

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TEHNOLOOGIATEADUSKOND

Füüsika Instituut

Helina Seemen

**AATOMKIHTSADESTATUD
ALUMINIUMOKSIIDI MÕJU
MIKROTOOMITERA LÕIKEVÕIMELE**

Bakalaureusetöö (12 EAP)

Juhendajad: MSc Taivo Jõgiaas

MD Ragnar-Toomas Kibur

Kaitsemisele lubatud

Juhendaja

Allkiri, kuupäev

Tartu 2015

Sisukord

Kasutatud lühendid.....	4
1. Sissejuhatus	5
1.1 Teematika olulisus	5
1.2 Töö eesmärk	5
1.3 Autori osa töös ja töö tutvustus	6
2. Valdkonna ülevaade ja seadmete tutvustus	7
2.1 Mikrotoom	7
2.1.1 Materjali histoloogilise töötlemise etapid	7
2.1.2 Üldine mikrotoomi põhimõte.....	8
2.1.3 Mikrotoomide liigitus	8
2.1.4 Mikrotoom MIKROM HM 200	10
2.1.5 Luukude	12
2.1.6 Viilu kvaliteeti mõjutavad faktorid	13
2.2 Aatomkihtsadestamine.....	14
2.2.1 Mõisted ja põhimõtted	14
2.3 Skaneeriv elektronmikroskoop	15
2.3.1 Nõuded proovile ja ettevalmistus.....	16
2.3.2 Olulisemad komponendid ja tööpõhimõte	16
3. Eksperimendid ja tulemused	21
3.1 Mikrotoomiterade iseloomustamine	21
3.1.1 Terade orgaaniliste lahustega puhastamine.....	21
3.1.2 Iseloomustamise tulemused	21
3.2. Mikrotoomiterade töötamise mõju lõikevõimele	24
3.2.1 Algse mikrotoomitera lõikevõime	26
3.2.2. Karestamiseta kattega mikrotoomitera.....	27
3.2.6. 20 min karestatud kaetud tera lõikevõime	35

4. Järeldused	38
5. Kokkuvõte	39
6. Summary	41
7. Tänuavaldused.....	43
Kasutatud kirjandus.....	44
Lisa 1 – Terade pinnaprofiilid.....	47
Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks	51

Kasutatud lühendid

ALD – *atomic layer deposition* – aatomkihtsadestamine (AKS)

AFM – *atomic force microscopy* – aatomjõumikroskoop

SEM – *scanning electron microscope* – skaneeriv elektronmikroskoop

EDX/EDS – *energy-dispersive (X-ray) spectroscopy* – energia hajuvusspektroskoopia

TMA – *trimethylaluminum* - trimetüülalumiinium

1. Sissejuhatus

1.1 Teematika olulisus

Histoloogia on teadus rakkude, kudede ja organite arenemisest, ehitusest ja talitlusest [1]. Üheks histoloogia allharuks on patoloogiline histoloogia, mis uurib haiguslikult muutunud kudesid [2]. Patohistoloogiline uuring teostatakse probleemsetele koetükkidele, mida tuleb eelnevalt töödelda selleks, et koetükk oleks mikroskoopiliselt uuritav. Üheks töötamise sammuks on mikrotomeerimine ehk mikrotoomi abil töödeldud koeproovist mikroskoopiliseks vaatluseks sobiva paksusega viilude lõikamine. Mikrotoom on lõikava teraga varustatud seade, mis võimaldab kindlalt fikseeritud koeproovist lõigata ühtlaseid ja ettemääratud paksusega viile [3]. Patohistoloogilise uuringu korral on koeproovist lõigatud viilude abil võimalik diagnoosida erinevaid haigusi. Lisaks saab viiludel nähtu alusel otsustada põletikuprotsesside iseloomu ja kasvajakude invasiooni üle organismis. [4]

Mikrotoomi üheks kuluvaimeks komponendiks on tera, mille omadustest sõltub suurel määral lõigatud viilu kvaliteet. Tera lõikeserv kulub viilutamise tagajärjel kergesti, mistõttu tuleb neid kvaliteetse viilu saamise huvides sageli välja vahetada. Kvaliteetne tera lõikab koeproovist järjest reana terviklikke ja artefaktide vabasid viile, viil on aukudevaba, tera pole viilu kahjustanud ja koeproovi värvimise järel on huvipakkuv koestruktuur eristatav. Tartu Ülikooli Arstiteaduskonna Anatoomia instituudi histoloogia laboris kasutusel olevate teradega luukoeproove viilutades esines probleeme. Tõrkeid esines proovi läbistamisel ja tervikliku viilu saamisel – tuli ette olukordi, kus tera preparaati ei läbistanud.

1.2 Töö eesmärk

Käesoleva töö ajendiks on soov muuta histoloogia laboris kasutatavad terad luukude lõikavaks, kasutades selleks aatomkihtsadestamise meetodit. Aatomkihtsadestamine (inglise keeles *atomic layer deposition* ehk ALD) on keemiline aurufaasist sadestamise meetod, mis põhineb vahelduvatel gaas-tahkis reaktsioonidel ja võimaldab luua tahkiskilesid [5]. Kaaludes ALD meetodiga teradele katte sadestamist selgus, et informatsioon ALD varasemast kasutamisest terade katmiseks puudus.

Käesoleva bakalaureusetöö eesmärgiks on välja selgitada, kas mikrotoomiterade karestamine ja teradele ALD meetodi abil alumiiniumoksiidi (Al_2O_3) sadestamine suurendab tera

lõikevõimet ehk muudab luukoeproovi lõikamise tõrgetevabaks ja lõigatud viilud kvaliteetseks. Töö teine eesmärk on hinnata ALD eelse karestamise vajalikkust.

1.3 Autori osa töös ja töö tutvustus

Käesoleva bakalaureusetöö autori ülesanne on koostöös kiletehnoloogialabori ja histoloogia laboriga panna alus mikrotoomiterade oksiidkilega katmisele aatomkihtsadestamise meetodit ja pinna karestamist kasutades.

Autori osa töös oli:

1. uue ja kasutatud tera lõikeserva iseloomustamine ja tera koostise määramine skaneerivat elektronmikroskoopi (SEM) ja energia hajuvusspektroskoopiat (EDS) kasutades;
2. terade puhastamine ja happelise lahusega töötlemine ning puhastamise ja töötlemise mõju hindamine SEM-i abil tera pinnaprofiili kirjeldades;
3. osalemine teradele Al_2O_3 sadestamisel ALD meetodit kasutades ja terade sadestamisjärgne iseloomustamine SEM-i ja EDS-i abil;
4. mikrotoomitera lõikevõime hindamise eksperimendi püstitus, eksperimendis osalemine ja terade lõikeserva lõikamisejärgne iseloomustamine SEM-i abil;
5. saadud tulemuste analüüsimine ja järelduste tegemine eksperimendi edukuse ja meetodi rakendatavuse kohta.

Bakalaureusetöö algab ülevaatega mikrotoomidest, mikrotoomiteradest ja koeproovi ettevalmistusest. Järgnevad ALD, SEM-i ja EDS-i ja muid kasutatud seadmeid ja meetodeid puudutav teooria. Eksperimentaalosa algab orginaal- ja kasutatud tera iseloomustamisega, täpsema katsekorralduse kirjeldusega ning nii karestamise, ALD kui ka tera testimisega seotud parameetrite esitamisega. Sellele järgnevad eksperimendi tulemused ja järeldused. Järeldustes on esitatud ideid tulevikuks.

2. Valdkonna ülevaade ja seadmete tutvustus

2.1 Mikrotoom



Joonis 1. Mikrotoom – objektihooldjasse kinnitatakse objekt, tera hooldjasse kinnitatakse tera ja juhtimiskangi abil toimub viilu lõikamine. [9]

Nimetus mikrotoom pärineb kreeka keelsetest sõnadest *mikros* ja *temnein*, kus *micros* tähendab väikest ja *temnein* – lõikama [6]. Mikrotoom (joonis 1) on lõikava teraga varustatud seade, mis võimaldab lõigata erinevaid kindlalt fikseeritud koeproove mõne mikromeetri paksusteks viiludeks eesmärgiga võimaldada proovi mikroskoopilisi uuringuid [7]. Selleks, et kude või muu vaadeldav materjal oleks mikroskoopilisteks uuringuteks sobilik, tuleb eelnevalt läbida erinevaid histoloogilise töötlemise etappe. [8]

2.1.1 Materjali histoloogilise töötlemise etapid

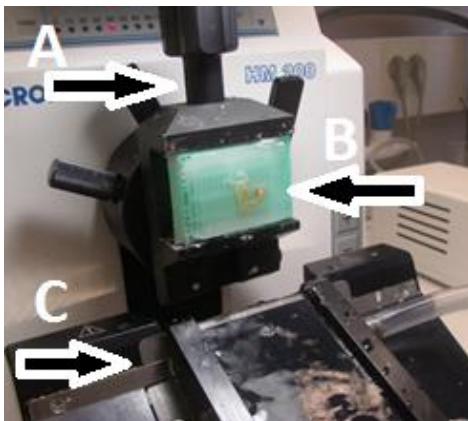
Rakke ja kudesid tuleb mikroskoopilisteks uurimisteks eelnevalt prepareerida ehk ette valmistada. Preparaatide valmistamine ehk materjali töötlemine on aeganõudev protsess, mis algab materjali saamisega, jätkub materjali sobivaks töötlemiseks ning lõpeb viilude värvimisega. [1] Järgnevalt on esitatud materjali (organismide, kudede, rakkude) histoloogilise töötlemise ehk histotehnika etapid.

1. Fikseerimine – materjali konserveerimine valke sadestavate kemikaalide lahuse abil. Fiksaatori ülesanne on takistada valkude surmajärgset lagunemist, teostades valkude kalgendamist. Fikseerimise eesmärgiks on materjali struktuuride võimalikult hea säilimine.
2. Materjali pesemine ja dehüdratatsioon ehk vee eemaldamine – materjali pestakse voolavas või sagedasti vahetatavas vees. Pesemine on vajalik materjalist fiksaatori eemaldamiseks. Dehüdratatsiooni käigus läbib materjal erineva kangusega alkoholide seeria, mis kasvab 50%-lt kuni 100%-ni. Igas lahuses hoitakse materjali 1 ööpäev.
3. Sisestamine ehk materjali viimine tahkesse keskkonda – kasutatakse parafiin-, tselloidiin- ja želatiinsisestust. Antud uurimistöös olid objektid parafiinsisestusega. Sisestamise käigus eemaldatakse alkohol tavaliselt kloroformi abil ja kloroform

eemaldatakse omakorda parafiini kontsentratsiooni järkjärgulise tõstmisega. Materjal koos ümbritseva sulaparaafiiniga paigutatakse spetsiaalsetele restidele ning jahutatakse külmas vees kiiresti maha. Jahutamise tulemusena parafiin tahkub ja muutub kõvaks. Materjal koos ümbritseva parafiinikihiga lõigatakse restidelt välja ja kleebitakse sulaparaafiini abil plokkidele, mida nimetatakse ka kassetideks. Seejärel on plokk valmis mikrotoomiga lõikamiseks.

4. Preparaadist lõigatakse mikrotoomi abil õhukesi viile värvimise ja mikroskopeerimise jaoks. Valgusmikroskoobi jaoks sobiva paksusega viil on vahemikus 4-10 μm .
5. Lõikude deparafineerimine – parafiini eemaldamine selleks, et võimaldada viilude värvimine;
6. Värvimine – eesmärk on teineteisele lähedalseisvate struktuuride kontrasti tõstmine, valgusmikroskoobi lahutusvõime suurendamine valge valguse lainepikkusel. [1] [2] [3]

2.1.2 Üldine mikrotoomi põhimõte



Üldine mikrotoomi töö põhimõte on järgnev – koeproovi kassett (joonis 2) asetatakse objektiivhoidjasse ja fikseeritakse vastavate kruvidega, objektiivhoidja liigutatakse lõikesuunaga risti olevas sihis terale piisavalt lähedale, et objekti lõikesihis liigutades oleks võimalik tera ja objekti vahelise kontakti tulemusena viilu eraldumine. Lõigatud viilu paksus on võrdne vahemaaga, mille võrra objekti terale lähemale lõigati.

Joonis 2. Luukoeproov parafiinis on kindlalt fikseeritud rohelise kasseti külge (B) ja kinnitatud kruvide abil (A) objektiivhoidjasse. Fotel paistab tera (C), osa veerennist ja torust, mille kaudu veerenni veega varustatakse.

Eraldunud viil korjatakse optilise mikroskoobi alusklaasile ning kui mikrotoom on viilu transportimiseks kasutanud vett, asetatakse viil koos alusega konstantset temperatuuri hoidvale küttealusele kuivama. [8]

2.1.3 Mikrotoomide liigitus

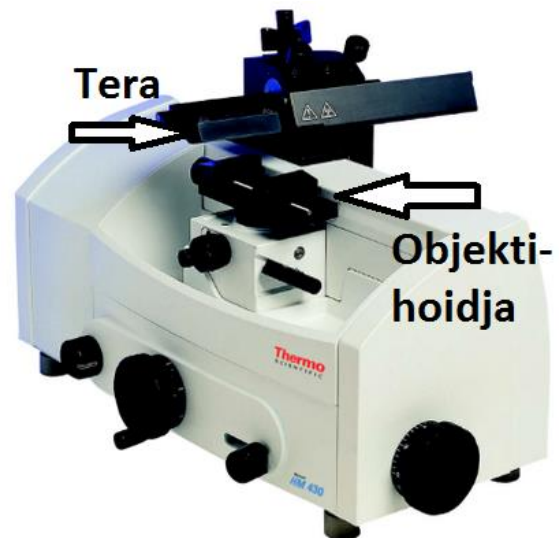
Kasutusel on nii manuaalseid, elektroonilisi kui ka motoriseeritud mikrotoome, kus vastavalt esitatud järjekorrale väheneb operaatori roll ja mõju viilude lõikamisele. Manuaalse

mikrotoomi korral tuleb histoloogil käsitsi objekt terale piisavalt lähedale tuua ja juhtimiskangi abil viile lõigata. Elektroonilise mikrotoomi korral on võimalik nupuvajutusega objekti lõikesihile ristsihis piisavalt lähedale liigutada ning kui mikrotoom kasutab lõigatud viilude liigutamiseks vett, siis ka vee voolamine on realiseeritud elektroonikat kasutades, kuid viilu lõikamiseks vajalikku kangi tuleb operaatoril endiselt liigutada. Motoriseeritud mikrotoomi korral on kogu lõikamisprotsess motoriseeritud – masin lõikab ise viilu ja operaatori käeliigutuse ehk inimfaktori mõju viilu lõikamise hetkel puudub. [10]

