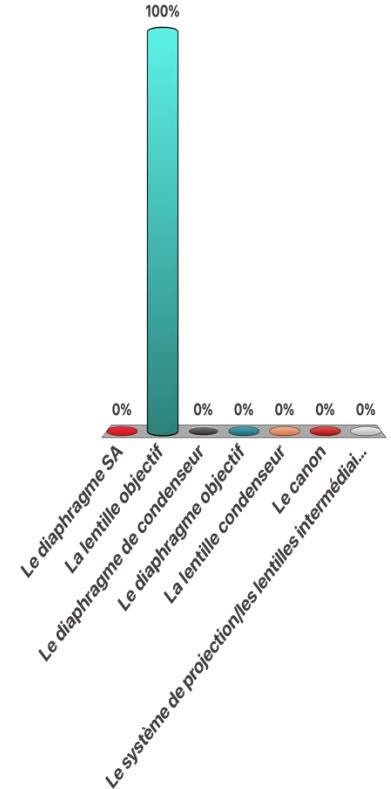
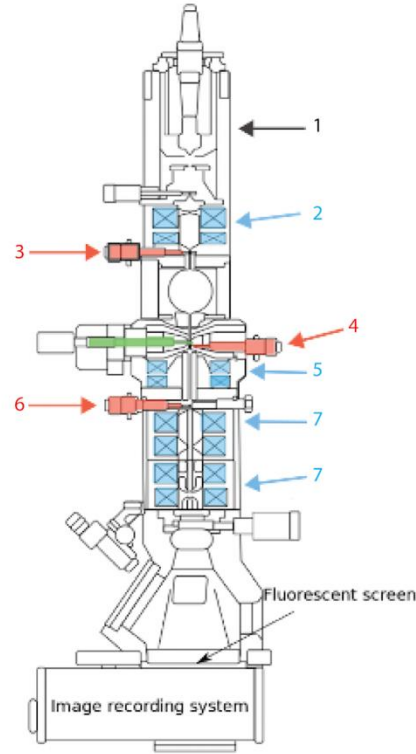
Que montre la flèche n°4?

- A. Le diaphragme SA
- B. La lentille objectif
- C. Le diaphragme de condenseur
- D. Le diaphragme objectif
- E. La lentille condenseur
- F. Le canon
- G. Le système de projection/les lentilles intermédiaires



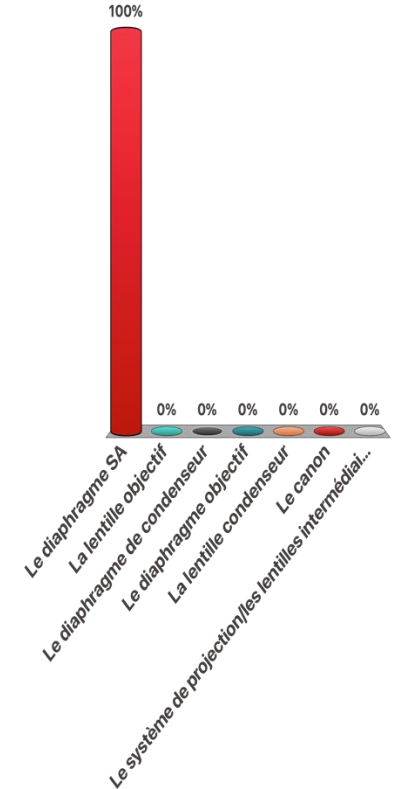
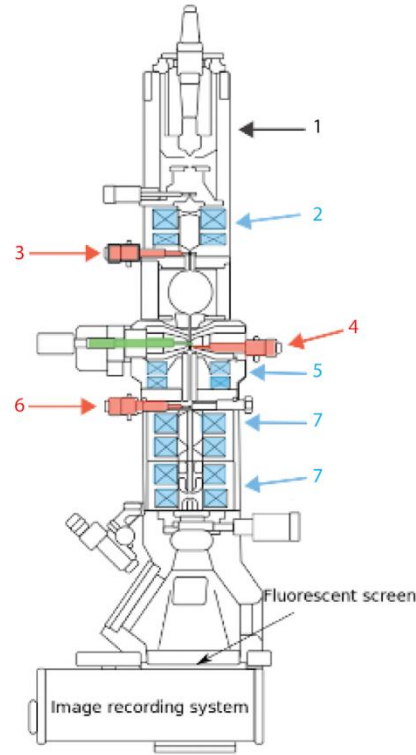
Que montre la flèche n°5?

- A. Le diaphragme SA
- B. La lentille objectif
- C. Le diaphragme de condenseur
- D. Le diaphragme objectif
- E. La lentille condenseur
- F. Le canon
- G. Le système de projection/les lentilles intermédiaires



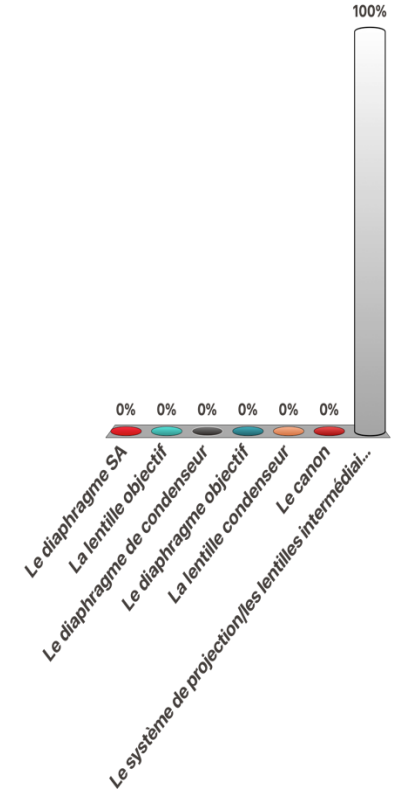
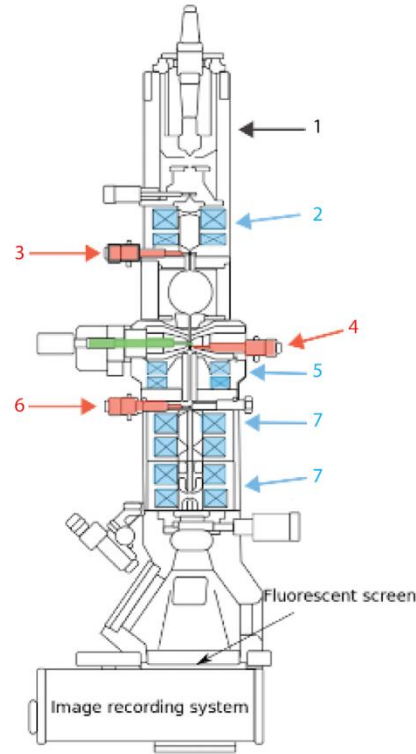
Que montre la flèche n°6?

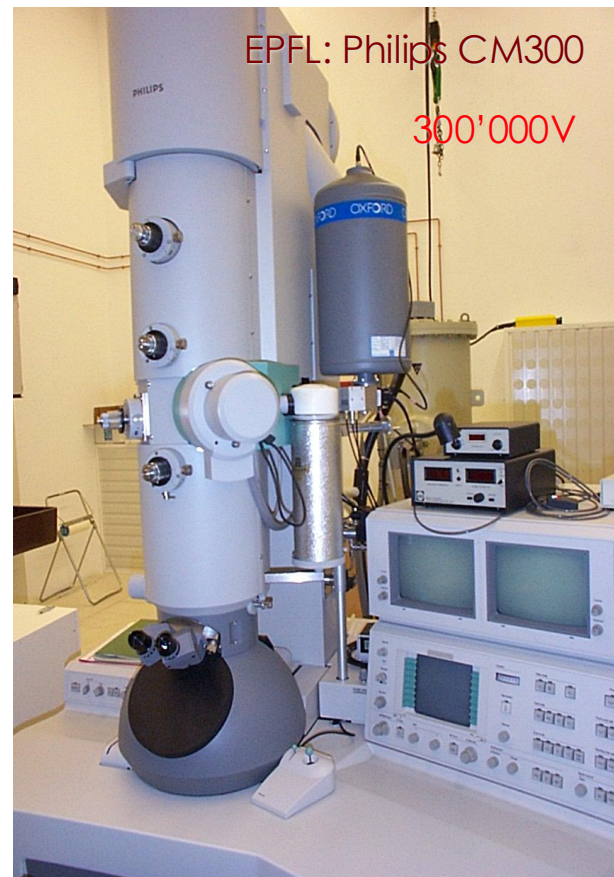
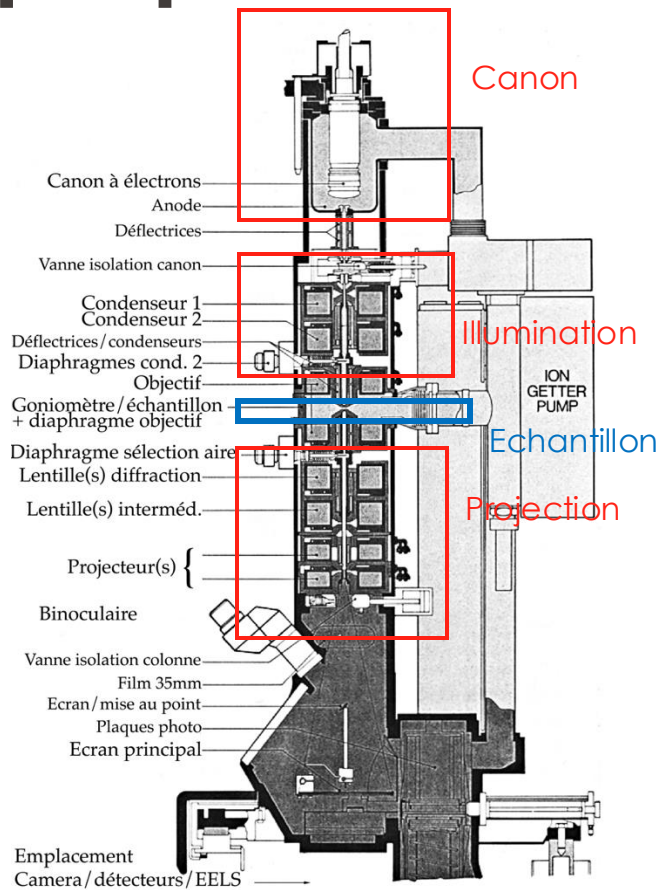
- A. Le diaphragme SA
- B. La lentille objectif
- C. Le diaphragme de condenseur
- D. Le diaphragme objectif
- E. La lentille condenseur
- F. Le canon
- G. Le système de projection/les lentilles intermédiaires



Que montre la flèche n°7?

- A. Le diaphragme SA
- B. La lentille objectif
- C. Le diaphragme de condenseur
- D. Le diaphragme objectif
- E. La lentille condenseur
- F. Le canon
- G. Le système de projection/les lentilles intermédiaires



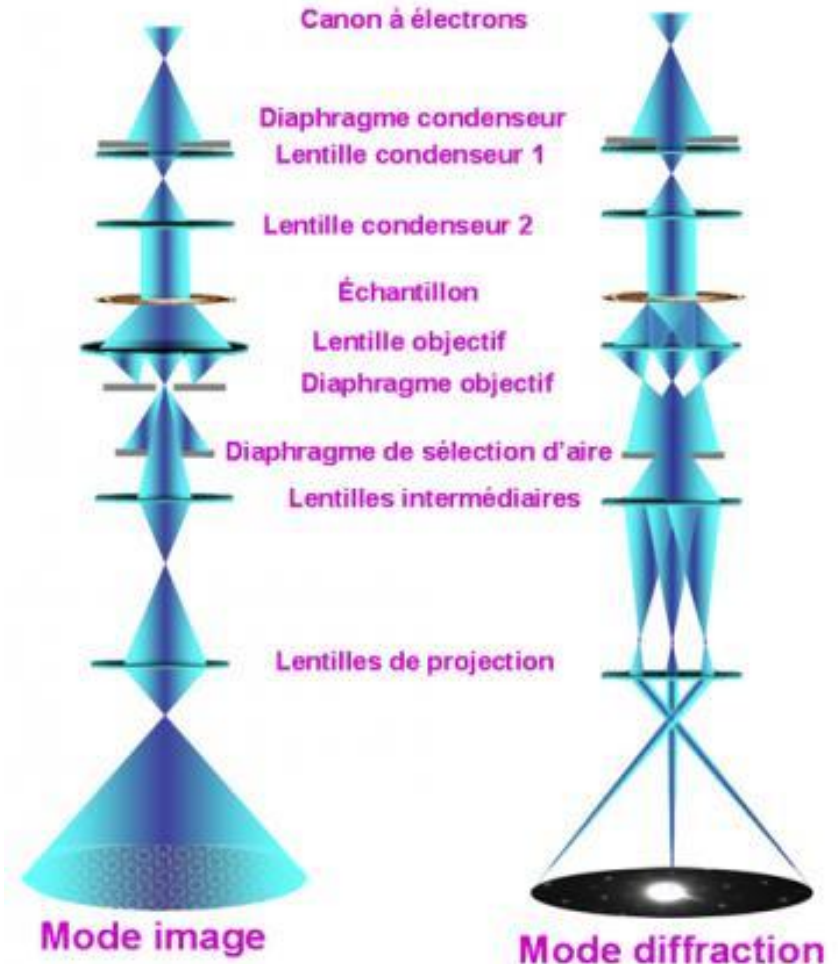


- Modes diffraction

Corrélation entre le plan focal
(première figure de diffraction
formée) et l'écran

