

# LASTNOSTI VRSTIČNE ELEKTRONSKE MIKROSKOPIJE (SEM) KOT METODE ZA PREUČEVANJE IN KARAKTERIZACIJO VZORCEV

Marko JERAN<sup>1,2\*</sup>, Mitja DRAB<sup>2</sup>, Bernard VERŠNJAK<sup>2</sup>, Samo KOŠIR<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Zdravstvena fakulteta, Univerza v Ljubljani

<sup>2</sup>Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani

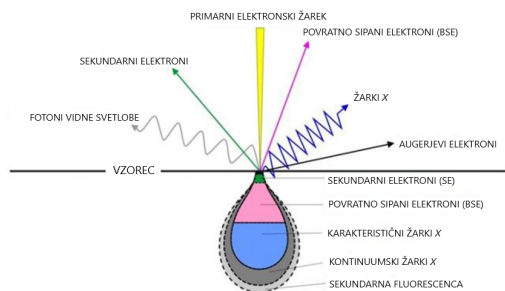
<sup>3</sup>Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

**POVZETEK:** V prispevku avtorji opisujemo lastnosti in praktično uporabo vrstične elektronske mikroskopije (*angl. Scanning Electron Microscopy*), ki se v velikem obsegu upravlja na različnih področjih naravoslovnih znanosti. Vrstični elektronski mikroskopiji kot karakterizacijski metodi lahko pripišemo visoko ločljivost in veliko globinsko ostrino. Uporabljamo jo lahko pri opazovanju različnih materialov, preučevanju struktur in fragmentov pri velikih povečavah.

**KLJUČNE BESEDE:** vrstična elektronska mikroskopija, SEM, žarki, elektroni, katodoluminiscenca, izvor elektronov, leče

## VRSTIČNI ELEKTRONSKI MIKROSKOP – SEM

Ko elektronski žarek zadane material, na njegovi površini potečejo določene pretvorbe (reakcije). Energija primarnih elektronov, pridobljenih iz elektronske puške, se prenese na elektrone vzorca. Ob stiku žarka z materialom se sproščajo t.i. *Augerjevi* oz. sekundarni elektroni (SE) ter povratno-sipani elektroni (BSE). Ob omenjenem stiku se sprošča tudi elektromagnetno valovanje (EM), v razsežnosti od IR, vidne svetlobe, UV, do žarkov X.



Slika 1: Sproščeni žarki ob trku primarnega elektrona z vzorcem (Prirejeno po: <https://www.hzdr.de/db/Cms?pOid=45259&pNid=67>)

Slika 1 prikazuje vsa sevanja, ki se zgodijo in sprostijo ob trku. Sevanju svetlobe pravimo tudi *katodoluminiscenca*. Sekundarni elektroni (SE) so tisti elektroni, ki so bili v atomu in so ga zaradi neelastičnih trkov (trk je nepopolen, energija se pretvori v notranjo energijo) s primarnimi elektroni zapustili. Do opisanega pride na površini vzorca, zato z njimi določamo relief. Do

emisije *Augerjevih* elektronov pride zaradi t.i. *Augerjevega efekta*. Ko primarni elektron trči v elektron, orbitale bližje jedru, le-ta zapusti atom in pusti prosto mesto. Prosto mesto zasede elektron iz višje orbitale, pri tem se energija sprosti s sprostitvijo fotona v obliki elektromagnetnega valovanja, ali pa se energija prenese na zunanji elektron (*Augerjev* elektron), ki zapusti atom. Povratno sipani elektroni (BSE) se sprostijo, ko pride znotraj vzorca do elastičnih trkov med elektroni. BSE se v nadaljevanju vrnejo nazaj na površje.

Vse omenjene oblike sevanj so zelo pomembne za nadaljnje kemijske analize. Eksaktni prehod primarnih elektronov v vzorec lahko določimo ob uporabi t.i. *metode Monte Carlo*. Pri opisani metodi gre za numerično simulacijo, ki ob velikem številu naključnih dogodkov lahko izbere tiste, ki ustrezajo določenemu izbirnemu kriteriju. Če na primer izbiramo naključne točke iz ravnine kartezičnega produkta  $(0, 1) \times (0, 1)$ , kot kriterij za ločitev med točkami pa opazujemo vsoto  $x^2 + y^2$ , lahko hitro dobimo dobro aproksimacijo za Ludolfovo število. Z nekaj osnovne matematike se prepričamo, da razmerje med točkami, katerih vsota je manjša ali večja od 1, konvergira proti eksaktni vrednosti  $\pi$ . Na podoben način se tovrstne simulacije uporabljajo tudi v napovedovanju trajektorij sipanih elektronov pri SEM mikroskopiji. S prilagajanjem parametrov lahko najdemo najbolj ugodne eksperimentalne pogoje za želene elektronske prehode.