Töömehhanismi järgi jagunevad mikrotoomid peamiselt rotatsioonmikrotoomideks (inglise keeles *rotary microtome*) (joonis 3) ja liugmikrotoomideks (inglise keeles *sledge microtome*) (joonis 4). Rotatsioonmikrotoomi puhul liigub juhtimiskang ringikujuliselt, et võimaldada objekti hoidja ühtlane liikumine viilutamise hetkel. Liugmikrotoomide korral on objekt koos objekti hoidjaga paigal ja tera liigub horisontaalsihis üle objekti, lõigates soovitud viilu. Nii



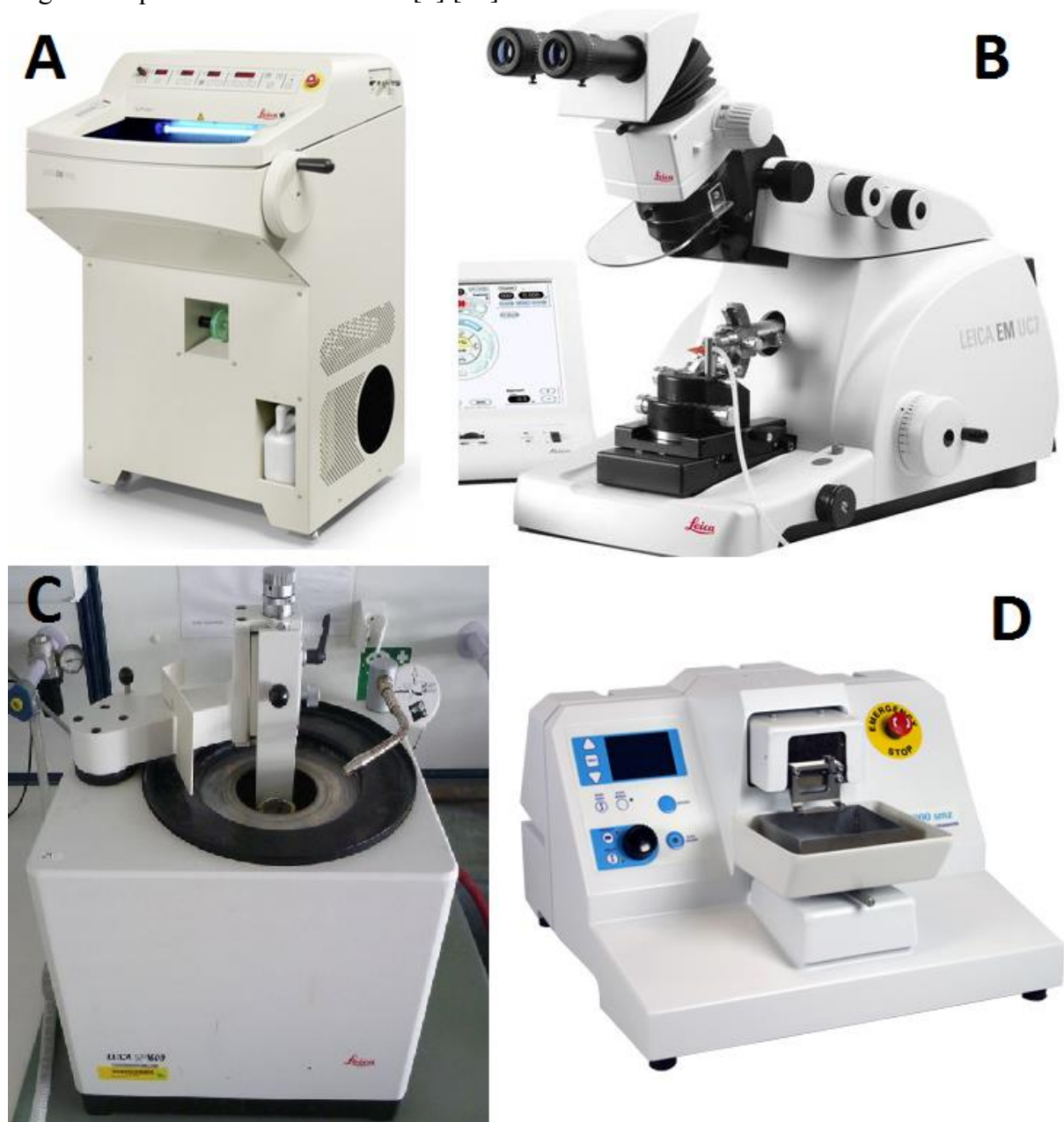
Joonis 3. Rotatsioonmikrotoom HM 325. Noolega on märgitud juhtimiskangi asukoht. [11]



Joonis 4. Liugmikrotoom HM 430. Tera liigub horisontaalsihis üle objekti ning tera ja objekti kokkupuute tulemusena eraldub viil. [12]

kelk- kui ka rotatsioonmikrotoomi kasutatakse parafiini või tselloidiini sisestatud materjalidest 5-15 μm paksuste viilude saamiseks. Želatiini sisestatud ja külmutatud materjalist sama paksude viilude lõikamiseks kasutatakse külmutus ehk krüomikrotoomi (inglise keeles *cryomicrotome*) (joonis 5 A). [1] Veel on olemas ultramikrotoom (inglise keeles *ultramicrotome*) (joonis 5 B), millega saab lõigata 0.5-1.0 μm paksuseid viile; vibreeriv mikrotoom (inglise keeles *vibrating microtome*) (joonis 5 D), mis on varustatud vibreeriva mikrotoomiteraga, millega lõike tegemine nõuab vähem surve avaldamist kui paigalasuva

teraga lõike tegemine ning saagmikrotoom (inglise keeles *saw microtome*) (joonis 5 C) on varustatud pöörleva saega. Nii vibreerivat kui ka saagmikrotoomi kasutatakse raskesti lõigatavate proovide läbistamiseks. [8] [10]



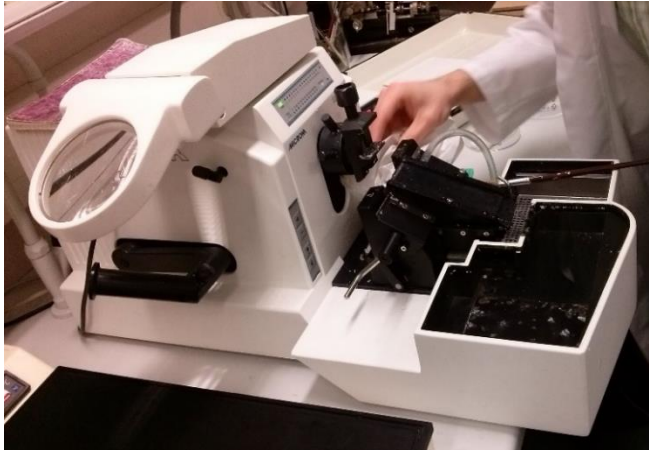
Joonis 5. A – krüomikrotoom [13] , B – ultramikrotoom [14], C – saagmikrotoom [15], D – vibreeriv mikrotoom [16]

2.1.4 Mikrotoom MIKROM HM 200

Käesoleva lõputöö lõikamiseksperimentide käigus kasutati Tartu Ülikooli Arstiteaduskonna Anatoomia instituudi histoloogia laboris paiknevat elektroonilist mikrotoomi MIKROM HM 200 Ergostar (joonis 6). MIKROM'i näol on tegu Saksamaal Walldorfis asuva

tehnoloogiaettevõttega, mis toodab mikrotoome ja teisi laboratoorseid instrumente. Selle mikrotoomiga on võimalik lõigata lõike paksusega 1-250 µm. [9]

2.1.4.1 Tööpõhimõte



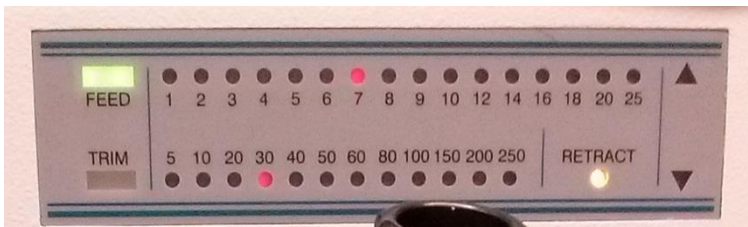
Joonis 6. Eksperimentides kasutati MIKROM HM 200 mikrotoomi.

Mikrotoom MIKROM HM 200 puhul on tegu elektroonilise mikrotoomiga, mille puhul on kasutatud nii pöörleva kui ka liugmikrotoomi eelised. Objekt liigub kangi liigutamise tulemusena vertikaalselt, mis on iseloomulik pöörlevale mikrotoomile, kuid kangiliigutused on horisontaalsuunalised, mitte ringikujulised nagu pöörleva mikrotoomi iseloomustuses kirjeldatud. Proovi horisontaalsuunas liigutamine määrab

proovi koguse, mis üle teraserva viiluna libiseb ning libisemine on omakorda liugmikrotoomile iseloomulik. [9][17]

Täpsemalt näeb protsess välja järgnev:

1. masin lülitatakse sisse, soovitud mikrotoomitera asetatakse hoidjasse ja tekitatakse pidev veevool renni, mida mööda lõigatud viilud hiljem veevanni liiguvad;
2. koeprooviga kassett asetatakse vertikaalselt objektihooldjasse ja kinnitatakse selleks ettenähtud kruvidega (joonis 2);
3. Kasutades valikut „TRIM” (joonis 7), määratakse visuaalse hinnangu alusel vahemik, mille võrra on vaja objektihooldjat terale lähemale liigutada, et objekt oleks mikrotoomitera servale piisavalt lähedal. Mikrotoom liigutab aluse terale etteantud vahemiku võrra lähemale,



Joonis 7. „TRIM“-i abil viiakse objektihooldja terale piisavalt lähedale ja käskluse „FEED“ abil määratakse lõigatava viilu paksus.

vahemiku võrra lähemale, vajadusel korratakse sammu seni, kuni objekt on terale piisavalt lähedal;

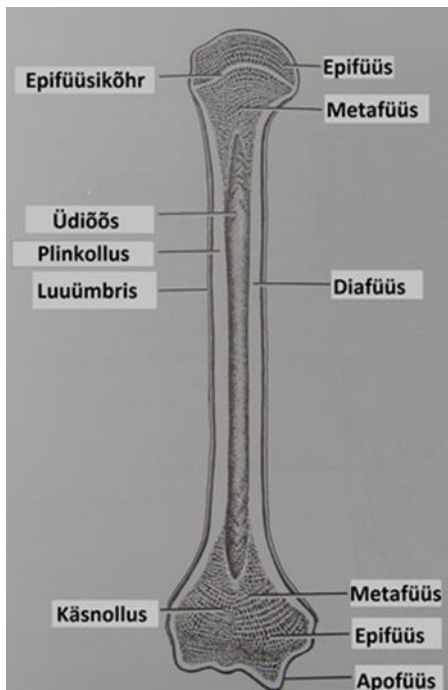
4. Valitakse viilutamise režiim ehk „FEED”, seadistatakse viilu paksus soovituks ning liigutades mõlemal mikrotoomi küljel asuvat

kangi horisontaalsihis edasi-tagasi, liigub objekt vertikaalsihis ehk ülesse alla. Ülevallt alla liigutamisel eraldub tera lõikeservaga kokkupuute tulemusel viil.

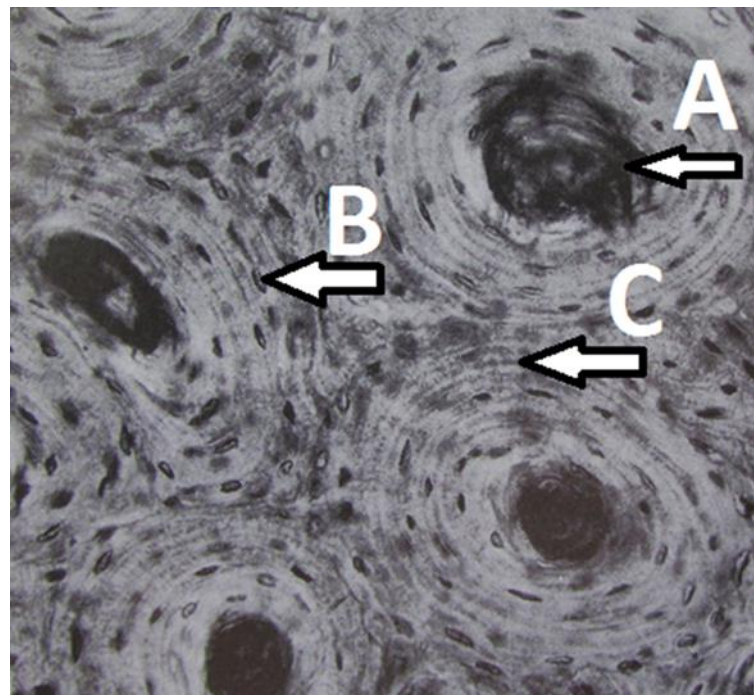
5. Viilud juhatakse vee poolt mööda renni veevanni, kust korjatakse soovitud viilud alusklaasile ning asetatakse konstantset temperatuuri hoidvale alusele kuivama.

2.1.5 Luukude

Luud saab liigitada tüüpkuju järgi pikkadeks, lühikesteks ja lamedateks luudeks. Käesolevas töös oli vaatluse all pika luu ehk toruluu plinkollus, mistõttu võeti siinkohal toruluu ehitus täpsema vaatluse alla (joonis 8). Toruluu keskosa ehk diafüüs on toru, mille sein koosneb tihedast luuainest ehk plinkollusest ja mille sees asub üdiõõs. Luu mõlemad otsosad koosnevad käsnullusest, mis on kaetud õhukesest plinkolluse kihiga, metafüüsist ja epifüüsist ehk naaberluudega liigestuv osa. Kasvavas luus eraldab epifüüsi ja metafüüsi epifüüsikõhr. Sidemete kinnituskohal võib olla luujätke ehk apofüüse. [18]



Joonis 8. Toruluu ehitus. [18]

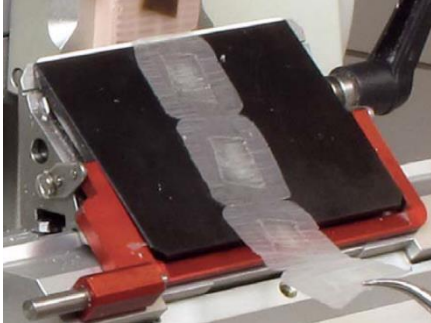


Joonis 9. Plinkolluse mikroskoobifoto. A – Haversi kanal, B – luulakuun, C – kotsentrilised lamellid. [19]

Plinkolluse viilu (inglise keeles *compact bone*) mikroskoobifoto (joonis 9) kujutab plinkolluse ristlõiget, kus eristub Haversi kanal, mis kulgeb piki luu pikitelge ja sisaldab luukude toitvaid

veresooni ja närvikude. Kanalid on ümbritsetud kotsentriliste lamellidega ehk Harversi lamellidega ning lamellide vahel paiknevad luulakuunid, milles asuvad osteotsüüdid. [2]

2.1.6 Viilu kvaliteeti mõjutavad faktorid



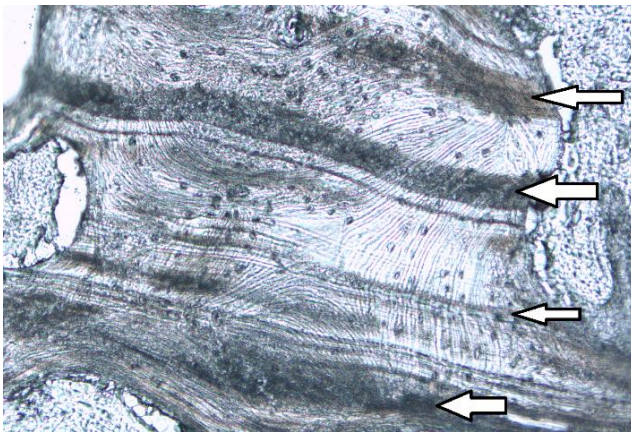
Joonis 10. Näide lõigatud viiluderibast. [20]

Kvaliteetsed viilud on terved, neid on võimalik lõigata reana (joonis 10) ja värvimise järel on huvipakkuv koestruktuur eristatav ja iseloomustatav.