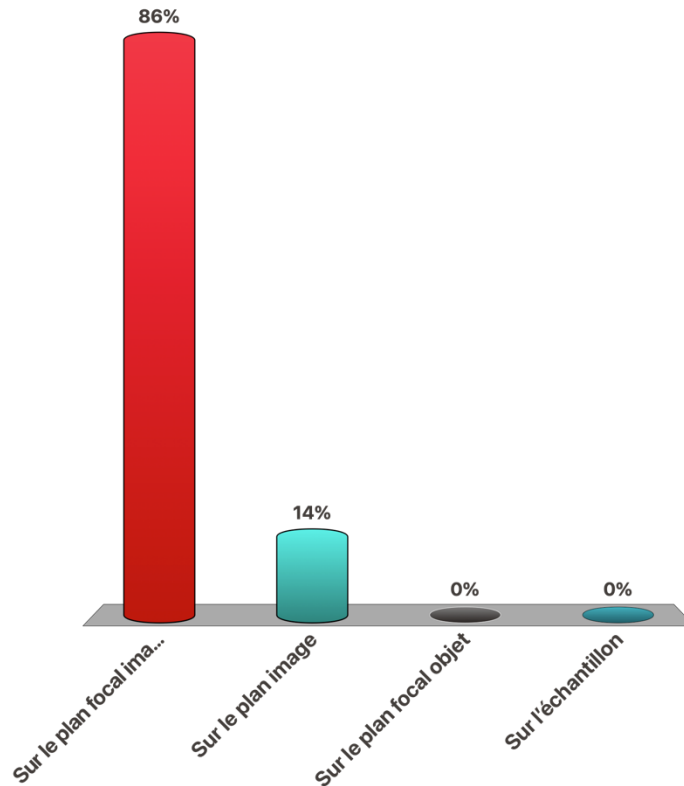
- Mode imagerie

Corrélation entre le plan image
(première image formée) et
l'écran



Où est placé le diaphragme de sélection d'aire?

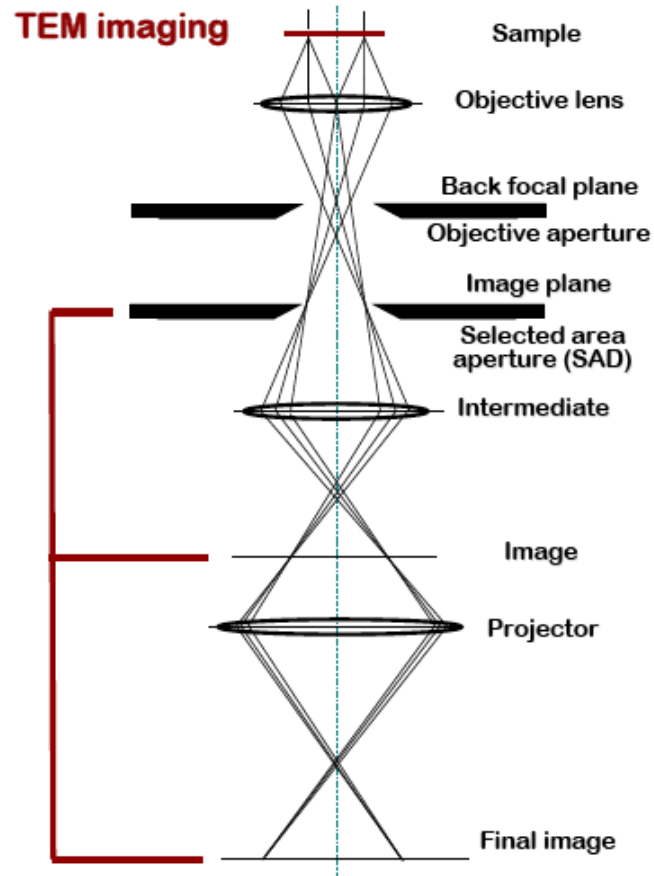
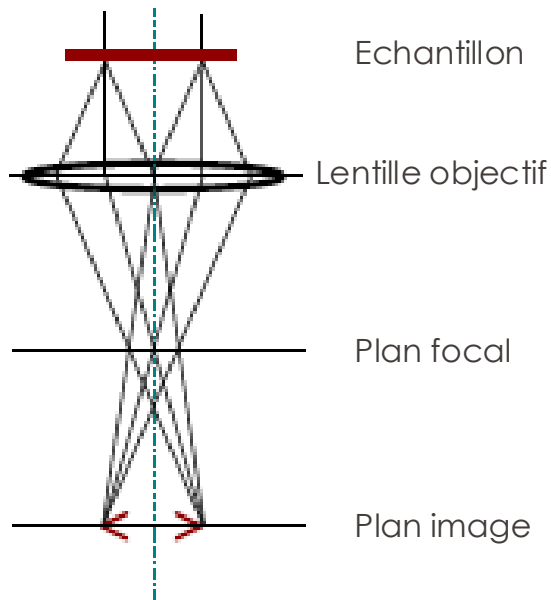
- A. Sur le plan focal image
- B. Sur le plan image
- C. Sur le plan focal objet
- D. Sur l'échantillon



Sondage: responseware.eu

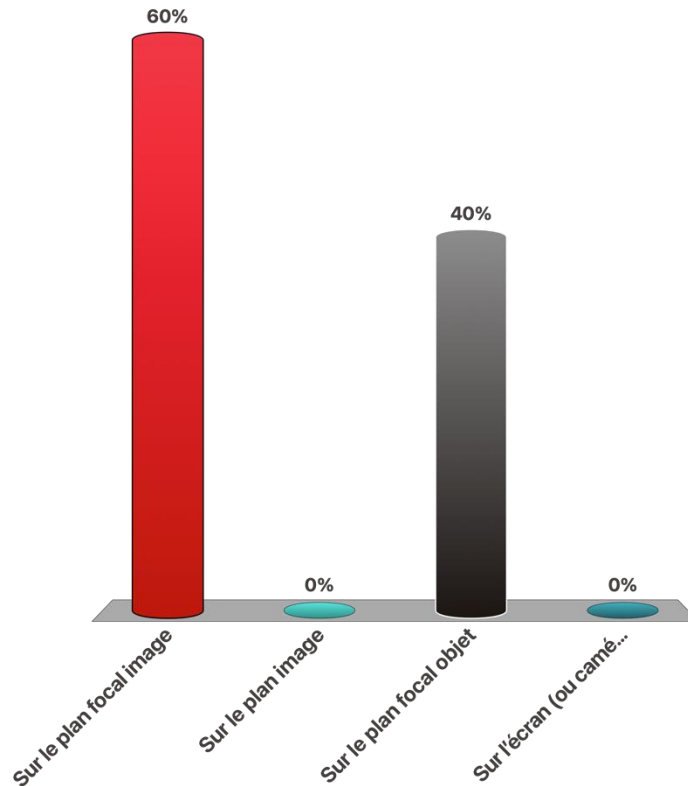
ID: intromicro

- Mode imagerie



Où se forme la première figure de diffraction?

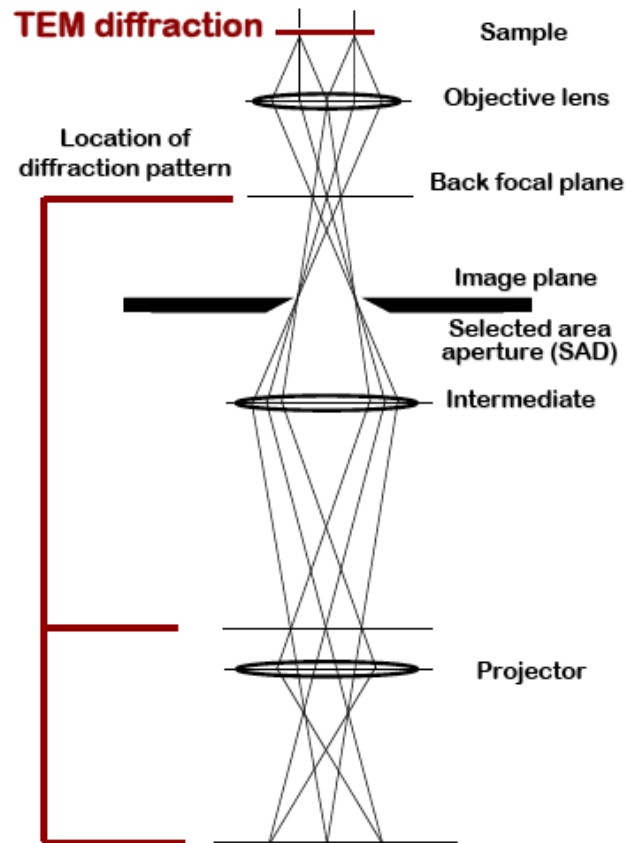
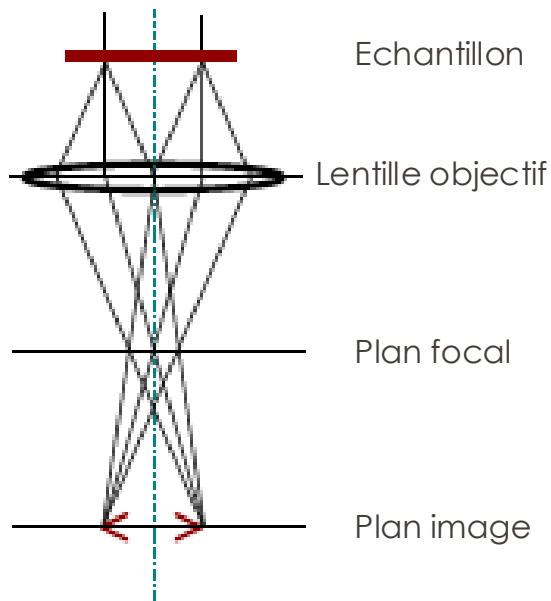
- A. Sur le plan focal image
- B. Sur le plan image
- C. Sur le plan focal objet
- D. Sur l'écran (ou caméra)