Za povratno sipane elektrone je značilno, da se njihova gostota povečuje z večanjem atomskega števila. Z opisano lastnostjo lahko določamo kompozicijski kontrast (t.i. Z-kontrast), zaradi katerega lahko ločimo atome z različnim atomskim številom. Potrebno je upoštevati dejstvo, da se gostota BSE spremeni med dvema sosednjima atomoma, ki imata nizko atomsko število, v primerjavi z dvema atomoma z visoko. Omenjene razlike ne moremo povečati tudi, če ojačamo moč žarka, saj je spodnja mejna vrednost pri 1 keV. Pod slednjo pride do drugih vrst sevanj z manjšo energijo.

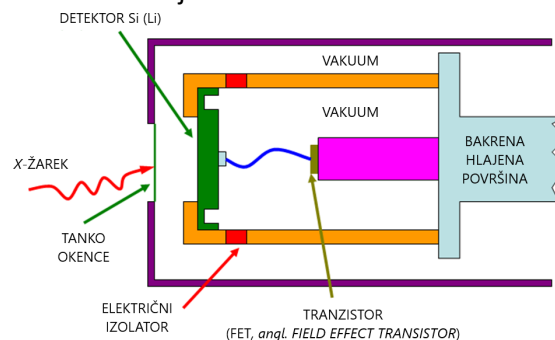
Za razliko od BSE, pride pri SE do neelastičnih trkov, saj se energija v celoti ne prenese iz primarnega elektrona na sekundarnega. Za emisijo le-teh potrebujemo mnogo manj energije, zadošča že 50 eV. Pri tako majhni energiji se BSE skoraj ne sproščajo. Če se SE elektron odbije od ravne površine, je njegova intenziteta manjša, kot, če se odbije od krive površine. Zradi omenjenega so le-ti elektroni primerni za določanje reliefa. Robovi na sliki so vedno svetlejši, saj sekundarni elektroni v bližini roba lažje uhajajo iz vzorca.

V vsakem izmed atomov (v odsotnosti primarnih elementov) prihaja do naključnih prehodov elektronov, pri tem se lahko energija sprosti v obliki žarkov X, zato atom konstantno seva. Opisani vrednosti pravimo kontinuirana vrednost in je mnogokrat premajhna, da bi jo lahko izmerili. Če atom vzbujamo s primarnim elektronom, se sevanje žarkov X znatno poveča – dobimo karakteristične žarke. Pri analizi vzorca nas kontinuirani žarki ne zanimajo, zato so motilci in jih je potrebno eliminirati. Pri prehodu posameznega elektrona je pomembna tudi zamenjava števila orbital. Več kot jih zamenja, višjo energijo bo imel žarek X. Ker ima vsak atom specifično število orbital, ima posledično drugačno energijsko vrednost, pri kateri pride do emisije žarkov X. Dejstvo lahko s pridoma izkoriščamo za elementarno analizo vzorca. Ker lahko pride do prehoda elektrona iz različnih orbital, je možnih več energijskih vrednosti za prehod, ki so vsekakor specifične za posamezni element.

Za merjenje žarkov X se v splošnem uporabljata EDS- (Slika 2) in WDS-detektorja. EDS (*angl. Energy-Dispersive X-Ray Spectroscopy*) sestavlja

polprevodniški detektor iz silicija, s primesmi fosforja in bora. Detektor je sestavljen iz *p*-sloja (primanjkljaj  $e^-$ ) in *n*-sloja (presežek  $e^-$ ). Pri tem je *p*-sloj zaradi prevodnosti na zunanji strani prevlečen z zlatom. Ko žarek zadane *p*-sloj, se poveča primanjkljaj  $e^-$ , zaradi česar se ustvari potencial, ki ga v nadaljevanju vezje ojača. Detektor WDS (*angl. Wavelength-Dispersive X-Ray Spectroscopy*) za razliko od EDS deluje na principu kristalov, ki žarek preusmerijo na detektor, saj le-ta meri valovno dolžino. V splošni uporabi se zaradi svoje učinkovitosti bolj uporablja EDS detektor.