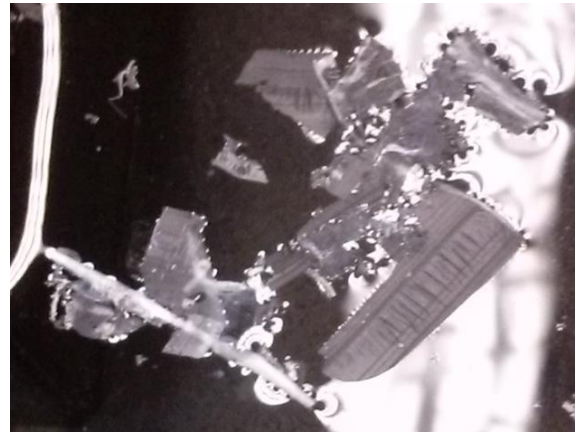
Kvaliteetse viilu saamiseks peab:

1. Kassett peab olema objektihoija külge kinnitatud kindlalt ja õige nurga all – kui kassett ja sellest lähtuvalt preparaadi pind on kinnitatud väikse kaldega nurga all, ei oleks võimalik preparaadist lõigata ühtlase paksusega viile;
2. viilu paksuse valik peab olema optimaalne – nii liiga õhukesest kui ka liiga paksust viilust võib vajaliku informatsiooni kättesaamine olla raskendatud;
3. tera peab olema terav ja sobiv soovitud koepreparaadi lõikamiseks. [20]

Nüri tera poolt koeproovi viilule jäetavad artefaktid on näiteks lõiku optilise mikroskoobiga vaadates selgelt eristuvad tumedad viirud (joonis 11). Samuti viitab lõikamisel tera nüridusele sage viilu purunemine ja rebenemine (joonis 12).



Joonis 11. Optilise mikroskoobi all nähtavad tumedad viirud viitavad tera nüridusele.



Joonis 12. Näide purunenud viilust.

2.2 Aatomkihtsadestamine

2.2.1 Mõisted ja põhimõtted

Aatomkihtsadestamine (inglise keeles *atomic layer deposition* ehk ALD) on keemiline aurufaasist sadestamise (inglise keeles *chemical vapor deposition*) meetod, mis põhineb vahelduvatel gaas-tahkis reaktsioonidel ja võimaldab luua tahkiskilesid. [5] Tahkiskile on tahkest ainest koosnev õhuke materjalikiht. Sobivate sadestustingimuste korral on gaasifaasis olevate ühendite keemiline reaktsioon tahkisega iseküllastuv. [21]

Tahkiskilede sünteesiks kasutatakse kahte või enamat lähteainet. ALD eripära võrreldes teiste keemilise aurufaasist sadestamise meetoditega on lähteainete aurude ükshaaval reaktorisse pulseerimine. Aatomkihtsadestamise üheks lähteaineks on metalloksiidide kasvatamisel metalliline lähteaine aurufaasis, näiteks TiCl_4 või $\text{Al}(\text{CH}_3)_3$ ehk TMA ja teiseks lähteaineks oksüdeerija, mis on tihtipeale H_2O . [22] Lähteainete pulsside vahepeal reaktsioonikambrit puhastatakse. Puhastamine ja lähteainete vaheldumisi alusele juhtimine on vajalikud selleks, et erinevad agressiivselt ehk kiiresti reageerivad lähteained ei saaks gaasifaasis seguneda. [5] Tüüpiline puhastamiseks sobiv inertgaas, mis sobib ka kandegaasiks on näiteks N_2 või Ar. Kandegaas on gaas, millega suunatakse lähteained reaktsioonistsooni.

Aatomkihtsadestamise protsessi üks tsükkel koosneb üldiselt järgmisest neljast sammust:

1. Esimese lähteaine aurude juhtimine reaktsioonikambrisse inertgaasi/ kandegaasi voos ja selle adsorptsioon vaakumkeskkonnas oleva aluse pinnale;
2. Puhastuspulss – inertgaasiga läbipuhumise teel reaktsioonikambri ja aluse pinna puhastamine lähteaine ülejääkidest ja reaktsiooniproduktidest;
3. Teise lähteaine aurude juhtimine kambrisse kambrisse aluse pinnale adsorbeerunud kihi keemiliseks modifitseerimiseks. Pinnal toimuvate reaktsioonide tulemusena tekib pinnale soovitud kilematerjali kiht;
4. Toimub reaktsioonikambri inertgaasiga läbipuhumine, pinna ja aluse puhastamiseks ning pinnareaktsioonid jõuavad lõpule.

Kui kogu tsükkel on läbitud, on pinnale sadestunud mitte rohkem kui üks monokiht tahkist. Monokiht on kasvatatava ühendi kõiki aatomeid sisaldav tihe elementaarkiht. Tsükli korraldatakse seni kuni soovitud kile paksus on saavutatud. [5] [23][24]

Sadestust iseloomustavad parameetrid on näiteks sadestustemperatuur (ehk temperatuur, millel sadestamine toimub), lähteained ja nende aururõhk, tsükli pikkuseid, pulsiajaid. Ühe

sadestustsükli kestvus on tsükliäeg. Tsükkel koosnes neljast pulsist, ja ühe pulsi kestvus nimetatakse pulsiajaks. Pulsiaegade kombinatsiooni üheks võimalikuks kirjapanemisviisiks on näiteks 0.5-2-2-5 s, milles esimene number tähistab esimese lähteaine pulsi pikkust, teine puhastuse pulsi pikkust, kolmas teise lähteaine pulsi pikkust ja neljas teise puhastuspulsi pikkust. Jagades sadestatud kile paksuse tsükliite arvuga, saab arvutada suuruse, mida nimetatakse kasvukiiruseks tsükli kohta. Kui sadestustsükliite arv on operaatori poolt määratav suurus, siis kile paksuse teadasaamiseks tuleb kasutada teist seadet, näiteks ellipsomeetrit. Kui objektile suunata valguskiir, peegeldub üks kiireosa objekti pinnalt ja teine veidi sügavamalt. Ellipsomeeter määrab kile paksuse nende kahe peegeldunud kiire erinevuse abil. Mõõtmiste sooritamise järel tuleb teoreetilisi kõveraid lähendada eksperimendikõveratega. [25]

Õigesti valitud sadestustingimuste korral sõltub sadestatud kihi paksus lähteaine aururõhust gaasifaasis minimaalselt või ei sõltu üldse. See võimaldab valmistada ühesuguse paksusega kilesid ka keerulise profiiliga pindadel. Meetodi puudusteks on tahkisekile aeglane kasv ja suhteliselt ranged ja sageli ka vastuolulised nõuded lähteainetele. Mõned näited lähteainetele esitatud nõuetest:

- sünteesitav aine peab olema tahkes faasis püsiv;
- ükski lähteaine ei tohi kondenseeruda kasutatavatel aururõhkudel;
- lähteained peavad olema puhtad, pind millele kasvatatakse, peab samuti olema vajadusel eelnevalt puhastatud;
- lähteained peavad olema gaasilised või aurustatavad temperatuuril, mis on madalam kui ALD reaktsioonitemperatuur;
- lähteained peavad reageerima eelistatult kiiresti ja agressiivselt, kuid ei tohiks kilet söövitada;
- lähteained peaksid olema turvalised ja kergesti kasutatavad, eelistatavalt mittemürgised ning mittekorrodeeruvad teiste lähteainete või reaktori materjalide suhtes. [5][22][23]

2.3 Skaneeriv elektronmikroskoop

Skaneeriv elektronmikroskoop (inglise keeles *scanning electron microscope* ehk SEM) on kõrglahutusega elektronmikroskoop, mis loob vaadeldavast pinnast ruumilise kujutise, kasutades selleks elektronkiirt, mis skaneerib üle soovitud pinna. Kiire ja objekti vahelise interaktsiooni tulemusena saadud signaalid muudetakse visuaalsignaalideks ning need signaalid võimaldavad luua objektist ruumilise kujutise. [26]

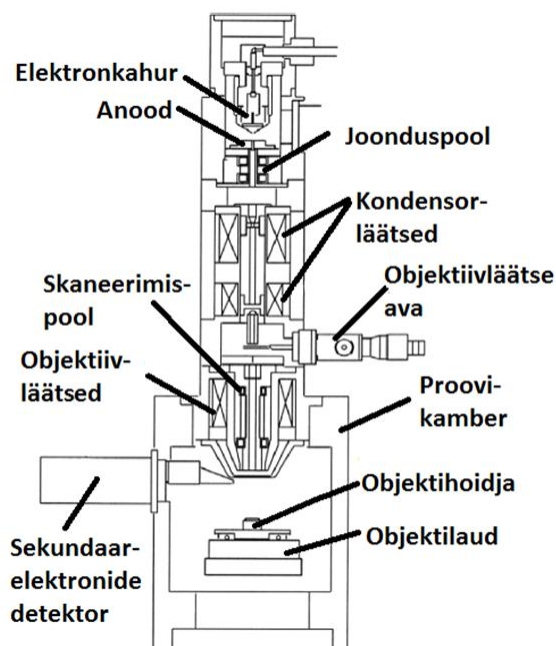
2.3.1 Nõuded proovile ja ettevalmistus

Selleks, et seadet mitte reostada, peavad proovid olema puhtad, tahked, kuivad ning ei tohi vaakumiskambris hoidmise ja elektronkiirega pommitamise käigus laguneda. Lisaks peab vaadeldav objekt olema kindlalt kinnitatud selleks ettenähtud aluse külge, seda eriti juhul kui on plaanis objekti seadmes kallutada.

Metallid on head elektronjuhid, mistõttu on neile piisavaks ettevalmistuseks puhastamine ja näiteks süsinikeibi abil objekti külge kinnitamine. Mittejuhtivad objektid tuleb kvaliteetsema pildi saamise huvides eelnevalt katta üliõhukese elektrit juhtiva materjalikihiga. [26]

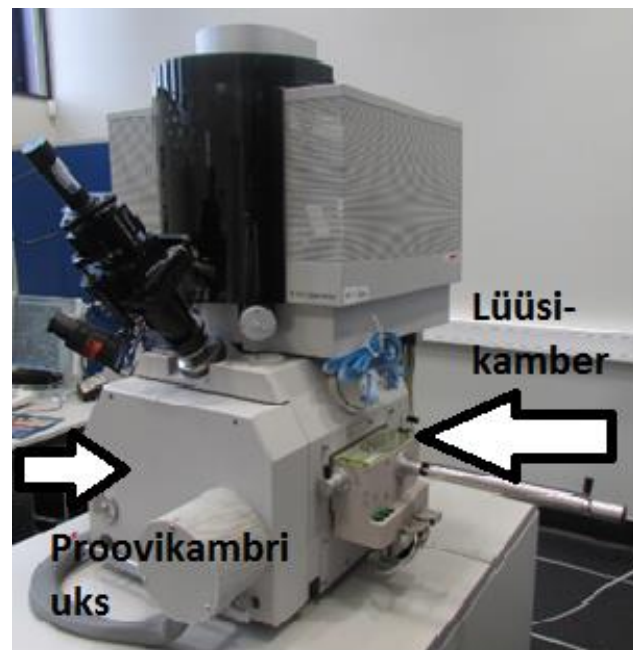
2.3.2 Olulisemad komponendid ja tööpõhimõte

SEM-i peamised operatiivsüsteemid on vaakumsüsteem, elektronkiire tekitamise süsteem, kiire manipuleerimissüsteem, kiire interaktsioonisüsteem, tuvastamis-, signaali töötlemis- ja kuvamis- ning salvestamissüsteem. [27] Seadme olulisemad komponendid on esitatud joonisel 13.



Joonis 13. SEM-i komponentide skeem.

[21]



Joonis 14. SEM Helios Nanolab 600.

Väiksemad objektid saab proovikambrisse sisestada lüüsi-kambri kaudu, suuremate objektide korral on vaja proovikambri uks avada.

2.3.2.1 Vaakumsüsteem ja objekti kambrisse asetamine

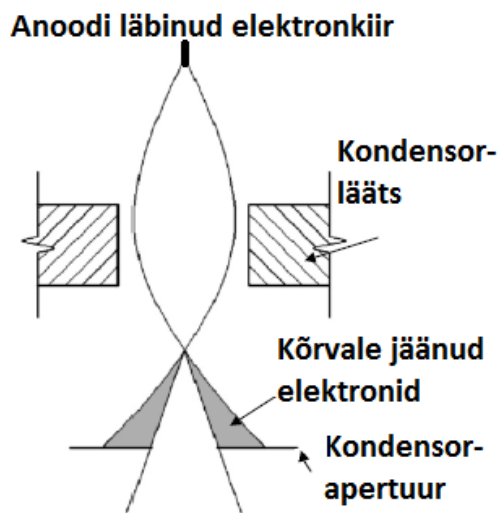
Vaakumsüsteemi ülesanne on tekitada pumpade abil proovikambrisse kõrgvaakum. Vaakumpumpade eesmärk on muuta gaasimolekulide arv minimaalseks, kuna vastasel juhul hajuksid elektronid gaasimolekulidega kokkupõrkamise tulemusena enne uuritava objekti pinnale jõudmist ja kahjustaks elektronkahurit. Kahuri käivitamiseks peab sobiv rõhk olema vähemalt alla 10^{-4} Torri, kuid enamik SEM-ide korral kasutatakse 10^{-6} Torri ja madalamat rõhku. [27] Suurte objektide proovikambrisse sisestamise ja sealt eemaldamise ajaks lülitatakse kiir välja ja lastakse kambrisse õhku, et kambri avamine oleks võimalik. Spetsiaalse aluse külge kinnitatud objekt kinnitatakse omakorda objektilaua hoidja külge, kambriuks suletakse ja taastatakse vaakum. Väiksemate objektide korral viiakse objekt kambrisse õhulüüsi kaudu (joonis 14) ehk objekt asetatakse lüüsikambrisse, kamber täidetakse vaakumiga, objektikambri ja lüüsikambri vaheline uks avatakse. Proov liigutatakse spetsiaalse varda abil objektilaua hoidja külge, varras tõmmatakse kambrit välja ja objekti ja lüüsikambri vaheline uks suletakse. Sellisel juhul pole vaja kambrit õhuga täita.