Sondage: responseware.eu

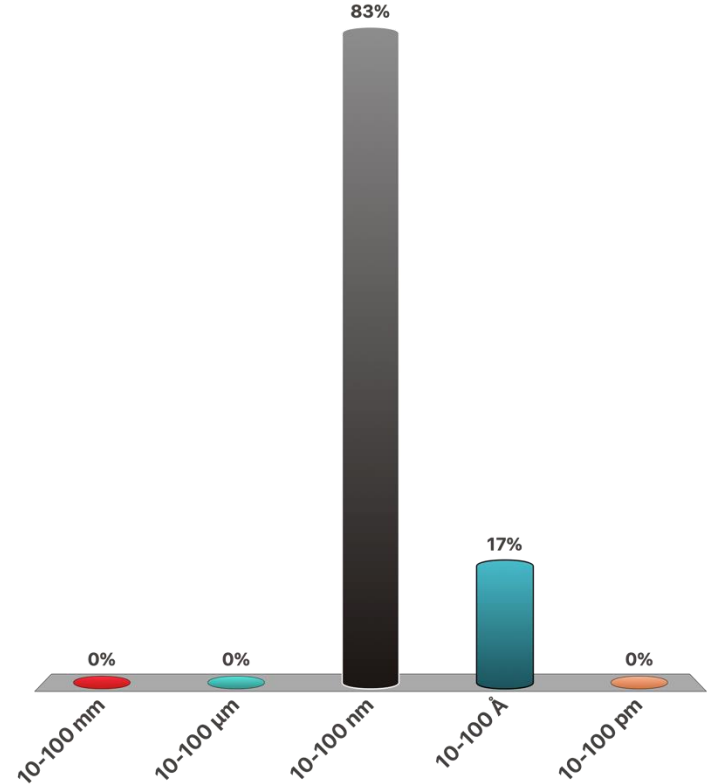
ID: intromicro

■ Mode diffraction

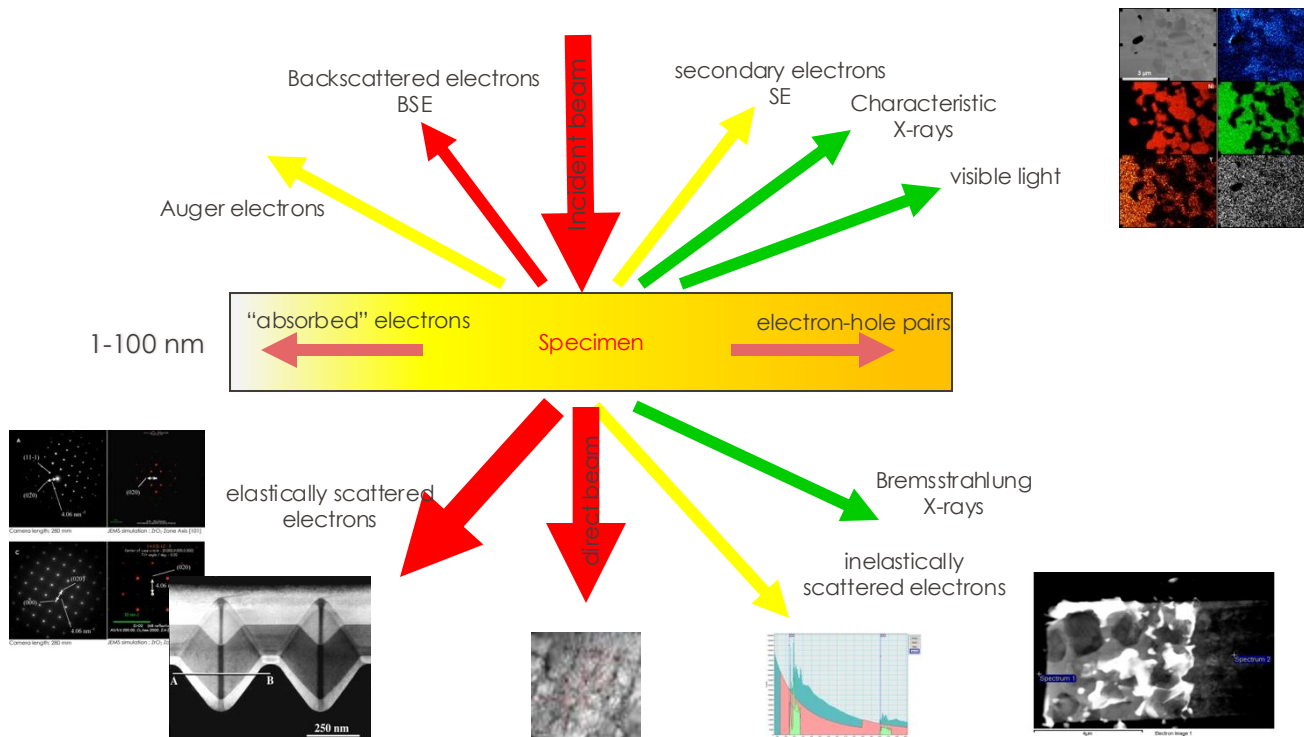


Quelle épaisseur typique doit avoir un échantillon TEM?

- A. 10-100 mm
- B. 10-100 μm
- C. 10-100 nm
- D. 10-100 Å
- E. 10-100 pm



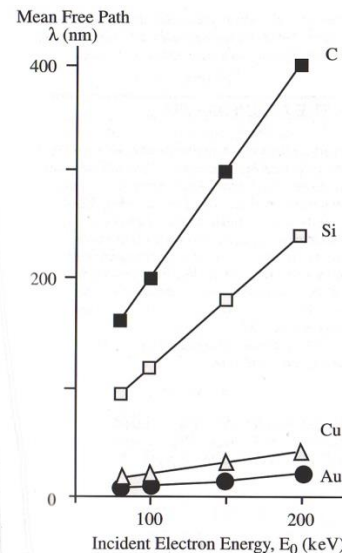
- Electrons incidents sur un échantillon mince



- Libre parcours moyen
 - Il donne la **distance moyenne parcourue par un électron** dans un échantillon avant de subir une interaction:

$$l = \frac{1}{Q_T} = \frac{A}{N_0 S_T r}$$

Note: σ_T dépend de la vitesse de l'électron!

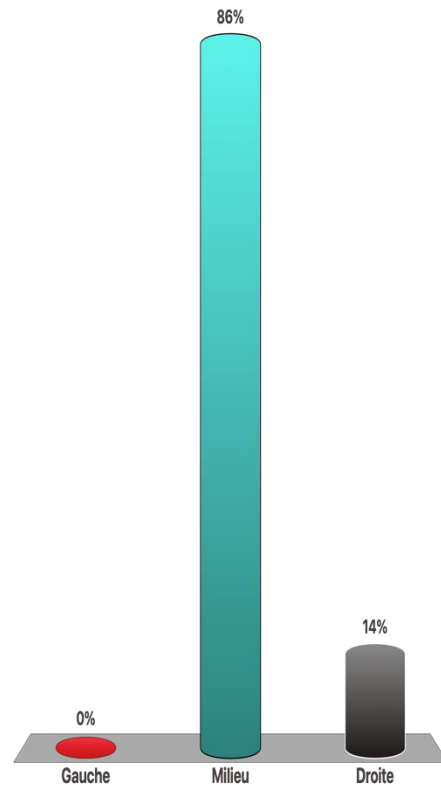
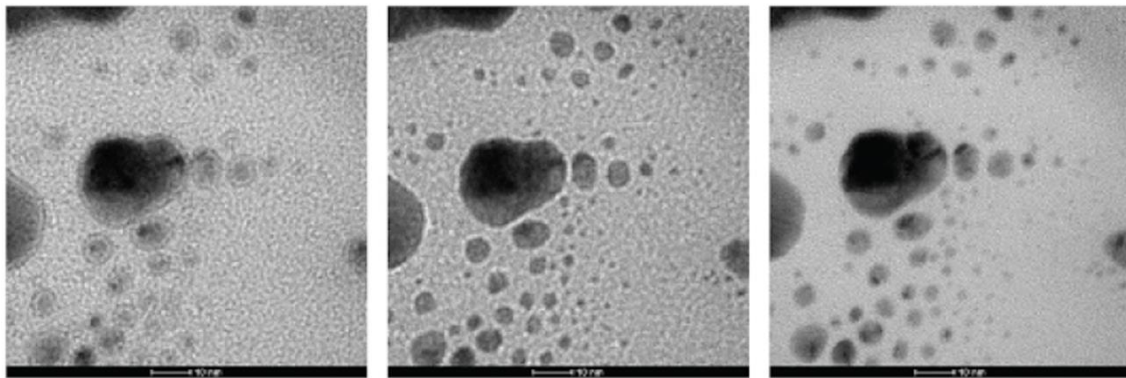


Quelle image est vraiment focalisée?

- A. Gauche
- B. Milieu
- C. Droite

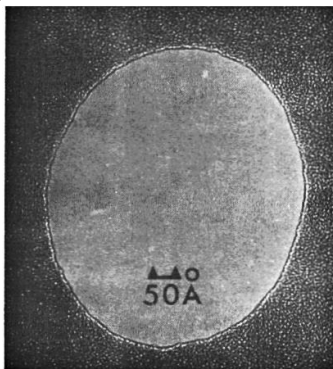
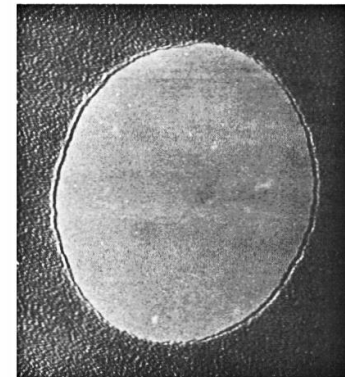
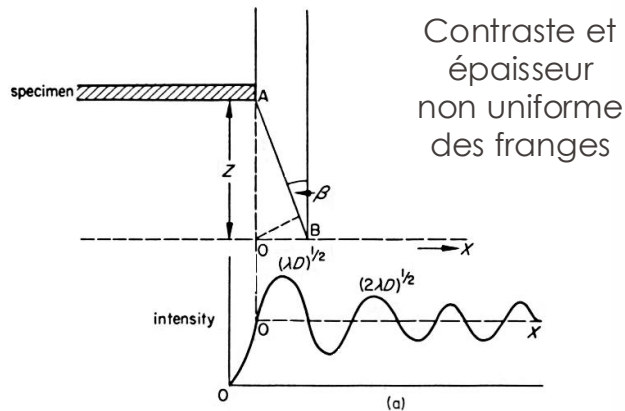
Sondage: responseware.eu

ID: intromicro

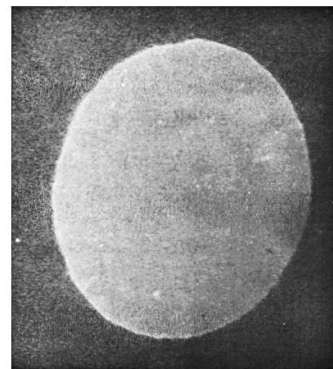


Contrastes: franges de Fresnel et astigmatisme

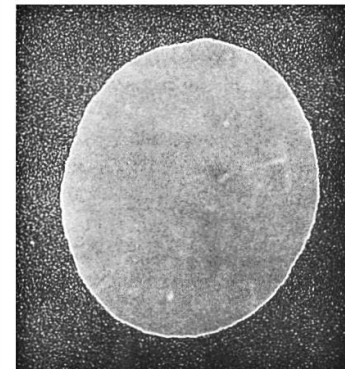
- **Hypothèses:** cohérence, $\lambda < \text{objet}$, objet plan, distance d'observation $>$ plus grande dimension de l'objet
- Réglage de l'astigmatisme sur le bord du trou d'un film de carbone



Frange uniforme
(sous focalisé)



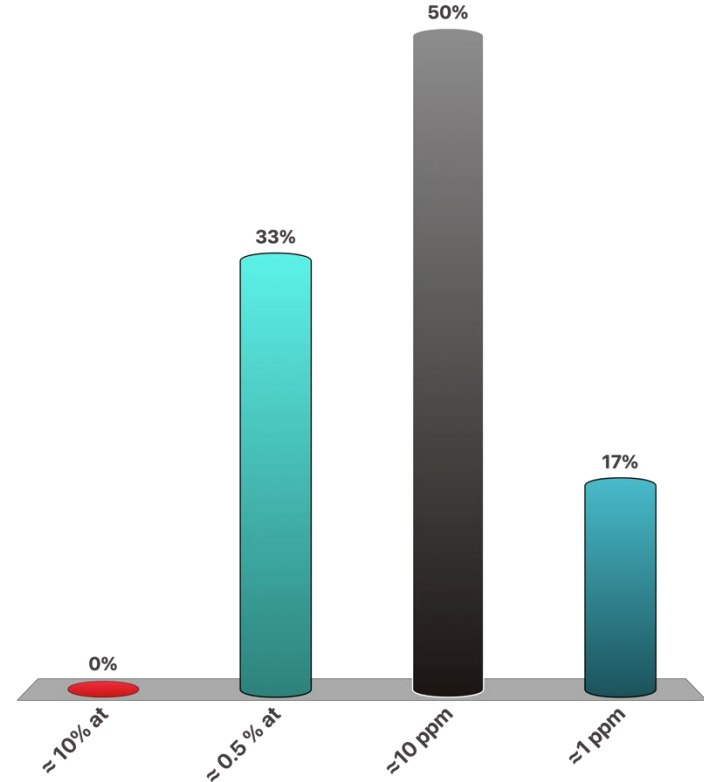
Pas de frange (min de
contraste, focalisé)



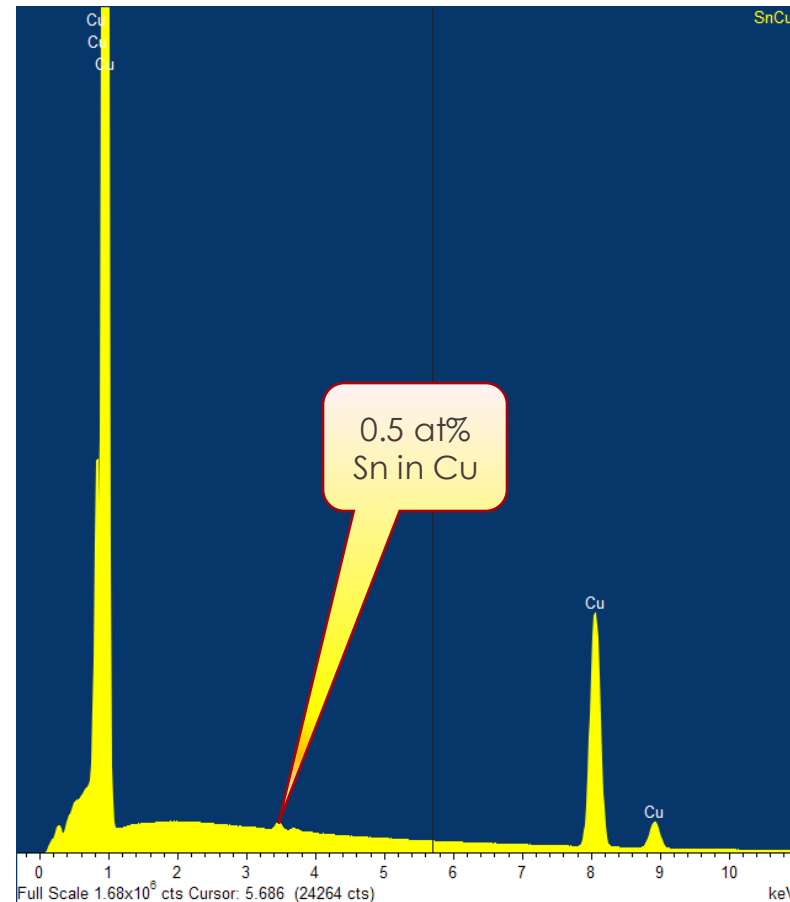
Frange uniforme
(sur-focalisé)

