

Microscopía electrónica

*Microscopía electrónica
de barrido*

Ivana Aguiar – María Eugenia Pérez

Introducción a la microscopía electrónica

Historia

Ernst Abbe: relación matemática entre resolución y longitud de onda

$$d = \frac{\lambda}{2n \operatorname{sena}\alpha}$$

1878

<https://www.microscopeworld.com>
<https://www.microscope.com/>

Richard Zsigmondy: ultramicroscopio
Observación de espécimens por debajo de la λ de la luz

1903

Frits Zernike: Microscopio de contraste de fase (material biológico transparente)

1932

Manfred von Ardenne : Microscopio de electrónico de barrido (SEM).

1937



https://en.wikipedia.org/wiki/Scanning_electron_microscope#/media/File:First_Scanning_Electron_Microscope_with_high_resolution_from_Manfred_von_Ardenne_1937.jpg

Max Knoll y Erns Ruska: Microscopio electrónico de transmisión (TEM)
El uso de electrones mejora la resolución

1938



https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ernst_Ruska_Electron_Microscope_-_Deutsches_Museum_-_Munich-edit.jpg

Gerd Binnig y Heinrich Rohrer: imágenes 3-D de especímenes. Microscopio de barrido por efecto túnel

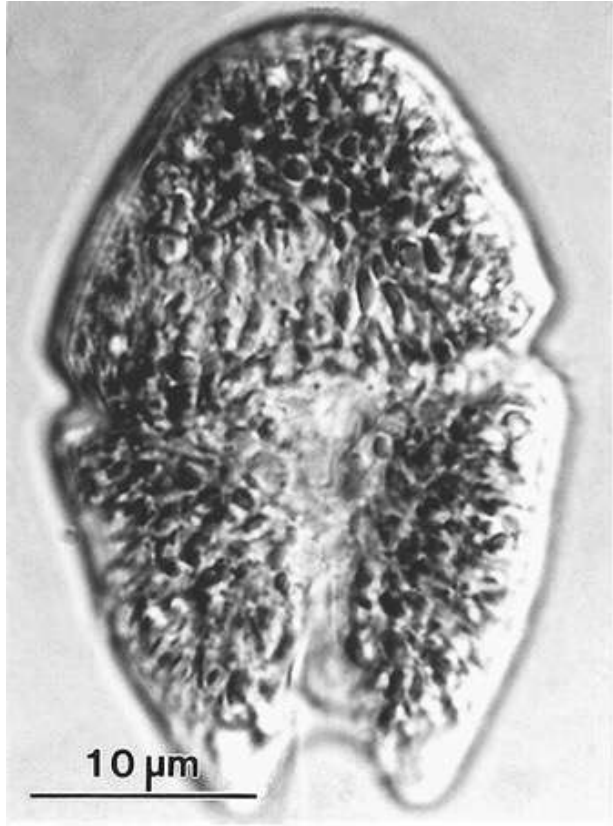
1981

Introducción a la microscopía electrónica

¿Por qué usar electrones?

	Ventajas	Desventajas
Luz visible	No destructivo Enfoque sencillo Ojo: excelente detector	Grandes λ (\approx 400 nm)
Rayos X	Pequeñas λ (Angstroms) Buena penetración	Difícil de enfocar Daña la muestra
Electrones	Pequeña λ (pm) Pueden ser enfocados	Poca penetración Daño a la muestra
Neutrones	Poco daño a la muestra Pequeña λ (pm)	¿Cómo los producimos? ¿Cómo los enfocamos?

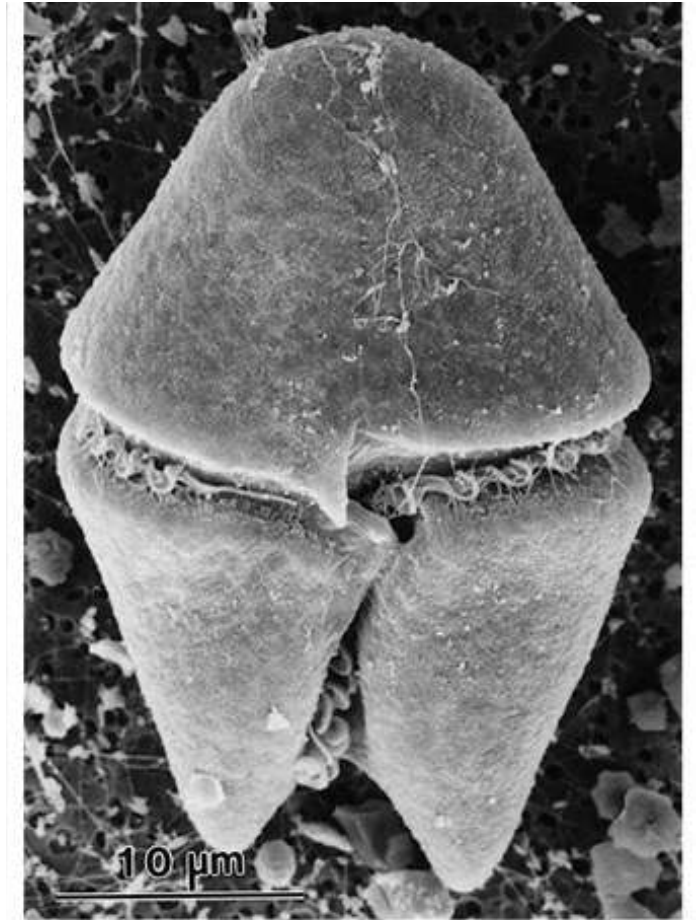
Introducción a la microscopía electrónica



Light



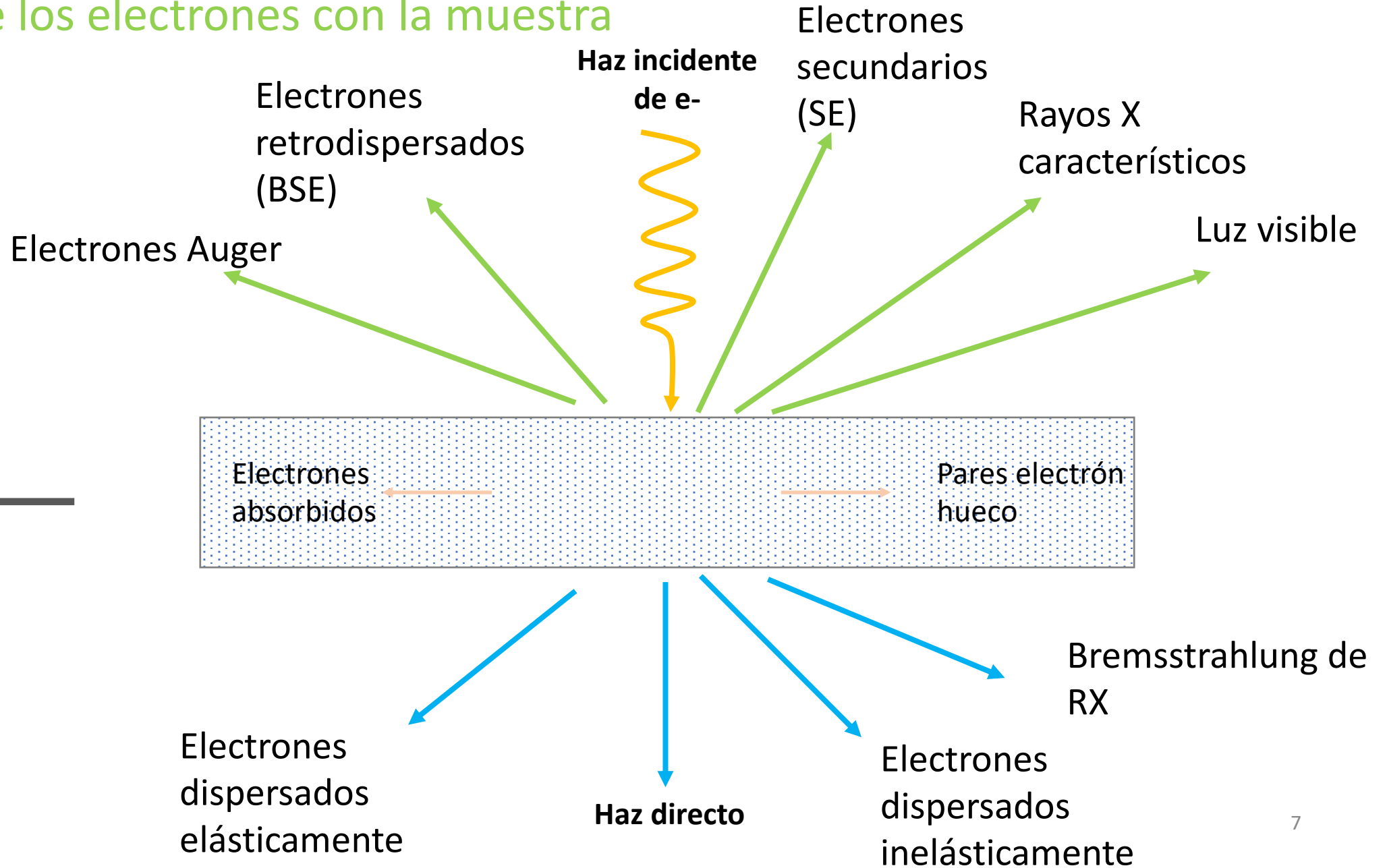
¿Qué diferencias vemos?



SEM

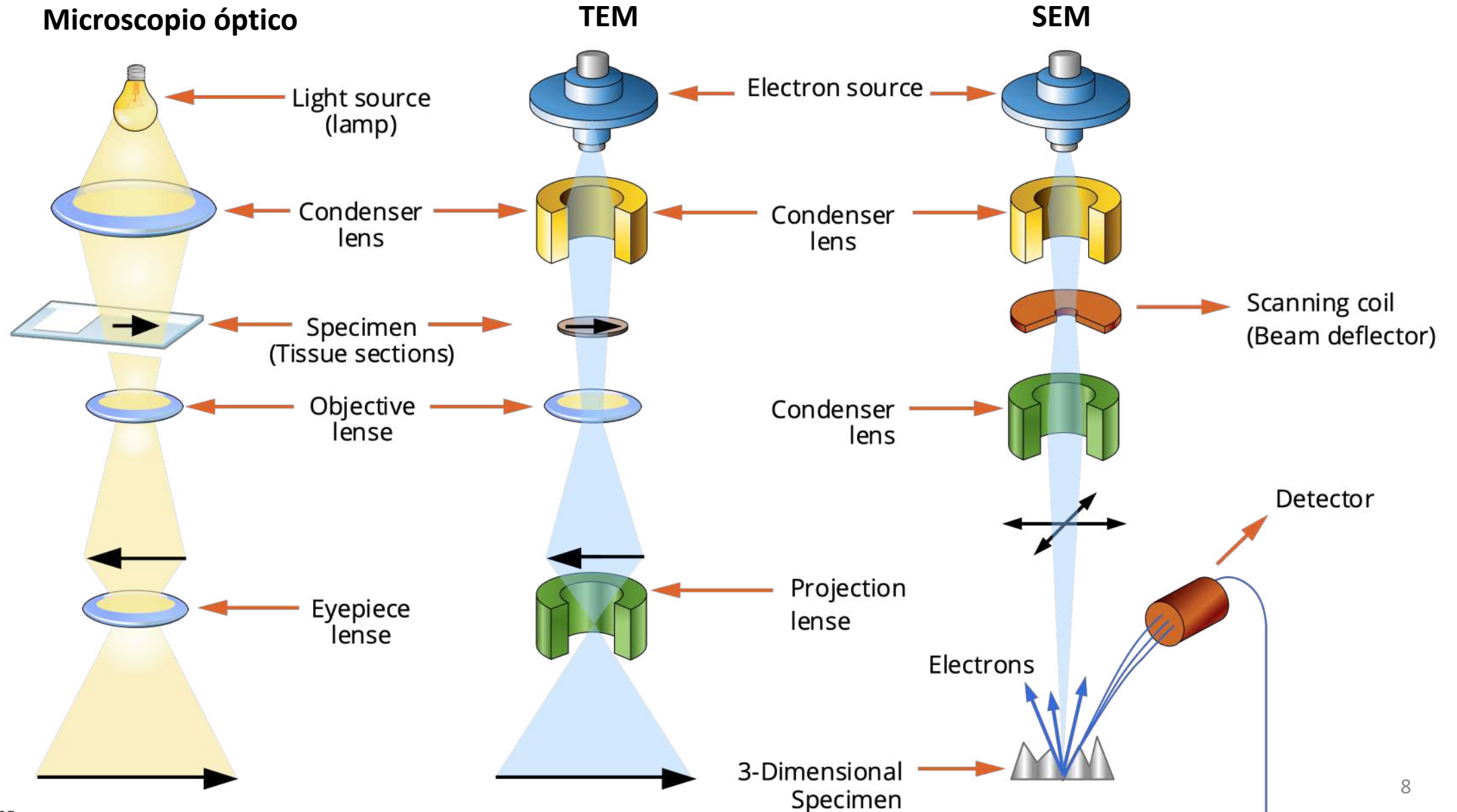
Introducción a la microscopía electrónica

Interacción de los electrones con la muestra



Introducción a la microscopía electrónica

Diagramas microscopio óptico, electrónico de transmisión y electrónico de barrido



Introducción a la microscopía electrónica



MO
Zeiss AxioScope



SEM
Apreo
Thermo Fisher



JCM-7000
NeoScope™
Benchtop SEM

SEM
Zeiss Gemini



Microscopía electrónica de barrido - SEM

Imagen SEM

Construcción (virtual) de un mapa de intensidades del número de electrones eyectados por el material de la muestra

La señal electrónica de cada punto se muestra en una pantalla como una secuencia de pixeles que se construye línea por línea

La intensidad de la señal en cada punto es un reflejo de los electrones generados por la topografía o composición de la muestra

Microscopía electrónica de barrido - SEM

- Puede magnificar un objeto desde 10 hasta 300.000 veces
- Las imágenes no tienen color
- Parecen imágenes tridimensionales
- Muestran solo la superficie (debido a la poca penetración de los electrones)



https://myscope.training/#/SEMlevel_3_1

Microscopia electrónica de barrido - SEM

Usos y aplicaciones

Ciencia de materiales

- Tamaño y morfología de muestras (nanomateriales, bulk, secciones, etc)
- Imágenes composicionales y algunas diferencias de enlace
- Micro y nanolitografía (remover material de las muestras)
- Calentar o enfriar muestras mientras se observan
- Analizar los rayos X provenientes de la muestra (análisis de composición elemental)
- Ver y/o mapear orientación o composición cristalográfica de granos

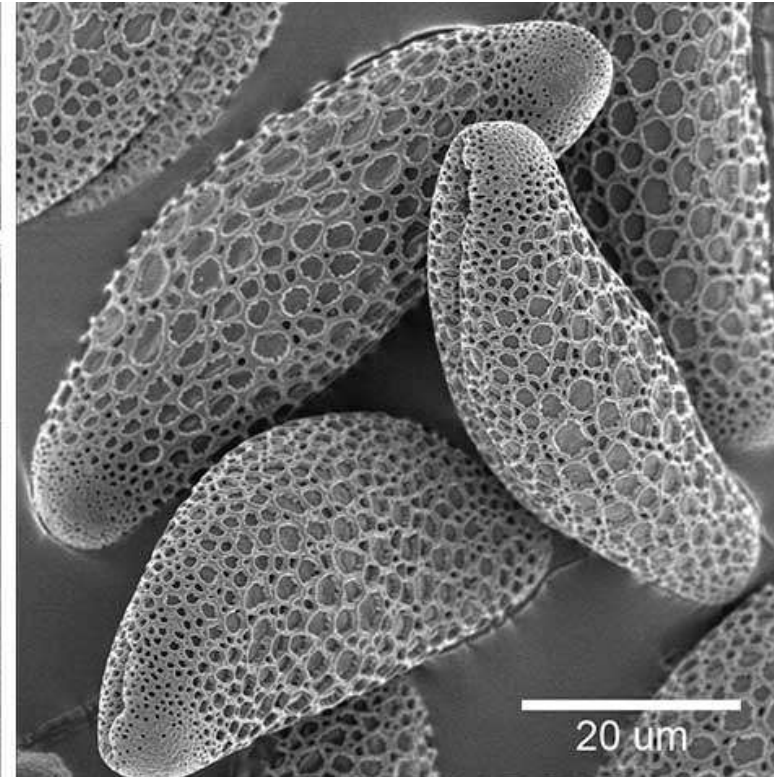
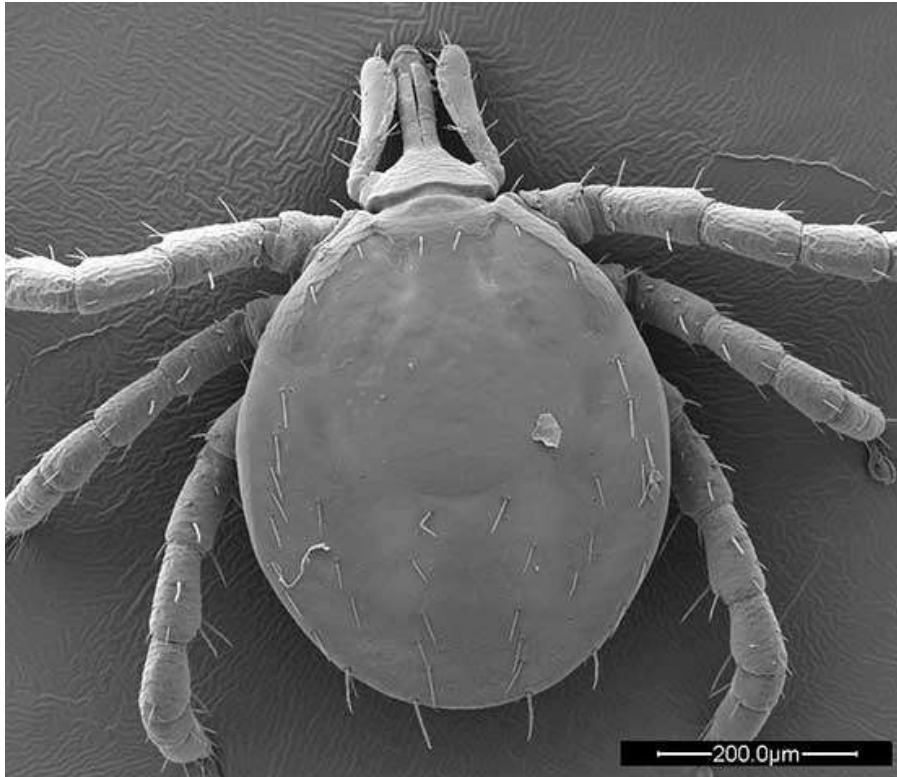
Herramienta clave para investigación fundamental, control de calidad y análisis de falla

Importante! Sirve para casi cualquier tipo de muestra

Microscopia electrónica de barrido - SEM

Usos y aplicaciones

Biología

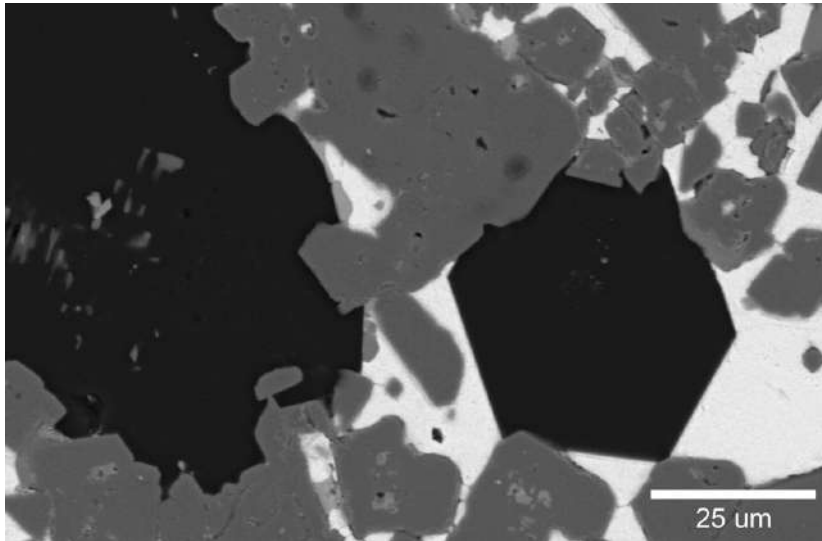


Células, tejidos, bacterias, entomología, taxonomía, etc.