2.3.2.2 Elektronkiire tekitamise süsteem

Selles süsteemis tekitab elektronkahur vaakumis kindlas suunas liikuva elektronide joa ehk elektronkiire. Kahur koosneb filamendist ehk hõõgniidist, mis kuumutatakse sellise temperatuurini, kus elektronide emissioon on stabiilne. Seda ümbritsev silindriline kate (Wehnelt'i kate), mis on hõõgniidi suhtes negatiivse potentsiaaliga, juhib elektronide liikumist. Positiivse potentsiaaliga anood tõmbab katteavast väljuva elektronkiire enda ja seega ka vaadeldava objekti poole ja kiirendab kiirt. [27][28]

2.3.2.3 Kiire manipuleerimissüsteem

Süsteem koosneb elektromagnetilistest läätsedest ja mähistest. Komponentide üldine ülesanne on elektronkiire fokuseerimine ja objekti pinnale jõudva elektronkiire suuruse, kuju ja asendi kontrollimine. [27] Peale eespoolmainitud anoodi läbimist elektronkiir lahkneb. Kondensorläätsede (joonis 15) ülesanne on elektronkiire koondamine ja kollimeerimine paralleelseks kiirtekimbuks. Kondensorlääts koosneb kahest pooluskingust (inglise keeles *pole pieces*), mis on rauast ja mille sees on vaskmähis. Pooluskingude keskel on auk, et elektronkiir neid läbida saaks. Kui mähise keerduid läbib elektrivool, tekib tugev telgsümmeetriline magnetväli. See väli mõjutab kiirt, fokuseerides teljest kaugemalolevad elektronid tagasi fookusesse. Fookuse asukohta ja seega ka elektronkiire hajumisnurka saab muuta, muutes



Joonis 15. Kondensorläätsede süsteemi skeem koos olulisemate komponentidega. [28]

kondensorläätsel läbiva elektrivoolu tugevust. Fookus asub kondensori apertuurist ehk avast kõrgemal ja apertuur takistab paljude mittehomogeensete ja laiavalgunud elektronide edasiliikumist. Kaasaegsetes SEM-ides kasutatakse kahte kondensorläätsel, sellisel juhul on kondensorläätsel apertuur ainult peale alumisi läätsi. [27][28]

Peale kondensorläätsede apertuuri läbimist, elektronkiir lahkneb. Elektronkiire objekti pinnale fokuseerimiseks kasutatakse objektiivi. Samuti on olemas läätsed, mille ülesanne on pildi moonutatust likvideerida. Skaneerimispoolide ülesanne on liigutada väljunud kiirt punkt- ja ridahaaval üle soovitud pinna. [27][28]

2.3.2.4 Kiire interaktsiooni- ja tuvastamissüsteem

Peale manipuleerimissüsteemi läbimist jõuab kiir objektini. Elektronide ja objekti omavahelisest interaktsioonide käigus tekib mitmeid signaale, mida on võimalik erinevate detektorite abil tuvastada ja eristada. Need signaalid annavad informatsiooni muuhulgas objekti pinna topograafia ja koostise kohta. Tuvastamissüsteem koosnebki erinevatest detektoritest, mis suudavad tuvastada erinevaid energia ja osakeste kiirgusele iseloomulikke signaale. Tüüpilised detekteeritavad signaalid on sekundaarelektronid, tagasipeegeldunud elektronid, karakteristik röntgenkiirgus. Lisaks registreeritakse ka Auger'i elektrone, katoodluminesentsi ja proovi läbinud elektrone. Augeri elektronid on madala energiaga ja seetõttu on nende proovist eemaldumine võimalik vaid pinnalähedastelt kihtidelt. Proovi läbinud elektrone on võimalik detekteerida vaid õhukeste proovide korral (vähem kui 1µm). Katoodluminesents võimaldab registreerida selliseid molekule, mis on elektronkiire kokkupuute tulemusena fluorestseerunud. [26][27][28]

2.3.2.4.1 Sekundaarelektronid

Elektronkiir ioniseerib kokkupuutes objekti pinnaga aatomeid. Selliseid nõrgat seotud elektrone, mis aatomite ioniseerimise tagajärjel pinnast eemalduvad nimetatakse

sekundaarelektronideks. Need elektronid on madala energiaga (enamasti 3-5 eV) ja võivad seetõttu eemalduda vaid alas, mis ei ulatu pinnast rohkem kui mõne nanomeetri sügavusele. Sekundaarelektrone kasutatakse pinnatekstuuri ja kareduse visualiseerimiseks. Saadav topograafiline pilt sõltub sellest, kui palju sekundaarelektrone tegelikult detektorini jõuab. [27][28]

2.3.2.4.2 Tagasipeegeldunud elektronid

Tagasipeegeldunud elektronid on defineeritud kui elektronid, mis on ühe või mitmekordselt hajunud ja mis eemalduvad pinnast 50 eV-st suurema energiaga. Elektroni ja objekti aatomituumade vaheline elastne kokkupõrge põhjustab elektroni tagasipõrkumisega kaasneva lainurkse suunamuutuse. Tagasipeegeldunud elektronid omavad informatsiooni nii objekti koostise kui ka topograafia kohta. [27][28]

2.3.2.4.3. Karakteristlik röntgenkiirgus ja energia hajuvusspektroskoopia

Piisavalt suure elektronikiire energia korral, ergastab kiir vaadeldava objektini jõudes selle aatomit. Kui kiires sisalduvad elektronid löövad aatomi sisemiselt energiakihielt välja elektrone, liiguvad välimisel elektronihil asuvad elektronid nende asemele, emiteerides selle käigus keemilisele elemendile iseloomuliku energiakvandi. Selle protsessi käigus eralduvaid karakteristlikke röntgenkiiri detekteeritakse ja saadud signaali analüüsitakse. [27][28] Kiiratud röntgenkiirte energia avaldub kujul:

$$E_R = h * f = E_1 - E_2 \quad (1)$$

Kus E_R on röntgenkiirte energia, h – Plank'i konstant, E_1 – sisemise elektronikihi energia, E_2 – välimise elektronikihi energia.

Energia hajuvusspektroskoopia ehk EDS (inglise keeles *energy-dispersive (X-ray) spectroscopy*) on meetod, mis võimaldab määrata proovis esinevate keemiliste elementide osakaalu, kasutades selleks eespoolmainitud karakteristlikku energiaga röntgenkiirtest järelduvat informatsiooni. [28][29]

2.3.2.4.4. Signaali töötlemis- kuvamis- ja salvestamissüsteem

Nende süsteemide abil töödeldakse detektoritelt saadud signaal sobilikuks arvutiekraanile kuvamiseks ja salvestamiseks. Töötlemissüsteemi üldine ülesanne on detektorite poolt saadud

signaalide töötlemine. Kuvamis- ja salvestamissüsteemide ülesanne on elektroonilise signaali visualiseerimine ja tulemuste salvestamine. [27][28]

3. Eksperimendid ja tulemused

3.1 Mikroomiterade iseloomustamine

Käesolevas bakalaureusetöös on kasutatud firma Feather poolt toodetud S35 tüüpi roostevabast terasest mikroomiteri, mille pikkus on 80 mm, kõrgus 8 mm ja teritamise nurgaks on märgitud 35° [30]. Need terad on kasutusel Biomeedikumis asuva Tartu Ülikooli Arstiteaduskonna Anatoomia instituudi histoloogia laboris. Terade kirjeldamiseks mõõdeti tera ja selle lõikeserva paksust ning materjali koostist, kasutades selleks SEM-i ja energia hajuvusspektroskoopi (EDS). Olemas olid nii kasutatud kui ka kasutamata mikroomiterad. Kasutatud terade puhul oli tegu selliste teradega, mis olid kasutamise käigus muutunud piisavalt nüriks ja artefakte tekitavaks, et olid määratud äraviskamisele. Kasutamata terade puhul oli tegemist orginaalpakendist võetud teradega.

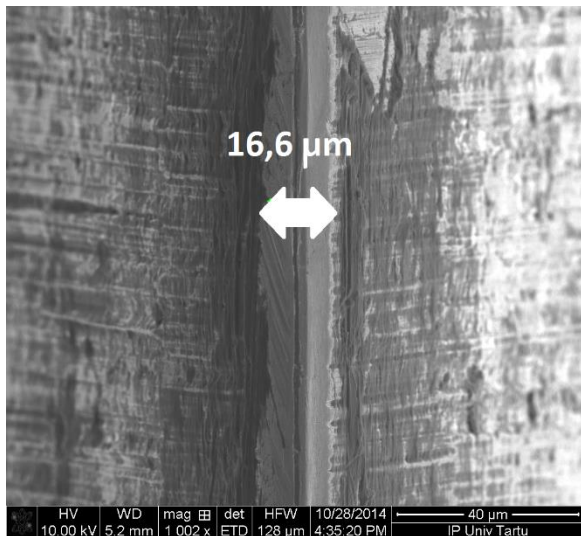
3.1.1 Terade orgaaniliste lahustega puhastamine

Kasutatud mikroomiterade küljes leidis koeproovi- ja parafiinitükke ning seetõttu tuli neid enne SEM-i abil iseloomustamist orgaaniliste lahustega puhastada. Selleks kasutati tolueni (C_7H_8), atsetooni ehk 2-propanooli (C_3H_6O) ning isopropanooli ehk 1-propanooli (C_3H_8O). Mikroomiterad paigutati tolueeniga täidetud keeduklaasi ning anum asetati viieks minutiks ultrahelivanni. Seejärel eemaldati keeduklaasist toluen, täideti atsetooniga ning asetati viieks minutiks ultrahelivanni. Samuti käituti kolmanda orgaanilise lahusega. Peale viie minuti pikkuste intervallide kaupa orgaanilistes lahustes hoidmist, loputati terasid destilleeritud veega – anum täideti kahel korral destilleeritud veega ja hoiti mõlemal juhul viis minutit ultrahelivannis. Seejärel kuivatati õhujoas.

3.1.2 Iseloomustamise tulemused

Puhastatud terasid vaadati SEM-is puhastamise efektiivsuse ja vajalike paksuste hindamise eesmärgil. Ühe mikroomitera paksuse kümne mõõtmise keskmine oli 253.03 μm standardhälbega 0.61 μm . Viie erineva tera läbimõõtu mõõtes varieerus paksus 252 ja 254 μm vahel, kuid viie tera paksuste keskmine oli 253.1(0.7) μm .

Kasutatud mikroomitera korral paiknes tera lõikeserva tipus vagu, mille laius jäi 1 μm suurusjärku ja asukoht nihkus tera keskpunkti suhtes mõne μm ulatuses vasakule. Tera pinnal leidis kriime ja ebasümmeetrilisi jälgi, mis viitasid tera kulumisele (joonis 16).

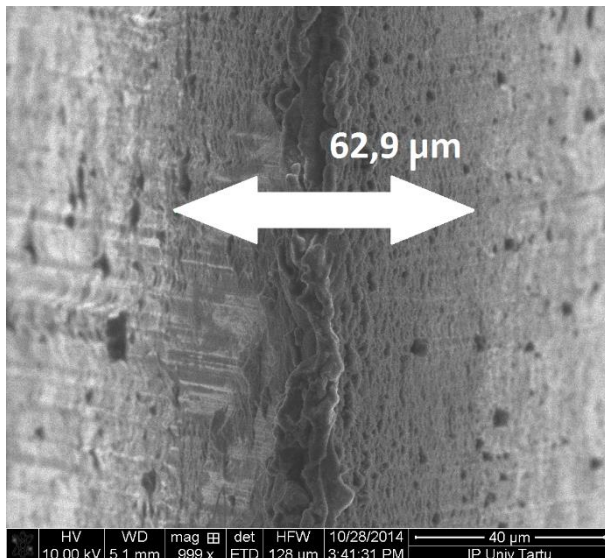


Joonis 16. Kasutatud mikrotoomitera - ebaaümmeetria ja vagu viitavad tera kasutamise käigus tekkinud defektidele.

Kasutamata tera (joonis 17) vaadeldes selgus, et tera oli kaetud määrdekihiga, millele viitas elementanalüüsi käigus (tabel 1) tuvastatud kõrge süsiniku ja fluori osakaal, mille kolme analüüsi keskmine massiprotsent oli süsiniku korral 39% ja fluori korra 41%. Lisaks olid elementidest esindatud alumiinium (3.6%), räni (0.1%), kaltsium (0.2%), kroom (3.5%) ja raud (12.7%). Seega järeldus EDS analüüsist, et kasutamata tera koostise määramiseks ja lõikeserva pinna täpsemaks iseloomustamiseks tuleb seda samuti orgaaniliste lahustega puhastada.

Tabel 1. Kasutamata tera keemiliste elementide sisaldus massiprotsendi järgi enne ja peale tera orgaaniliste lahustega puhastamist.

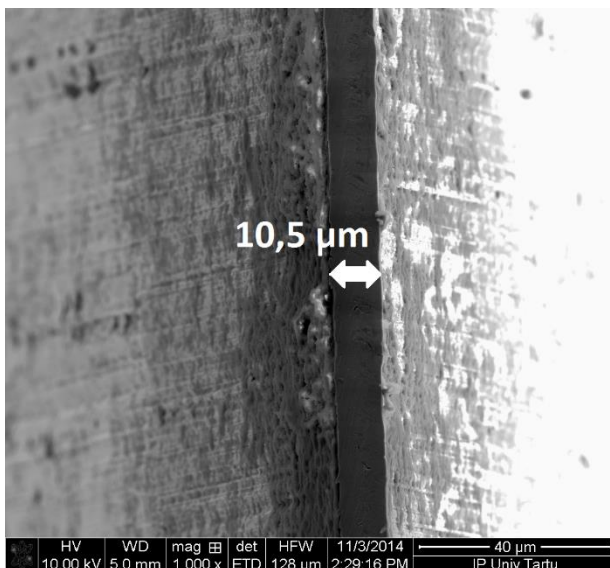
Keemiline element	C	O	F	Al	Si	Ca	Cr	Fe
Puhastamata tera (üle-kaadri (<i>full-frame</i>)) (%)	34.5	-	46.7	6.8	0.1	0.2	2.4	9.3
Puhastamata tera (analüüsitav punkt asus lõikeserva peal) (%)	39.7	-	50.8	3.7	-	0.3	1.5	4.0
Puhastamata tera (analüüsitav punkt asus lõikeserva kõrval) (%)	42.8	-	25.5	0.2	0.2	0.1	6.5	24.8
Kolme mõõtmise keskmine puhastamata tera korral (%)	39.0	-	41.0	3.6	0.1	0.2	3.5	12.7
Puhastatud tera (analüüsitav punkt asus lõikeserva peal) (%)	8.8	2.1	-	0.9	0.3	-	6.3	81.7
Puhastatud tera (analüüsitav punkt asus lõikeserva kõrval) (%)	1.0	0.9	-	-	0.3	-	16.5	81.4
Kahe mõõtmise keskmine puhastatud tera korral (%)	4.9	1.5	-	0.45	0.3	-	11.4	81.6



Joonis 17. Kasutamata mikrotoomitera enne puhastamist – tera lõikeserva paksuse mõõtmise oli raskendatud.

määrdeaine koostises, mis orgaaniliste lahustega puhastamise tulemusena eemaldatai. Terade määrdega katmise eesmärgid võisid olla näiteks tera libisemise soodustamine viilutamisel ning tera roostetamise vältimine.