La limite de détection pour une analyse EDS est typiquement de

- A. $\approx 10\%$ at
- B. $\approx 0.5\%$ at
- C. ≈ 10 ppm
- D. ≈ 1 ppm

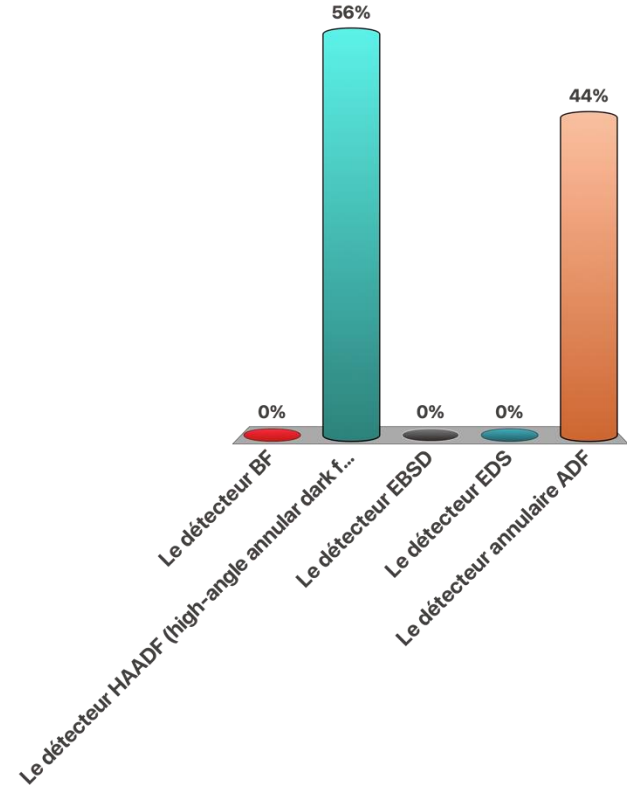


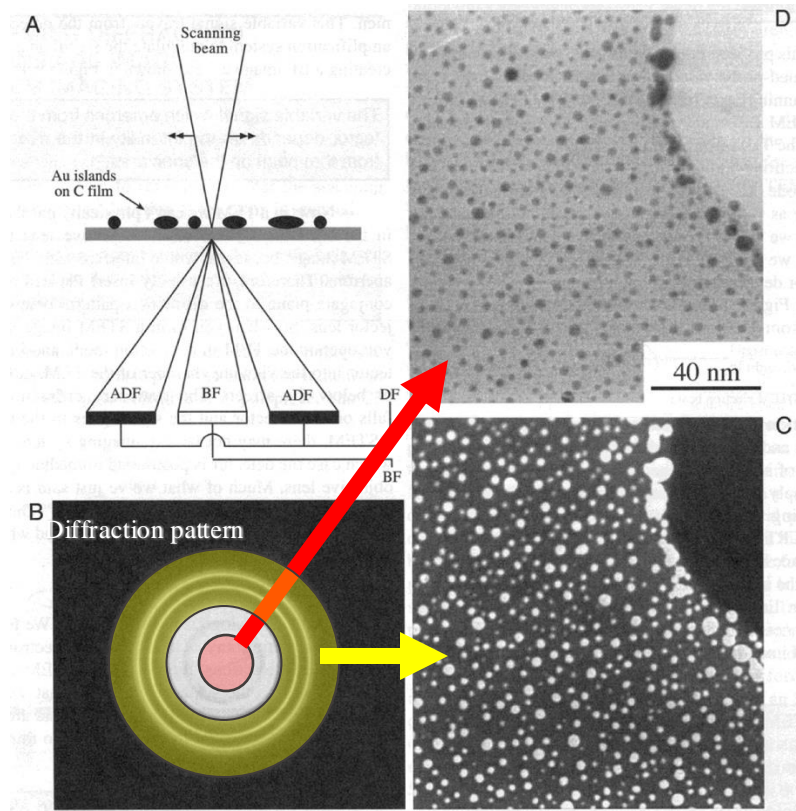
- Acquisition dans les meilleures conditions
 - **Surface plane** sans contamination (pas de coating Au, préférer C)
 - Echantillon **homogène** à l'endroit analysé (Δ volume d'interaction)
 - Orientation **horizontale** de la surface
 - Haut taux de comptage
 - **Surtension** $U = E_0/E_c > 1.5-2$
 - Temps d'acquisition assez élevé pour une bonne **statistique**
- Limite de détection ≈ 0.5 at% pour la plupart des éléments



Quel détecteur STEM produit des images avec un bon contraste de diffraction?

- A. Le détecteur BF
- B. Le détecteur HAADF (high-angle annular dark field)
- C. Le détecteur EBSD
- D. Le détecteur EDS
- E. Le détecteur annulaire ADF





Le microscope est en mode diffraction

Les détecteurs sont placés relativement au cliché de diffraction

STEM BF:

Détection des électrons transmis:

Contraste similaire à

Une image TEM BF (diaphragme objectif sélectionne uniquement les électrons transmis)

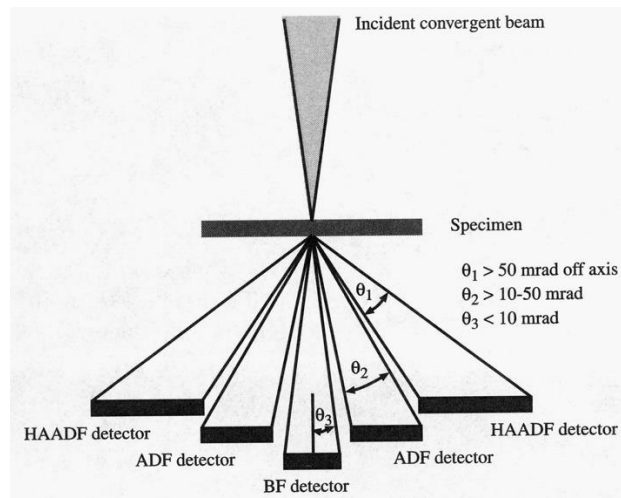
STEM ADF:

Détection de **tous** les électrons diffractés arrivant sur le détecteur annulaire (intégration de multiples images TEM DF)

- Les électrons à **fort angle de diffusion** sont les électrons diffusés par l'interaction coulombienne avec le noyau
- Ils sont plus élevés que les angles de diffusion cohérente (diffraction)
- Un troisième détecteur annulaire de rayon plus grand permet de les collecter
- Information sur le Z des atomes diffuseurs
- Contraste en Z uniquement (HAADF)

$$I \propto tZ^{1.6-2}$$

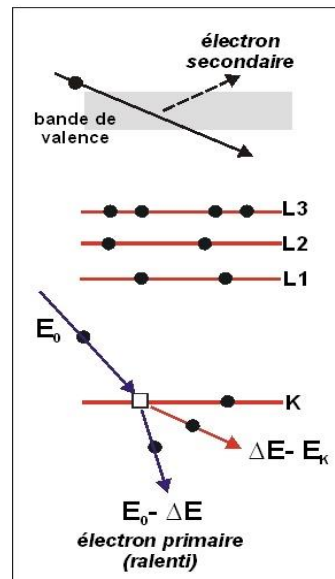
avec t l'épaisseur de l'échantillon
et Z le numéro atomique



Une analyse EDX est basée sur:

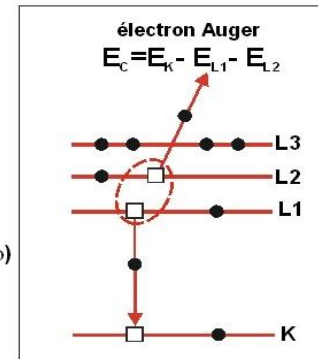
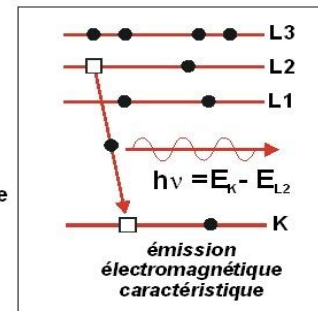
- A. La ionisation et la relaxation des atomes de l'échantillon
- B. L'émission d'électrons secondaires
- C. La production continue de Rx dans l'échantillon
- D. L'absorption des électrons incidents
- E. La détection de l'énergie des RX émis
- F. La détection de l'énergie perdue par les électrons transmis

- Emission de RX caractéristiques
- Emission d'électrons Auger



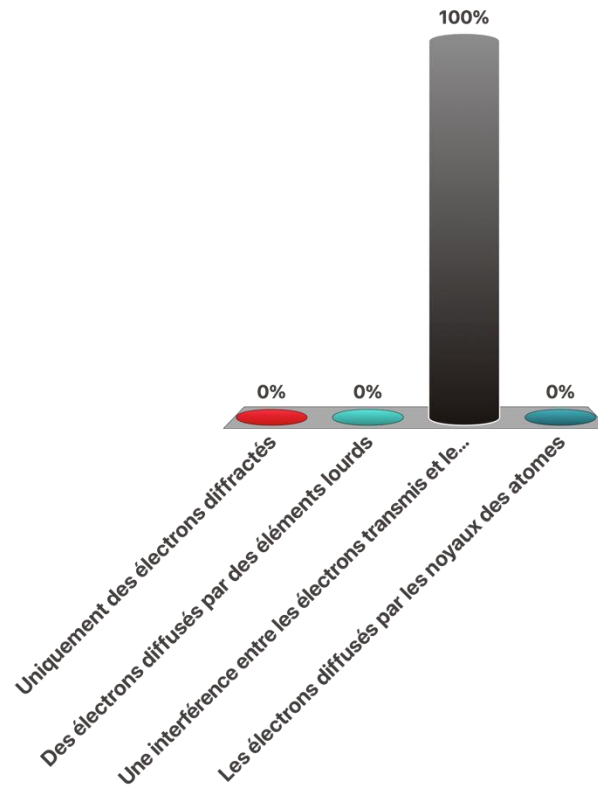
transition radiative
(rendement : ω)

transition Auger
(rendement : $a=1-\omega$)



EPFL Une image haute résolution est formée par...

- A. Uniquement des électrons diffractés
- B. Des électrons diffusés par des éléments lourds
- C. Une interférence entre les électrons transmis et les diffractés
- D. Les électrons diffusés par les noyaux des atomes



Sondage: responseware.eu

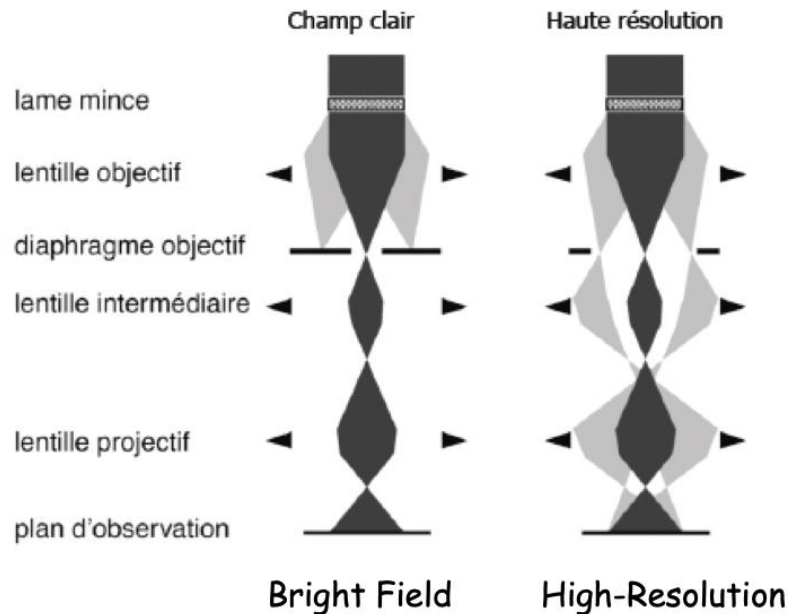
ID: intromicro

the TEM in "high-resolution" mode

A high-resolution image is an **interference image** of the transmitted and the diffracted beams!