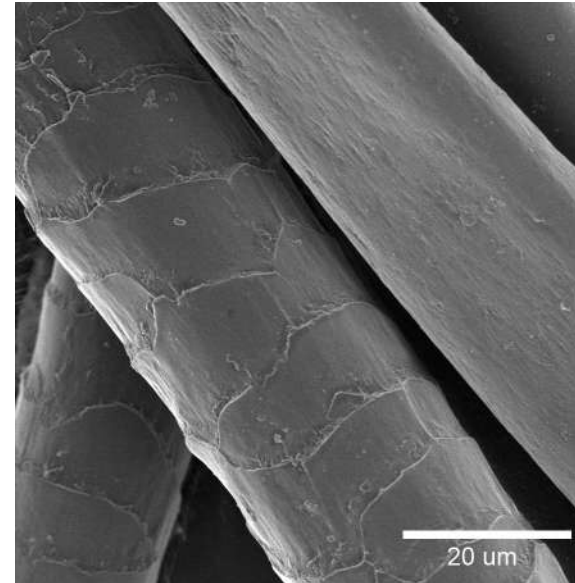
Microscopia electrónica de barrido - SEM

Usos y aplicaciones

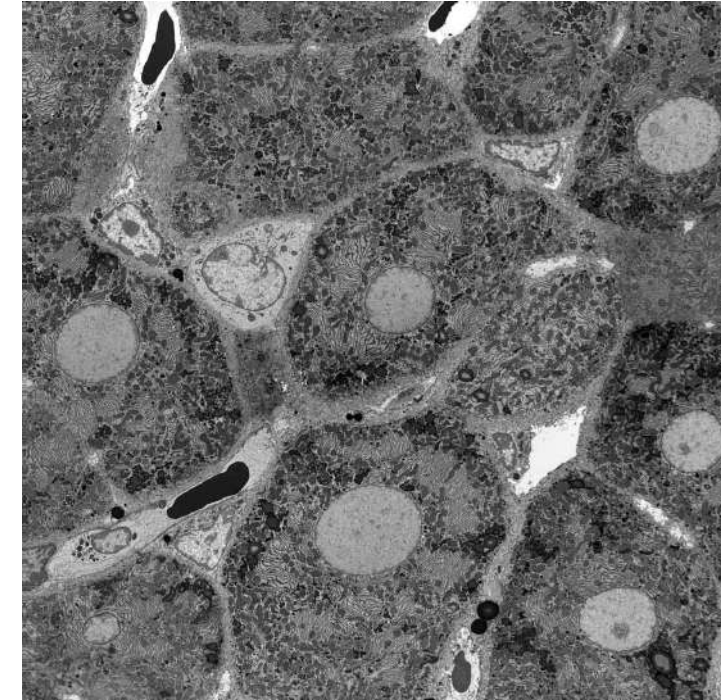
Geología



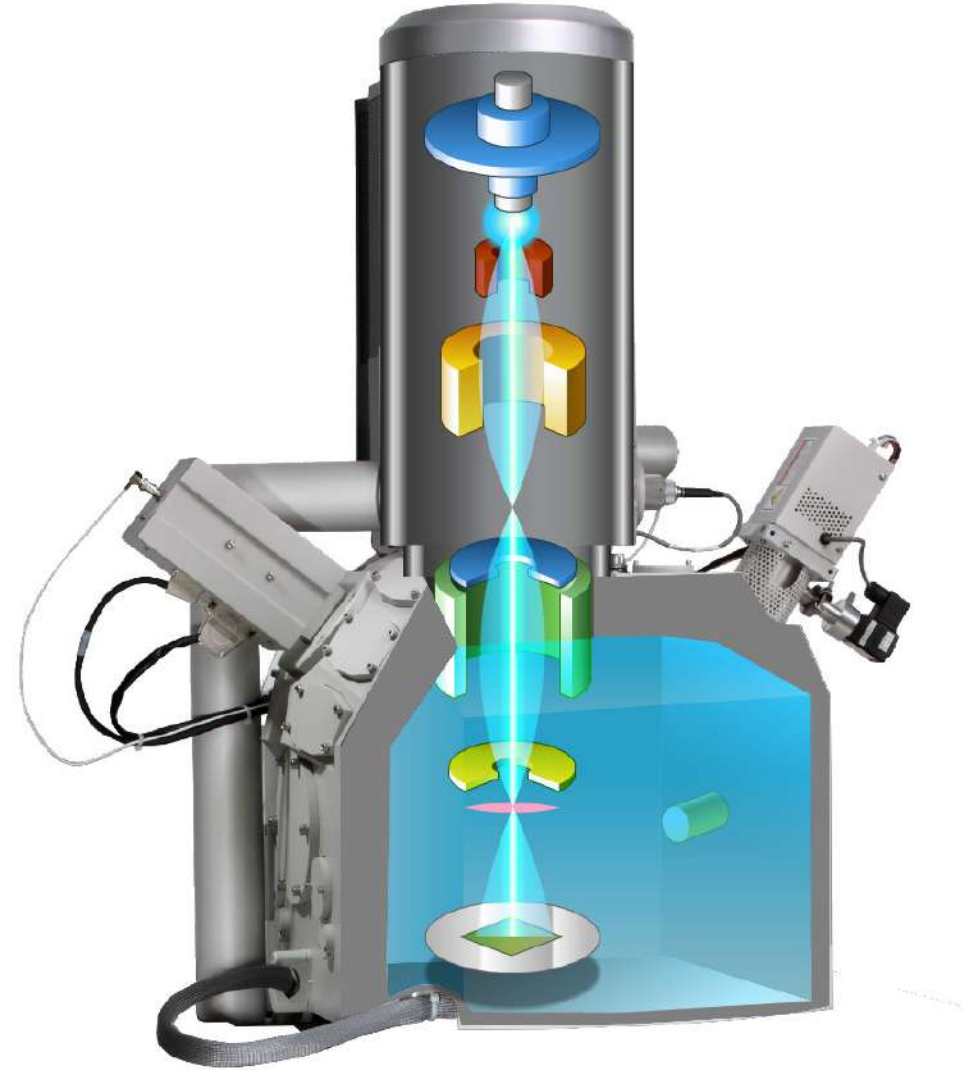
Ciencias forenses



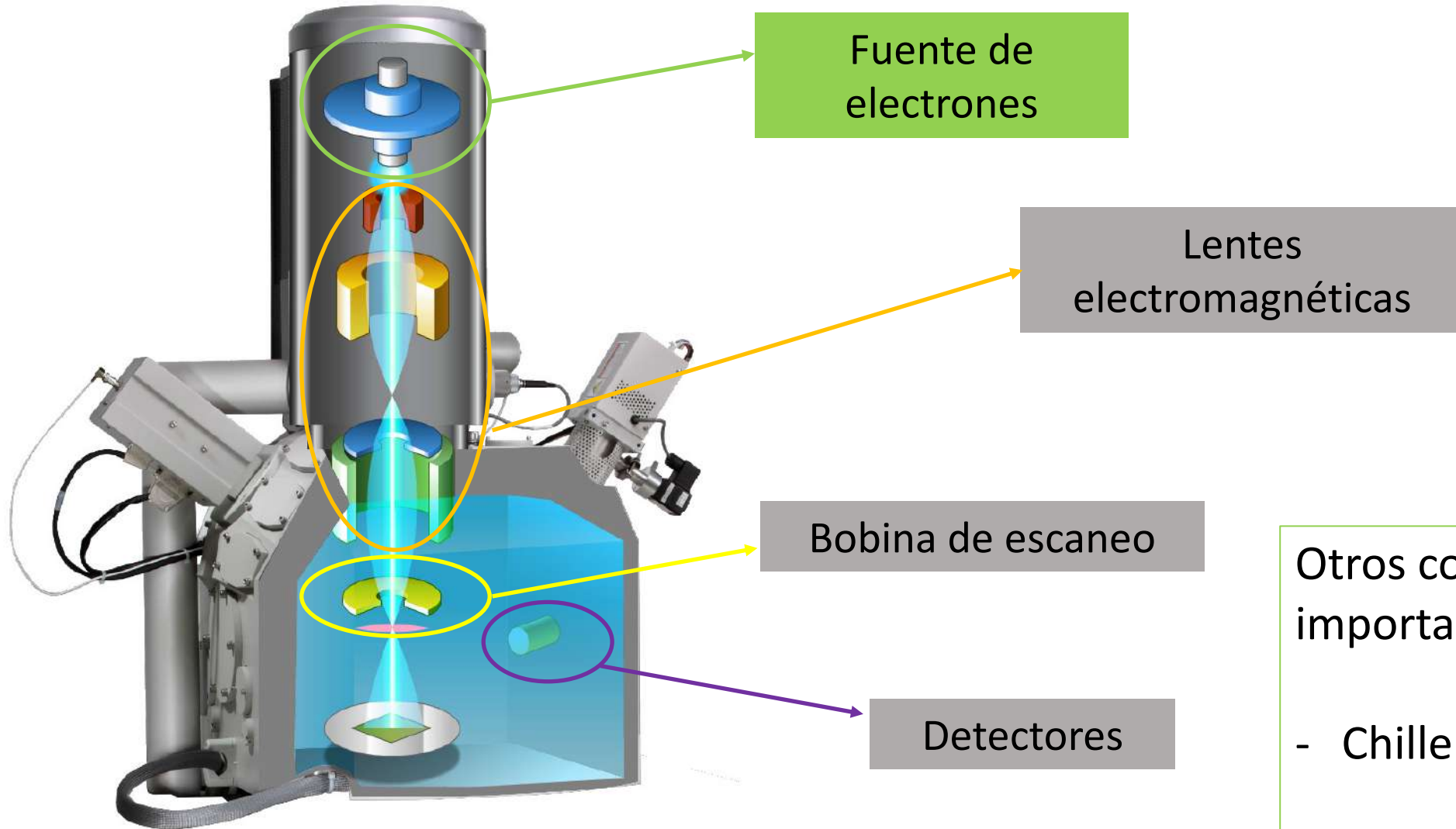
Medicina



Microscopía electrónica de barrido - Componentes



Microscopía electrónica de barrido - Componentes



Otros componentes importantes:

- Chiller
- Sistema de vacío

Microscopía electrónica de barrido - Componentes

Fuente de electrones
Cañón de electrones

Electrones libres

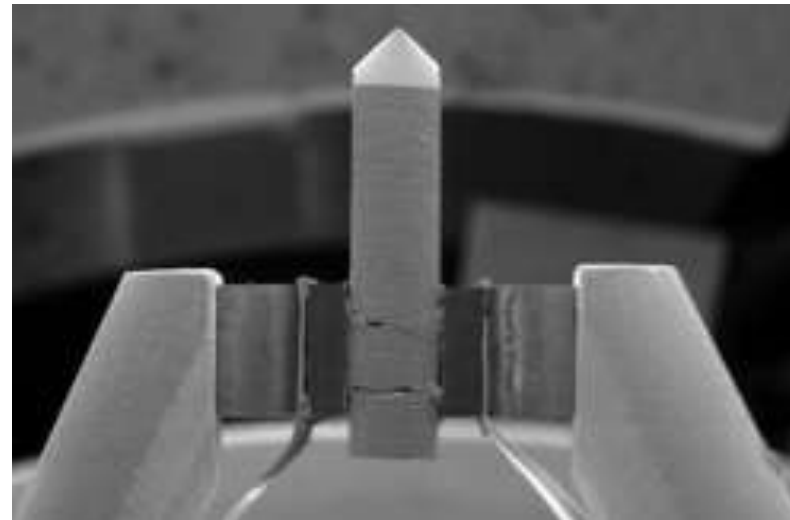
Condensados en un haz estrecho

Aceleración de los e- 1-40 kV (típicamente)



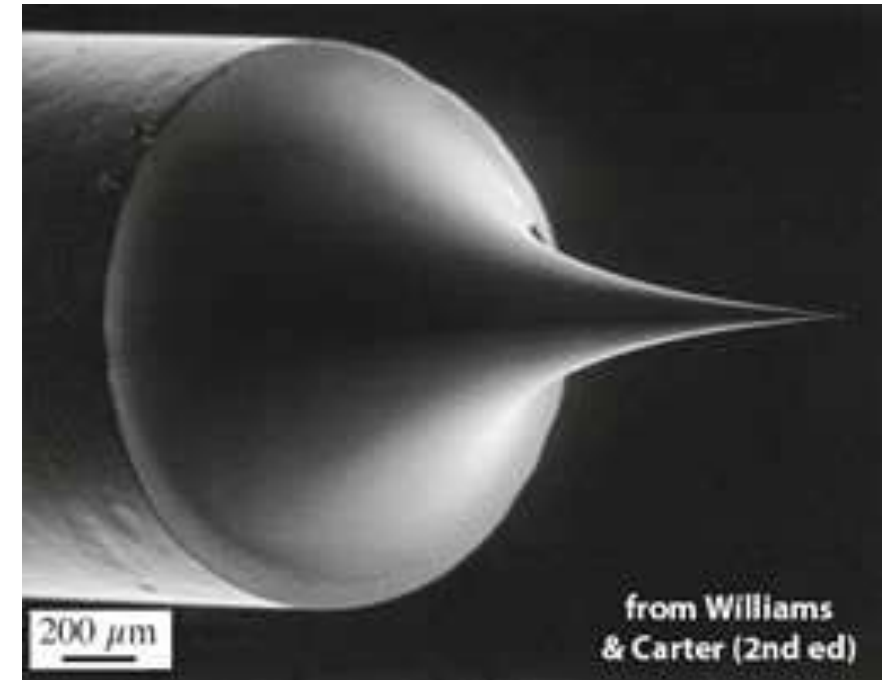
<https://myscope.training>

Filamento de W



<https://www.nanoscience.com/>

Cristal de LaB₆



Williams & Carter

from Williams
& Carter (2nd ed)

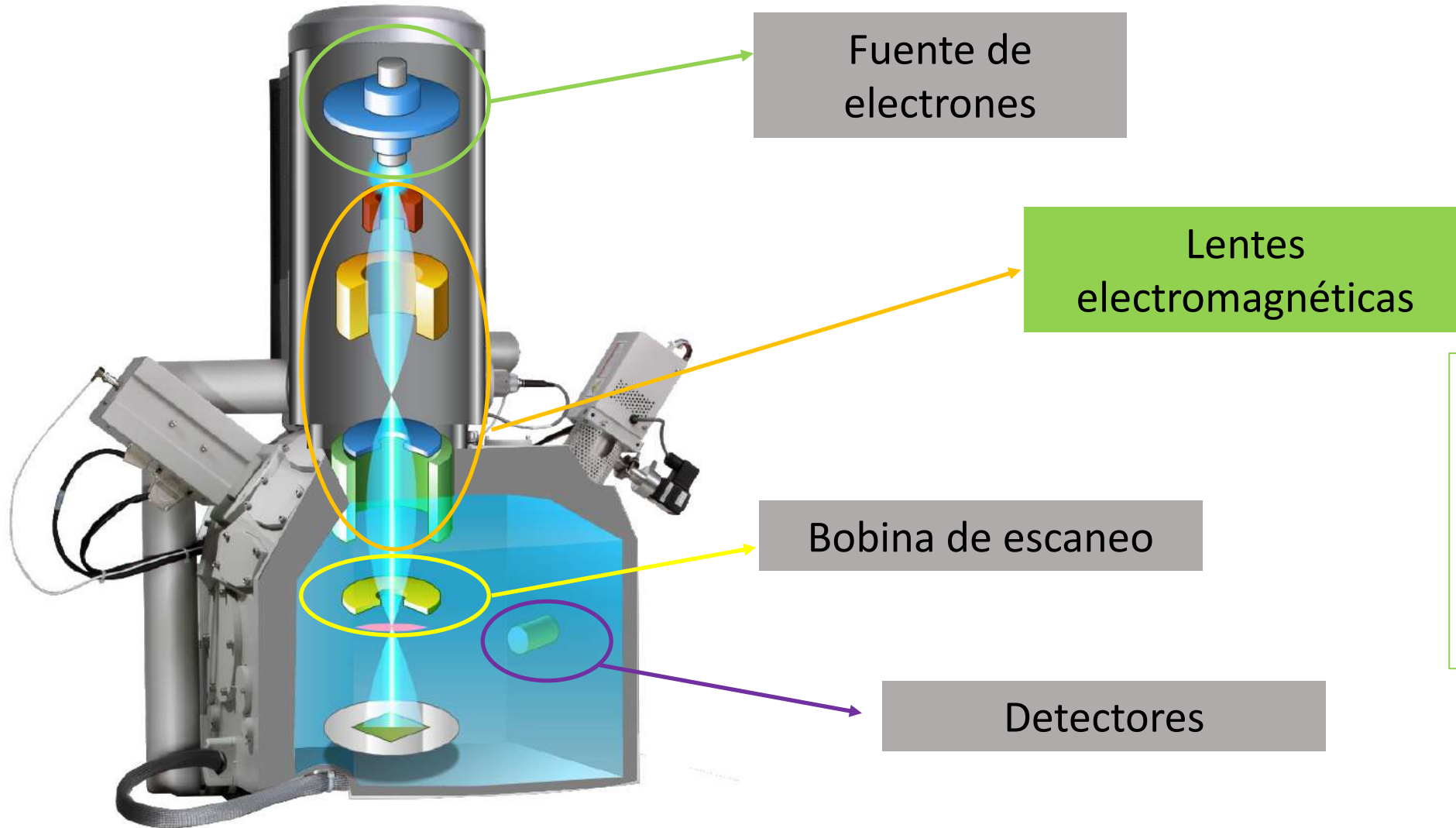
Cristal de W

Microscopía electrónica de barrido - Componentes

Fuente de electrones - Comparación

Cañón de emisión	Termoiónicos		FEG	Schottky
	Tungsteno	LaB ₆	W	W/Óxido de zirconio (cristal)
Diámetro de la fuente (nm)	~15000	~5000	3	15
Brillo (A/cm ² .sr)	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁹	10 ⁸
Resolución (aprox)	3-4 nm	2-3 nm	1-1,5 nm	1-2 nm
Dispersión energía (eV)	1-5 (~2)	0.5-3 (~1.5)	0.2-03	0.3-1.0
Tiempo operación	~50h	~1000h	≥12 meses	~9 meses
Vacío (Pa)	10 ⁻²	10 ⁻⁵	10 ⁻⁷	10 ⁻⁷
Temperatura del cátodo	~2330	~1530	~25	~1430-1530