Uued mikrotoomiterad puhastati orgaaniliste lahustega alapunktis 3.1.1 kirjeldatud viisil. Puhastamise järel selgus EDS-i kasutades, et tera sisaldab peamiselt kroomi ja rauda, mille puhul kahe elementanalüüsi keskmine andis esinemisprotsentideks kroomi korral 11.4% ja raua korral 81.6%. Lisaks olid elementidest esindatud süsinik (4.9%), hapnik (1.5%), alumiinium (0.4%) ja räni (0.3%). Süsiniku keskmise esinemisprotsendi märgatavast vähenemisest 39%-lt 4.9%-le ja fluori kadumisest tera puhastamise tulemusena võis järeldada, et tõenäoliselt esinesid antud elemendid eelkõige tera pinnal asunud



Joonis 18. Kasutamata mikrotoomitera puhastamise järel selgus, et tera tippu katab ühtlaselt lai tasapinnaline ala.

Kasutamata mikrotoomitera puhastamise järel selgus, et lõikeserva tipus paiknes ühtlase laiuselga 10.5 μm laiune tasapinnaline osa (joonis 18). Sellist tasapinnalist osa kasutatud tera (joonis 16) korral selgelt ei eristunud. Seega võib eeldada, et tera kasutamise tulemusena muutub tera lõikeserva profiil sedavõrd, et sellel paiknev tasapinnaline osa muutub eristamatuks ning terale tekivad eespoolmainitud kriimud ja vaod. Kuid selles veendumiseks tuleks iseloomustada laiemat valikut puhastatud mikrotoomiterasid.

3.2. Mikrotoomiterade töötluse mõju lõikevõimele

Bakalaureusetöö eesmärk oli mikrotoomiterade lõikamisvõime tõstmine ja vastupidavuse suurendamine erinevaid töötlusmeetodeid kasutades. Töötlusmeetoditeks kujunesid eelkõige terade happelises lahuses hoidmine ehk karestamine pinnakareduse tõstmiseks ja teradele oksiidkile peale sadestamine ALD-d kasutades. Sadestamise järel testiti tera lõikevõimet mikrotoomiga luukoeproovi lõigates. Peale igat töötlemisetappi ja tera testimist, iseloomustati eelkõige tera lõikeserval toimunud muutusi SEM-i kasutades. Järgnevates alapeatükkides on detailsemalt kirjeldatud erinevate töötlustingimuste mõju tera pinnale ja lõikevõimele. Kõik töödeldud terad olid eelnevalt orgaaniliste lahustega puhastatud alapeatükis 3.1.1 kirjeldatud viisil. Selline puhastamine oli vajalik selleks, et terad oleksid ALD reaktorisse minekuks piisavalt puhtad.

Kõigi mikrotoomiterade korral, mille happelahuse tüübiks on tabelis 2 märgitud „kange“, sisaldas terade pinnakareduse tõstmiseks kasutatud happeline lahus 75 ml destilleeritud vett, 15 ml fosforhapet (H_3PO_4), 2 ml lämmastikhapet (HNO_3), 5 ml vesinikkloriidhapet (HCl), 5 ml väävelhapet (H_2SO_4). Söövitamisprotsessi käigus valati lahus puhastatud teradele peale erineva pikkusega perioodiks, mis on tabelis märgitud karestamisajana. Seejärel loputati terasid destilleeritud veega 3 korda ja hoiti igal korral 4-5 min ultrahelivannis ning terad kuivatati õhujoa abil.

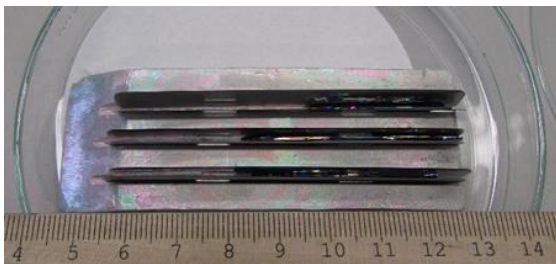
Happelahuse tüübi „lahjendatud“ korral oli kogu söövitamisprotsess sama, mis kange lahusega töödeldud mikrotoomiteradel. Erinevus seisnes lahuse koostises – lahjendatud lahuses oli destilleeritud vett 3x75 ml ehk 225 ml võrra rohkem kui kanges lahuses. Lühema karestamisaja asemel valiti lahuse lahjendamine seetõttu, et väga lühikese karestamisaja korral võib mõnesekundiline viivitus lahusest väljavõtmisel avaldada pinnaprofiilile märgatavat mõju. Mitu minutit lahuses hoitud terade korral ei muuda paarisekundiline viivitus tera lahusest väljavõtmisel ja destilleeritud vette panekul tulemusi nii drastiliselt kui väga lühikese karestamisaja korral.

Kõikide käesoleva bakalaureusetööga seotud aatomkihtsadestamiste korral kasutati Tartu Ülikooli Füüsika instituudi kiletehnoloogia laboris ehitatud ja kasutusel olevat aatomkihtsadestamise reaktorit. Sadestatav oksiidkile oli Al_2O_3 ja tsüklite arvud on esitatud tabelis 2. Esimeseks lähteaineks oli TMA, teiseks H_2O ja puhastusgaasiks N_2 . Pulsipikkused olid 3-2-2-5 s ja sadestamistemperatuur oli 300 °C. Al_2O_3 valiti sadestatavaks oksiidiks seetõttu, et alumiiniumoksiid on tööstuslikult laialt kasutatav amorfne aine ning kiletehnoloogia labori

ALD reaktoriga sadestatavatest oksiididest kõige suurema kõvadusega. Tabelis 2 tera nr 1, 2 ja 3 korral kasutati spetsiaalset hoidjat suurema koguse terade reaktorisse asetamiseks (joonis 19 vasak). Tera nr 7 korral (joonis 19 parem) oli terade alla asetatud ränitükid selleks, et oksiidkile sadestuks ka tera alumisele küljele. Kvartsalusel olid lisaks teradele ränitükid ja klaasitükid eesmärgiga mõõta sadestatud kile paksust ning hinnata kasvatus ühtlust.

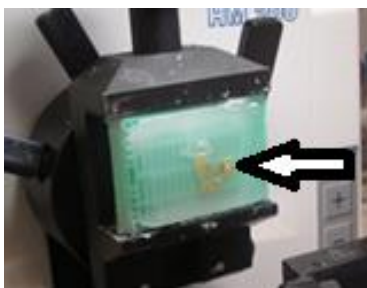
Tabel 2. Kokkuvõttev tabel kasutatud töötlusviisidest.

Tera nr	Karestamisaeg (s)	Happelahuse tüüp	ALD tsüklite arv
1.	0	Puudus	1100
2.	30	Lahjendatud	1100
3.	30	Kange	1100
4.	120	Kange	-
5.	300	Kange	-
6.	600	Kange	-
7.	1200	Kange	550



Joonis 19. Spetsiaalne alus suurema koguse terade reaktorisse asetamiseks (vasak); terade paigutus tera nr 7 korral, aluse parempoolne ots oli reaktori väljundava poolseks otsaks.

Tera lõikevõime testimise eksperimentides kasutati Tartu Ülikooli Arstiteaduskonna Anatoomia instituudi histoloogia laboris paiknevat elektroonilist mikrotoomi MIKROM HM



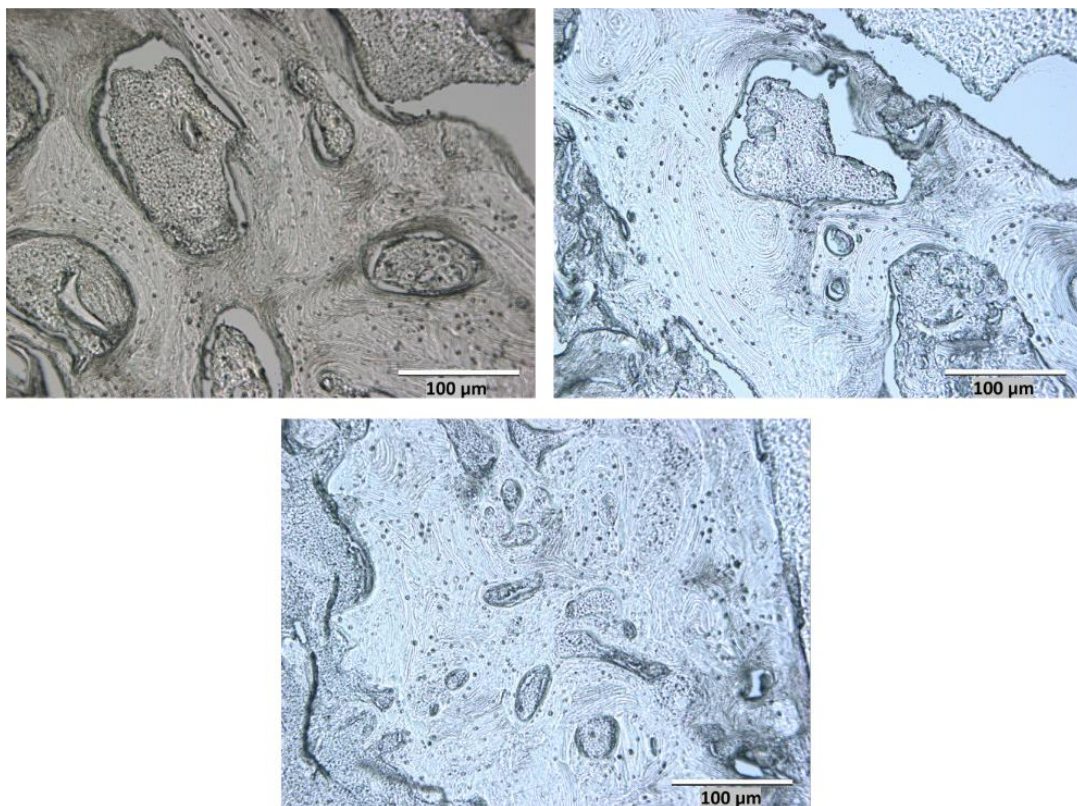
Joonis 20. Koeproov parafiinis.

200 Ergostar. Viilutatavaks objektiks oli luukoeproov parafiinis (joonis 20) ning lõigatavate viilude paksuseks seadistati 5µm. Eesmärk oli nii uue töötlemata tera kui ka kõigi ALD kattega teradega lõigata 15 viilu ning säilitada 5., 10. ja 15. viil või neile lähedane viil hilisemaks võrdlemiseks. Säilitatud viilude iseloomustamiseks kasutati Tartu Ülikooli Arstiteaduskonna Anatoomia instituudi histoloogia laboris paiknevat optilist mikroskoopi Olympus U-TVO.5XC-3.

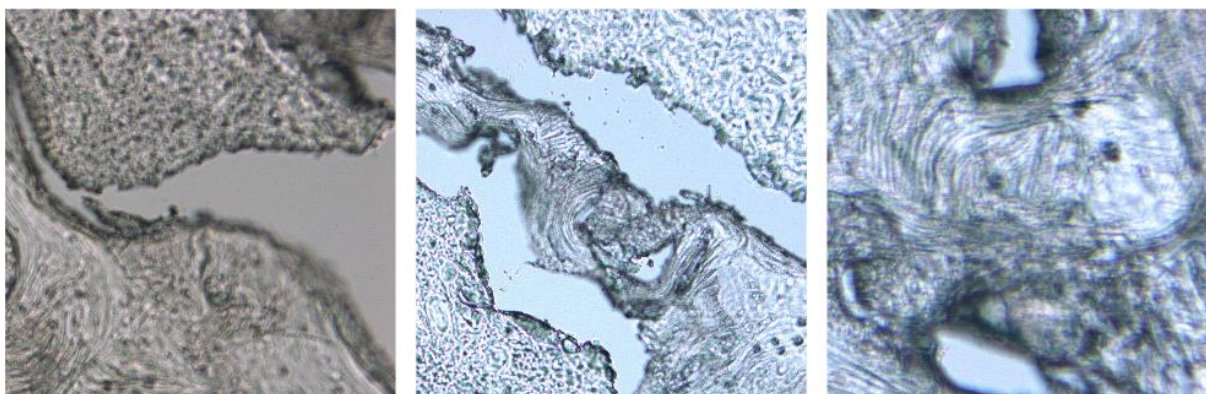
3.2.1 Alge mikrotoomitera lõikevõime

Originaalteraga koeproovi lõikamine oli vajalik algse ja ALD kattega terade lõikamisvõime hilisemaks võrdlemiseks. Varasem laborisisene kogemus originaalteradega luukoeproovi lõikamisel oli olnud probleemne – viilutamine ei olnud sujuv, terveid viile oli raske saada ja esines tera kinnijäämist proovi külge, kuna tera ei olnud võimeline tugevat kudet läbistama.