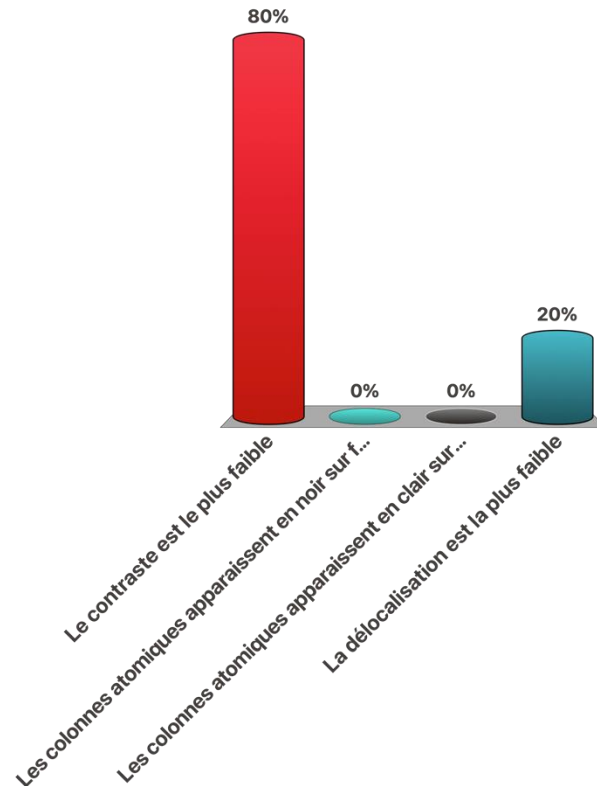
Diffracted electrons: **coherent elastic scattering** (the electrons have seen the crystal lattice)

The quality of the image depends on the optical system that makes the beams interfere



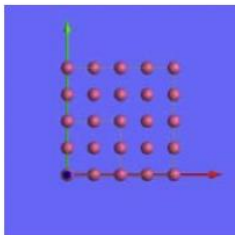
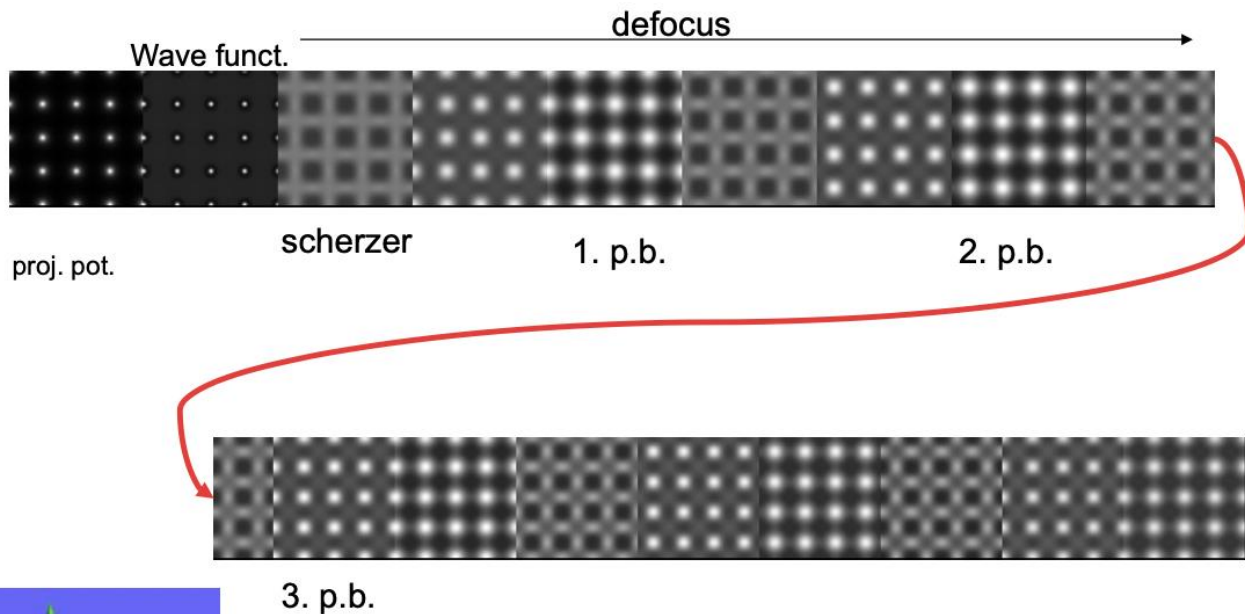
EPFL Dans les conditions optimales de focalisation (Scherzer):

- A. Le contraste est le plus faible
- B. Les colonnes atomiques apparaissent en noir sur fond clair
- C. Les colonnes atomiques apparaissent en clair sur fond noir
- D. La délocalisation est la plus faible



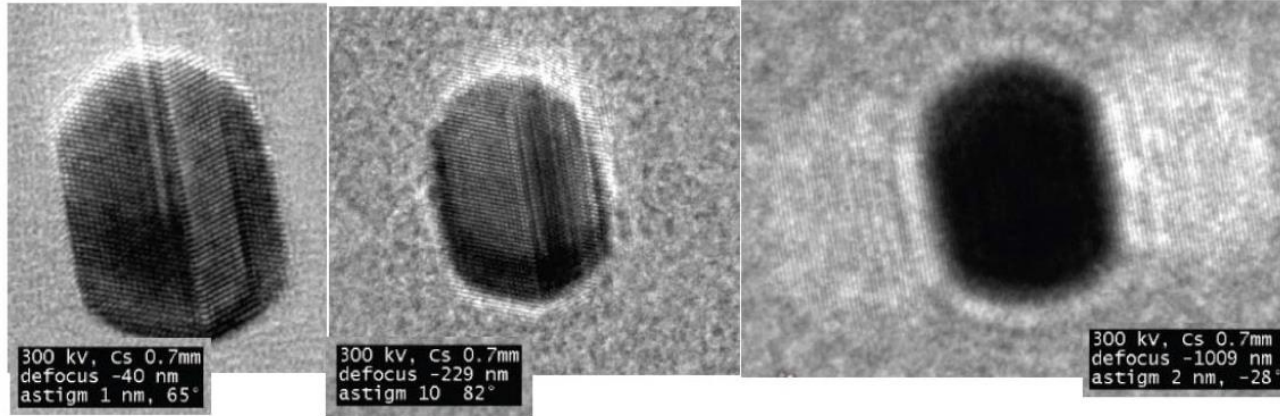
Sondage: responseware.eu

ID: intromicro



Au [100], thickness 20nm

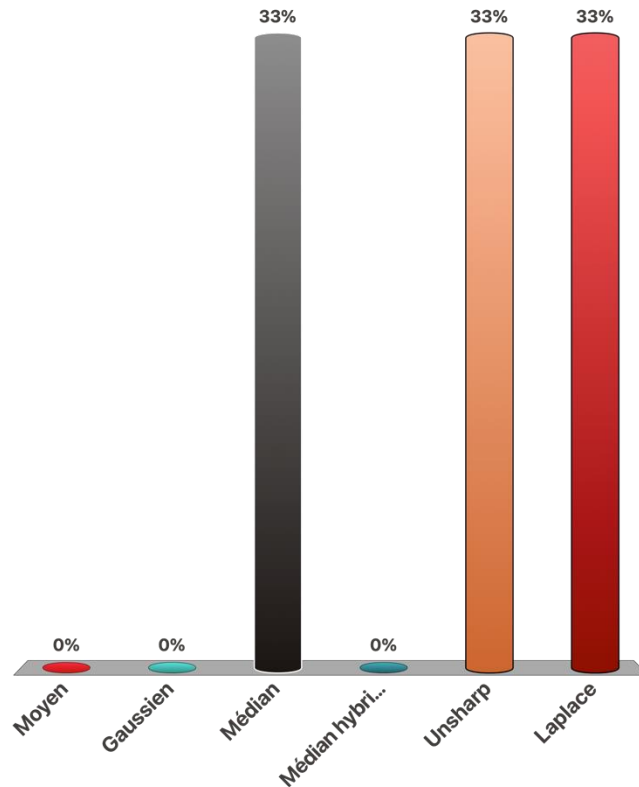
"delocalisation"



Au nanoparticle on amorphous carbon. Various defocalisation

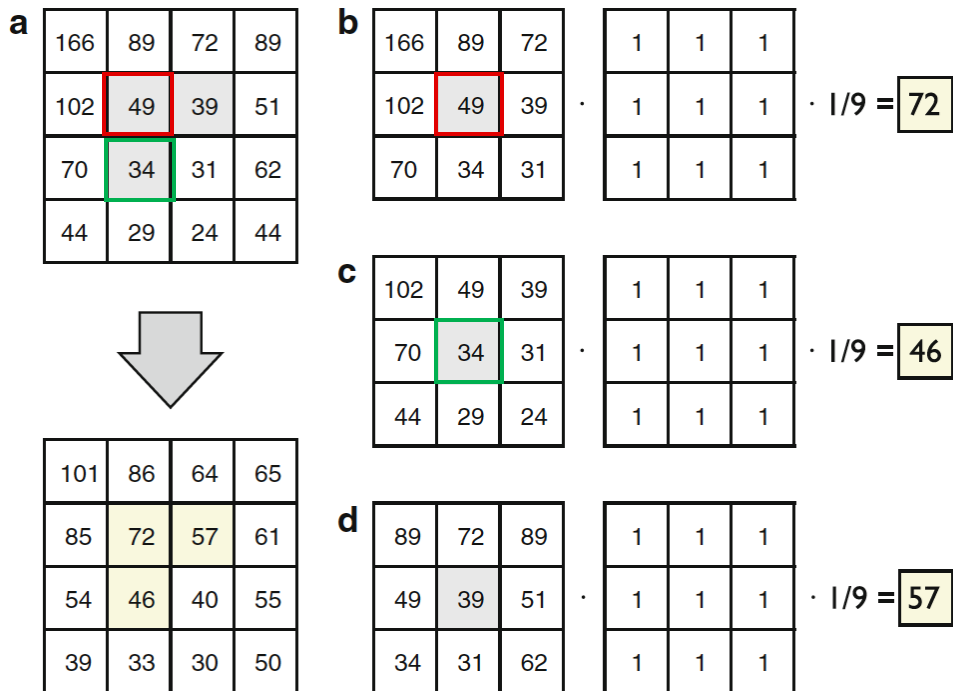
Lequel des filtres suivants n'invente pas (ne calcule pas) la valeur d'un pixel à partir des pixels voisins ?

- A. Moyen
- B. Gaussien
- C. Médian
- D. Médian hybride
- E. Unsharp
- F. Laplace



Neighborhood Averaging

The most common way to accomplish neighborhood averaging is to replace each pixel with the average of itself and its neighbors – sum of the pixel values in a region multiplied by an array of numeric weights