Microscopía electrónica de barrido - Componentes

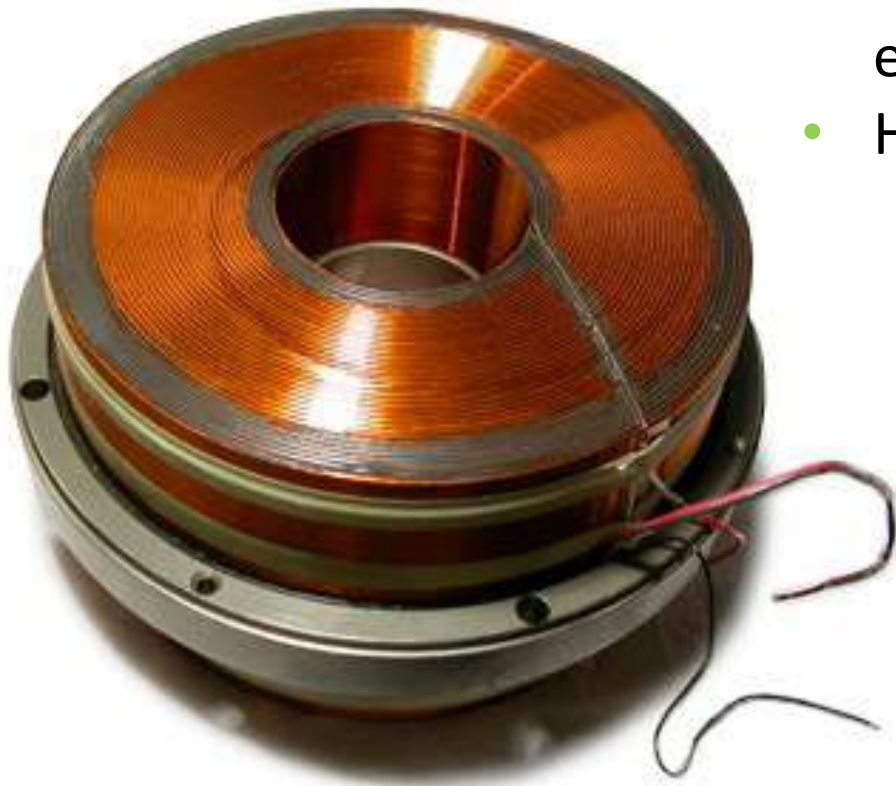


Otros componentes:

- Chiller
- Sistema de vacío

Microscopía electrónica de barrido - Componentes

Lentes electromagnéticas



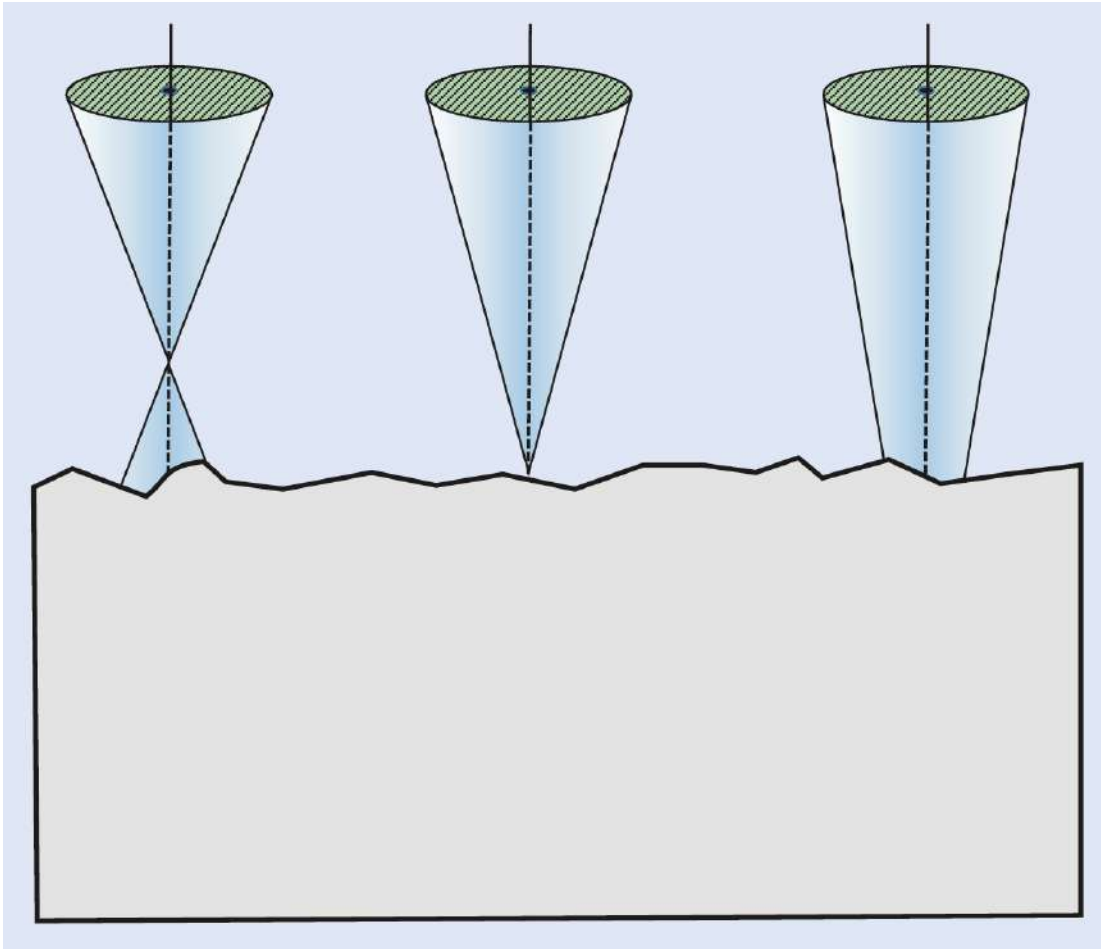
- Reducción y focalizado del diámetro del haz de electrones
- Haz pequeño y enfocado en la muestra

Sistema de lentes:

- Lentes condensadoras
- Lentes objetivas
- Bobina de escaneo

Microscopía electrónica de barrido - Componentes

Lentes electromagnéticas – Lentes objetivas



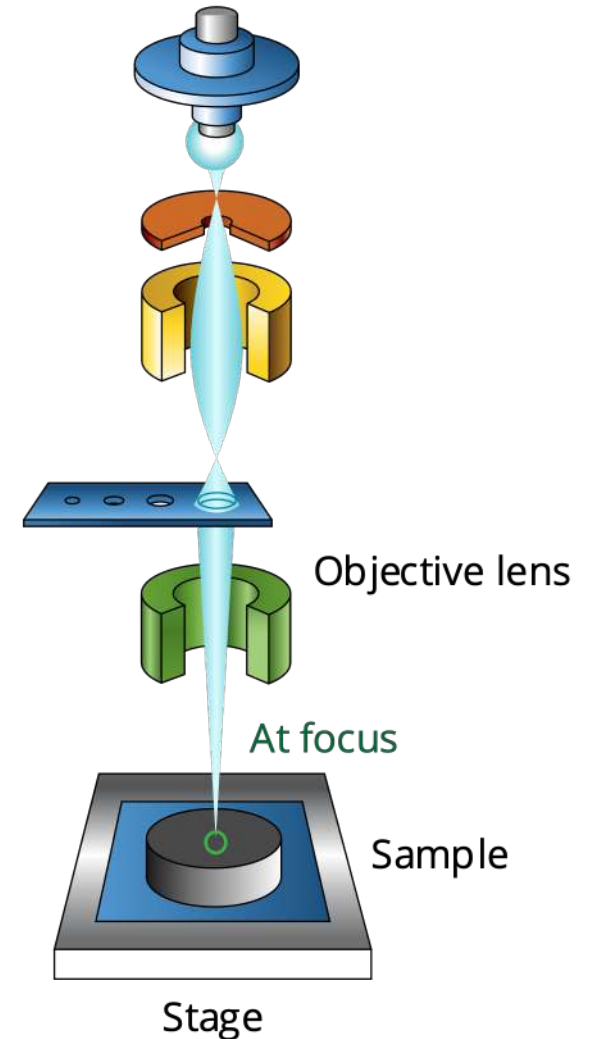
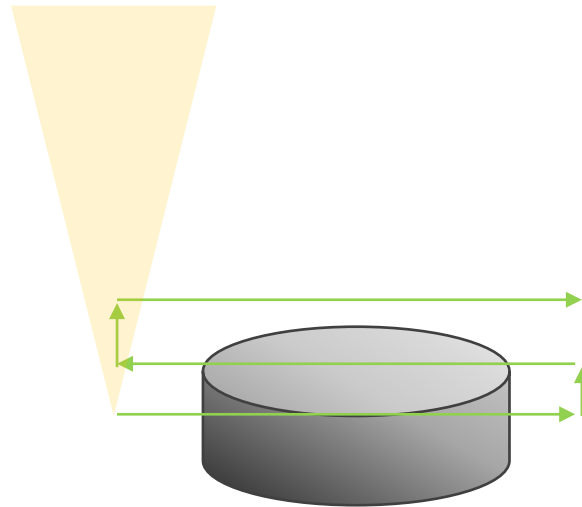
Corriente de la lente objetiva:

- Enfoca el haz sobre la muestra

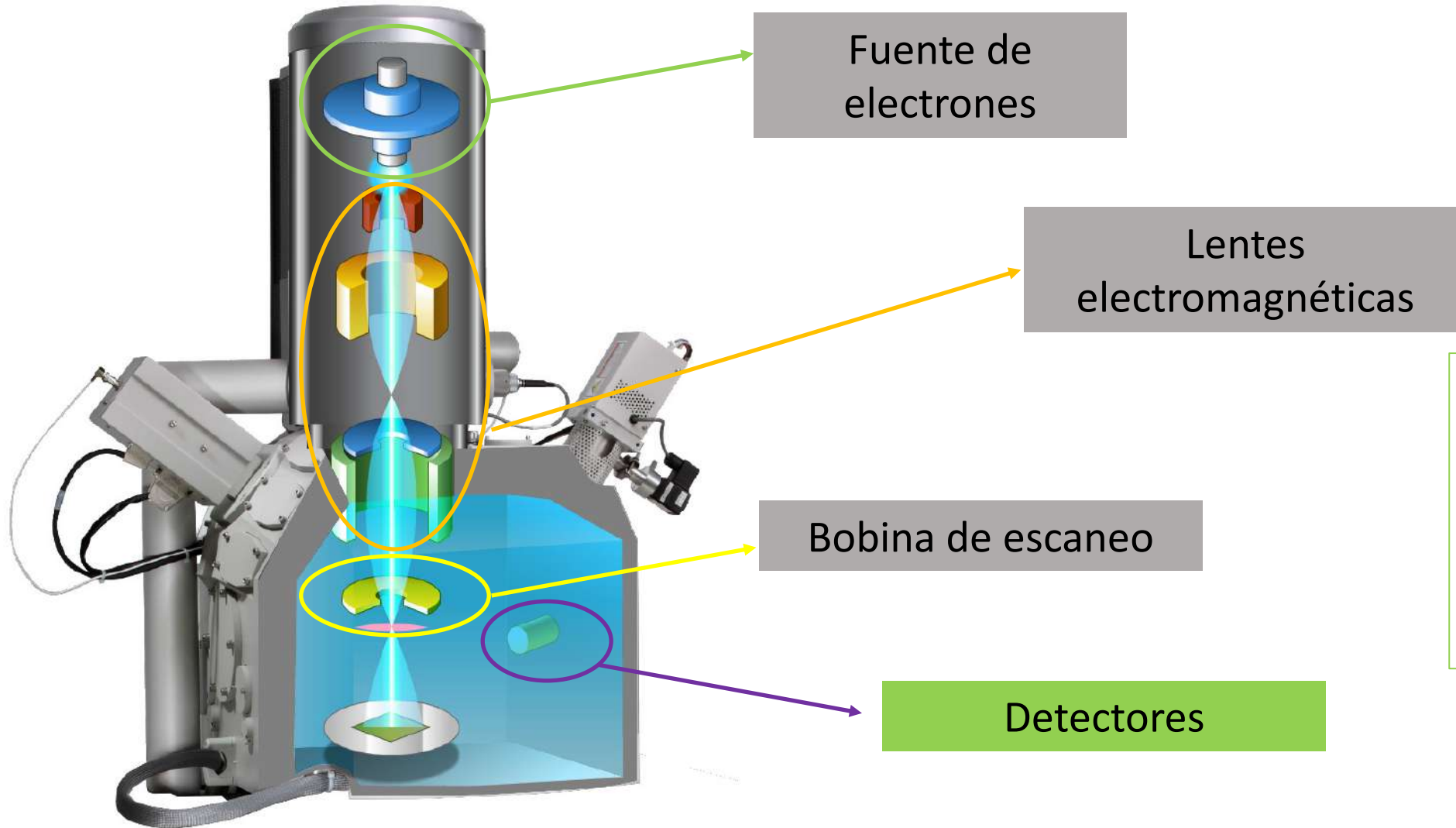
Microscopía electrónica de barrido - Componentes

Lentes electromagnéticas – Bobinas de escaneo

Mueven el haz de electrones horizontal y verticalmente sobre la superficie de la muestra



Microscopía electrónica de barrido - Componentes

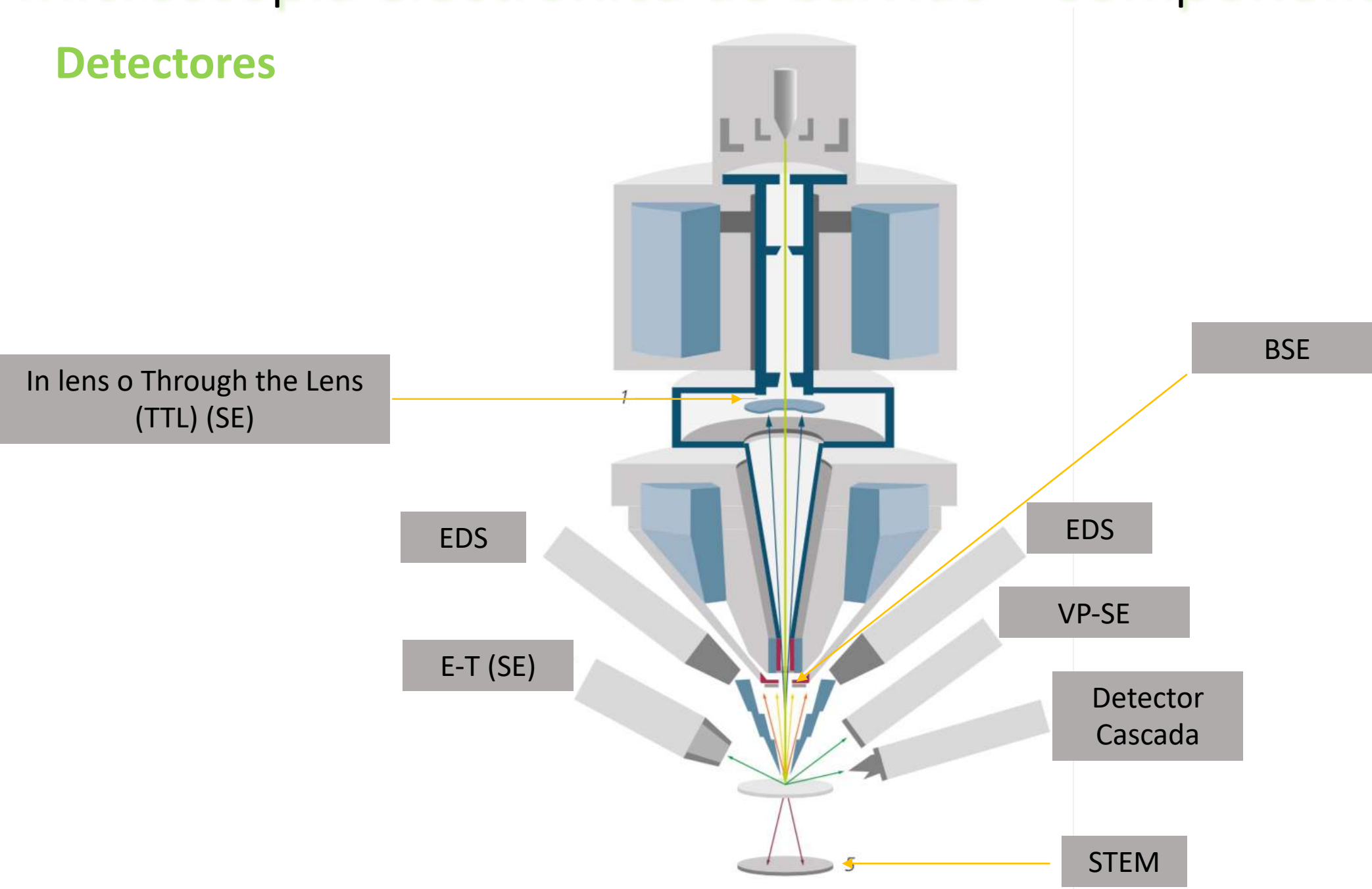


Otros componentes:

- Chiller
- Sistema de vacío

Microscopía electrónica de barrido - Componentes

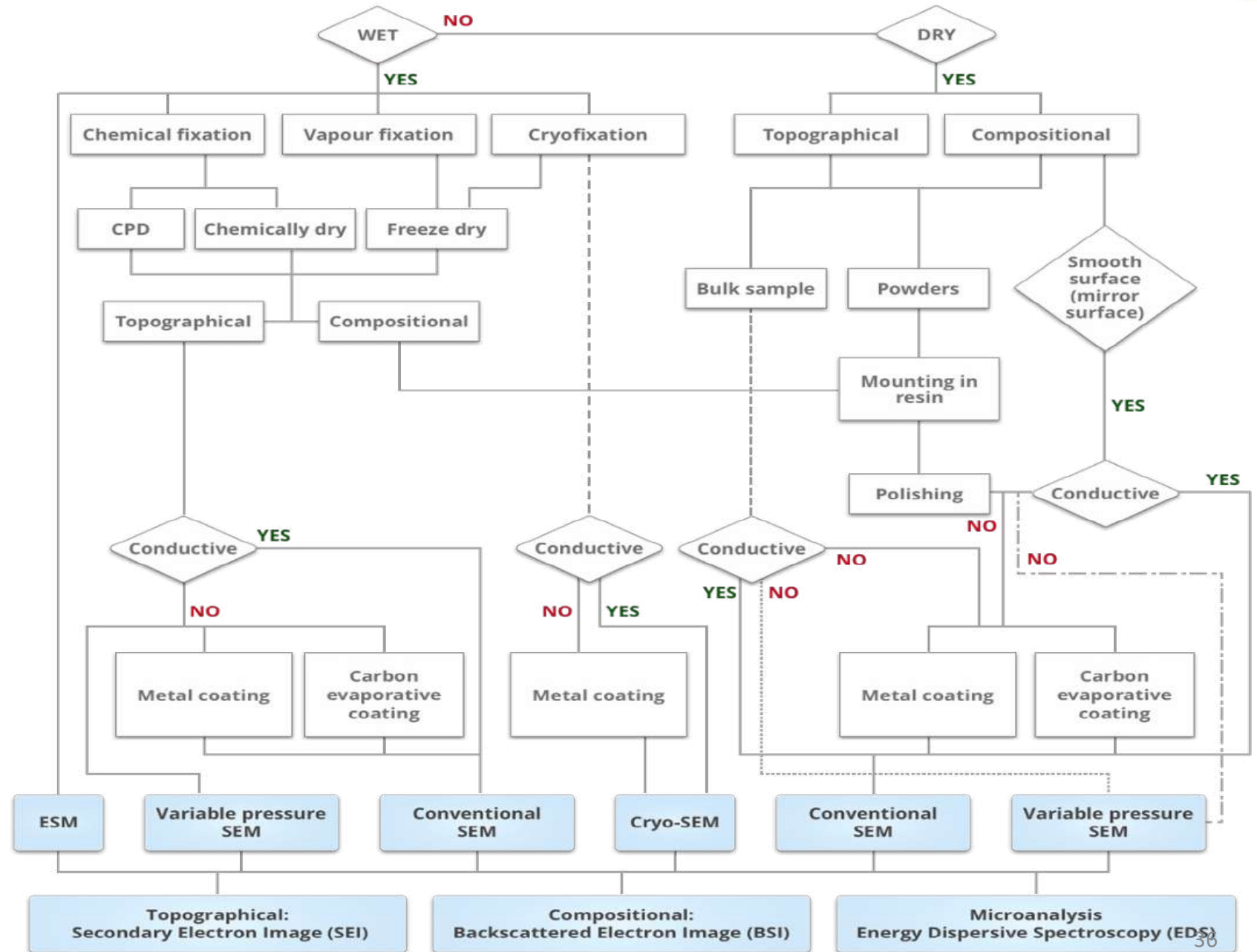
Detectores



Microscopía electrónica de barrido – Formación de imagen

Preparación de la muestra

La obtención de buenos resultados depende de la preparación de la muestra

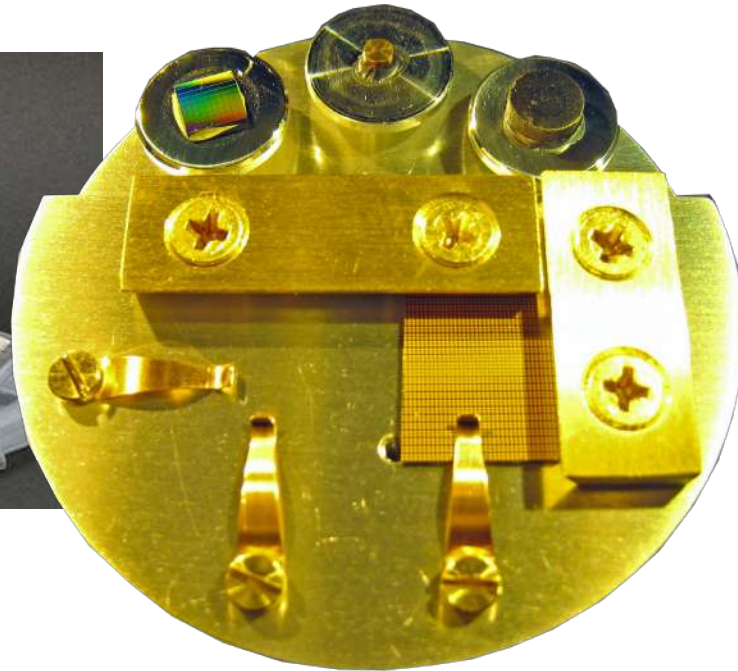


Microscopía electrónica de barrido – Formación de imagen

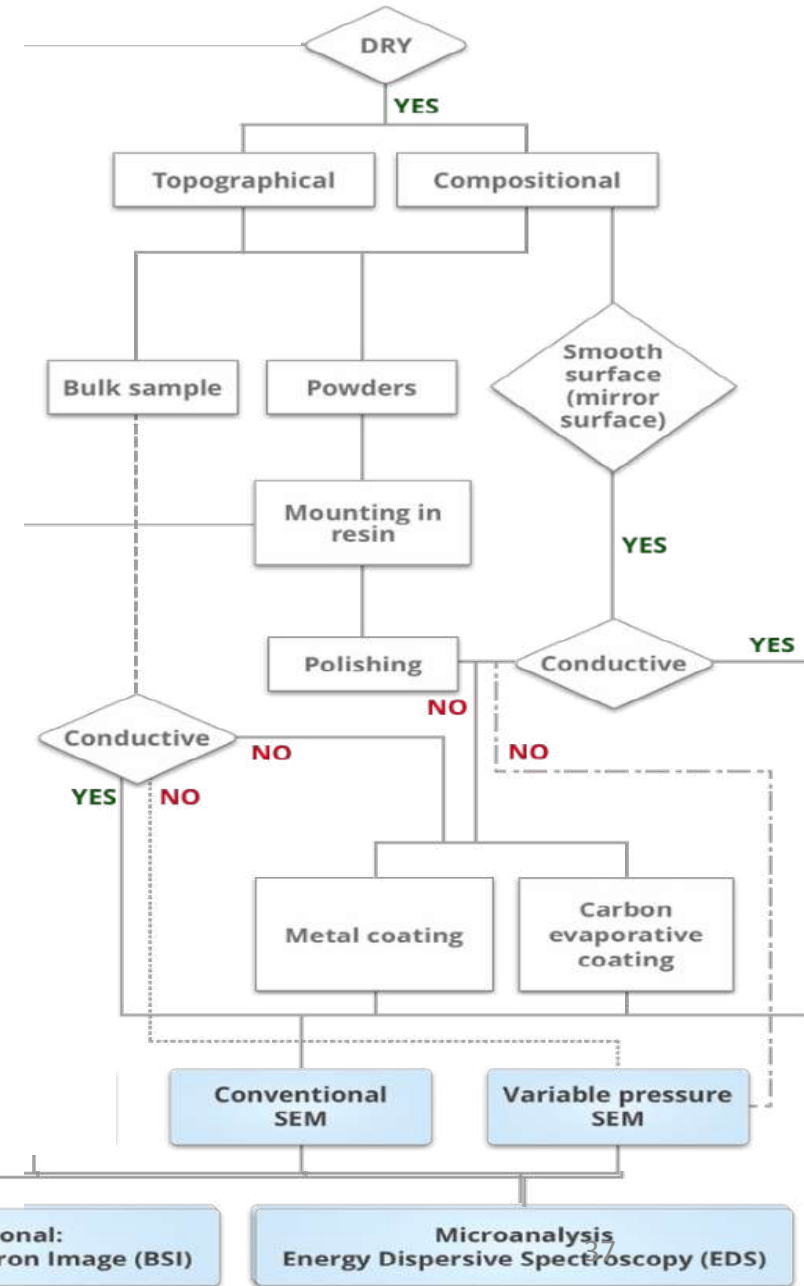
Preparación de la muestra



https://www.tedpella.com/SEM_html/SEMcly.htm

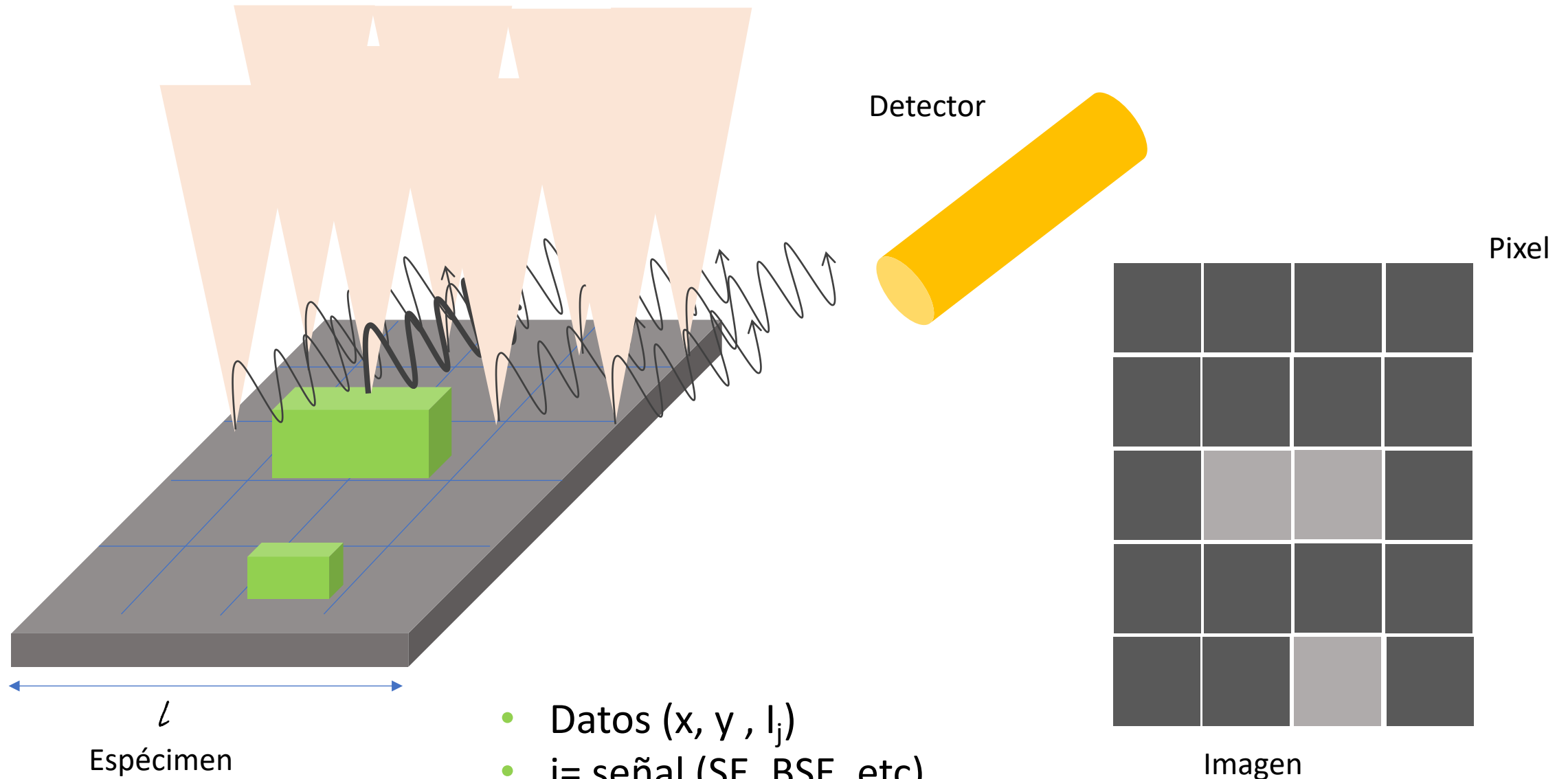


<http://www.semtechsolutions.com>



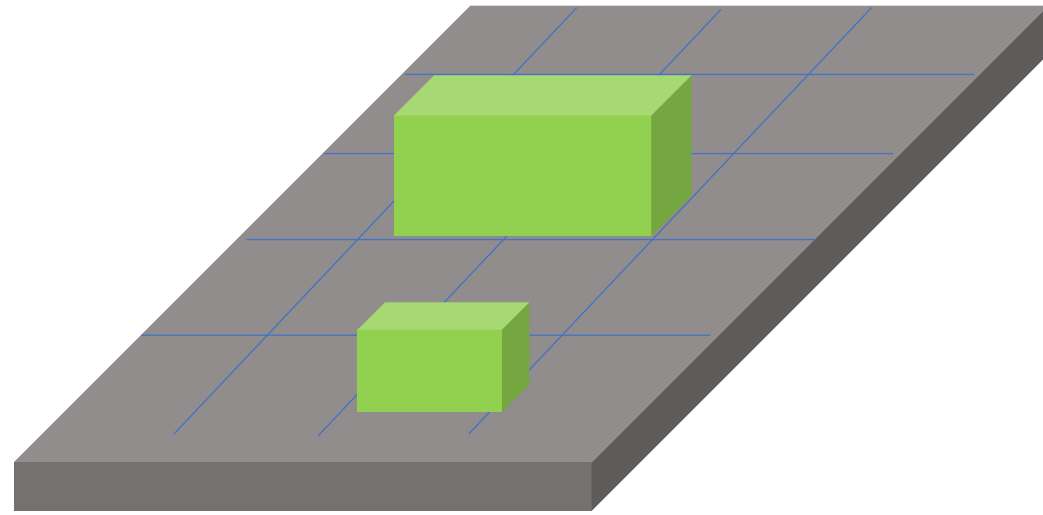
- Unión Conductora con el stub (cintas, adhesivos, recubrimiento)
- Partículas adheridas

Microscopía electrónica de barrido – Formación de imagen



- Datos (x, y, I_j)
- j = señal (SE, BSE, etc)
- 1 escaneo – varias señales

Microscopía electrónica de barrido – Formación de imagen



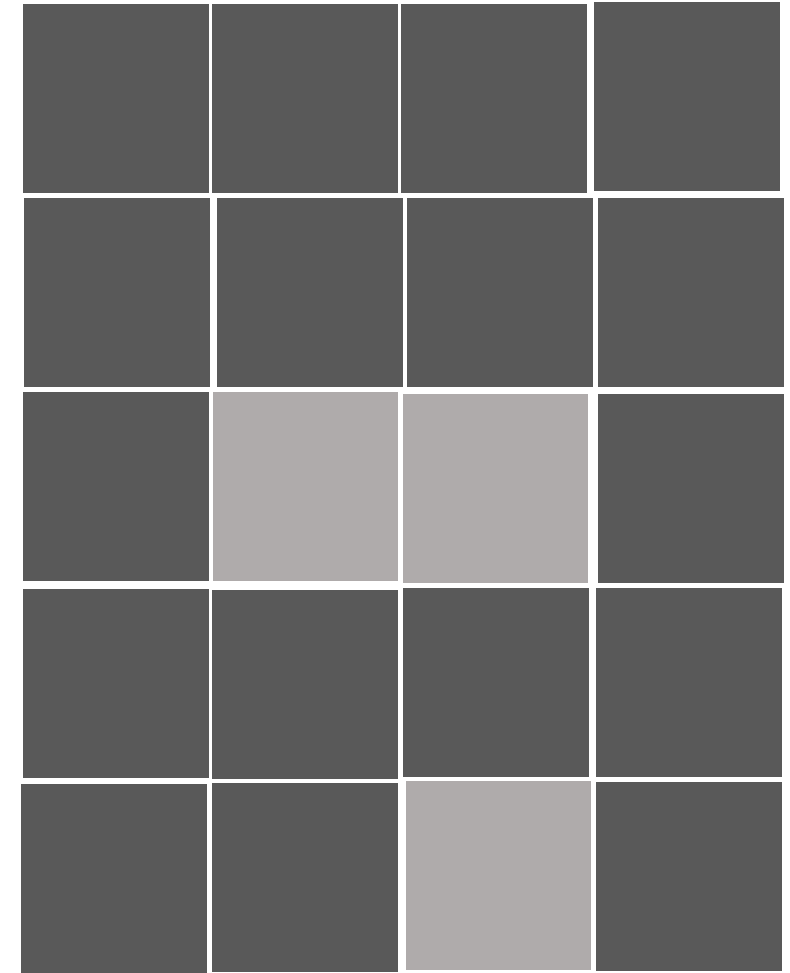
Espécimen

Dimensión del pixel = L/n

Magnificación $M = L / \text{circled } L$

- Imagen final de dimensión L
- Escala de grises (blanco al negro) relativa a la intensidad de la señal medida

Display



L (fijo)