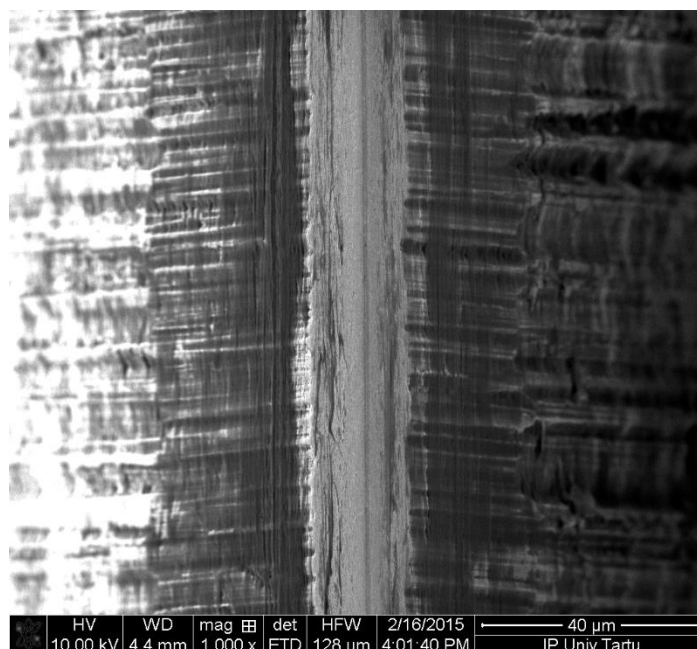
Koepreparaat oli uus ehk sellest preparaadist ei olnud varem viile lõigatud. Seetõttu tuli kõigepealt parafiini viilutades jõuda luukoeni. Kui tera hakkas lõikama luukude, asendati eelmine tera uuega ja sooritati soovitud 15 lõiget. Kõikide lõikude lõikamine ei õnnestunud – osad viilud purunesid rulludes või rebenedes. Selline tervete viilude järjestikune lõikamine nagu teooriaosas esitatud joonisel (joonis 10) ei õnnestunud. Jäädvustati 4., 10. ja 15. viil. Viilude vaatlus optilise mikroskoobi all (joonis 21) näitas, et kõigi kolme viilu kvaliteet oli sarnane ja luukude eristatav. Kõigil kolme viilu korral oli näha, et viil on mõningal määral purunenud. Osad purunenud aladest on täpsemalt ära näidatud joonisel 22. Lõikamise järel esines tera lõikeserval kriime ja kulumisjälgi (joonis 23), mis olid sarnased, kuid mitte identsed eelnevalt vaadeldud kasutatud mikrotoomiteral nähtule (joonis 16).



Joonis 21. Uue teraga lõigatud viiludest 4. (ülemine vasak), 10. (ülemine parem) ja 15. (alumine) viil.



Joonis 22. Viiludel nähtud purunenud osad. 4. (vasak), 10. (keskmise) ja 15. viil (parem).



Joonis 23. Tera lõikeserv peale koeproovi lõikamist.

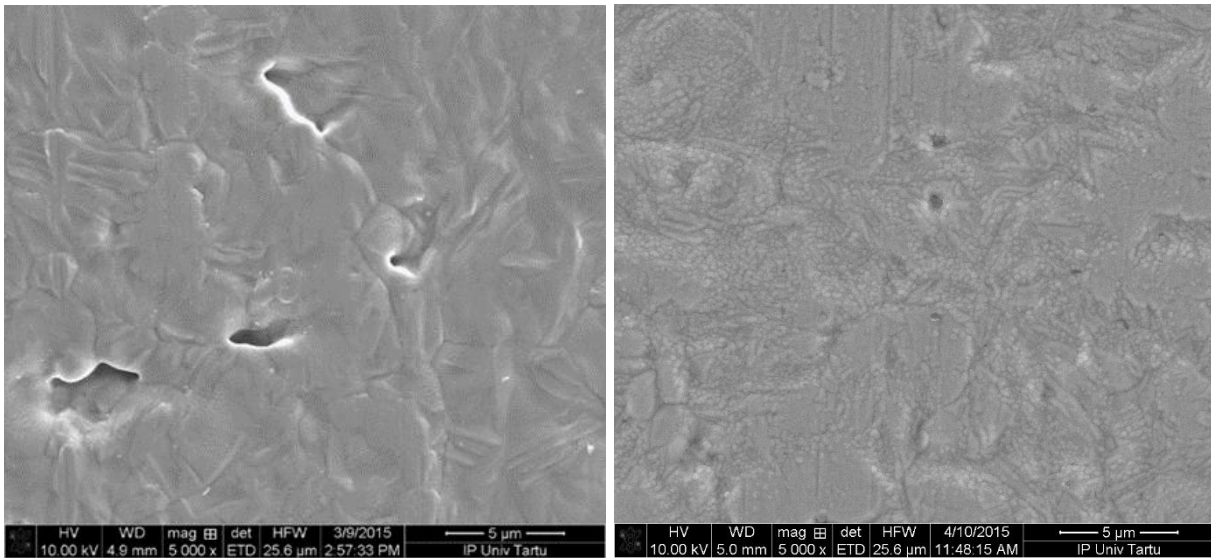
3.2.2. Karestamiseta kattega mikrotoomitera

Siinkohal räägitakse tabelis 2 terast nr 1 ehk terast, mida pole enne ALD-d karestatud. Tera puhastamise järel külje pinnaprofiili SEM-i abil vaadates (joonis 24 vasak) selgus, et pind on enamjaolt tasane, kuid leidis ebakorrapärase kujuga mõne μm suurusjärku jäävate mõõtmetega auke. ALD järgselt pinnaprofiili vaadates (joonis 24 parem) oli toimunud muutuste eristamine raskendatud, kuna sadestatud katte alt eristus katmise-eelset profiili. Eesmärgiga veenduda Al_2O_3 katte olemasolus, määrati EDS-i abil tera pinnalähedaste ja -pealsete elementide sisaldus. Tera koostises esinesid alumiinium (21 %), hapnik (24 %), raud (38 %), kroom (15%) ja süsinik (2 %). Lähtudes teadmisest, et alumiiniumi ja hapniku molaarmass on vastavalt 27 g/mol ja 16

g/mol ja Al_2O_3 koosneb kahest alumiiniumi ja kolmest hapniku moolist on alumiiniumi ja hapniku masside suhe Al_2O_3 koostises:

$$\frac{m_{\text{Al}}}{m_{\text{O}}} = \frac{2 * 27 \text{ g}}{3 * 16 \text{ g}} = \frac{54 \text{ g}}{48 \text{ g}} = 1.1 \quad (2)$$

Seega peaks elementanalüüsis alumiiniumi massiprotsent olema hapniku protsendist mõne protsendi võrra suurem, kuid antud juhul see nii ei ole. Suurenenud hapniku sisaldus võib olla tingitud sellest, et osa hapniku on tera töötlemise käigus muu oksiidina substraadi külge seotud, mis aga ei tähenda, et Al_2O_3 tera pinnal üldse ei esine. Lisaks polnud elementanalüüsi eesmärk mitte niivõrd täpse vaid hinnangulise elementide osakaalu määramine, mistõttu võis valitud elementanalüüsi täpsus mõne protsendi ulatuses muutuda. Ellipsomeetri järgi oli sellel



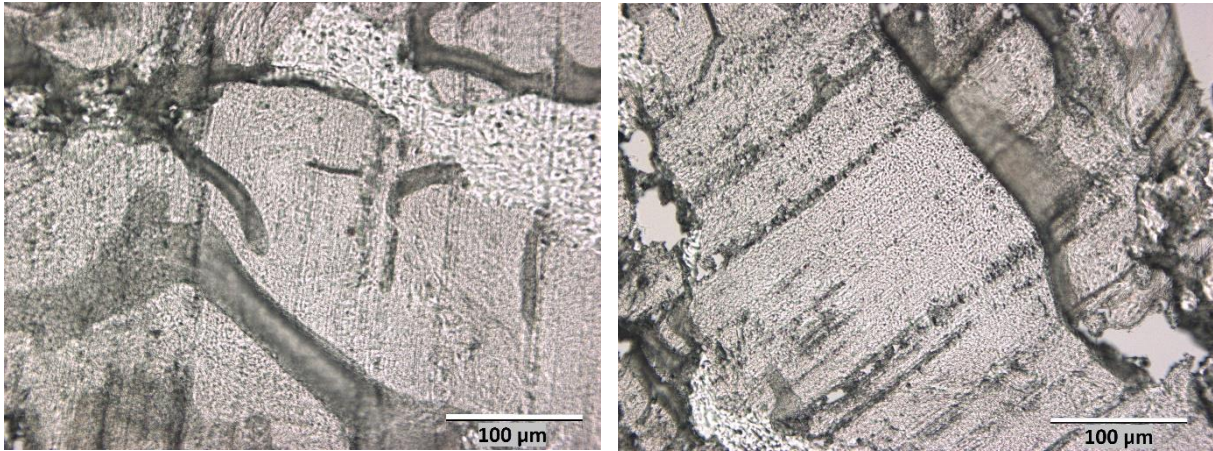
Joonis 24. Puhastatud tera küljeprofiilil esines ebatasasusi (vasak). ALD järgsel teral (parem) oli katte märkamine raskendatud, kuna sadestamise-eelsed kontuurid on näha ka sadestamise järgselt.

kasvatusel osalenud räinitükkide sadestatud kile paksus 125 nm.

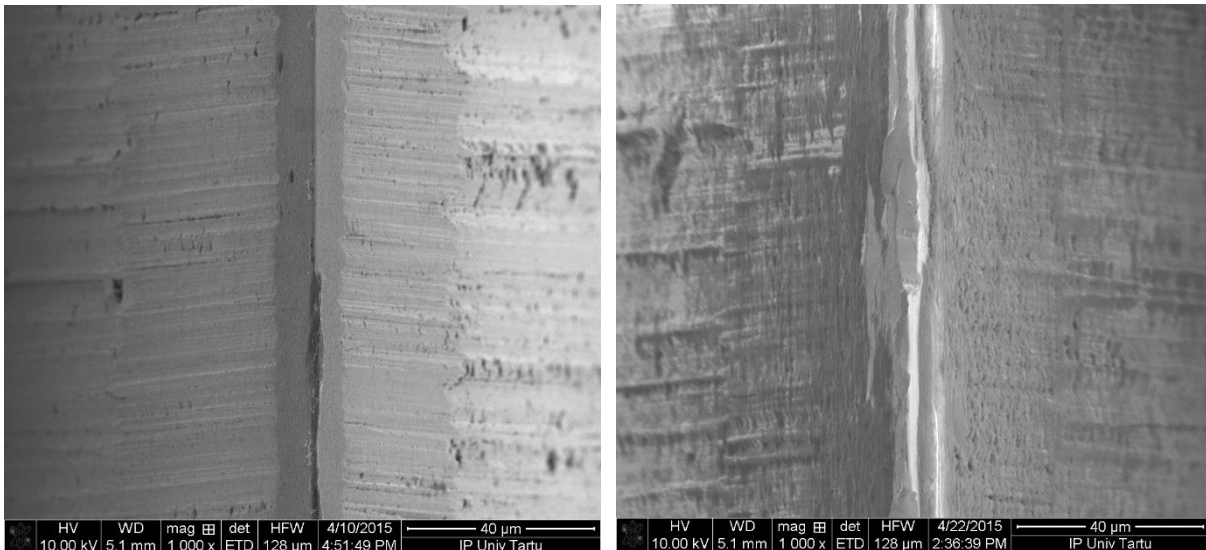
Teraga löikevõime testimisel säilitati 5. ja 15. viil. Tera lõikas, kuid mitte sujuvalt ja esines ka ebaõnnestunud viile, mistõttu polnud löikevõime võrreldes algse teraga märgatavalt paranenud. Lõigatud viile optilise mikroskoobi all vaadates (joonis 25) selgus, et lõike katsid selgelt eristuvad triibud, mis olid analoogilised nüri tera poolt jäetavatele (joonis 11). Lisaks oli luukude raskesti eristatav ja tera oli lõikamisel rakkude väljanägemist kahjustanud.

Enne lõikamist oli tera lõikeserv (joonis 26 vasak) ühtlane ja märgatavaid ebakorrapärasusi ei esinenud. Viilude lõikamise tulemusena olid tera lõikeservale tekkinud erineva suurusega

täkked, mis jätsid mulje, et tera lõikeserv on nendes kohtades muutunud tõmbiks (joonis 26 parem).



Joonis 25. 5. (vasak) ja 15. (parem) viil. Lõike katsid selgelt eristuvad triibud.

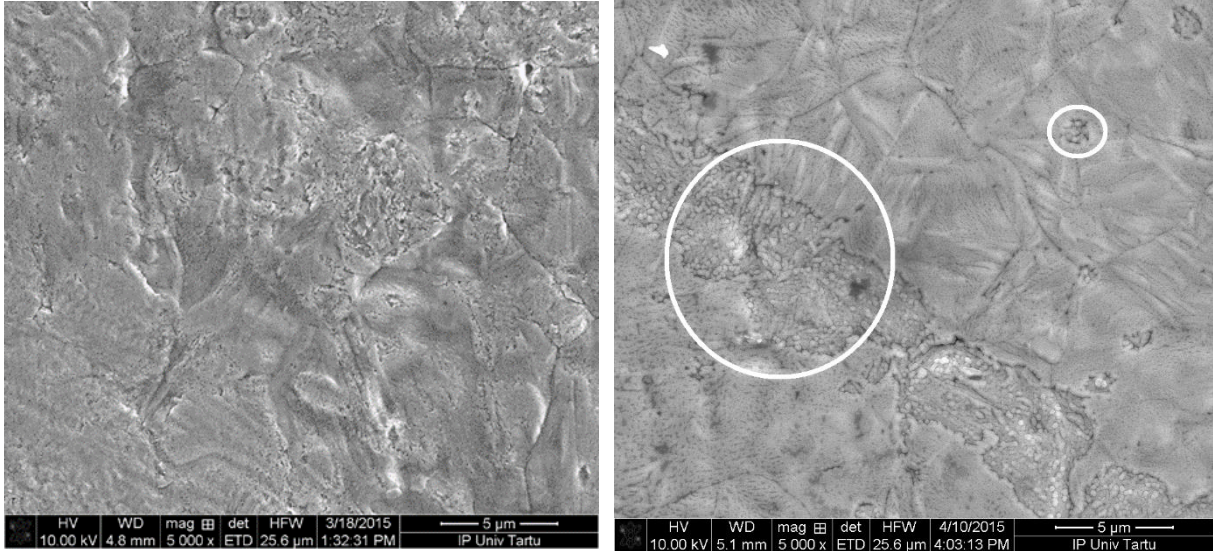


Joonis 26. Tera lõikeserv peale ALD-d (vasak) ja peale lõikamist (parem). Lõikeservale on viilutamise tulemusena tekkinud täkked.