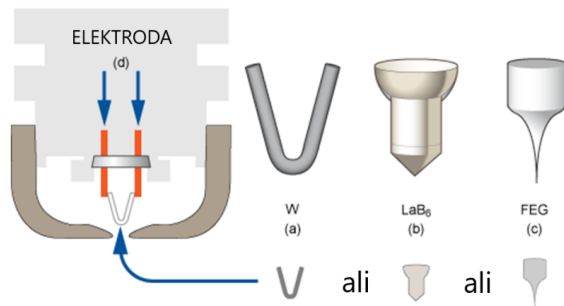
Poznamo nekaj načinov kemijske analize z X-žarki – opazujemo lahko točko, linijo ali celo površino vzorca. Elementarno analizo lahko izvedemo le z opazovanjem točke, kjer lahko spreminjamo energijo elektronskega žarka. Tovrstna analiza je kvantitativna. Če opazujemo celotno površino elektronskega žarka, ne spreminjamo energijske vrednosti, dobimo le kvalitativne podatke, saj merimo zgolj kontinuirane žarke. Poleg X-žarkov nas pri elementni analizi zanimajo tudi BSE in nekateri drugi parametri. Vse omenjene parametre so skozi zgodovino poskušali združiti/sklopiti z različnimi tehnikami. Danes že obstaja tabela elementov in njihovih standardnih koeficientov.



Slika 2: Struktura EDS (Prirejeno po: <http://www.globalsino.com/EM/page3923.htm> | Internet Explorer)

## ELEKTRONSKA PUŠKA

Uporablja se več vrst elektronski pušk (Slika 3), katere se med seboj ločijo v toku, ki ga producirajo, stabilnosti le-tega in njihovi življenjski dobi. Starejši SEM instrumenti so kot termični emiter uporabljali volfram (W) ali LaB<sub>6</sub>.



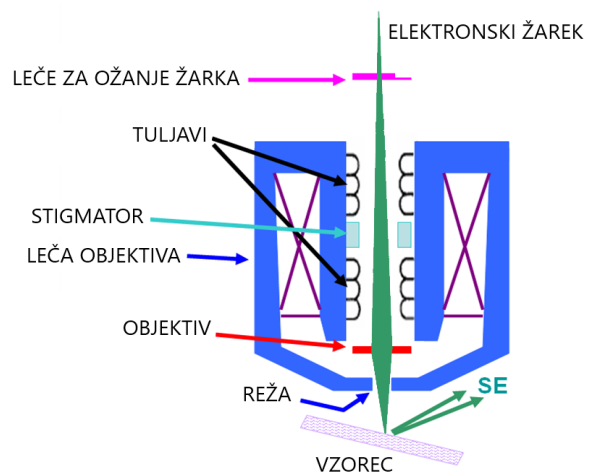
Slika 3: Različne izvedbe elektronske puške  
(Prirejeno po:  
[https://myscope.training/#/SEMlevel\\_3\\_4](https://myscope.training/#/SEMlevel_3_4))

Novejši instrumenti so opremljeni z virom emisije Schottky-jevega polja (*angl. Schottky Field Emission Source*), ki ima izboljšane nekatere lastnosti. V osnovi je elektronska puška sestavljena iz volframove žičke, ki služi kot katoda (negativni potencial), Wehneltovega cilindra, s katerim kontroliramo jakost toka in anode (pozitivni potencial), s katero pospešimo električni tok. Na vse tri dele vodimo določen potencial, razsežnosti od 0,1 do 30 kV. Pri večjem potencialu primarni elektroni prodrejo globlje v vzorec, in obratno. Pri tem na anodo vodimo pozitiven potencial, ki je ozemljen na volframovo nitko, negativen potencial in, na Wehneltovega cilindra, še nekoliko bolj negativen potencial. Izvor elektronov je torej na katodi oz. filamentu, ki je oblikovan v obliki črke V, skozi katerega teče električni tok, da se segreje od 2000 do 2700 K. Ko se katoda segreje, začne sevati termoelektrone. Wehneltovega cilindri je povezan s katodo preko upora, zato zajema nižji potencial. Z njim fokusiramo elektrone oz. spreminjamo njihovo jakost. Ko elektroni prehajajo skozi cilindri, se žarek najprej zoži na 15  $\mu\text{m}$ , nato se na poti proti anodi ponovno razširi. Anoda je izrazito pozitivna, zato elektroni pospešeno prehajajo skozi luknjico, v njej.

