

SERVICIO DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO Y MICROANÁLISIS DEL LIMF – FACULTAD DE INGENIERÍA – UNLP

Kang, Kyung W., Echarri, Juan M., Llorente, Carlos L.

Laboratorio de Investigaciones de Metalurgia Física “Ing. Gregorio Cusminsky (LIMF), Departamento de Mecánica, Facultad de Ingeniería, UNLP, Calle 48 y 116 (1900), La Plata.
E-Mail: esem.limf@ing.unlp.edu.ar

Palabras claves: Microscopio Electrónico de Barrido, Espectroscopía Dispersiva en Energías

INTRODUCCIÓN

En el año 2009 se instaló y puso en funcionamiento el servicio de microscopía electrónica de barrido ambiental con capacidad de microanálisis (ESEM-EDS), en el LIMF-Facultad de Ingeniería-UNLP. El equipamiento se adquirió en el marco del PME-2006 N° 1891 “Estudio teórico-experimental de componentes para la tecnología energética y de materiales” en el cual participaron diferentes grupos de investigación de la UNLP, CONICET y CICPBA.

El microscopio electrónico de barrido (SEM, Scanning Electron Microscope) es uno de los instrumentos más versátiles para el examen y análisis de características microestructurales de objetos sólidos. Una de las razones para ello es su alta resolución (de 20 a 50 Å) y otra característica importante es la apariencia tridimensional de las imágenes, producto de su gran profundidad de foco (aproximadamente entre 100 y 1000 veces mayor que la de un microscopio óptico a la misma magnificación).

En general los SEM cuentan con capacidad analítica mediante el agregado de un detector de rayos X dispersivo en energías (EDS, Energy Dispersive Spectrometer), que permite obtener información composicional de manera rápida y eficiente.

Los microscopios electrónicos de barrido (SEM), trabajan a un vacío aproximado de 10^{-6} torr. En estos microscopios las muestras no conductoras (orgánicas, biológicas, vidrios, polímeros, etc.) necesitan una cubierta conductora metálica, para evitar carga eléctrica y daño por radiación, y lograr su observación. En estos casos se utiliza generalmente una cubierta de oro por ser buen conductor del calor y la electricidad, o se recubren con carbono cuando se quiere realizar análisis químico por EDS. Por otro lado, las muestras conductoras pueden ser examinadas sin ningún tipo de cubierta.

En el caso de las muestras biológicas, estas deben recibir un tratamiento de secado por punto crítico (CPD, Critical Point Drying) previo al metalizado. El CPD es un método de secado posterior a la deshidratación con alcohol o acetona, que permite conservar la forma y estructura celular de la muestra. El proceso se basa en el reemplazo de los líquidos (utilizados en la extracción, fijación y conservación iniciales) por CO₂, que es finalmente evacuado sin dañar los tejidos de la muestra.

Los nuevos microscopios electrónicos de barrido (ESEM, Environmental Scanning Electron Microscope) tienen la capacidad de trabajar con bajo vacío (hasta 20 torr), aumentando notablemente el campo de aplicación, llegando a extremos de poder estudiar en esas condiciones muestras con un 100% de humedad relativa.

El objetivo de este trabajo es la presentación y difusión de la capacidad del servicio de microscopía electrónica de barrido que cuenta la Facultad de Ingeniería de la UNLP, detallando el potencial de los equipos y las posibilidades de uso de los mismos.

PARTE EXPERIMENTAL

En la Figura 1 se puede observar el microscopio electrónico de barrido ambiental (ESEM), marca FEI, modelo Quanta 200, instalado en el LIMF.



Figura 1. Microscopio Electrónico de Barrido Ambiental, FEI Quanta 200 del LIMF.

Las partes esenciales del microscopio electrónico de barrido son: el sistema de vacío, la columna de electrones, la cámara portamuestras y el sistema de adquisición y procesamiento de imágenes.

El Sistema de Vacío

En cualquier microscopio electrónico de barrido, la columna de electrones debe estar a un vacío de aproximadamente 10^{-6} torr para evitar la dispersión del haz de electrones y asegurar una mayor duración de la fuente de emisión de electrones, entre otros. Las bombas de vacío estándar utilizadas son las difusoras de aceite, que se dañan si trabajan a presiones cercanas a las atmosféricas. Para evitar este daño, se coloca previamente una bomba mecánica para bajar el vacío a un valor aproximado de 10^{-3} torr. Para minimizar la introducción de gotas de aceite en la cámara portamuestras se utilizan, en la actualidad, bombas turbo moleculares en reemplazo de las difusoras de aceite. Estas bombas tienen la ventaja de ser limpias, aunque pueden introducir vibraciones al microscopio y requieren de una bomba mecánica para retirar el aire que se comprime en la base de la bomba turbo molecular.