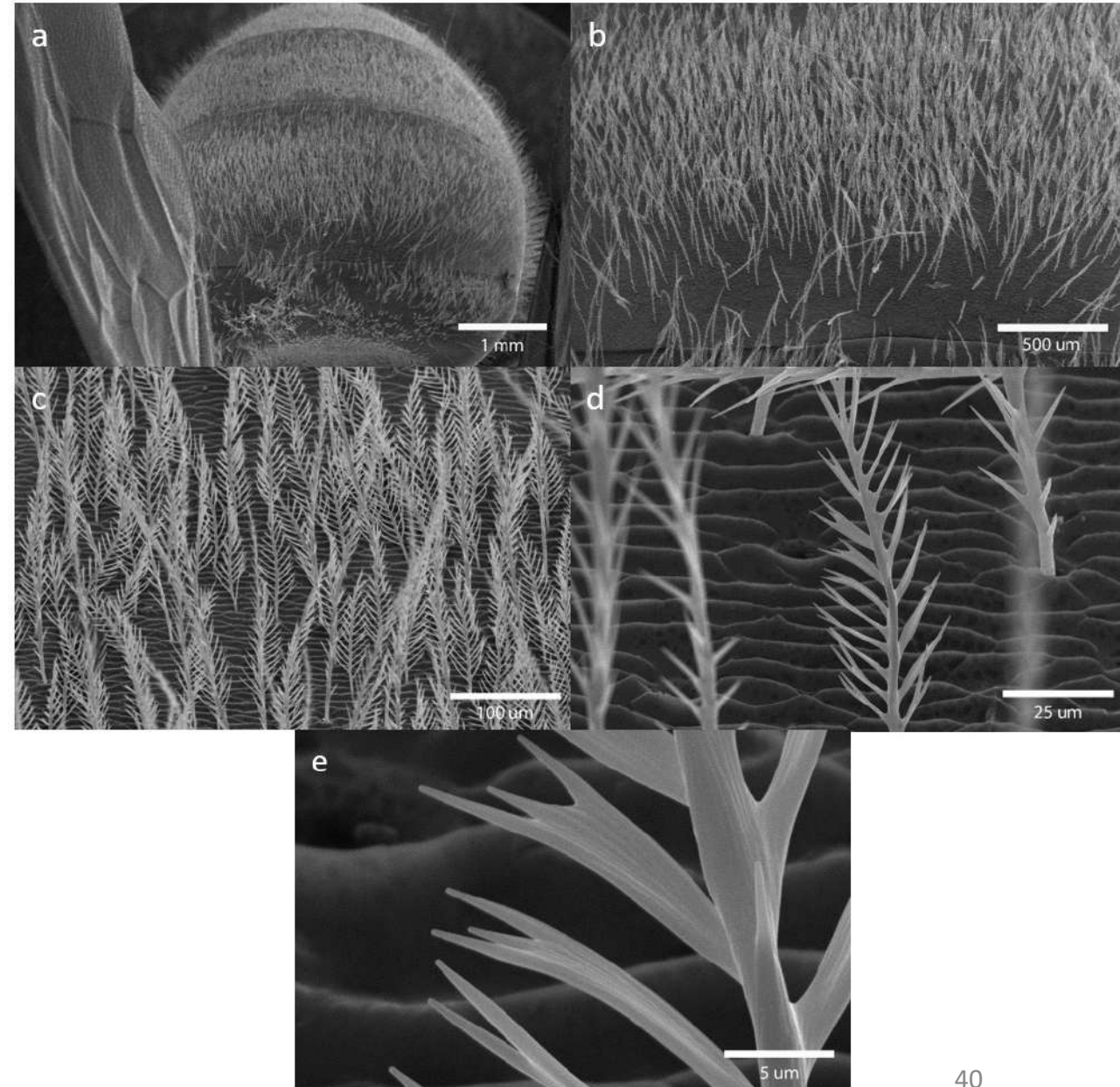
Microscopía electrónica de barrido – Formación de imagen

Magnificación y calibración

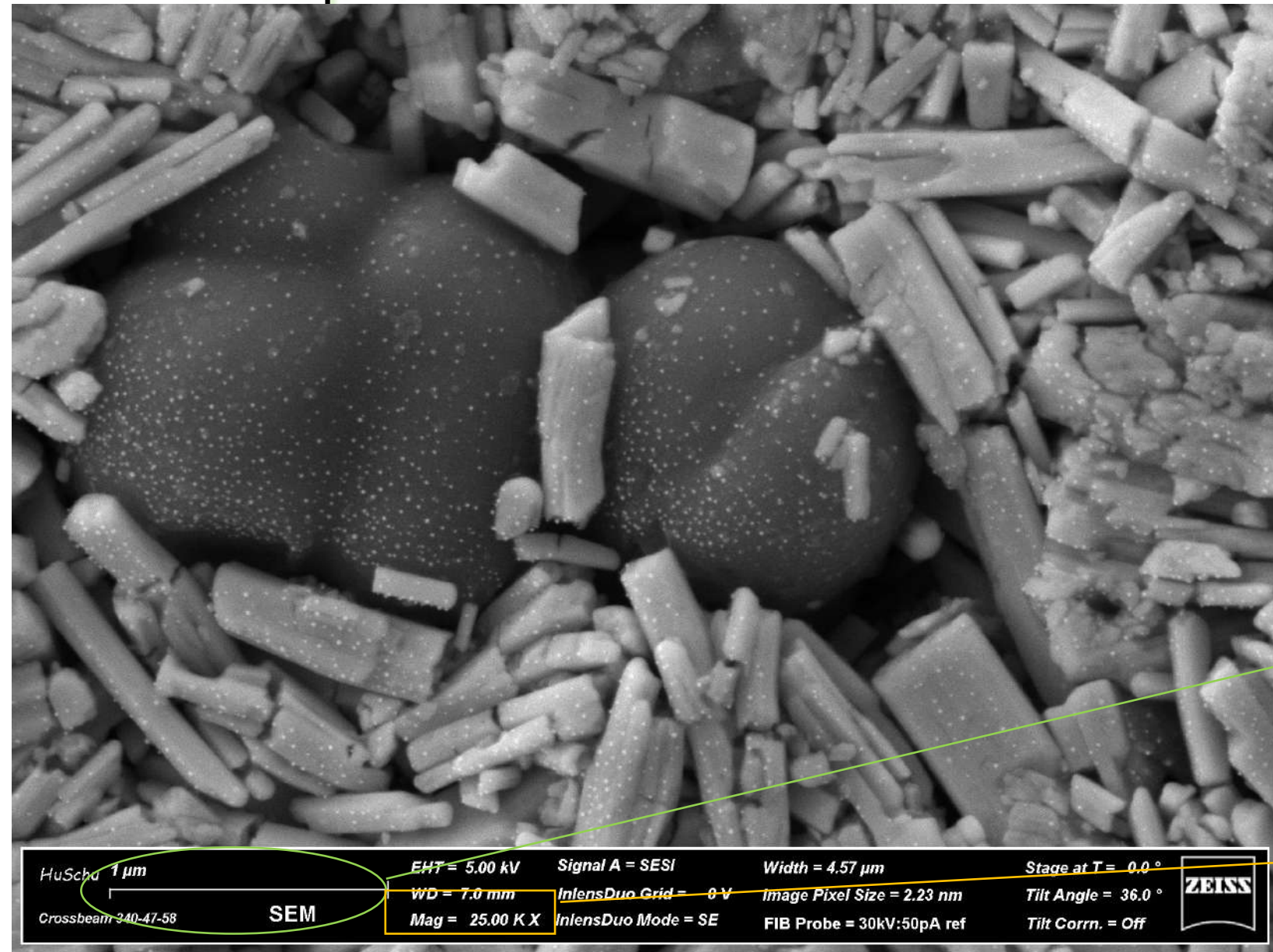
Magnificación: escaneo de un área menor

El Valor de Magnificación no es exacto cuando se abre la imagen en diferentes condiciones. Solo la **barra de escala** lo es

Calibración: cuando es necesario realizar medidas de manera exactas



Microscopía electrónica de barrido – Formación de imagen



Importante para medidas de tamaño de objetos

Se requiere calibración para asegurar pixeles cuadrados

Medida más robusta en términos de integridad de la imagen

Magnificación

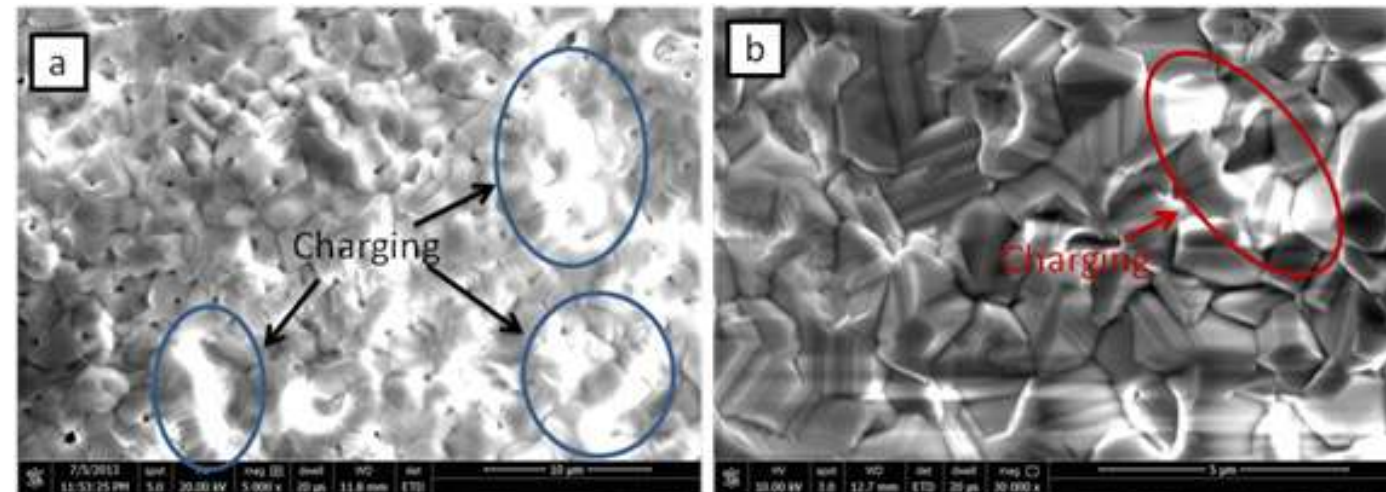
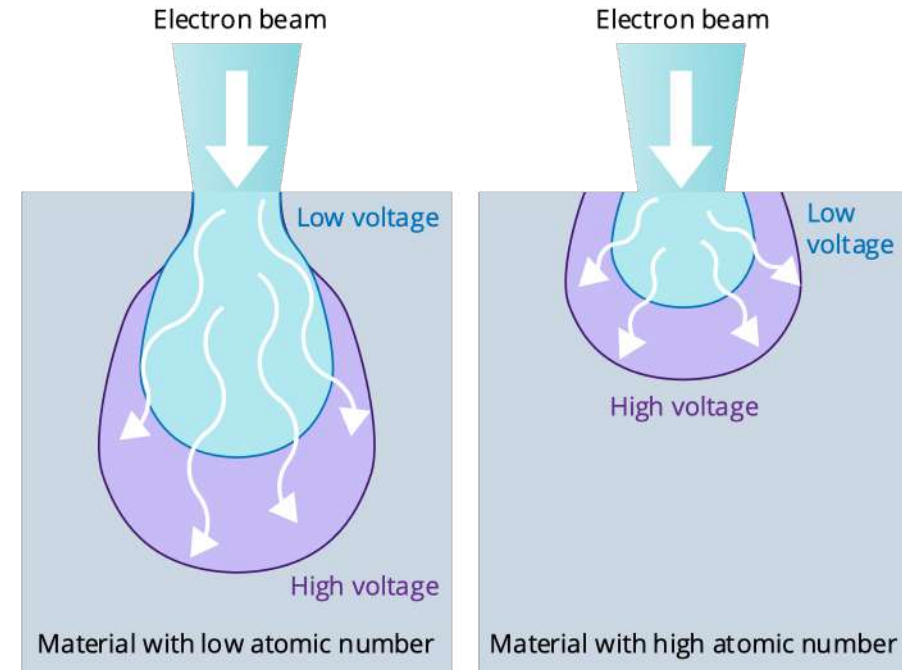
Rods de BiSI en pellet

Microscopía electrónica de barrido – Formación de imagen

Aceleración de voltaje

Mayor aceleración de voltaje:

- Mayor relación señal/ruido
- Reducción de resolución de detalles superficiales (SE)
- Incremento de carga en muestras no conductoras
- Aumento de temperatura



kV

Aplicación

1-5

Muestras delicadas o sin recubrimiento

5-10

Muestras biológicas recubiertas

10-30

Muestras de ciencias físicas

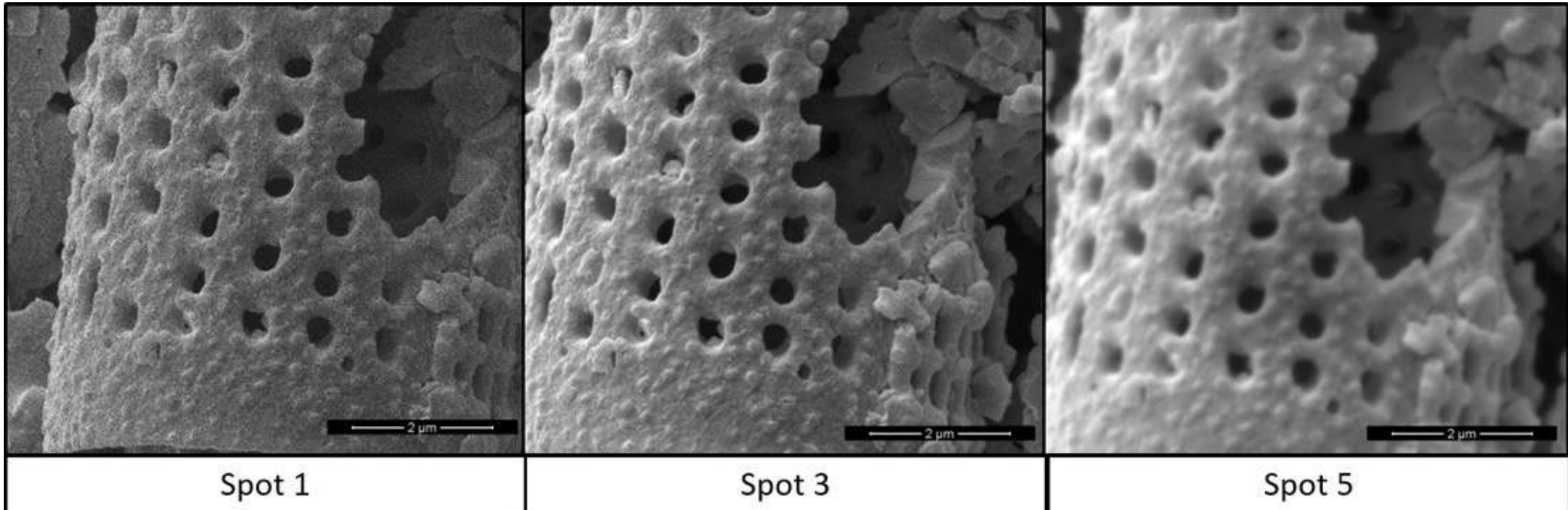
Microscopía electrónica de barrido – Formación de imagen

Tamaño del spot (“spot size”)

Diatomeas

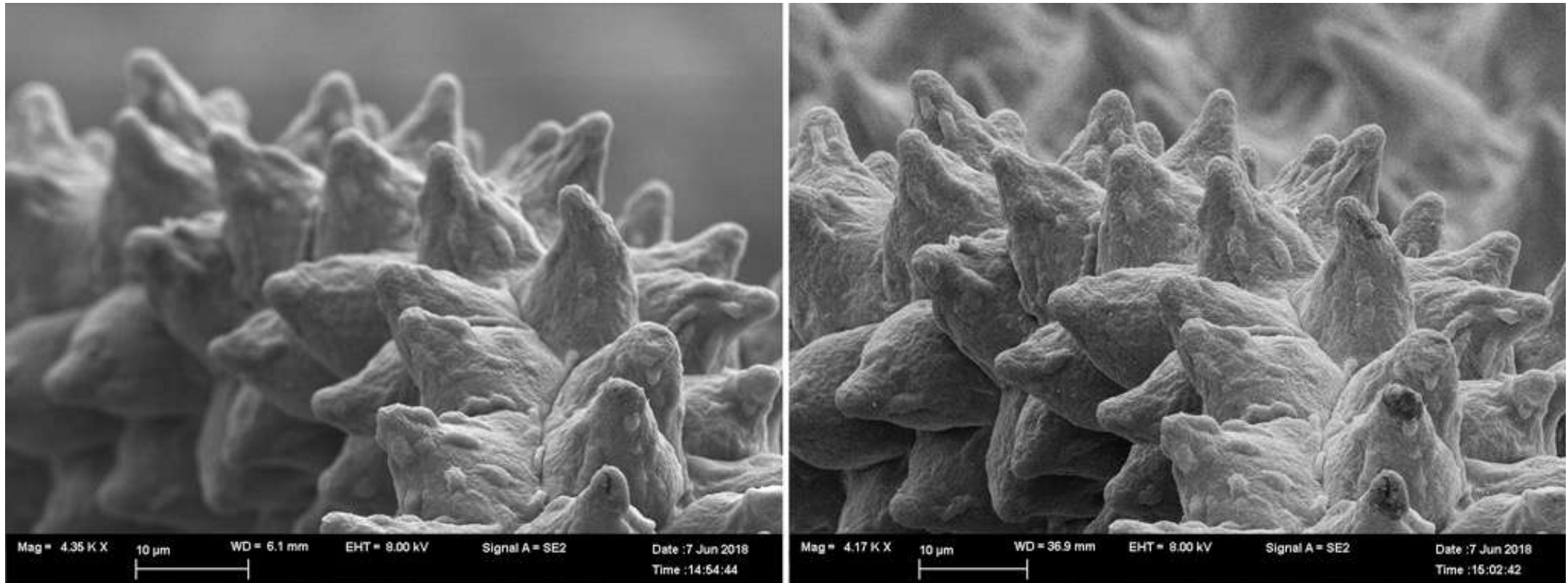
Menor resolución
Menor detalle
Mayor brillo

Magnificación, kV, WD = cte



Microscopía electrónica de barrido – Formación de imagen

Profundidad de campo: zona en la que el espécimen aparece aceptablemente en foco para el ojo



- A mayor WD mayor profundidad de campo. “Se puede ver con mayor profundidad”
- El haz viaja una distancia mayor generando un tamaño de spot mayor

Microscopía electrónica de barrido – Formación de imagen

Profundidad de campo:



- Esta profundidad de campo en SEM es varias miles de veces mayor que en MO, lo que da el aspecto de imagen tridimensional a las micrografías de SEM

Microscopía electrónica de barrido – Formación de imagen

Contraste y brillo

Imagen: construcción virtual de mapa de intensidades del número de electrones eyectados del material de la muestra

Ajuste de contraste y brillo: cambio de cada paquete de información de la señal manteniendo la relación con la imagen original

Contraste natural: viene directamente del espécimen + el sistema de detección

Imagen de buena calidad: graduación de grises

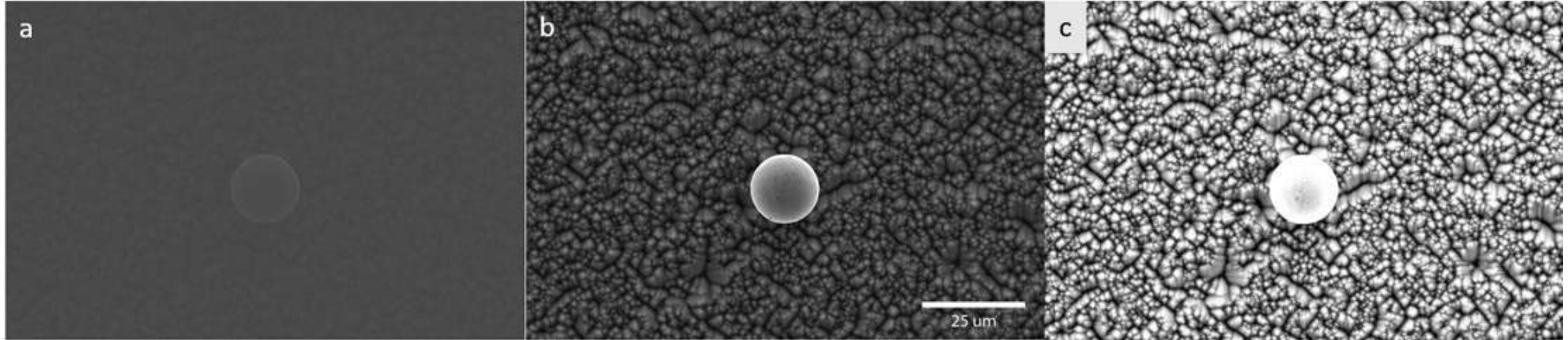
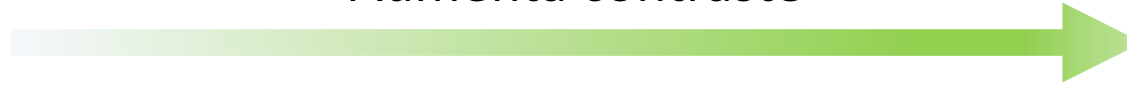
Importante!