### LEČE V SEM

Običajno SEM vsebuje dve do tri leče, da zoža in fokusira žarek. Leče niso optične, temveč magnetne. Posamezna leča je sestavljena iz bakrene tuljave, skozi katero teče enosmeren tok, ki ustvari simetrično magnetno polje. Elektroni tečejo skozi tuljavo, katera mora biti čim krajša, da se zmanjša gostota magnetnega polja. Da le-tega povečamo, moramo imeti širše navitje. Navitje mora biti izolirano z železom, da je uhajanje polja čim manjše. V notranjosti se nahaja reža, kjer ni železovega izolatorja. Lastnosti elektronskega žarka spreminjamo s

spreminjanjem električnega toka skozi tuljavo. Ko žarek zapusti elektronsko puško, se razširi ter potuje naprej do kondenzorskih leč (Slika 4), ki zmanjšajo njegov diameter. Če je moč žarka velika, se zoža na krajši razdalji, in obratno. Ko se žarek zoža, se pri neki točki (običajno pri gorišču) začne ponovno širiti. Med kondenzorskimi in objektivnimi lečami se nahaja plošča z manjšo luknjico. Če se je žarek ob prehodu skozi prve leče zožil že na kratki razdalji (moč kondenzorske leče je bila velika), se je ob prehodu skozi gorišče na poti proti plošči z luknjico tudi bolj razširil. Zaradi omenjenega je skozi luknjico in naprej, proti objektivnim lečam, prispelo manj elektronov, saj jih je bila večina zaustavljenih. Če je goriščna razdalja daljša (t.j. moč kondenzorske leče manjša), se na poti proti plošči manj razširi, zaradi česar večji delež žarka preide skozi luknjico. S kondenzorskimi lečami torej vplivamo na ožino toka žarka, ki sta obratno sorazmerna. Vloga objektivne leče je, da ponovno zoža žarek do te mere, da je gorišče vidno na površini vzorca.

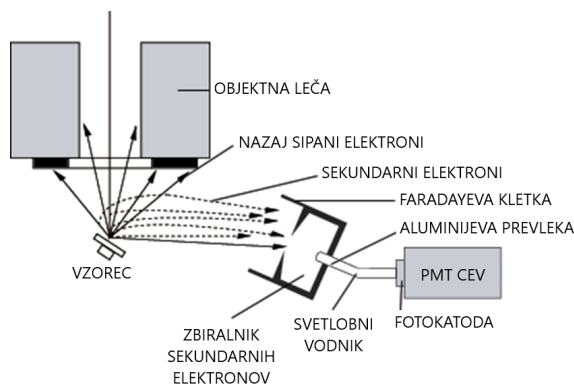


Slika 4: Objektivna leča z defleksijskimi tuljavami  
(Povzeto po:  
<http://www.globalsino.com/EM/page3597.htm>  
Internet Explorer)

Ključnega pomena za ostrino slike je krmljenje objektivne leče. Določeni SEM instrumenti imajo dve zaporedni kondenzorski leči. Ko žarek zapusti objektivno lečo, se le-ta na poti k vzorcu zoža. Nosilec za vzorec lahko krmilimo. Lahko ga premikamo v smeri x- in y-osi ter lahko spreminjamo višino ali z-os. Opisano je izjemnega pomena, saj lahko na tak način izostrimo sliko. Vzorec lahko vrtimo v ravninah X-Y in X-Z. Za opisano potrebujemo zelo natančne motorje, ki jih opravljamo preko računalniško vodene sistema.