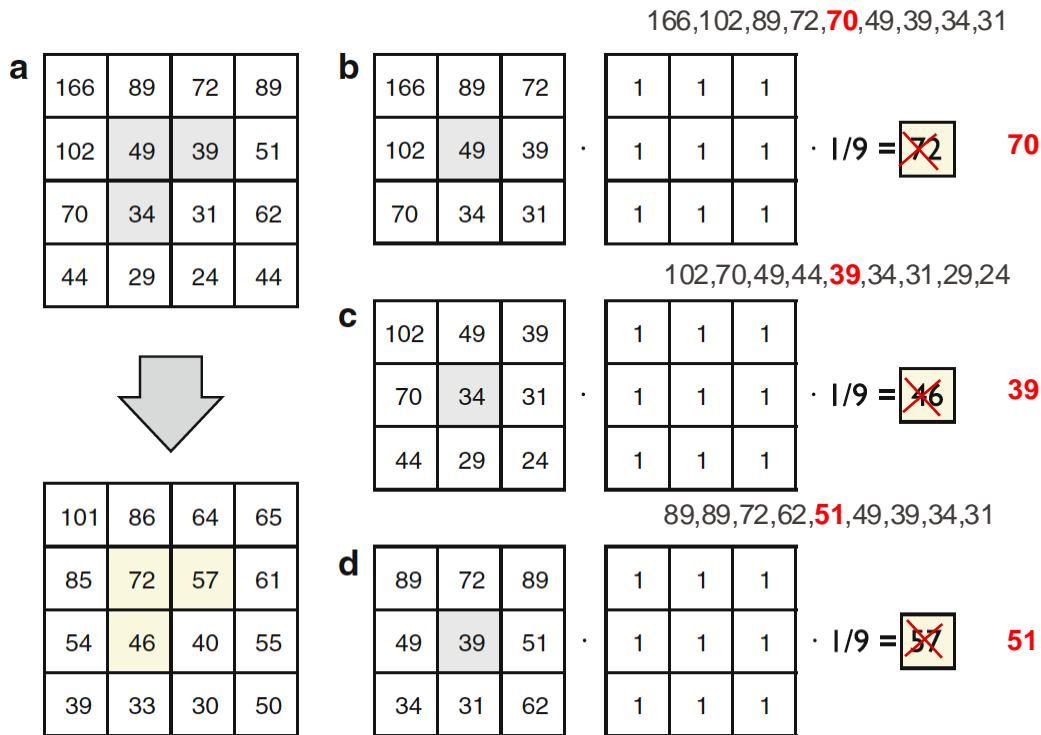


Neighborhood Averaging vs Median

Neighborhood **Ranking** – Median Filtering

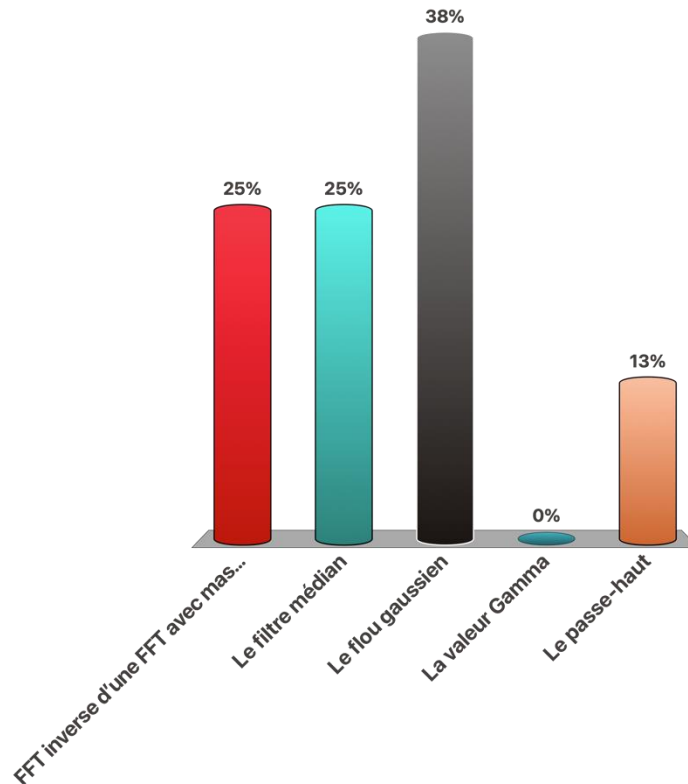
The most common way to accomplish neighborhood **averaging** is to replace each pixel with the average of itself and its neighbors.
Calculated value !

Median: replace the central pixel value by the **central value** of an **ordered array** of all values in the neighbourhood. Replace with a existing (most central) value.



Lesquels des filtres suivants sont des filtres basés sur le kernel ?

- A. FFT inverse d'une FFT avec masque
- B. Le filtre médian
- C. Le flou gaussien
- D. La valeur Gamma
- E. Le passe-haut



Discrete approximations of Gaussian kernels

3x3, 5x5, 7x7

 $1/16$

1	2	1
2	4	2
1	2	1

 $1/273$

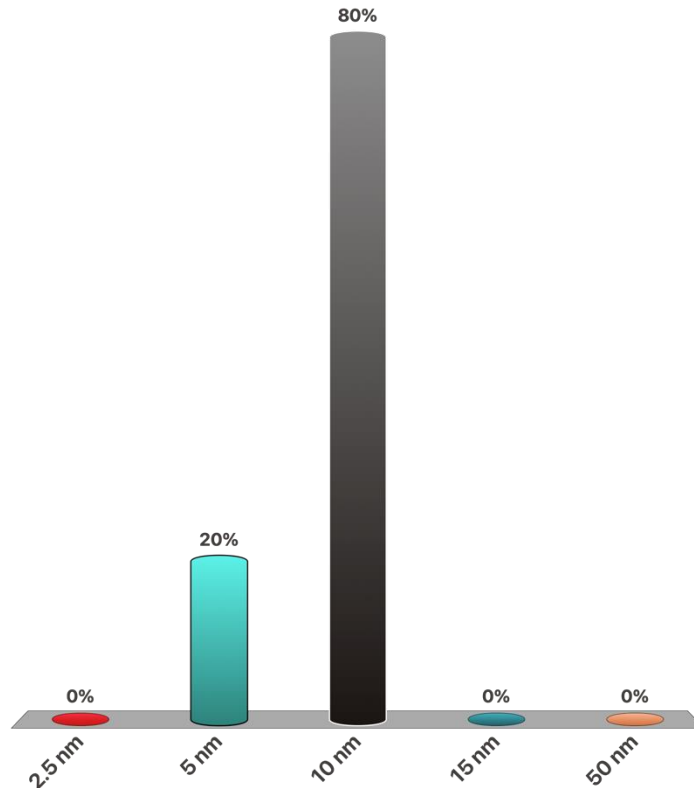
1	4	7	4	1
4	16	26	16	4
7	26	41	26	7
4	16	26	16	4
1	4	7	4	1

 $1/1003$

0	0	1	2	1	0	0
0	3	13	22	13	3	0
1	13	59	97	59	13	1
2	22	97	159	97	22	2
1	13	59	97	59	13	1
0	3	13	22	13	3	0
0	0	1	2	1	0	0

Selon Nyquist, une image avec une taille de pixel de 5 nm peut, dans le meilleur des cas, afficher des objets avec une résolution de

- A. 2.5 nm
- B. 5 nm
- C. 10 nm
- D. 15 nm
- E. 50 nm



Capturing Images: Image Digitalization

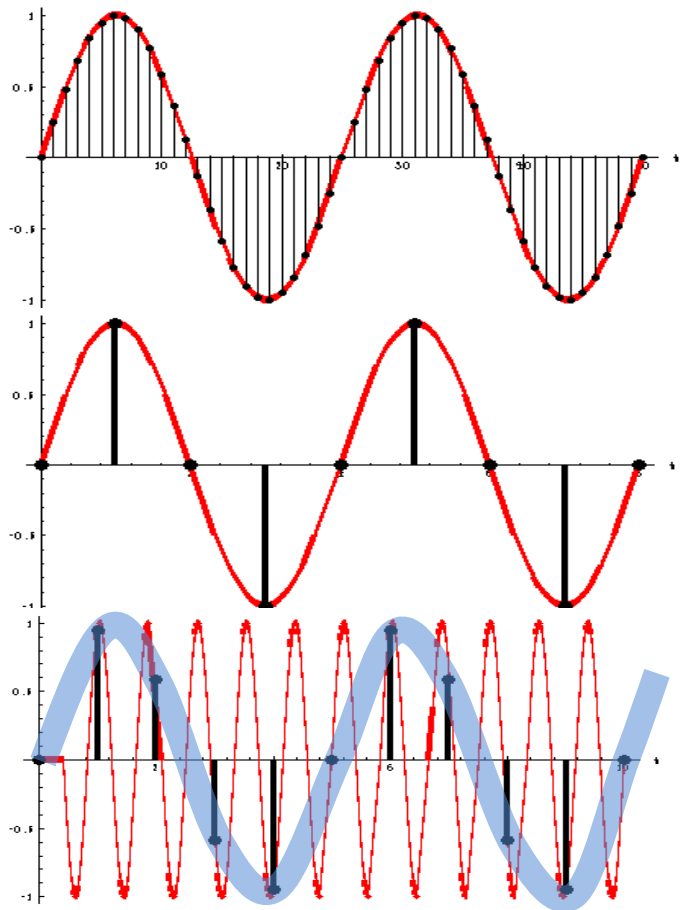
In order to get images into a form computers can **manipulate** they must be modified from their analog form (continuous gradients) into a digital form (step gradients) using the technique of **sampling**.

Sampling: A technique used to record analog information by recording periodic snapshots. If the sampling rate is fast enough, the eye cannot discern the gaps between each snapshot when they are played back. This is the principle behind motion pictures. Sampling is the key technique used to digitize analog information such as sound, photographs, and images.

Nyquist sampling (f) = $d/2$, where d =the smallest object, or highest frequency

The Nyquist Theorem states that in order to adequately reproduce a signal it should be periodically sampled at a rate of at least 2x the highest frequency you wish to record. With images, frequency is related to structure size. Small structures are said to have a high frequency. Thus, the imaging sample rate (or pixel) size should be 1/2 the size of the smallest object you wish to record.

Sampling Examples



Oversampling

A High Sampling Rate = much greater than 2X the highest frequency. This is 'Oversampling' that, while not "bad" will take time and create a large digital file

Nyquist Sampling Rate

The minimum sample rate that captures the "essence" of the analog information

Undersampled

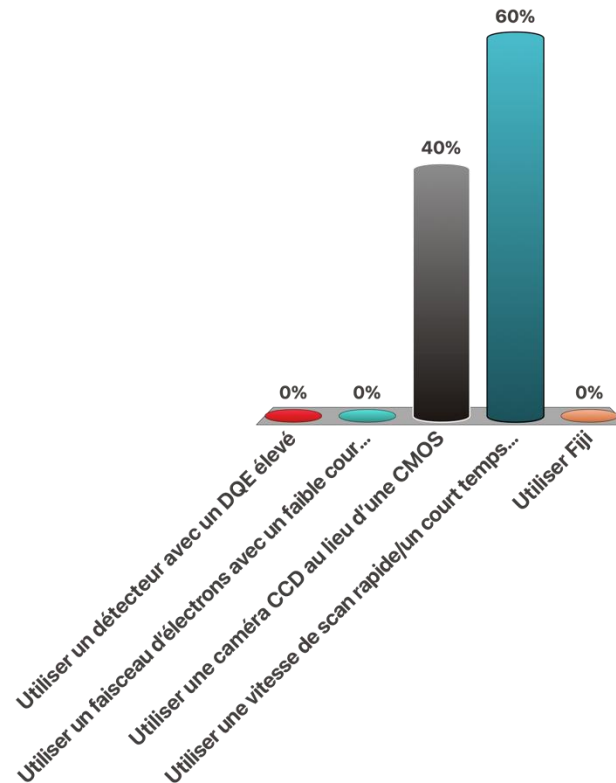
Low sampling rate produces results that report false information about the analog data; which does not represent the original. This phenomenon is called aliasing

Red: real curve

Blue: sampled curve shape

Comment générer des images avec un rapport signal/bruit élevé ?

- A. Utiliser un détecteur avec un DQE élevé
- B. Utiliser un faisceau d'électrons avec un faible courant
- C. Utiliser une caméra CCD au lieu d'une CMOS
- D. Utiliser une vitesse de scan rapide/un court temps d'acquisition
- E. Utiliser Fiji



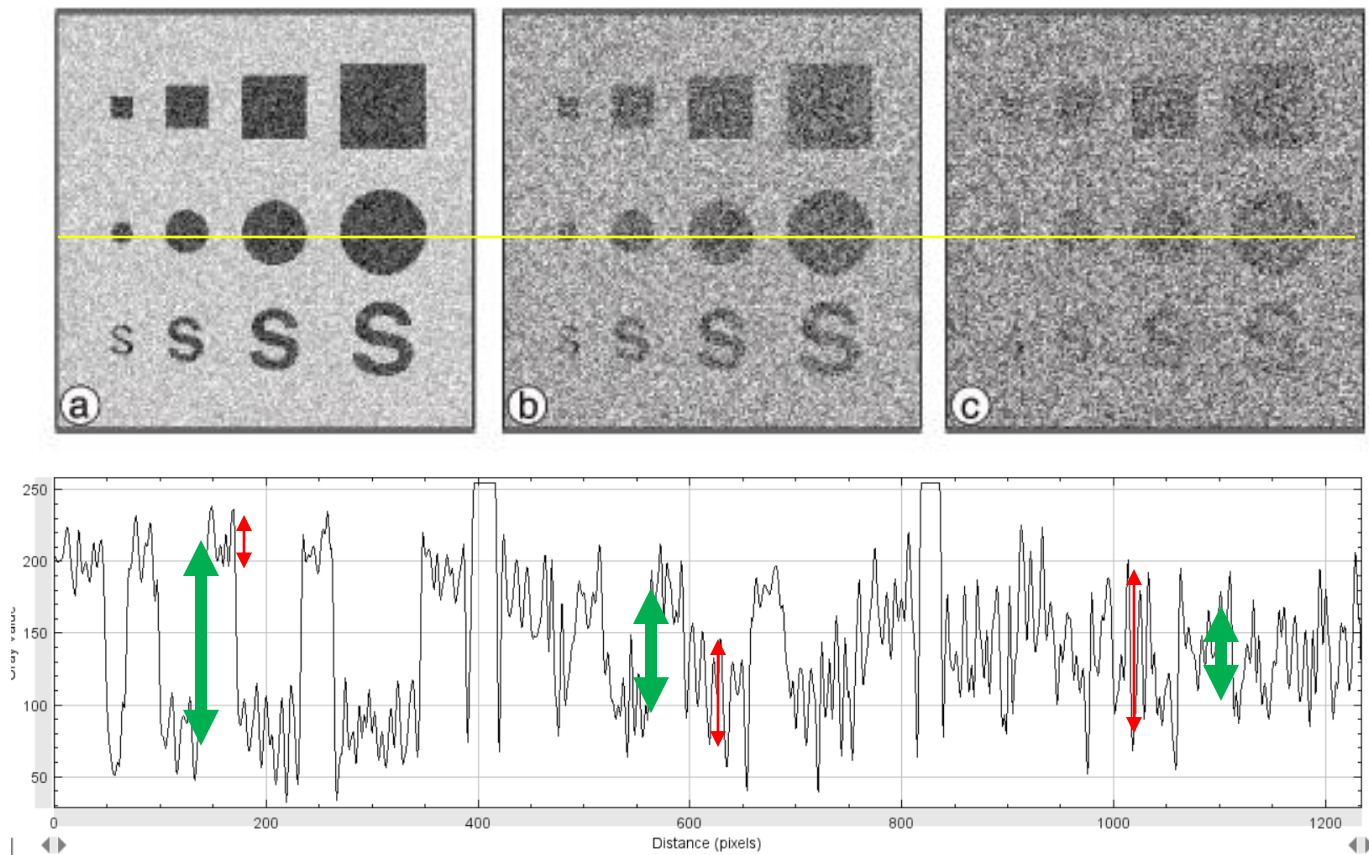
Noise

Features on a noisy background:

(a) High **signal** to **noise** (S/N)

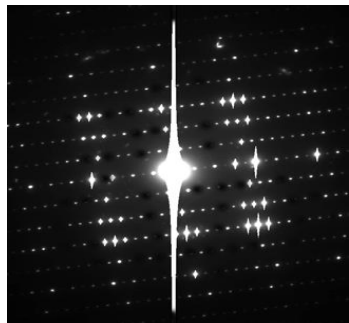
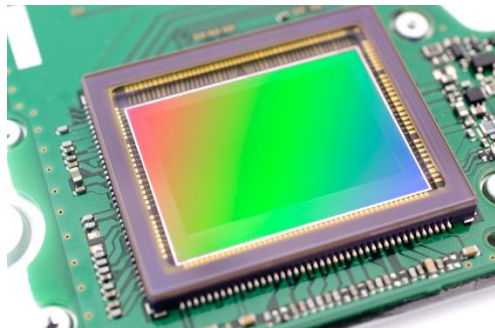
(b) Medium signal to noise ratio

(c) Low signal to noise ratio

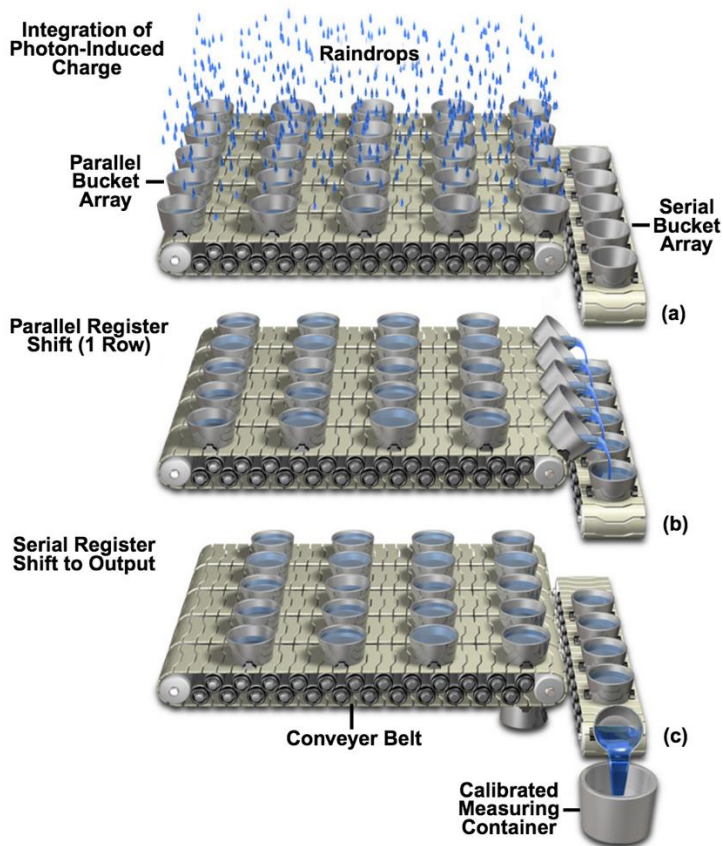


Cameras: Charged Couple Device (CCD)

They are metal-insulator-silicon devices that store charge generated by light or electron beams



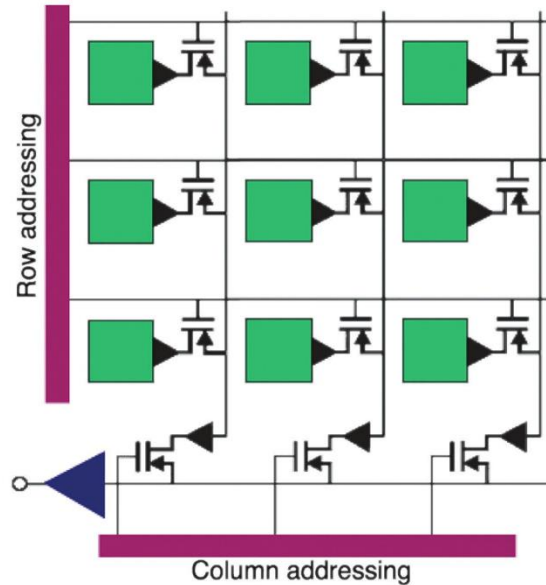
“blooming” artefact:
overspill of charges



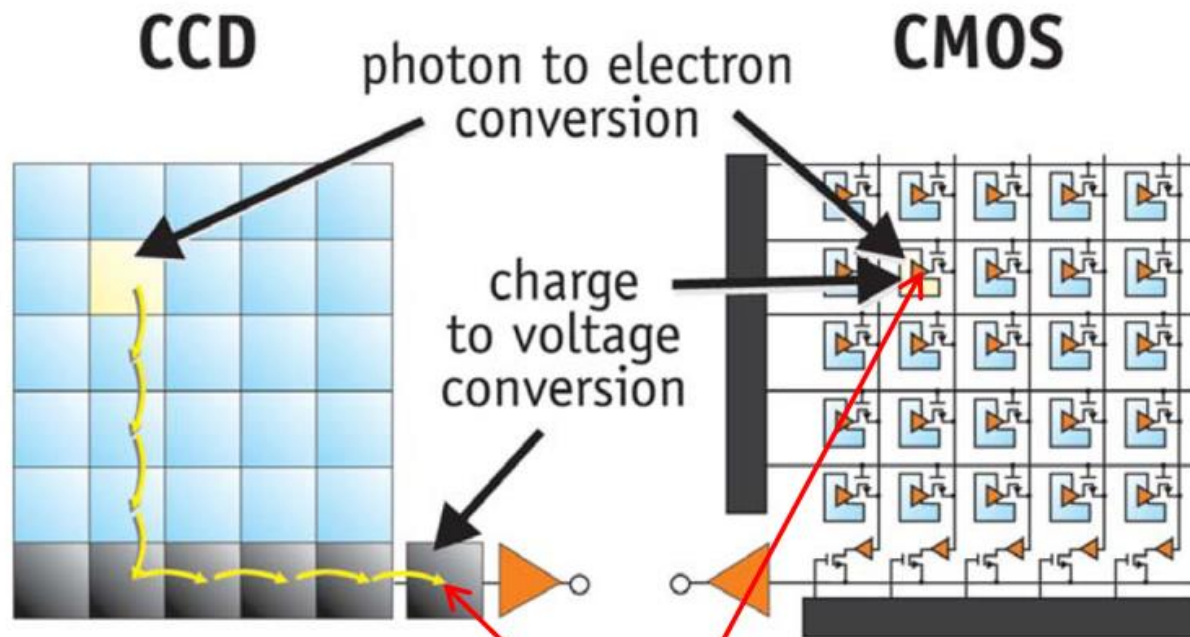
- Single read-out amplifier
- Transfers charge
- Slow
- High signal-to-noise ratio

EPFL Cameras: Complimentary Metal-Oxide Semiconductors (CMOS)

The conversion of light photons to electrons functions the same way as in the CCD chip. The difference start with the way the signal is read out. Any pixel in the image that be read out directly, addressing a pixel by row and column as in a memory chip



- Each pixel has an amplifier
- Transfers voltage
- Fast
- Noisy

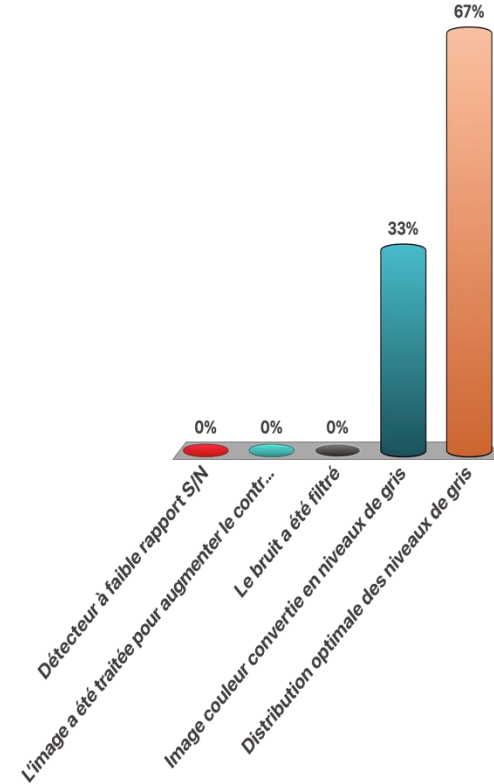
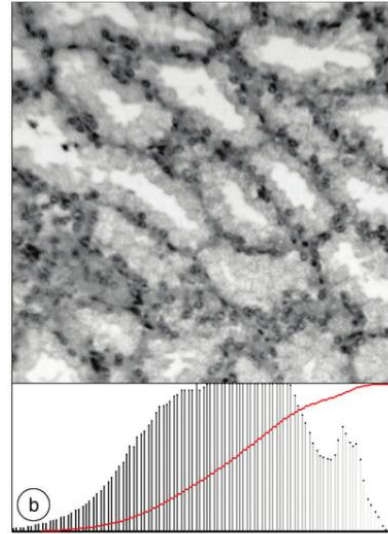


CCDs move photogenerated charge from pixel to pixel and convert it to voltage at an output node. CMOS imagers convert charge to voltage inside each pixel.

Read-out noise generated

Que dit cet histogramme sur l'image ?