No se adiciona información cuando se manipula el contraste y el brillo

Microscopía electrónica de barrido – Formación de imagen

Contraste y brillo

Aumenta contraste



Pueden recuperarse más datos
luego de la obtención de la
imagen

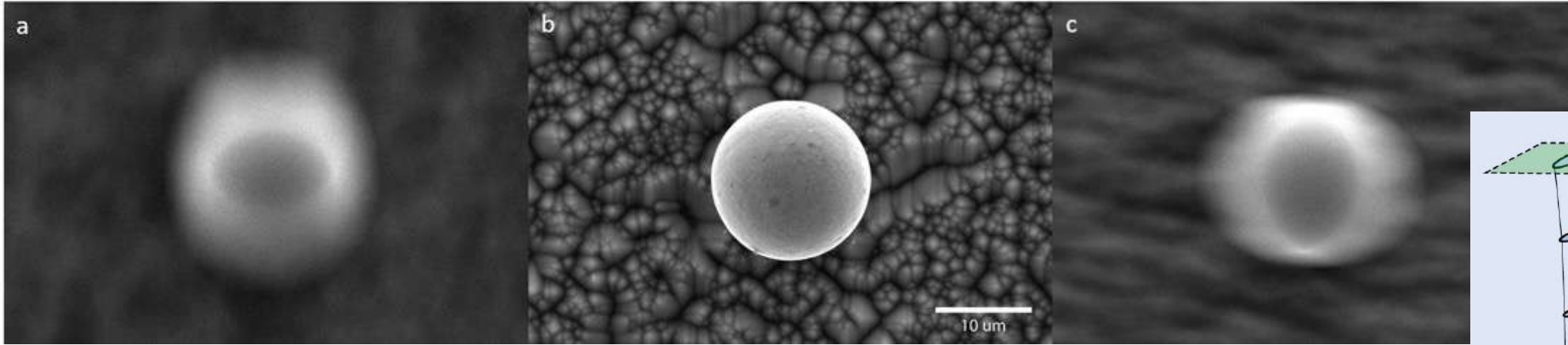
No se recuperan más datos

Contraste y brillo son considerados ajustes de rutina

Inclinación de la muestra también aumenta el contraste en imágenes de SE

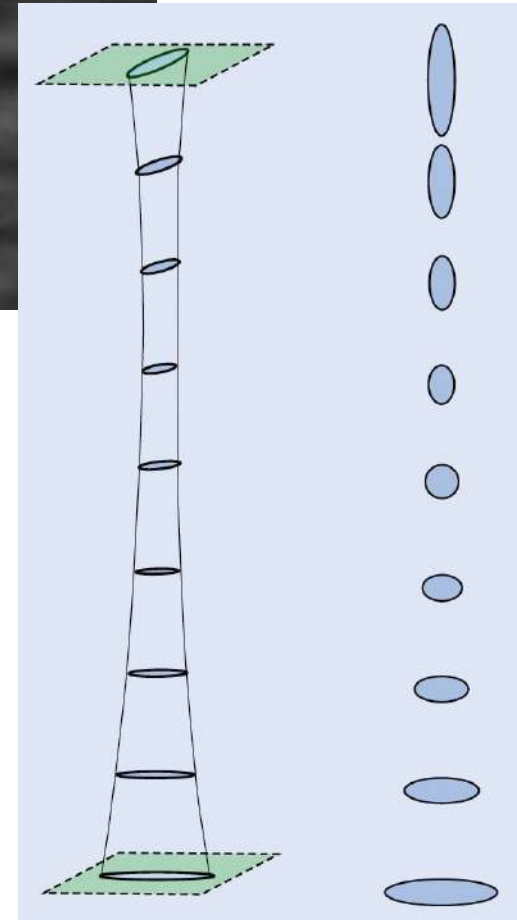
Microscopía electrónica de barrido – Formación de imagen

Artefactos en la imagen - Astigmatismo



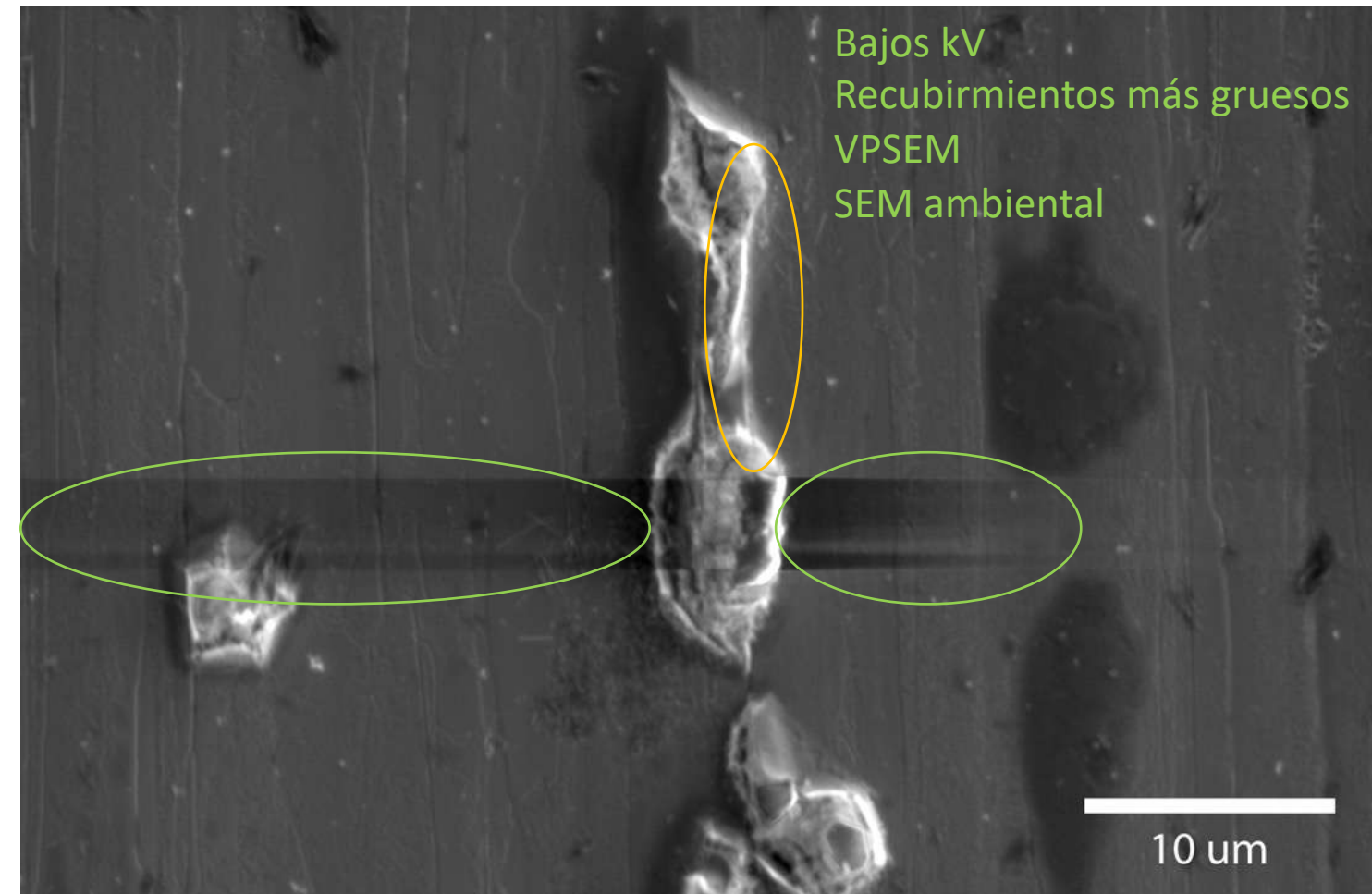
Astigmatismo: cuando la sección transversal del haz de electrones en la superficie de la muestra no es circular, sino elipsoidal
Se observa como estiramiento en X e Y cuando pasamos por el foco

Generado por calidad del equipo, material de la pieza polar, imperfecciones en los imanes y bobinas



Microscopía electrónica de barrido – Formación de imagen

Artefactos en la imagen – Carga

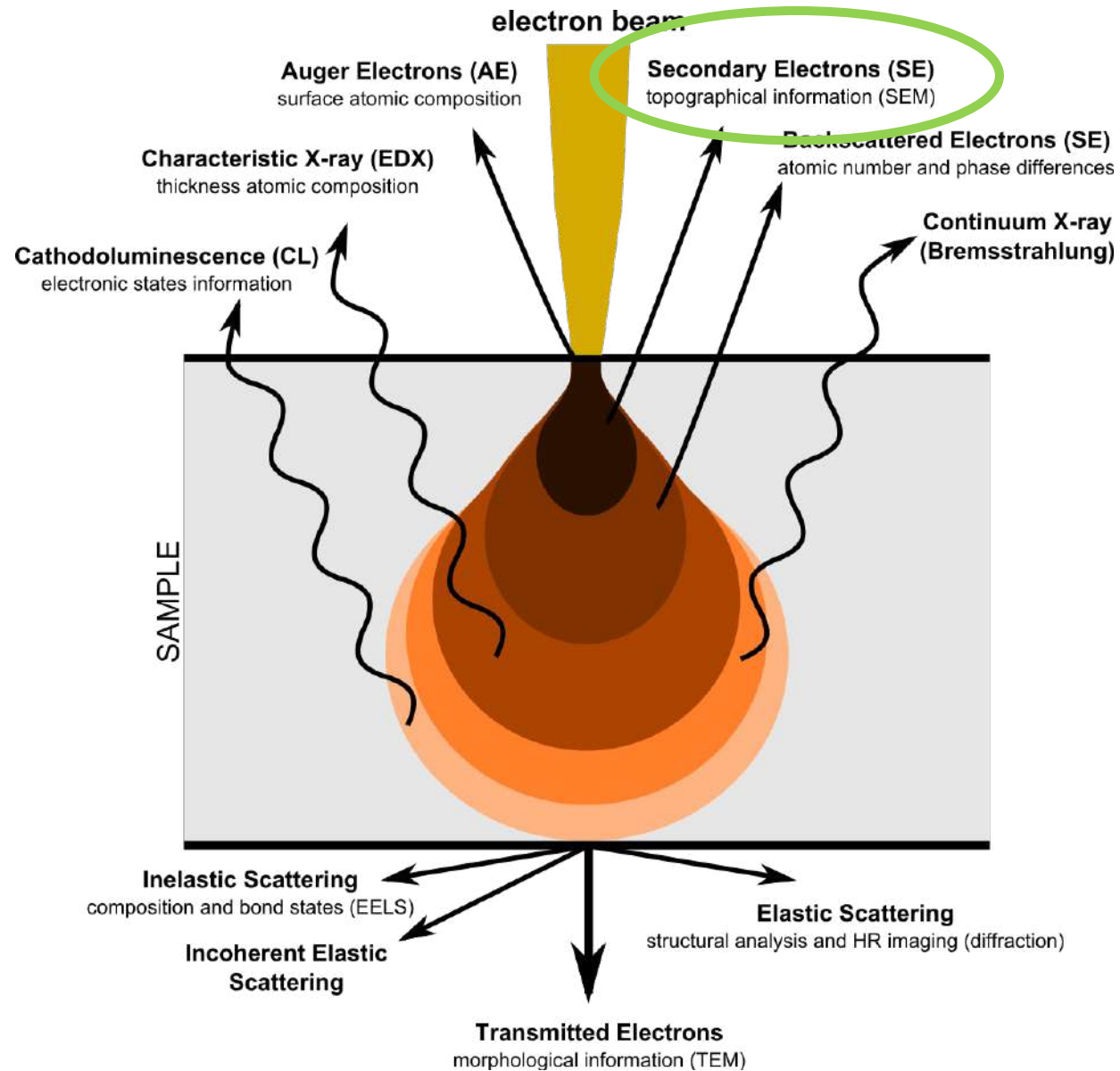


Acumulación de electrones en la zona de interacción del haz con la muestra

Efectos en la imagen: contraste inusual, deformación y movimiento de la muestra

Depende de la energía (kV) y la cantidad de electrones (corriente del haz, tamaño de spot, aperturas, etc.)

Señales que se obtienen en SEM

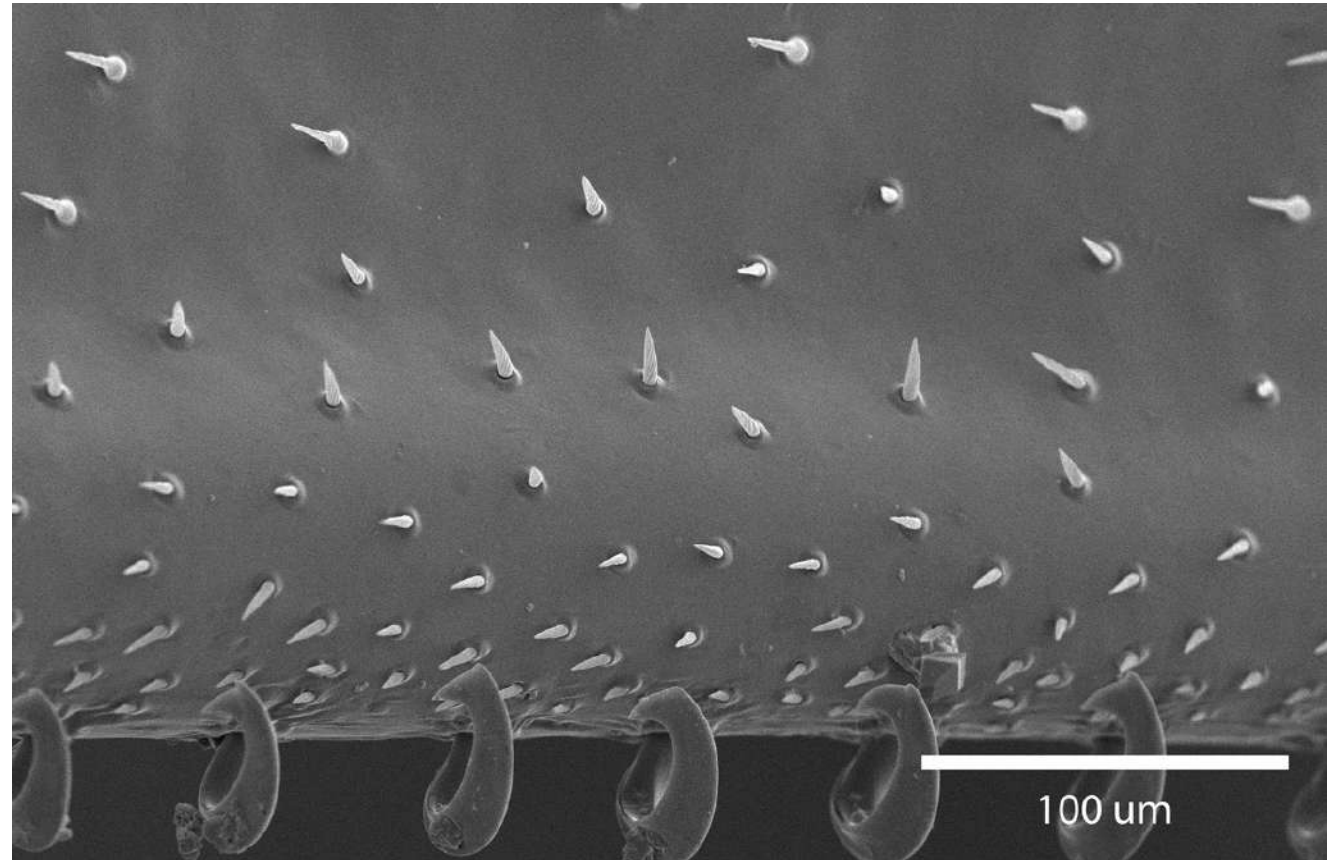


Electrones secundarios

Electrones de **baja energía** (unidos débilmente) producidos por dispersión inelástica
Tienen energía $\sim 1-15$ keV (lo que permite que sean colectados fácilmente)

Uso: **Topografía**

Bordes y partes puntiagudas se ven más brillantes



Ala de un insecto

Electrones secundarios

Recubrimiento

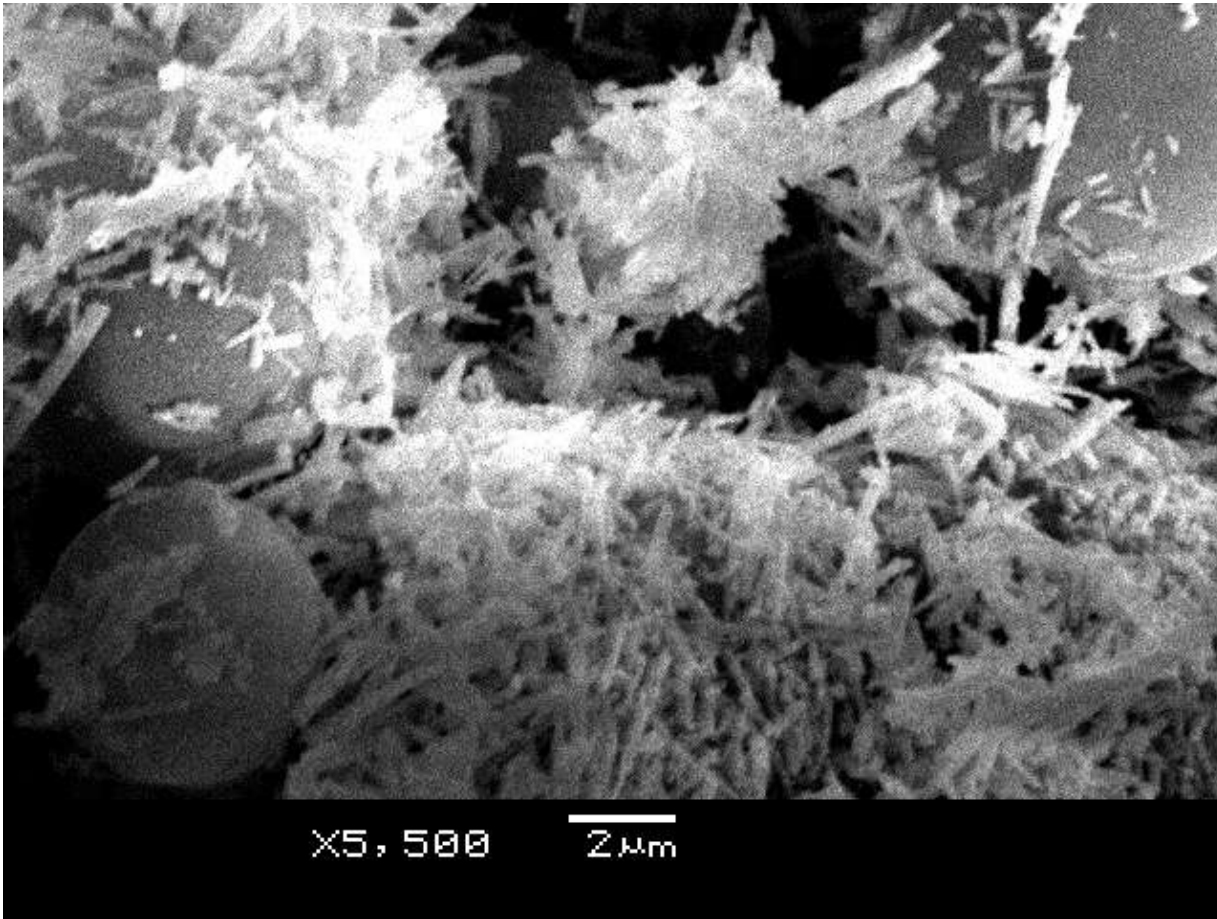
Para aumentar el rendimiento de emisión de electrones secundarios los especímenes se cubren con metales como oro o platino