## DETEKTOR ZA SEKUNDARNE ELEKTRONE

Namen detektorja sekundarnih elektronov (Slika 5) je zaznavanje količine izsevanih sekundarnih elektronov iz posameznega vzorca. Glavni del detektorja je scintilator, ki je priključen na visoko napetost (10 kV) in privlači sekundarne elektrone. Ko omenjeni elektroni zadanejo scintilator, le-ta začne sevati svetlobo, ki nato potuje po svetlobnem prevodniku do cevi PMT (*angl. Photomultiplier Tubes*), kjer se svetlobni signal pretvori v nazaj v elektrone. Napetostni signal, ki ga ustvarijo, je nato ojačan in nadaljnje procesiran. Oba scintilatorja sta prečno postavljena dva kolektorja (zbiralnika), ki sta priključena na 100 V, katerih vloga je, usmerjanje elektronov v detektor. Detektor, ki deluje na tovrstnem principu se po izumiteljih (*Thomas E. Everhart* in *Richard F. M. Thornley*) imenuje E-T detektor. Večina SEM instrumentov ima E-T detektor postavljen za objektno lečo. Nekateri izmed njih pa vzorec v leči. Energijska vrednost sekundarnih elektronov je majhna, zato le-ti v magnetnem polju začno krožiti v nasprotni smeri, od kjer potujejo primarni elektroni. Sekundarni elektroni tako potujejo navzgor, skozi objektno lečo v detektor. Razlog, da je detektor nad lečo, zavisi v magnetnem polju, ki vpliva le na gibanje SE in ne na BSE, ki imajo večjo moč. Takim detektorjem pravimo TTL detektorji (*angl. Throug The Lens*). Pod objektno lečo se nahajajo tudi detektorji za BSE, X-žarke in svetlobo.



Slika 5: Sestava SE detektorja (Prirejeno po: <https://cmrf.research.uiowa.edu/scanning-electron-microscopy>)

Izmerjena intenziteta SE se sinhrono prikazuje na uporabniškem vmesniku (monitor). Na mestih, kjer je bilo zaznanih več SE, je svetlost večja. Skeniranje poteka z različno hitrostjo. Višja hitrost je primerna za opazovanje, nižja pa za shranjevanje slik. Skeniranje poteka tako, da se

žarek premika v vrstah in vsaki vrsti 1000-krat izmeri vrednost. Ker naredi tudi 1000 vrst, je tako običajna ločljivost slike en megapiksel (1 Mp). Povečava mikroskopa je odvisna od širine skeniranega kvadrata. Manjša kot je širina, večja je povečava. Vsekakor povečava ne more biti poljubno velika, saj ima elektronski žarek na vzorcu določeno širino. Med skeniranjem vzorca se mora žarek premakniti vedno za najmanj širino žarka. Če se omenjeno ne zgodi, se točke, ki jih skenira, med seboj začno prekrivati. Posledično lahko dobimo nejasno sliko. Prav tako na kakovost slike vpliva tudi globina ostrenja. Vzorec, ki ga skeniramo ima določen relief in je redko povsem raven. Tako je razdalja med točkami na vzorcu in objektno lečo, na različnih mestih, drugačna. Na različnih mestih je različna tudi širina žarka. Na bolj oddaljenih mestih je širina večja, saj je bolj oddaljena od gorišča (ki je praviloma na vzorcu). Na tem mestu igrajo veliko vlogo tudi objektne leče – če leče snopa ne zožajo pod majhnim kotom, bodo napake večje, saj se žarki, pod večjim kotom od gorišča, naprej hitreje širijo. Velik kot žarka je potreben pri večjih povečavah, saj pri le-teh zaznamo enaka odstopanja v reliefu. Ob skeniranju se žarek premika po vzorcu. Premikanje dosežemo z dvema paroma tuljav v objektni leči. En par tuljav usmerja žarek k osi *x*, medtem, ko drugi par v smeri osi *y*. V primeru, da se vzorec nahaja v objektni leči, so omenjene tuljave nad lečo, v kateri je vzorec oz. pod kondenzorsko lečo.

Elektronski mikroskopi nam omogočajo opazovanje predmetov na povečavah, višjih od najboljših optičnih mikroskopov, ki za učinkovito mikroskopiranje sežejo le do 1000-kratne povečave. Omenjeno velja, saj imajo elektroni do 100.000-krat manjšo valovno dolžino od fotonov, ki sestavljajo vidno svetlobo. Zaradi uporabe elektronskega curka imajo elektronski mikroskopi veliko boljšo ločljivost in povečavo (tunelski elektronski mikroskop celo do velikosti posameznih atomov). Izvor elektronov je na vrhu stolpa v mikroskopu. Tam se nahaja volframova žička, ki s segrevanjem proizvede snop elektronov. Na poti nazaj, do vzorca, prehaja snop elektronov skozi serijo leč, ki ga fokusirajo. Bolj kot je snop ozek, manjša je točka na vzorcu, ki jo obseva. Opisani velikosti pravimo velikost točke ali *angl. spot size*. Ko je snop izostren, ga tuljava odbije na *x*- in *y*-os, namenjeni skeniranju vzorca po linijah (*angl. Raster Scanning*). Na samem dnu stolpa se nahaja komora za vzorec. Vključno s stolpom in virom elektronov mora biti