3.2.3 Lahjendatud happetöötlusega kattega tera

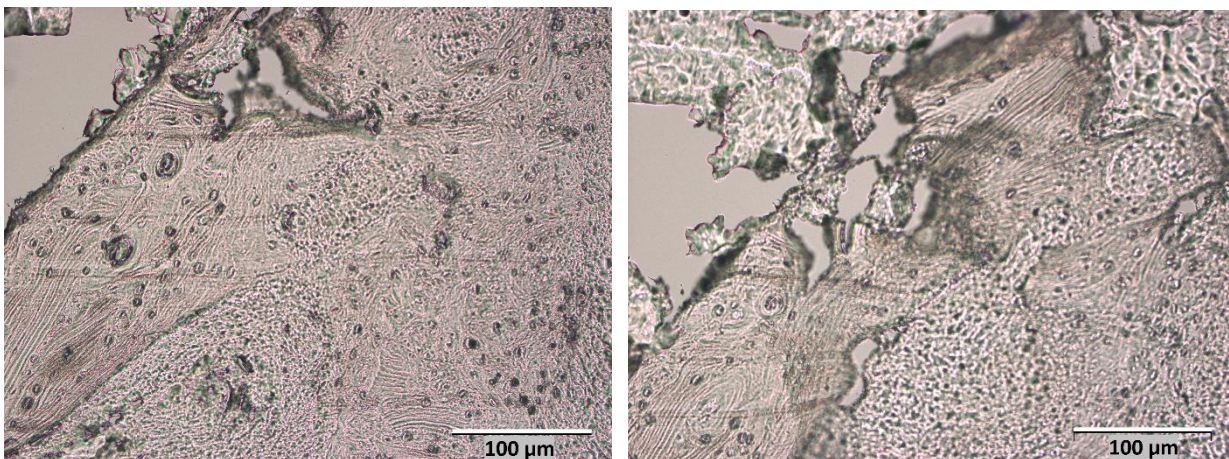
Tera nr 2 (tabel 2) korral oli 30 sekundi pikkuse lahjendatud happelahuses töötlemise eesmärk tekitada tera pinnakareduse väike, kuid märgatav kasv. Pinnakaredus on võrreldes algse teraga (joonis 24) vähesel määral muutunud (joonis 27 vasak). ALD-järgse tera pinnal (joonis 27 parem) eristuvad alad, millele happelahuses olek avaldas intensiivsemalt mõju ning nendel aladel on SEM-i abil võrreldes ümbritseva pinnaga paremini näha ka sadestatud kilele iseloomulikke profiil ümmarguste kobarate näol. Sadestamise järgne elementide sisalduse määramine EDS-i abil andis tera pinna koostises sisalduvateks elementideks alumiiniumi (19 %), hapniku (23 %), raua (29 %) kroomi (15 %) ja süsiniku (4 %). Taaskord on hapniku

esinemisprotsent veidi suurem kui alumiiniumi oma, kuid kuna elementalalüüsi täpsus võib mõne protsendi ulatuses muutuda ning hapnik võib olla tera pinnale sattunud töötlemise käigus, ei tähenda suurem hapniku massiprotsent seda, et tera pinnale poleks Al_2O_3 sadestunud. Ellipsomeetri järgi oli sellel kasvatusel sadestatud kile paksus 125 nm.



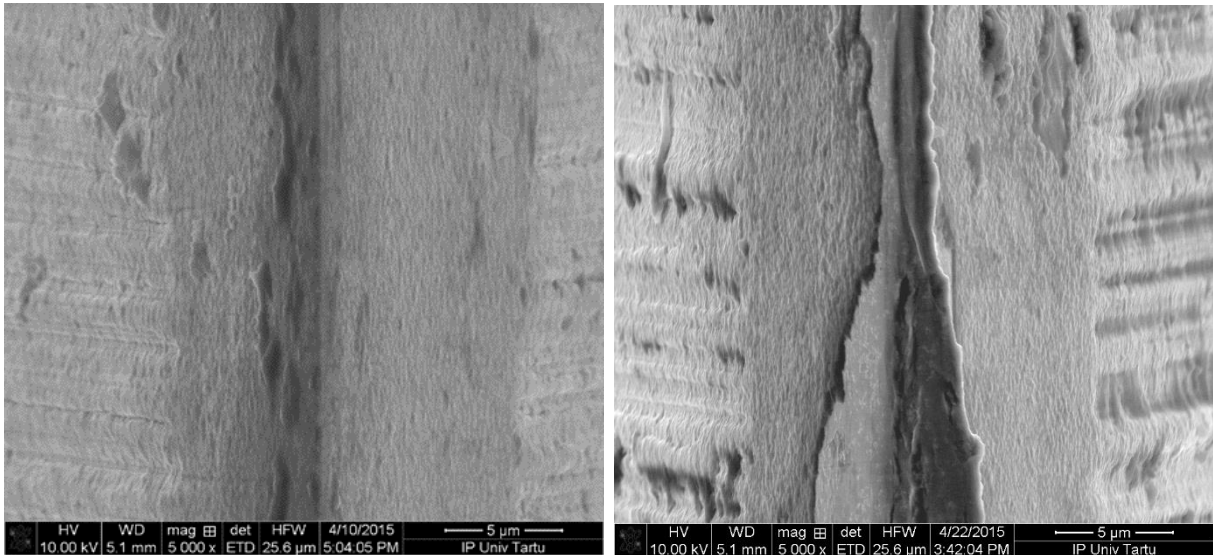
Joonis 27. Tera küljeprofiil peale töötlust (vasak) ja peale ALD-d (parem). Leidus alasid (nt ringi sees), mida ALD-eelne töötlus on tugevamalt mõjutanud kui ümbritsevat pinda.

Tera lõikas viile sujuvalt ja paremini kui eelmised terad. Viile õnnestus viilutada rohkem kui eelmiste teradega, kuid viiludest jäädvustati pildile 5. ja 15. viil (joonis 28). Optilise mikroskoobi abil viile võrreldes selgus, et lõikudel esines vähesel määral triipe, puru ja purunenud kohti. Puru muutis viilu värvilisemaks, mis aitas kaasa luukoe struktuuri selgemale eristamisele, kuid normaaljuhul sellist puru esineda ei tohiks ja lõigatud viile värvitakse koe struktuuri selgema eristamise eesmärgil. 5. ja 15. viilu omavahel võrreldes selgus, et nürile terale viitavaid triipe esines 15. viilul rohkem. Luukude oli nähtav ja eristatav, kuid siiski esines



Joonis 28. 5. (vasak) ja 15. (parem) viil. Luukude eristub, kuid siiski esines defekte.

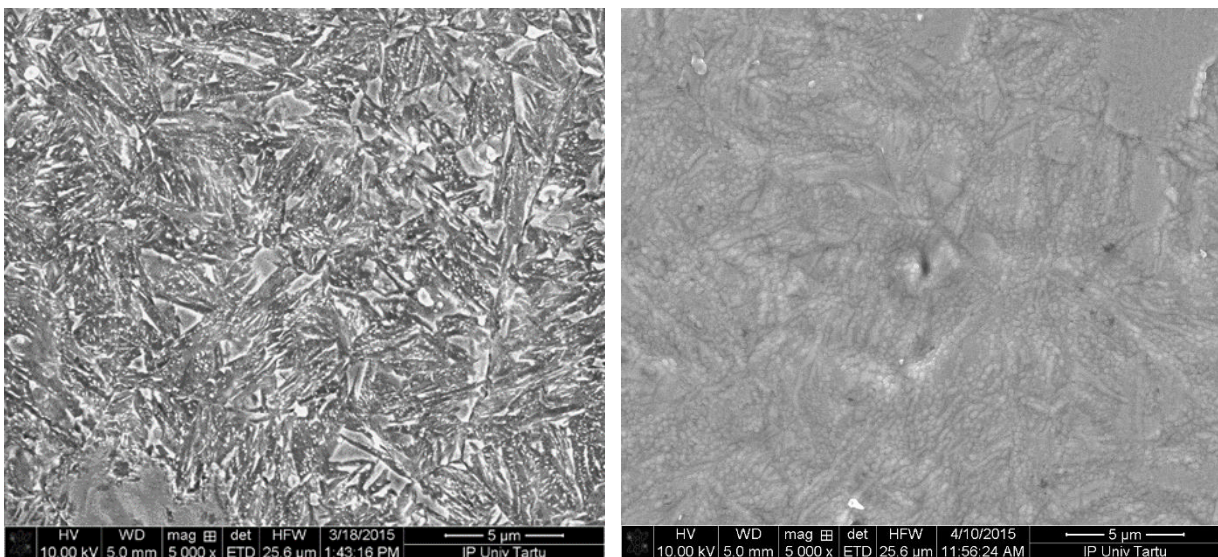
defekte. ALD tulemusena oli tera lõikeserv ühtlaselt kilega kaetud (joonis 29 vasak). Preparaadi viilutamise tulemusena deformeerus tera lõikeserv niivõrd tugevalt, et servale tekkisid vaod (joonis 29 parem).



Joonis 29. ALD järel (vasak) oli tera lõikeserv ühtlaselt oksiidkilega kaetud. Viilutamise tagajärel tekkisid lõikeservale vaod (parem).

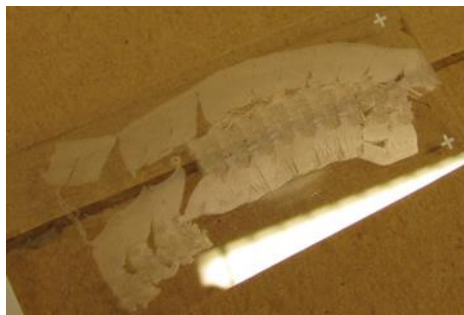
3.2.4 30 sekundit karestatud kattega tera

30 sekundi pikkune karestamisaeg oli piisavalt pikk, et kogu tera pinda ühtlaselt ja märgatavalt mõjutada (joonis 30 vasak). Vähesel määral leidus alasid, mis sarnanesid originaaltera siledale



Joonis 30. Tera küljeprofiil peale töötlust (vasak) ja peale ALD-d (parem). Karestamine on tera pinda ühtlaselt mõjutanud ja ALD on karestamise tulemusena tekkinud karestust ühtlustanud.

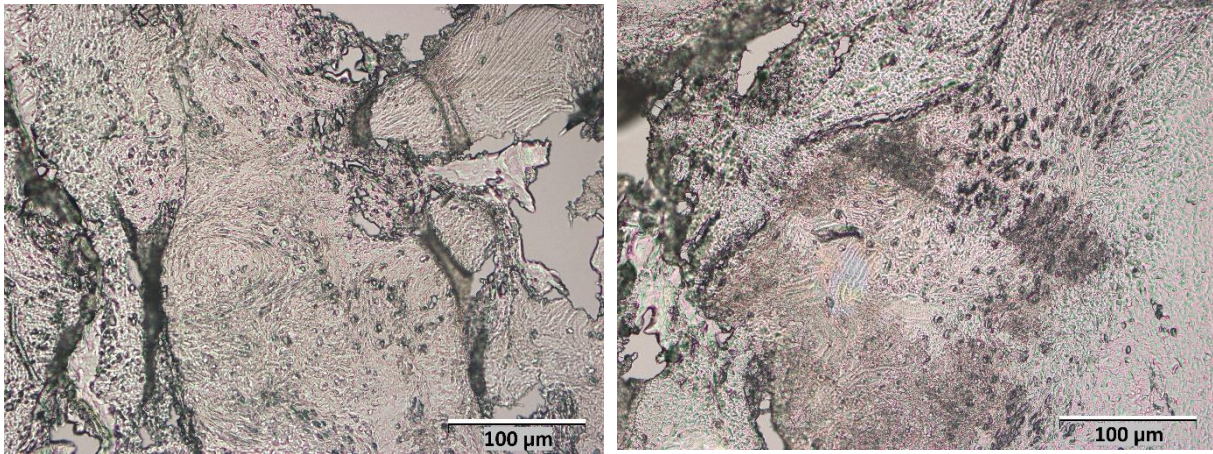
profiilile, kuid ülejäänud pind tundus olevat ühtlaselt karestatud. Ümbritsevast pinnast märgatavalt rohkem töödeldud alad puudusid. ALD järel (joonis 30 parem) oli tera pind ühtlaselt kilega kaetud. Karestamise tulemusena aset leidnud profiilimuutus oleks sadestamise järel justkui kõrvaldatud. Ellipsomeeter andis sadestatud kile paksuseks 125 nm. Materjali koostises sisaldunud elemendid olid alumiinium (22 %), hapnik (25 %), raud (40%), kroom (12 %) ja süsinik (1 %). Taaskord oli hapniku protsent alumiiniumi omast mõnevõrra suurem ning selle seletus on analoogiline eespoolmainituga.



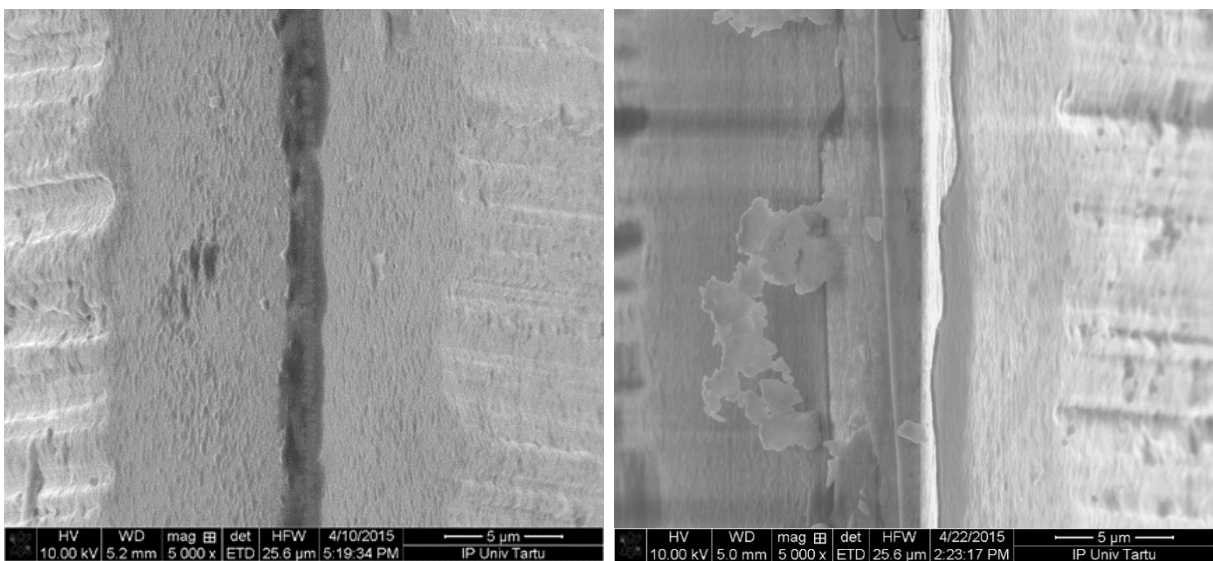
Joonis 31. Näide terviklikust luukoeviilude rivist. Purunemine vasakul servas oli põhjustatud sellest, et rivi ots jäi enne veevanni jõudmist renni külge rippuma ja rebenes selle tulemusena. Seega pole viilu purunemine seotud lõiketera kvaliteediga.

edukalt ja nürile terale omaseid viirge ei esinenud. Selliste tumedate joonte mitteesinemine eristab antud tera eelnevalt käsitletud töödeldud teradest. Seda võib lugeda edusammuks seetõttu, et kvaliteetse tera korral poleks selliste viirgude esinemine lubatud. Kuigi luukude eristus, tuleks koe detailsemaks vaatluseks viilu värvida, millest järeldub, et tera pinnal ei esinenud märgatavas koguses tolmu. Terade lõikeserva enne ja peale lõikamist hinnates (joonis 33) oli tera kasutamise tulemusena kate lõikeserva pealt justkui maha tulnud, kuid sellist vagu või tõmpi osa, mida eelnevate töödeldud terade lõikeserval näha võis, ei esinenud.