En los SEM convencionales, tanto la columna de electrones como la cámara portamuestras deben estar a un vacío aproximado de 10^{-6} torr. Sin embargo, en los ESEM la columna de electrones se mantiene a un alto vacío mientras que la cámara portamuestras puede estar a un vacío entre 10^{-2} y 20 torr. En este caso, se utiliza un juego de aperturas múltiples que limitan la presión y separan la cámara portamuestras de la columna de electrones. En consecuencia, los microscopios electrónicos de barrido ambientales (ESEM), pueden trabajar en tres modalidades de vacío: Alto Vacío (10^{-6} torr), Bajo Vacío (10^{-2} a 1 torr) y Modo Ambiental (1 a 20 torr). La ventaja de las modalidades Bajo Vacío y Ambiental es que se pueden analizar muestras sin necesidad de preparación previa, como el metalizado o secado por punto crítico, aunque la calidad de resolución es menor que en el modo Alto Vacío.

La columna de electrones

Un esquema de la columna de electrones y óptica del SEM puede observarse en la Figura 2.

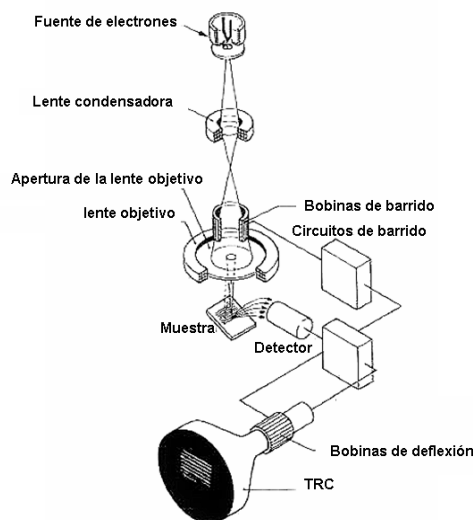


Figura 2. Diagrama esquemático de un microscopio electrónico de barrido.

La fuente de electrones convencional consta de un filamento de tungsteno (W) de aproximadamente $100\mu\text{m}$ de diámetro que se calienta produciendo un haz de electrones por emisión termoiónica. El filamento está rodeado por una pieza metálica cilíndrica, denominada cilindro de Wehnelt (Figura 3), que se mantiene a un potencial negativo variable que obliga a los electrones a focalizarse en una pequeña región de entre 25 y $100\mu\text{m}$. Unos pocos milímetros por debajo de esta pieza metálica se encuentra un ánodo que puede polarizarse hasta un potencial de 50kV . Los electrones se aceleran a este potencial mientras que un par de bobinas electromagnéticas denominadas lentes condensadoras, demagnifican el haz una cierta cantidad. Un segundo par de bobinas, llamadas lentes objetivo concentran el haz hasta una sección mínima, que puede variar de 1nm a 500nm . Asimismo, un par de bobinas de deflexión electromagnéticas permiten realizar el barrido del haz de electrones sobre la muestra en sincronismo con la impresión de la imagen en la pantalla del monitor. Esto implica que a cada punto de la muestra le corresponde un punto de la imagen.



Figura 3. Imagen del cilindro de Wehnelt utilizado en el ESEM del LIMF.

Existen otras fuentes electrónicas más intensas como los cátodos de hexaboruro de Lantano (LaB_6) y los cátodos fríos o de emisión de campo (FEG), que son más duraderos permitiendo mejores resoluciones por ser de mayor brillo. El FEG es la fuente de electrones utilizada en los SEM de alta resolución.

Interacción de los electrones con la materia

Cuando un haz de electrones choca con la superficie de una muestra se producen distintos y complejos fenómenos, siendo los más comunes las dispersiones inelásticas (cambios en la energía de los electrones incidentes con cambios despreciables en su dirección) y las dispersiones elásticas (cambios de dirección de los electrones incidentes con pérdida despreciable de energía). La interacción del electrón incidente puede ser con el núcleo o con los electrones atómicos, dando lugar a diferentes señales que pueden ser utilizadas para producir una imagen en el SEM o bien para realizar análisis elemental de la muestra en estudio:

- Cuando la interacción del electrón incidente es con los electrones más periféricos de los átomos de la muestra, muchos de estos electrones de valencia son eyectados fuera de la muestra como **electrones secundarios** de baja energía.
- En la interacción de los electrones incidentes cerca del núcleo de los átomos de la muestra, se produce una gran deflexión en la dirección del electrón. De esta manera, estos electrones son dispersados elásticamente hacia atrás y son eyectados fuera del espécimen (**electrones retrodispersados o "backscattered"**), y la fracción de éstos aumenta con el número atómico de la muestra.
- La interacción inelástica de los electrones incidentes con los electrones de las capas más internas del átomo dan lugar al **espectro de rayos X de líneas características** de los elementos presentes en la muestra.
- Muchos de los electrones incidentes que interactúan elástica o inelásticamente, pueden atravesar la muestra, si la misma es muy delgada. Estos **electrones transmitidos**, dan lugar a diferentes señales en lo que se conoce como modo STEM (Scanning Transmission Electron Microscope). En este caso, se puede colocar en la cámara portamuestras del ESEM del LIMF un detector para obtener imágenes en modo STEM.

El ESEM del LIMF cuenta con capacidad analítica por rayos X. En la Figura 4 se puede observar el detector de rayos X dispersivo en energías adosado al microscopio. Este detector permite obtener imágenes de rayos X, además de los espectros de composición química elemental. Estos análisis proveen información cualitativa y semicuantitativa de la zona en que se encuentran determinados elementos en forma simultánea.



Figura 4. Espectrómetro de rayos X dispersivo en energías EDAX SDD Apollo 40.

Formación de imágenes en el SEM

En el SEM, se focalizan electrones de alta energía en un fino haz, el cual barre la superficie de la muestra. Como fuera explicado anteriormente, una amplia variedad de señales son producidas debido a interacciones complejas del haz de electrones con los átomos del espécimen. Estas señales (electrones secundarios y electrones retrodispersados o backscattered) son colectadas por distintos detectores colocados en la cámara portamuestras del microscopio. En el modo Alto Vacío, el detector fotomultiplicador

centellador desarrollado por Everhart and Thornley (E-T), genera imágenes topográficas a partir de la detección de electrones secundarios. En el modo Bajo Vacío se utiliza para la generación de estas imágenes el detector Large Field Detector (LFD) de FEI. En las dos modalidades mencionadas, el detector de electrones retrodispersados DualBSD de FEI, permite obtener imágenes con contraste composicional. En la modalidad Ambiental, la imagen se genera a través del detector de electrones secundarios gaseoso (GSED). En esta modalidad, se coloca en la cámara un portamuestras que permite variar la temperatura, de esta manera se puede mantener la muestra dentro de la cámara, con un 100% de humedad relativa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se pueden observar algunas imágenes obtenidas con el ESEM del LIMF. En la Figura 5a se muestra una imagen topográfica adquirida con el detector E-T de la superficie de fractura de una pieza de aluminio. En la Figura 5b se puede observar la imagen obtenida con el detector LFD de un piojo en modo Bajo Vacío y en este caso la muestra no requirió secado por punto crítico y/o metalizado. Esta misma muestra sin preparación, se habría colapsado en modo Alto Vacío por el vacío generado en la cámara portamuestras.

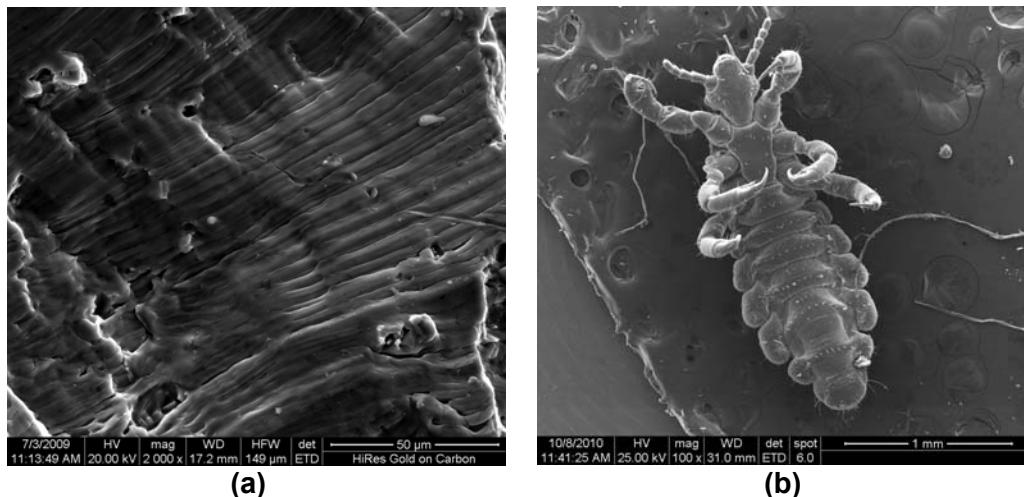


Figura 5. (a) Superficie de fractura de una muestra de Aluminio, (b) Imagen de un *Pediculus humanus* comúnmente denominado piojo.