pred mikroskopiranjem vzpostavljen vakuum. Od vrste mikroskopiranja je odvisno ali je vakuum visok ali nizek. Za manjše povečave se uporablja nizek vakuum, za večje pa visok. Komora, v kateri se nahaja vzorec, na nekoliko dvignjeni polici, vsebuje senzorce za toploto ter optične kamere, ki dajo vpogled v dogajanje okolice vzorca, ter omogočajo premikanje delovnega sistema, na katerem je vzorec po  $x$ -,  $y$ - in  $z$ -oseh. Ker so za delovanje SEM-a nujno potrebni elektroni, je pomembno, da je vzorec, ki ga opazujemo, električno prevoden. Na ploščat aluminijev cilindar nalepimo dvostranski trak iz čistega ogljika. Na preostali del traku pa z lepljenjem namestimo neobdelan vzorec. V nadaljevanju aluminijev cilindar namestimo v kovinski nosilec, kjer ga zavarujemo z vijaki. Nosilec tako pritrdimo na ploščo, ki jo potisnemo v komoro, jo zapremo ter evakuiramo. Za opazovanje na višjih povečavah moramo vzorce še dodatno obdelati. Običajno jih naprašimo s prahom zlata (Au), ki prepusti tok elektronov. Napraševanje se dogaja v ločeni napravi in traja do 5 minut. Po identičnem postopku vzorec namestimo v komoro, le, da v tem primeru komoro evakuiramo do visokega vakuuma.



Slika 6: SEM instrument na Paleontološkem inštitutu Ivana Rakovca, ZRC SAZU (Vir: Samo Košir, v sodelovanju z Adrijanom Koširjem)

## VIRI

1. SEM, Scanning Electron Microscope A To Z, Basic Knowledge for Using The SEM, Joel. Dostopno na: [https://www.jeol.co.jp/en/applications/pdf/sm/sem\\_atoz\\_all.pdf?fbclid=IwAR21jklyloNUSGiNDJHu5QpVF3vEELw\\_wTsjZ0\\_2nkVbTIQv\\_pRzbQvR8Nro](https://www.jeol.co.jp/en/applications/pdf/sm/sem_atoz_all.pdf?fbclid=IwAR21jklyloNUSGiNDJHu5QpVF3vEELw_wTsjZ0_2nkVbTIQv_pRzbQvR8Nro) (Spletni vir, citirano: 31.01.2019)
2. Joseph, G., Joseph, M., Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis, 3. Izdaja, Springer Science & Business Media, New York, 2003
3. Kramar, S., Mikroskopija, Priročnik: muzejska konzervatorska in restavratorska dejavnost, Skupnost muzejev Slovenije, zv. 2, 6.3.2., 14 str., 2015. Kot spletni vir dostopno na: [http://www.sms-muzeji.si/ckfinder/userfiles/files/6-3-2-2015\\_p.pdf](http://www.sms-muzeji.si/ckfinder/userfiles/files/6-3-2-2015_p.pdf) (Citirano: 01.02.2019)
4. Sousa, A. A., Hohmann-Marriott, M. F., Zhang, G., Leapman, R. D., Monte Carlo electron-trajectory simulations in bright-field and dark-field STEM: Implications for tomography of thick biological sections, *Ultramicroscopy*, 109, 3, 213-221, 2009
5. Košir, S., Veršnjak, B., (mentorstvo: Jeran, M., Kapun-Dolinar, A.), Karakterizacija koordinacijskih produktov reakcij bakra(II) in niklja(II) z amonijakom in aspirinom kot ligandoma, *Projektno-raziskovalno delo*, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, 2018
6. Vernon-Parry, K. D., Scanning electron microscopy: an introduction, *III-Vs-Review*, 13, 4, 40-44, 2000
7. Bogner, A., Jouneau, P.-H., Thollet, G., Basset, D., Gauthier, C., A history of scanning electron microscopy developments: Towards »wet-STEM« imaging, *Micron*, 38, 390-401, 2007