El recubrimiento se aplica por dos motivos:

- ✓ Especímenes **no conductores**: para reducir la carga de superficie que puede bloquear el camino de los electrones secundarios y causar distorsión de la señal
- ✓ Especímenes de **bajo número atómico**: para lograr una superficie que produzca alto rendimiento de electrones secundarios

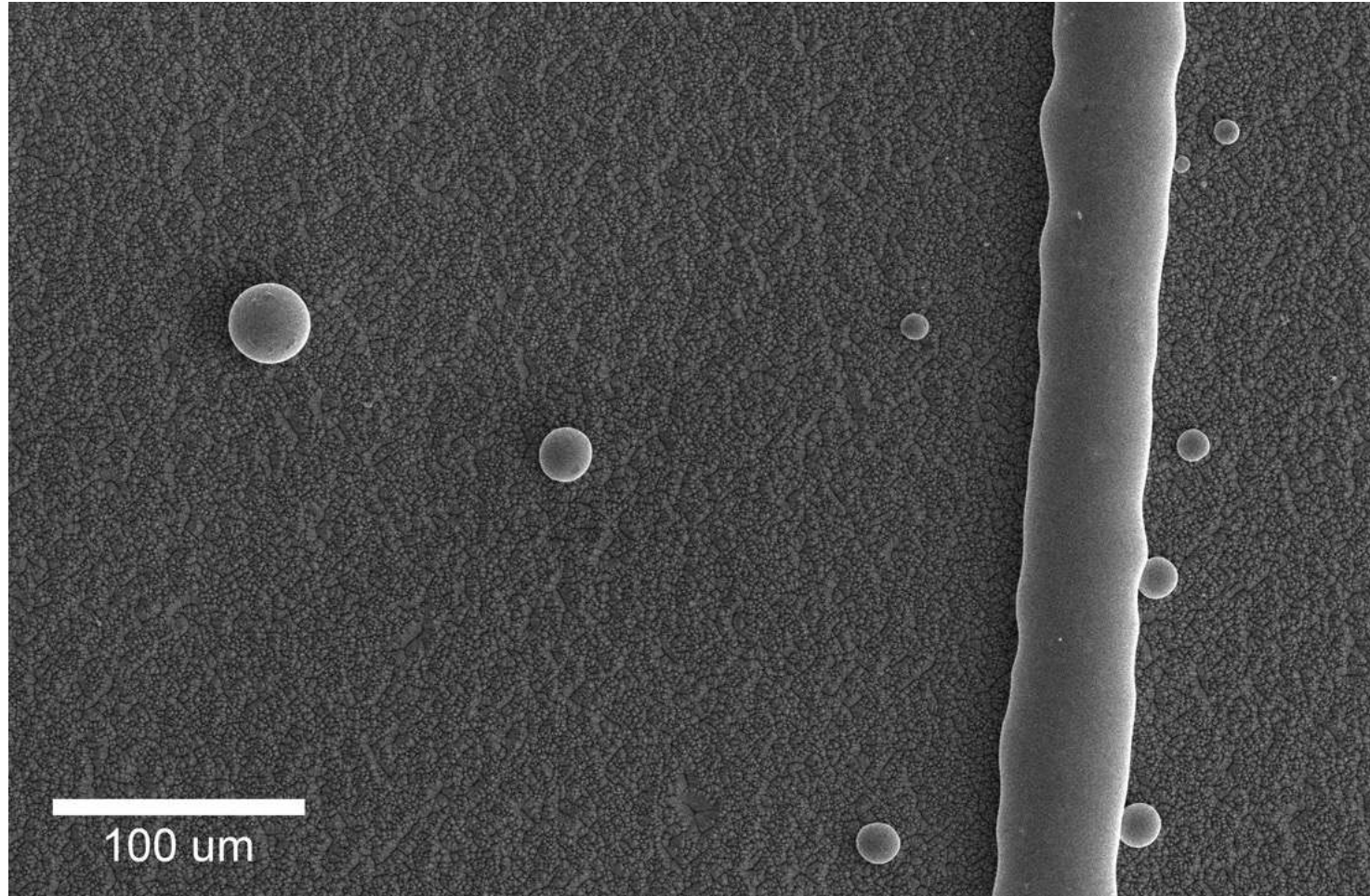
Electrones secundarios

Recubrimiento



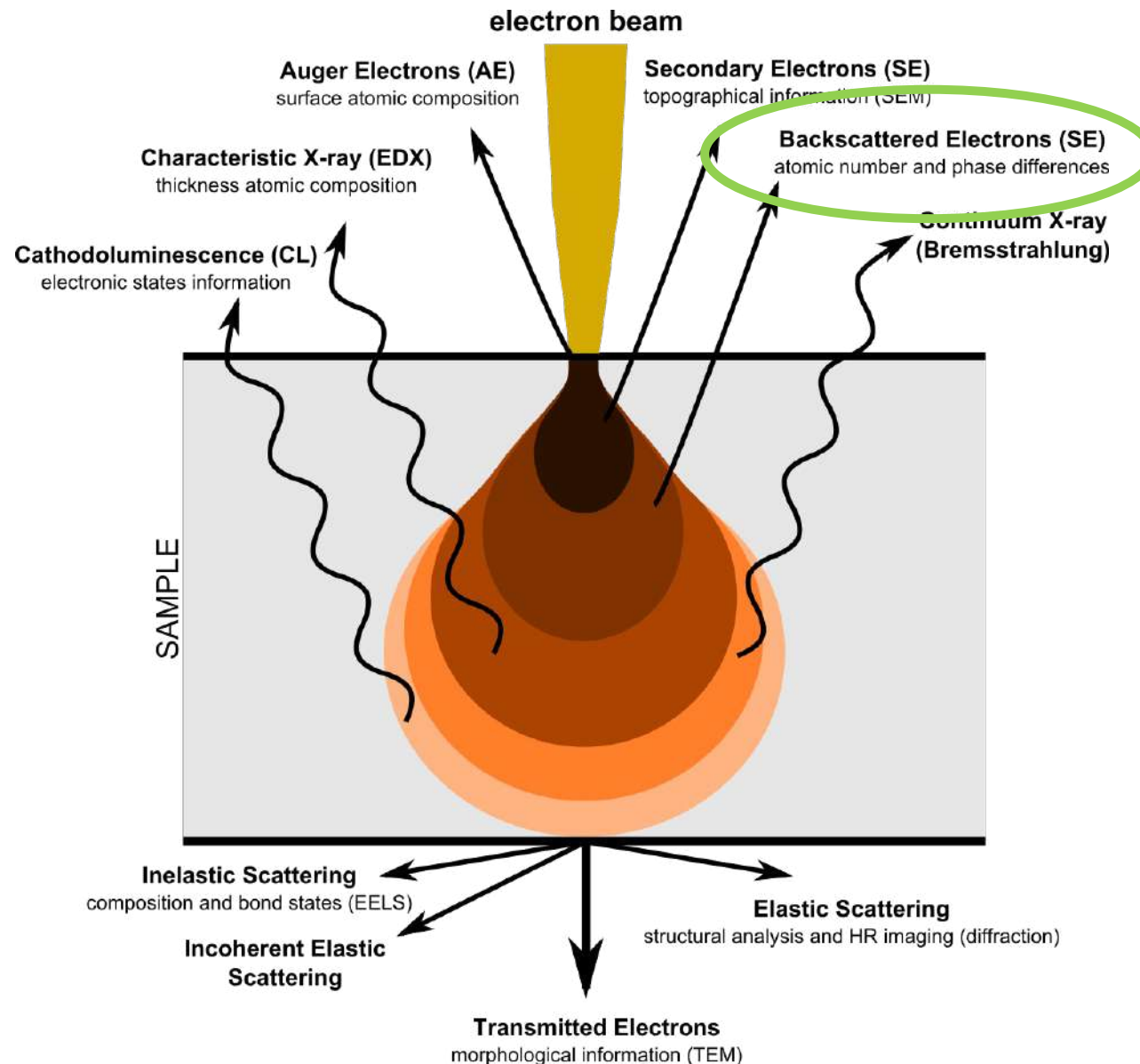
Ejemplo: imagen cargada debido a recubrimiento ineficiente en un material no conductor

Electrones secundarios - contraste



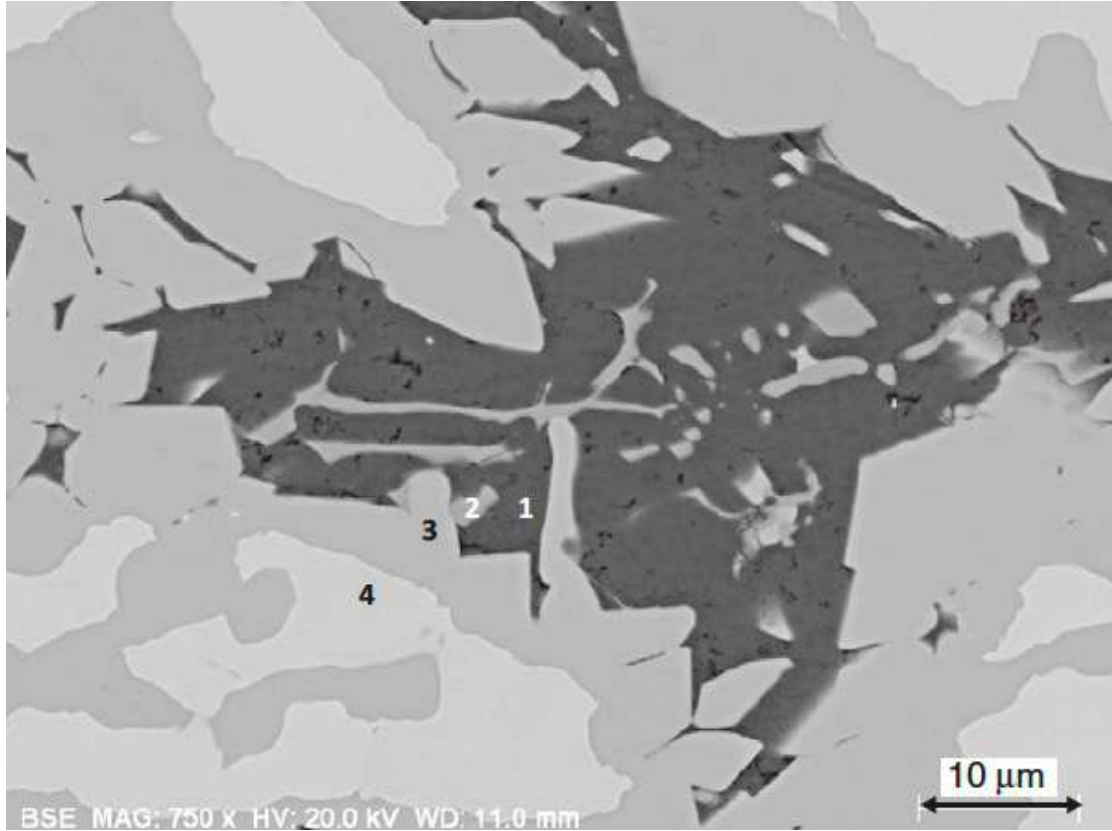
Cobre sobre oblea de Si

Señales que se obtienen en SEM



Electrones retrodispersados

Contraste de número atómico



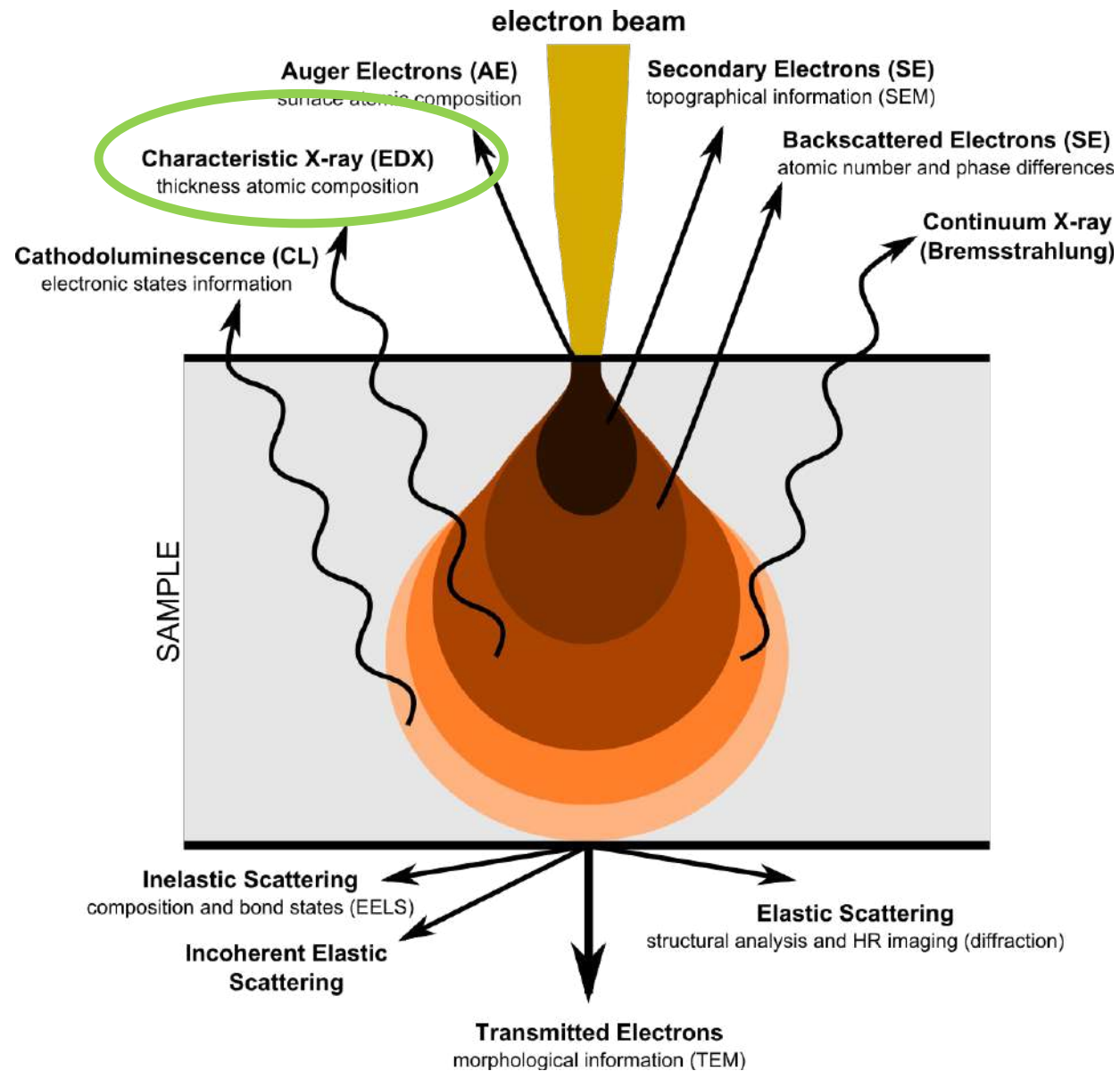
Cuando se adquiere la imagen de un espécimen plano

Se obtiene señal característica de las composiciones del centro del objeto
El contraste se puede predecir como:

$$C_{tr} = (\eta_2 - \eta_1) / \eta_2 \quad \text{con } \eta_2 > \eta_1$$

Sección transversal de una aleación aluminio-níquel, se ven al menos tres fases con diferente composición Al-Ni, fase 2 es Al-Fe-Ni. La mayor concentración de Ni aparece más brillante