- A. Détecteur à faible rapport S/N
- B. L'image a été traitée pour augmenter le contraste
- C. Le bruit a été filtré
- D. Image couleur convertie en niveaux de gris
- E. Distribution optimale des niveaux de gris



Contrast Expansion – Linear

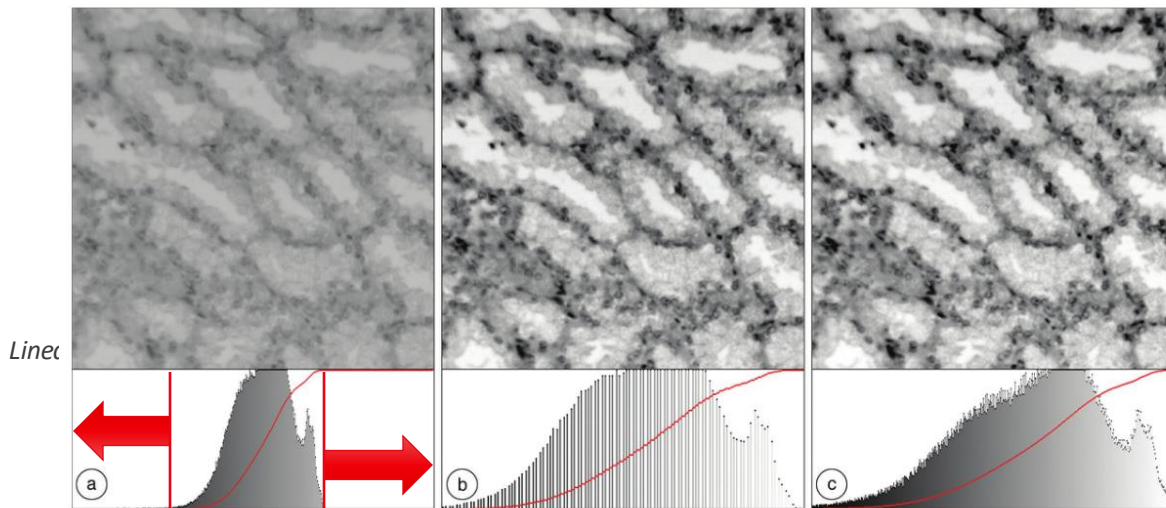
Visibility of the structures present can be improved by stretching the contrast so that the values of the pixels are re-assigned to cover the entire available range

$$P' = 255 \cdot \frac{P - \text{Darkest}}{\text{Brightest} - \text{Darkest}}$$

raw image

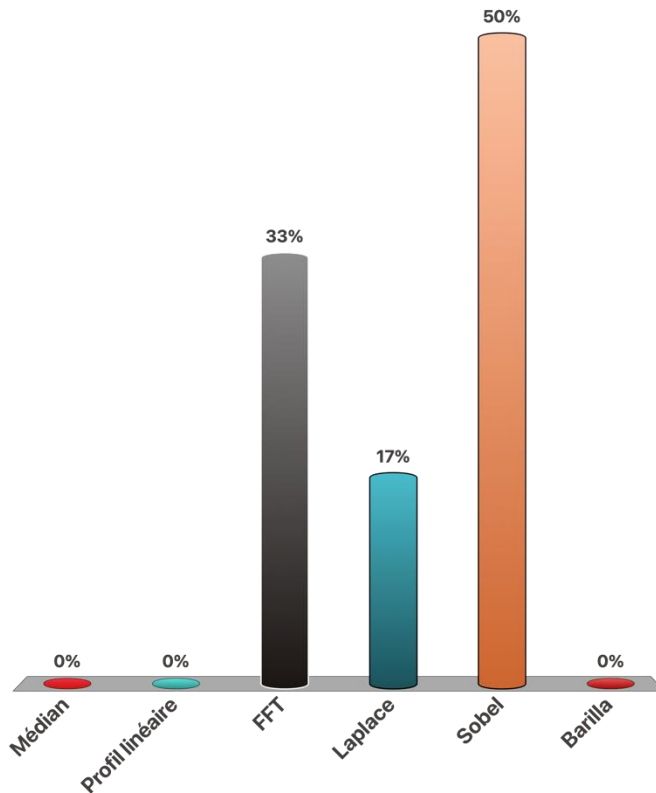
contrast enhanced by
linear expansion

contrast enhanced during
acquisition



Quel est le filtre qui permet d'analyser l'orientation des spaghettis dans une image ?

- A. Médian
- B. Profil linéaire
- C. FFT
- D. Laplace
- E. Sobel
- F. Barilla



Sobel Edge Detection – Example 1

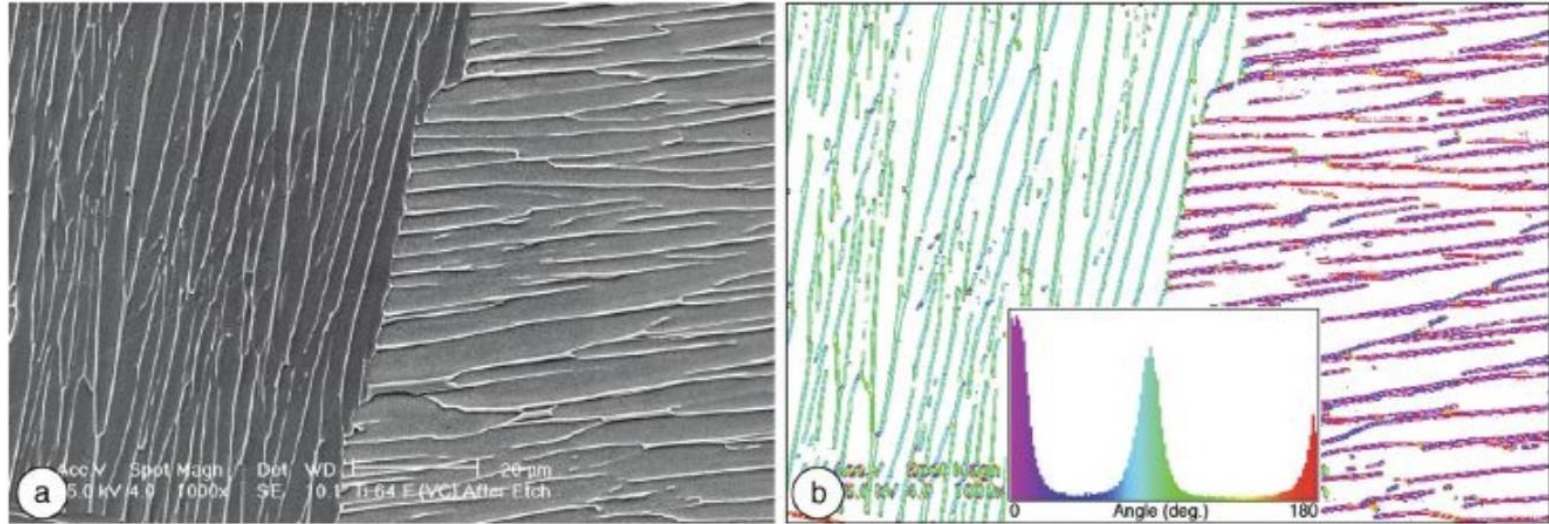


Figure 5.42 Lamellar structure in a titanium alloy: (a) SEM image; (b) edges selected by magnitude of the Sobel gradient and color-coded with orientation, with the histogram of edge orientations from 0 to 180 degrees. (SEM image courtesy of Hamish Fraser, Ohio State University.)

- Setting a threshold value at the magnitude of the vector $|G| > G_0$ and keeping the **angle** information defined by (G_x, G_y) for those pixels above the threshold

Sobel Edge Detection – Example 1

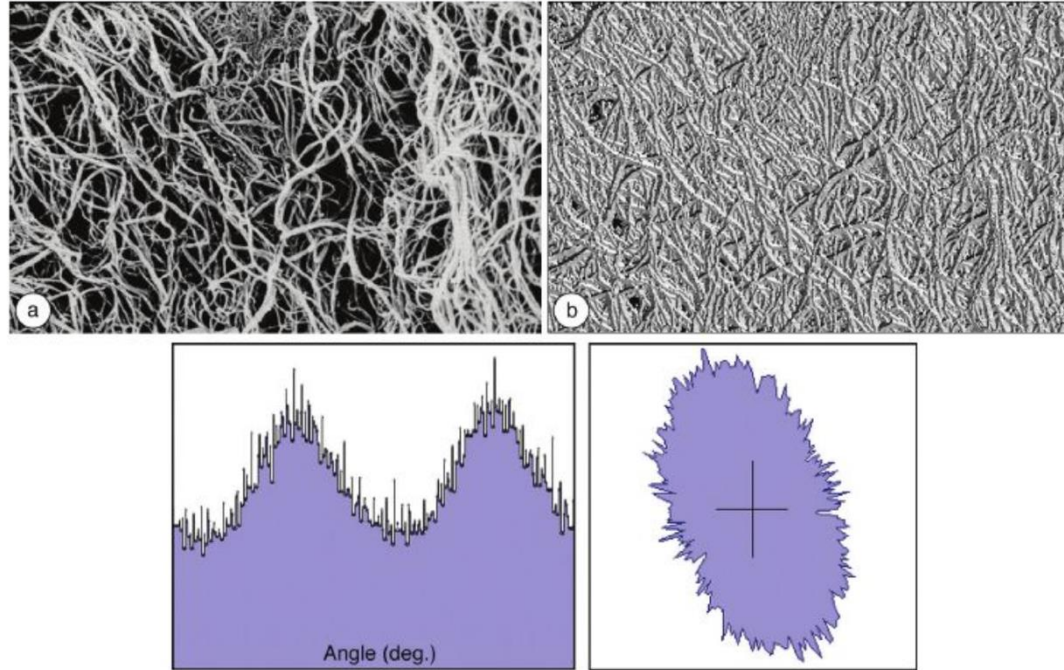
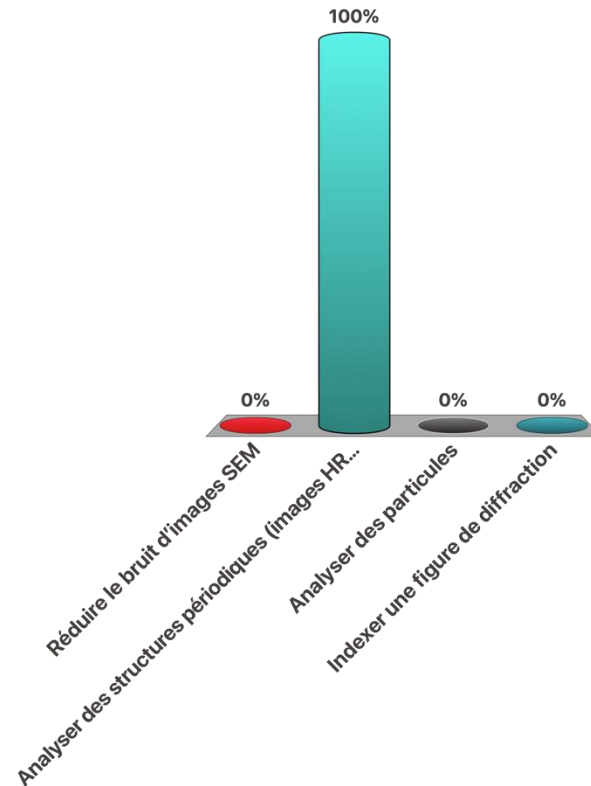


Figure 5.43 Measurement of fiber orientation: (a) image of collagen fibers; (b) the Sobel orientation values assigned to pixel brightness. The histograms show the values in (b) from 0 to 360 degrees and as a rose plot.

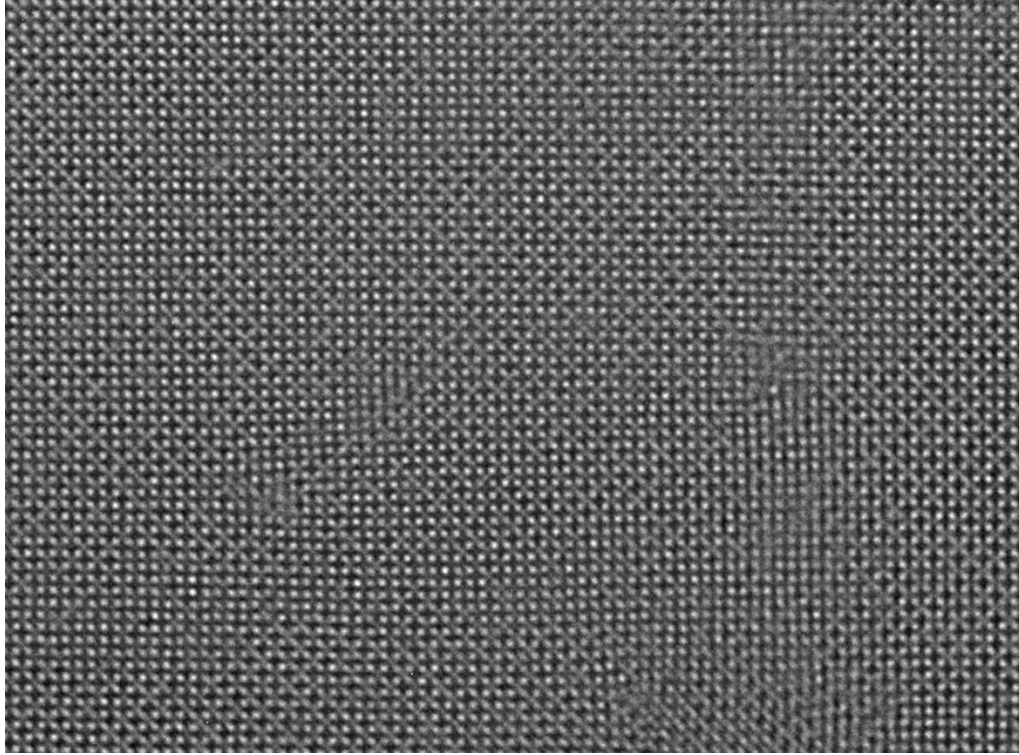
- The efficiency with which the Sobel operator can be applied make it a very useful technique for characterizing the anisotropy of lines and edges

Les filtres FFT sont utiles pour

- A. Réduire le bruit d'images SEM
- B. Analyser des structures périodiques (images HRTEM)
- C. Analyser des particules
- D. Indexer une figure de diffraction



High-Resolution TEM image and its FFT



FFT