En la Figura 6 se puede observar una imagen obtenida con el detector GSED. En este caso la muestra tampoco requirió preparación para ser observada en el ESEM.

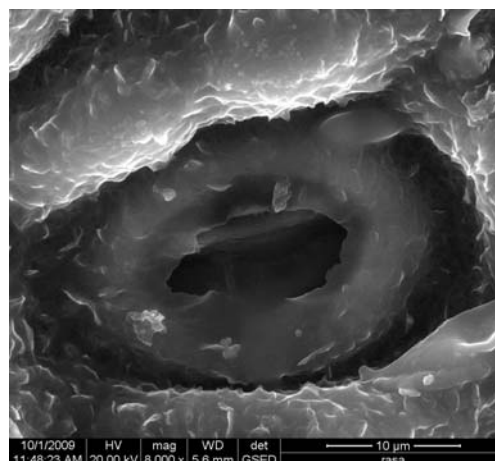


Figura 6. Estoma de la hoja de un eucalipto en alcohol obtenida con el detector GSED.

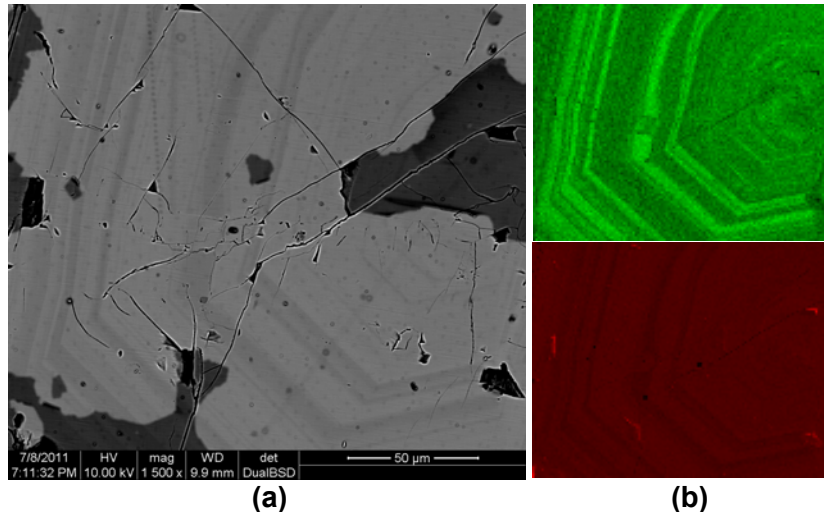


Figura 7. Imagen de una muestra de plagioclasa (a) obtenida con el detector DualBSD (b) imagen de rayos X de calcio (arriba) y sodio (abajo) obtenidos con el detector dispersivo en energías.

En la Figura 7a se puede observar la imagen de electrones retrodispersados con contraste composicional de una plagioclasa (solución sólida isomorfa entre albita ($\text{NaAlSi}_3\text{O}_8$) y anortita ($\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8$)). En este caso, el contraste de grises se produce debido a los diferentes elementos que componen la muestra. En la Figura 7b se muestran las imágenes de rayos X del sodio y calcio presentes en la plagioclasa. Esta imagen da información de dónde se encuentra el elemento, es decir, cada punto indica la presencia del elemento. También se pueden obtener datos semicuantitativos de cada elemento punto a punto.

CONCLUSIONES

El microscopio electrónico de barrido permite obtener información topográfica y composicional rápida, eficiente y simultáneamente en distintos tipos de muestras. En este trabajo se muestra el potencial de los equipos y las posibilidades de uso de los mismos. El Servicio de Microscopía Electrónica de Barrido y Microanálisis del LIMF-Facultad de Ingeniería-UNLP, brinda sus servicios a toda la comunidad científica, organismos oficiales, y empresas estatales y privadas, a través de todo el equipamiento mencionado en el presente trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Goldstein J.I., Newbury D.E., Echlin P., Joy D.C., Romig Jr., A.D., Lyman C.E., Fiori C. and Lifshin E. (1992). *Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis, Second Edition*; Scanning Plenum Press.
- Joy D.C., Romig Jr., A.D., and Goldstein J.I. (1989). *Principles of Analytical Electron Microscopy*; Plenum Press.
- Reimer L. (1985). *Scanning Electron Microscopy – Physics and Image formation and microanalysis*; Springer Series in Optical Sciences; Springer-Verlag.