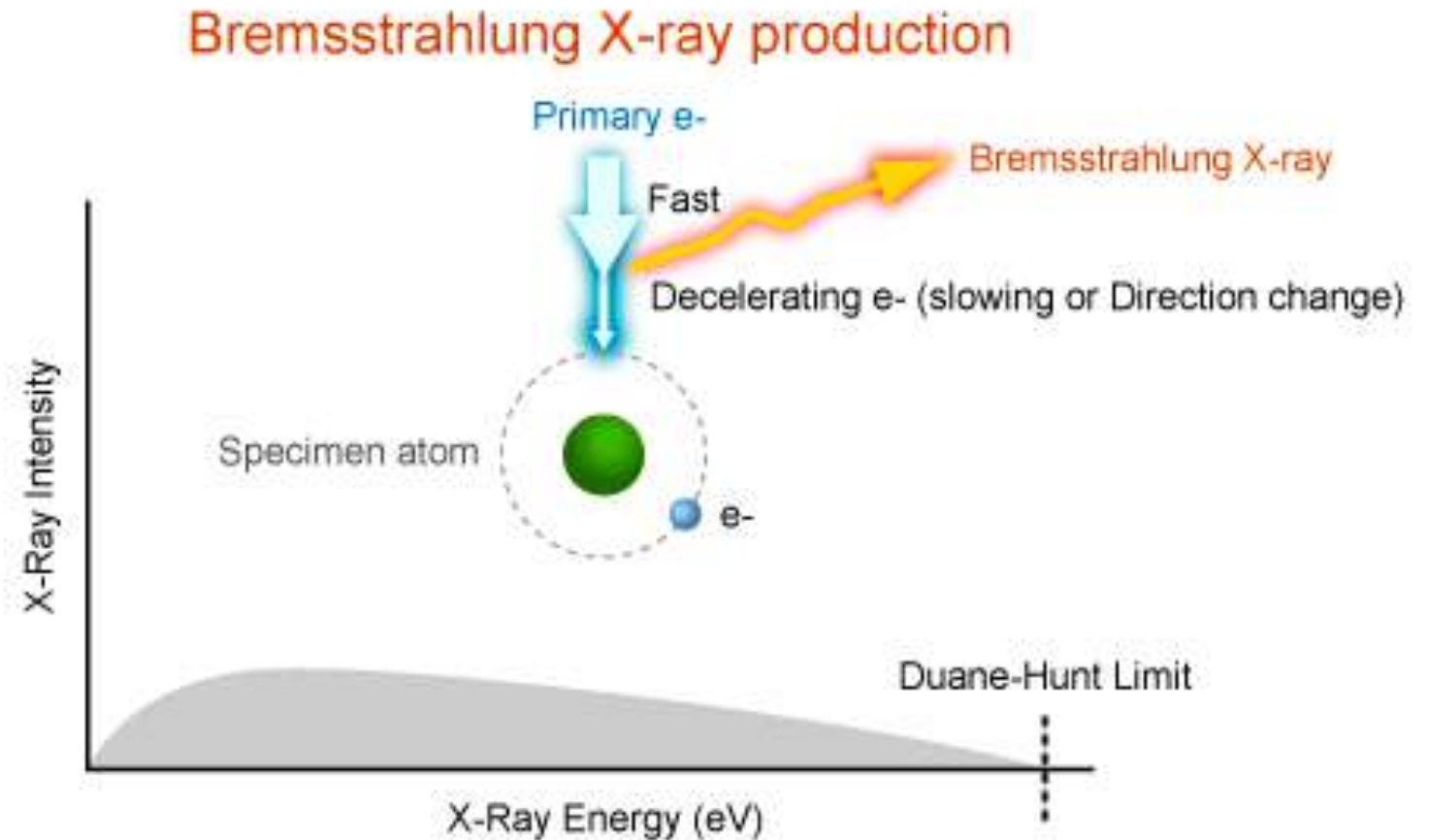
Señales que se obtienen en SEM



Rayos X característicos y Bremsstrahlung

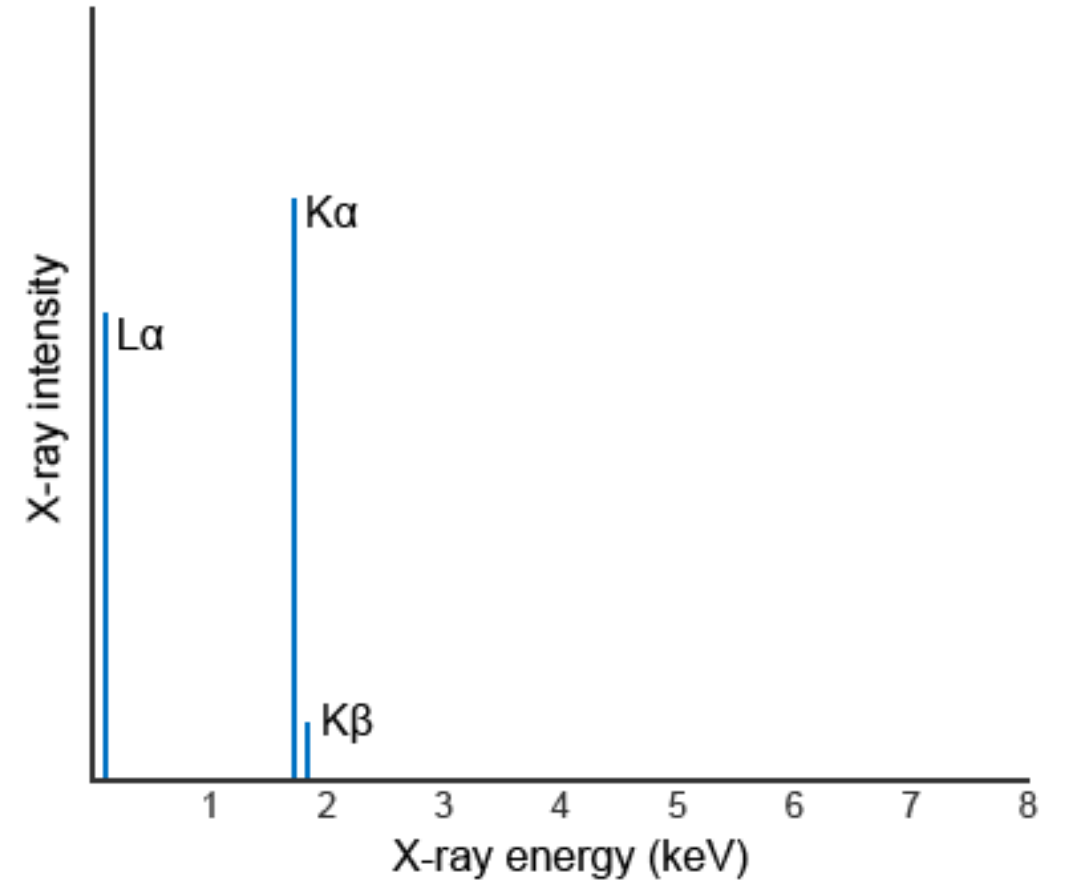
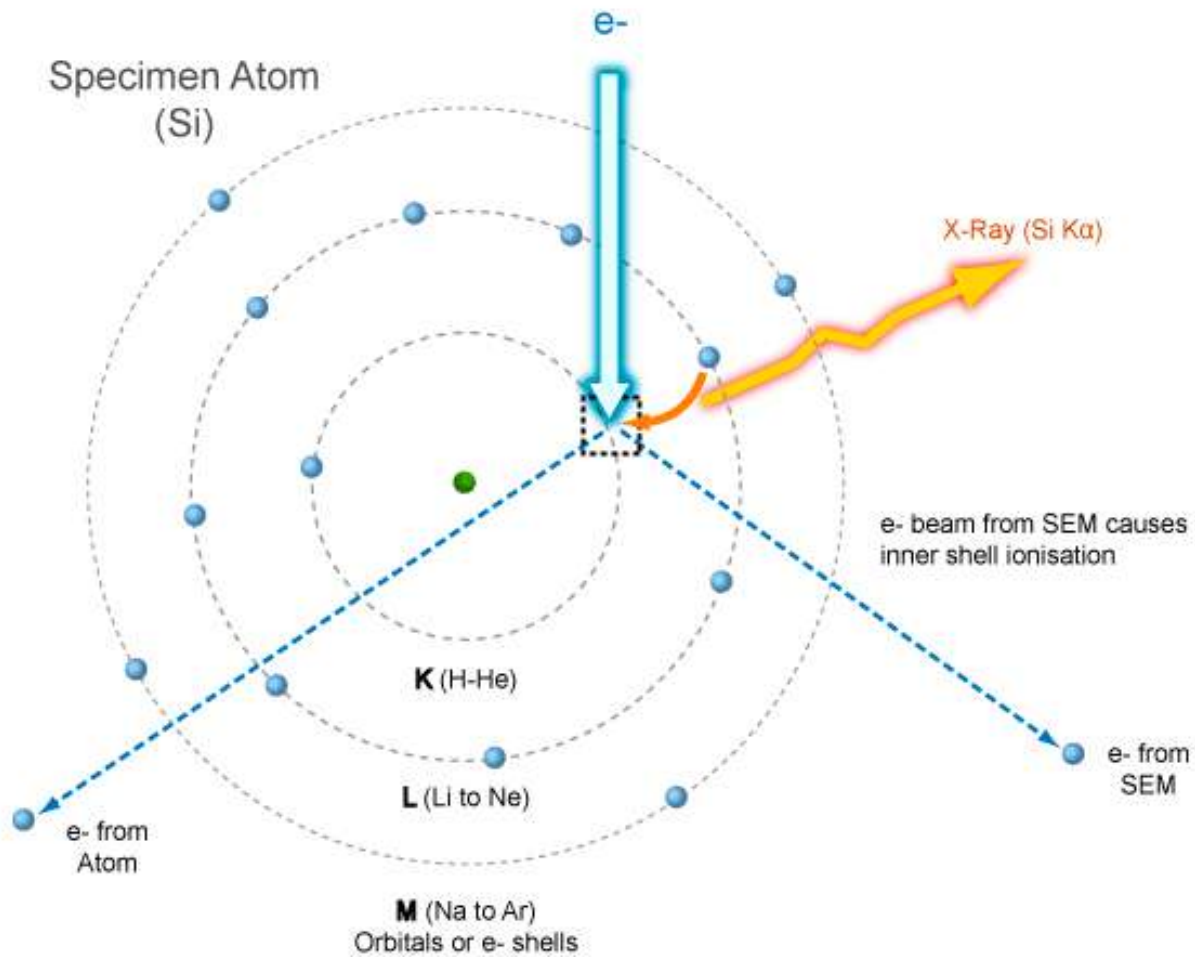
Dos tipos de rayos X que se producen cuando el haz de electrones interactúa con el espécimen

Bremsstrahlung: se produce cuando los electrones se desaceleran por el campo eléctrico del núcleo



Rayos X característicos

Characteristic X-Ray Production



Espectro ideal de rayos X característicos para el Si

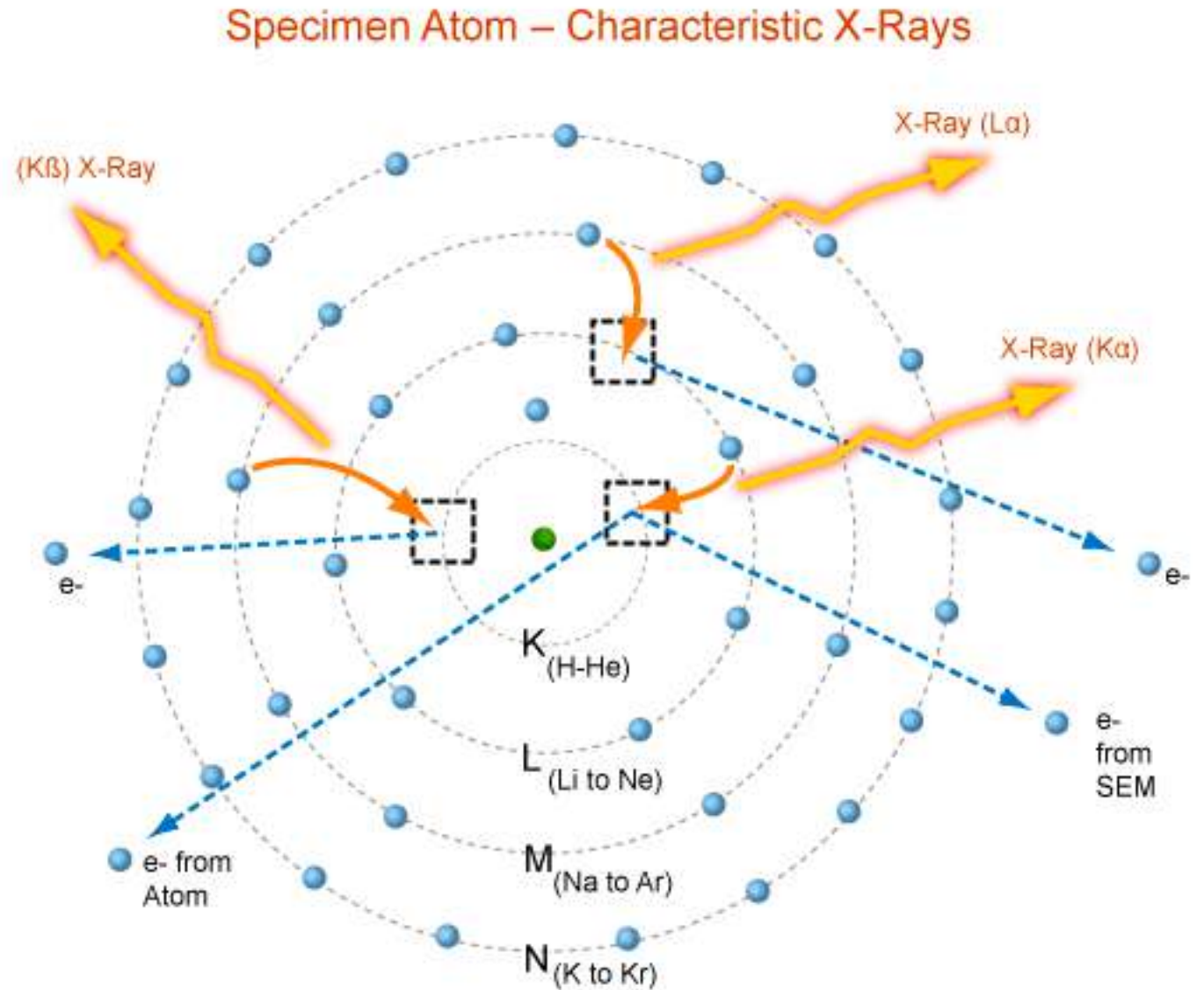
Rayos X característicos

Notación en espectroscopía:
Siegbahn

Primer componente: nombre del
elemento, por ej. Si

Segundo componente: capa
electrónica que fue ionizada para
producir el rayo X, por ej. K, L o M

Tercer componente: intensidad
relativa de la línea dentro de cada
capa, siendo α la más intensa,
seguida de β y γ



Rayos X característicos: EDS

Intensidad de los rayos X

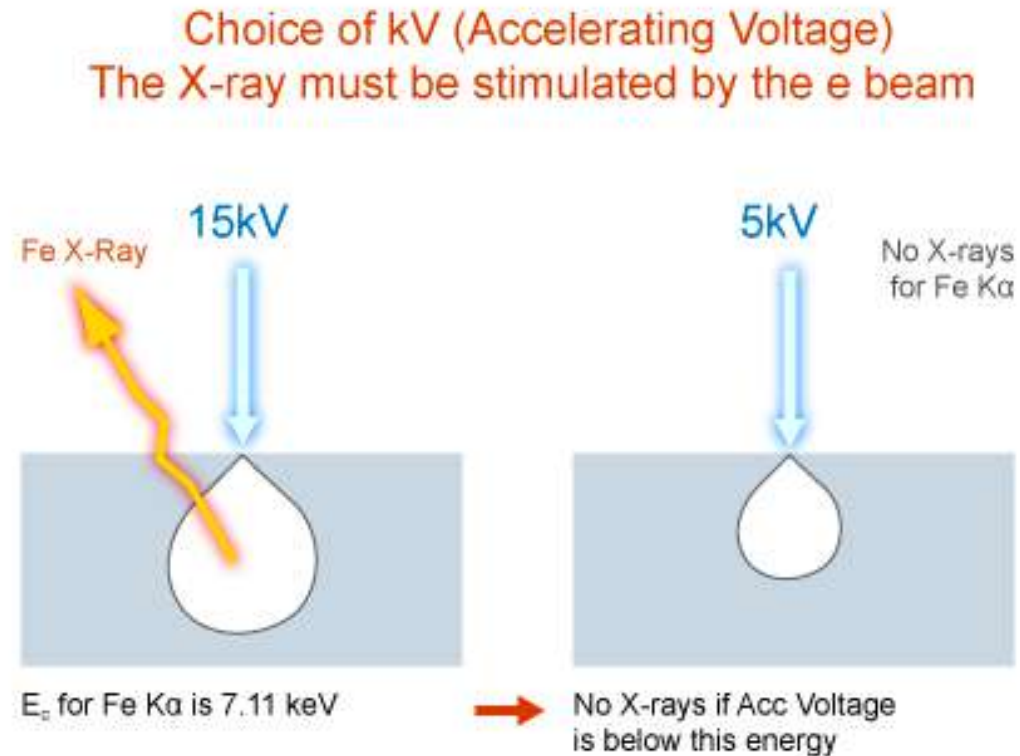
Altura de los picos en espectro de EDS: cps



proporcional a la concentración del elemento en la muestra

Intensidad depende de:


- ✓ Concentración
- ✓ Tamaño del spot
- ✓ Aceleración de voltaje
- ✓ Rendimiento de fluorescencia
- ✓ Absorción de rayos X



Rayos X característicos: EDS cualitativo

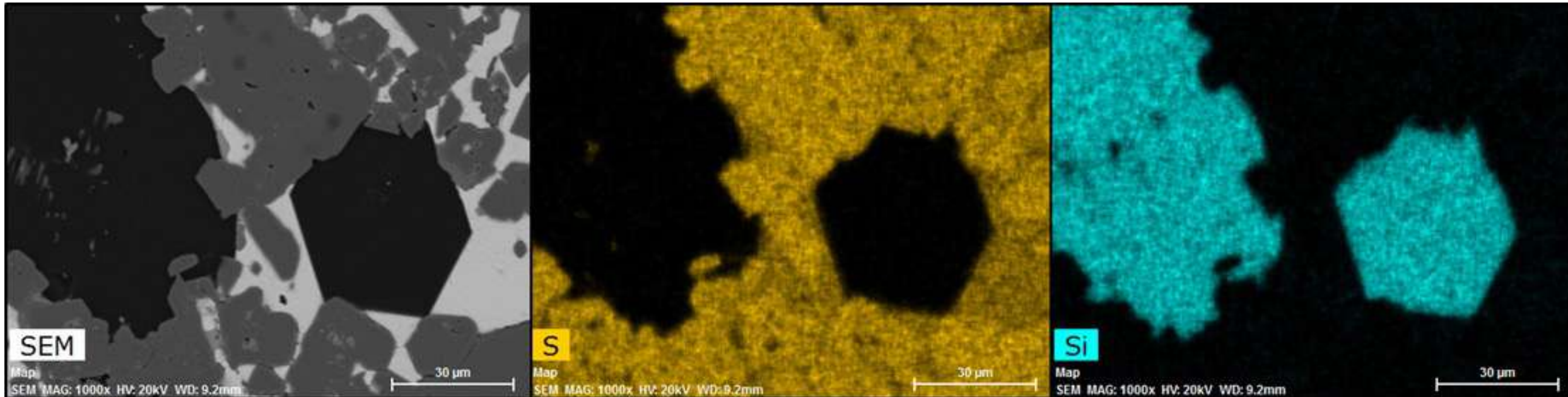
Se **identifican** los elementos presentes en la muestra por sus rayos X característicos, pero **no** se determinan sus **abundancias**

15-30 kV de aceleración de voltaje si la muestra no se daña

Si la muestra no es conductora  recubrimiento (se prefiere C para que los rayos X del recubrimiento no interfieran con los de la muestra)

Mapeo EDS

Da información química de la muestra



Bibliografía y material recomendados

<https://www.youtube.com/watch?v=GY9IfO-tVfE>

<https://myscope.training/>

“Scanning electron microscopy and X-Ray Microanalysis” 4th Edition, Goldstein, Newbury, Michael, Ritchie, Scott, Joy

<https://cstl.nist.gov/div837/837.02/epq/dtsa2/index.html>