Tera lõikamisvõimet testides lõikas tera suhteliselt sujuvalt – järjest õnnestus lõigata ja jäädvustada kõik 15 viilu (joonis 31). Sellist viilude järjestikust lõikamist võib lugeda oluliseks edusammuks, kuna korraliku lõikevõimega mikrtoomitera peab olema võimeline viile järjest lõikama nagu joonisel 10 näidatud. Samuti tasub mainida, et originaalteraga viile järjest lõigata ei õnnestunud, mistõttu võib öelda, et antud tera lõikevõime oli originaalterast parem. Viilude kvaliteeti võrreldes (joonis 32), selgus esmasel vaatlusel, et esimestel ja viimastel viiludel on raske erinevusi leida, mis omakorda viitab sellele, et tera kvaliteet polnud lõikamise käigus märgatavalt langenud, kuid esines väikseid auke. Täiendaval vaatlusel selgus, et esimeste viilude korral on tera viilu veidi vähem lõhkunud. Tera lõikas preparaati



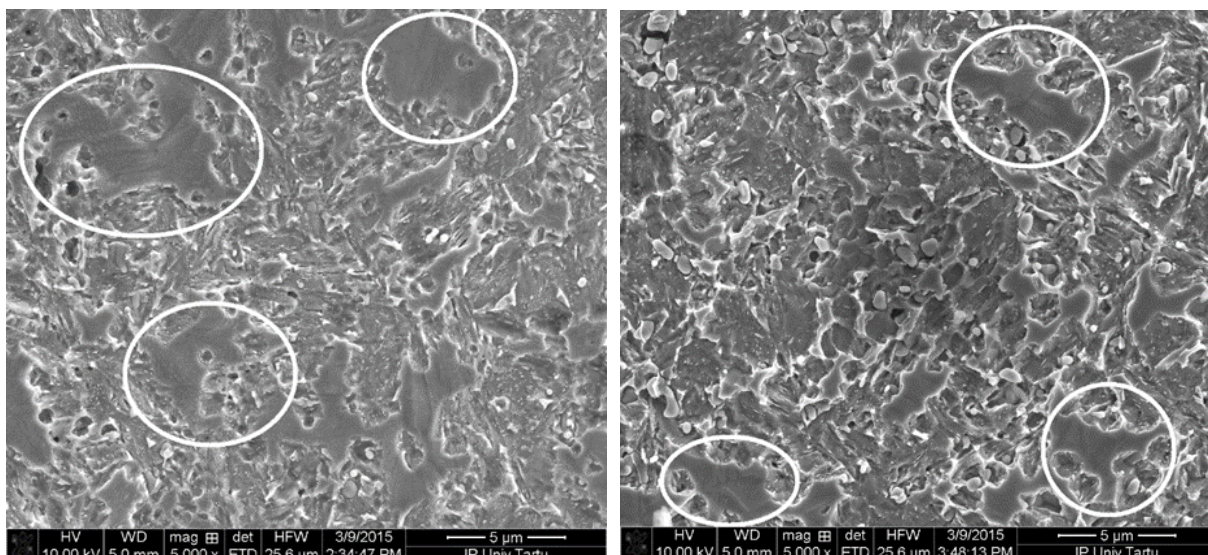
Joonis 32. 5. (vasak) ja 15. (parem) viil. Kuigi defekte esineb, on luukude selgelt eristuv.



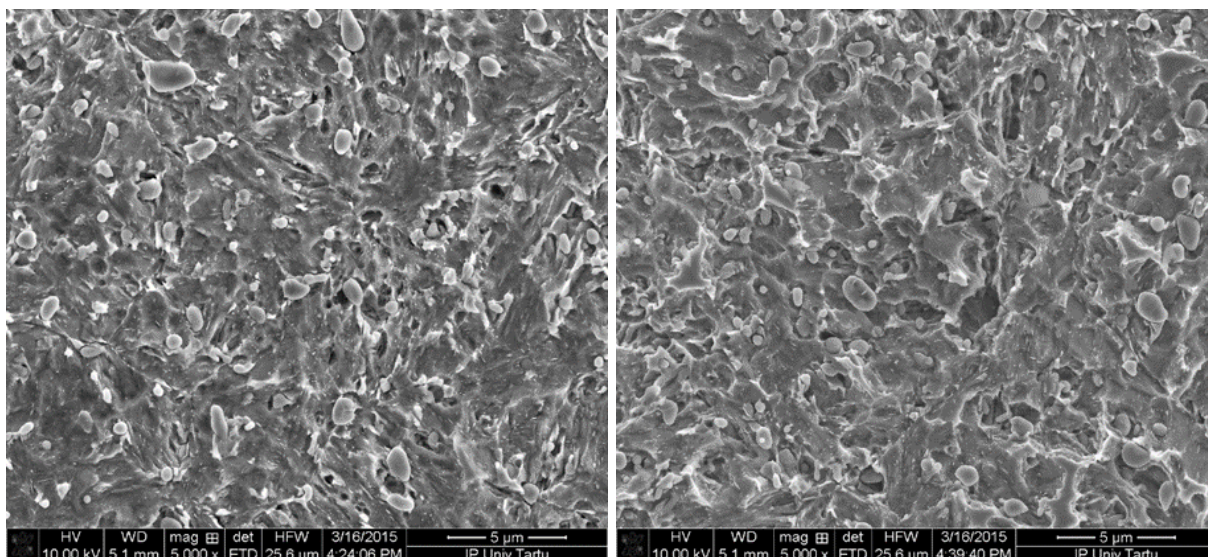
Joonis 33. ALD-järgse tera lõikeserv (vasak) ja lõikeserv peale viilutamist (paremal). Jääb mulje, et kate on lõikeservalt eemaldunud.

3.2.5. 2, 5 10 ja 20 min karestamisega terade pinnaprofiil

Võrreldes 2, 5, 10 ja 20 minuti pikkuse karestamise mõju tera pinnaprofiilile (joonis 34, 35) selgus, et töötlus oli pinda tugevalt muutnud, kuid olenemata erineva pikkusega töötlusajast olid eriti 5, 10 ja 20 minuti pikkune happelises lahuses hoidmine jätnud profiili sarnaselt ebaühtlaseks. Kui mõnekümne sekundiline karestamisaja muutus muutis lühema töötlusajaga terade profiili märgatavalt, siis pikemaajaliselt karestatud teradele pole mõneminutiline töötlusaja pikenedamine drastilist muutust jätnud. Võimalik, et hape jõudis tänu pikemale



Joonis 34. 2 minutit (vasakul) ja 5 minutit happelahuses hoitud teral (paremal) on näha alasid (ringi sees), mida happelises lahuses hoidmine ei ole märgatavalt mõjutanud.



Joonis 35. 10 (vasak) ja 20 (parem) minutit happelises lahuses hoitud terade külgsaade – mõlemal teral esineb kerakujulisi objekte ja pinnakaredus on märgatavalt suurenenud.

töötlusajale tera pinnal sügavamate ja vastupidavamate kihtideni. 2 ja 5 minuti teral esines alasid, mida hape polnud mõjutanud.

Tera pinnal esines ümmargusi objekte, mille läbimõõt 20 min pikkuse karestamisajaga teral jäi väiksemate kerade korral 200-300 nm ja suuremate 600 nm - 1 μm suurusjärku. Jäi mulje, et sellised kerad pole pinna küljes tugevalt kinni ja võivad seetõttu löikamise käigus tera küljest eemalduda ka peale ALD-d ja tekitada kunstlikke artefakte. Kerade ja selle kõrval asuva pinna koostise võrdlemisest (tabel 3) järeldus, et kerade koostises on kroomi sisaldus märgatavalt

suurem kui tera materjalis keskmiselt. Mis näitab, et kroomi ja raua keemiline püsivus on erinev – kroomirohke ala pidas happe mõjule kauem vastu kui seda ümbritsev pind.

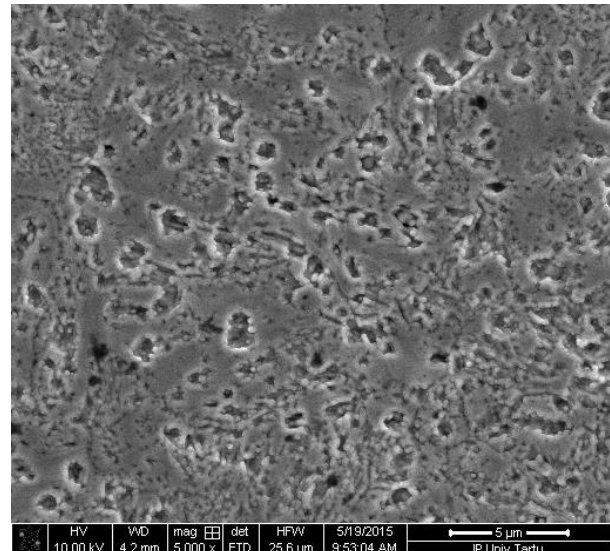
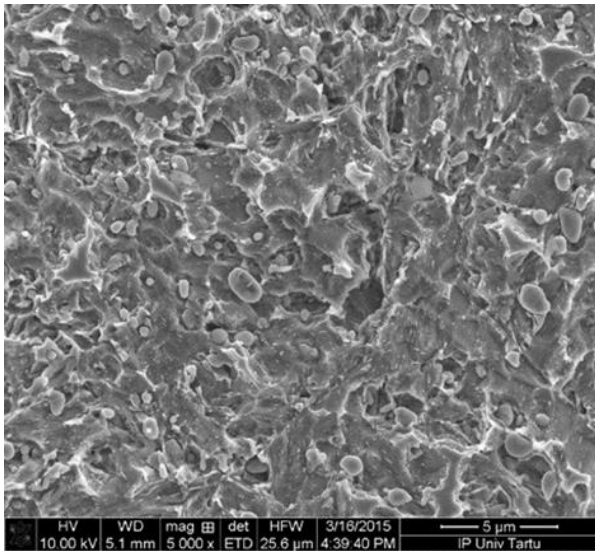
Tabel 3. Kerade koostise kindlaks tegemise eesmärgil mõõdeti kahe erineva kera ja nende kõrval paiknenud pinna elementide osakaaluspektreid.

Keemiline element	C	O	Si	Cr	Mn	Fe
Esimese kera pinna pealt mõõdetud spekter (%)	10.5	0.9	0.1	50.5	0.7	37.3
Teise kera pinna pealt mõõdetud spekter (%)	2.4	2.2	2.1	43.1	-	50.2
Kera pealt mõõdetud koostiste keskmine (%)	6.45	1.55	1.1	46.8	0.35	43.75
Esimese kera kõrvalt ehk söövitatud pinna pealt mõõdetud spekter (%)	3.6	2.0	0.5	10.4	0.7	82.9
Teise kera kõrvalt ehk söövitatud pinna pealt mõõdetud spekter (%)	0.5	1.9	0.0	12.7	-	84.9
Kera kõrvalt mõõdetud koostiste keskmine (%)	2.05	1.95	0.25	11.55	0.35	83.9

Suure pinnakareduse tõttu võis eeldada, et eelnevalt kasutatud tsüklite arv ei tarvitse olla piisav suurte aukude mõõdukas täitmiseks. Seetõttu arvutati sügavamate aukude täitmiseks vajalik sadestustsüklite arv. Osutus, et vaja läheks ligikaudu vähemalt 8600 sadestustsüklit, mis nõuaks aga 28 tunni pikkust sadestamist. Selline pikaajaline sadestamine pole ajaliselt ja materiaalselt mõttekas. Seetõttu otsustati uurida kareda kattega tera mõju. Sadestamiseks valiti 20 minuti töötusega tera, kuna see tera oli tõenäoliselt kõige karedam ja võimaldas kareda pinna poolt tera löikevõimele avaldatavat mõju kõige selgemalt hinnata.

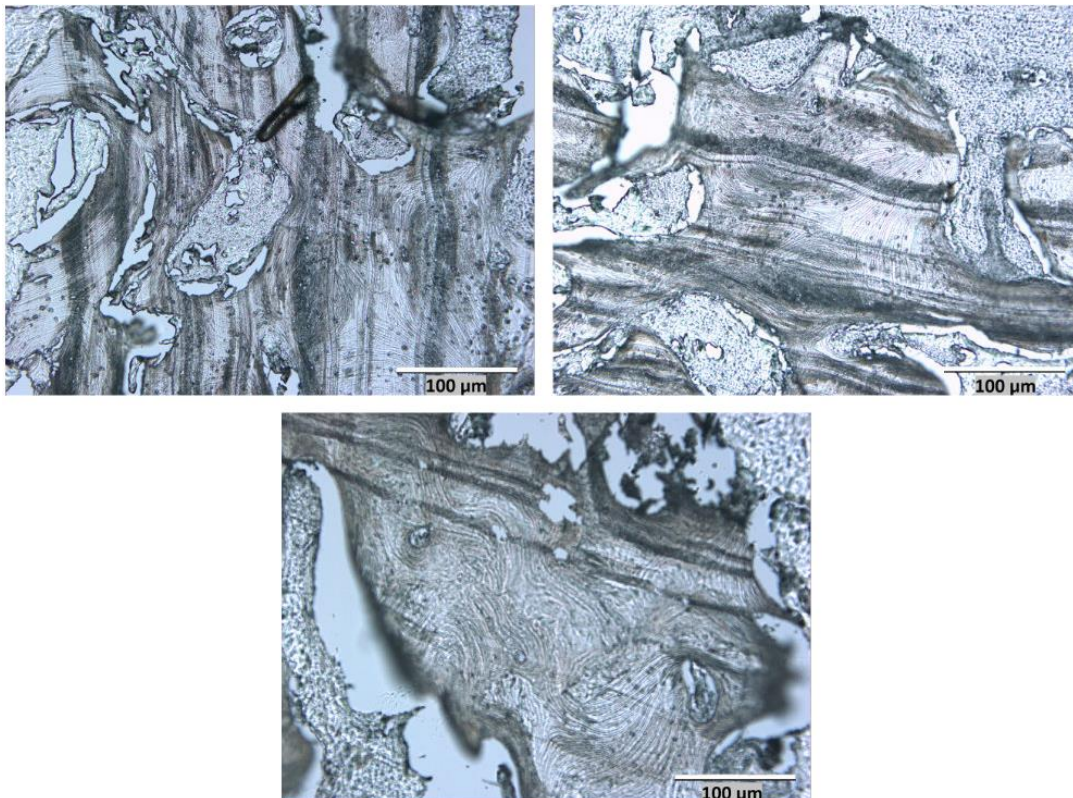
3.2.6. 20 min karestatud kaetud tera löikevõime

20 minutit karestatud tera (joonis 36 vasak) pinnakaredus oli peale oksiidi pealesadestamist endiselt suur (joonis 36 parem) ning tera pind oli kaetud aukudega. Ellipsomeetri järgi oli selle sadestuse käigus sadestatud kile paksuseks 65 nm.



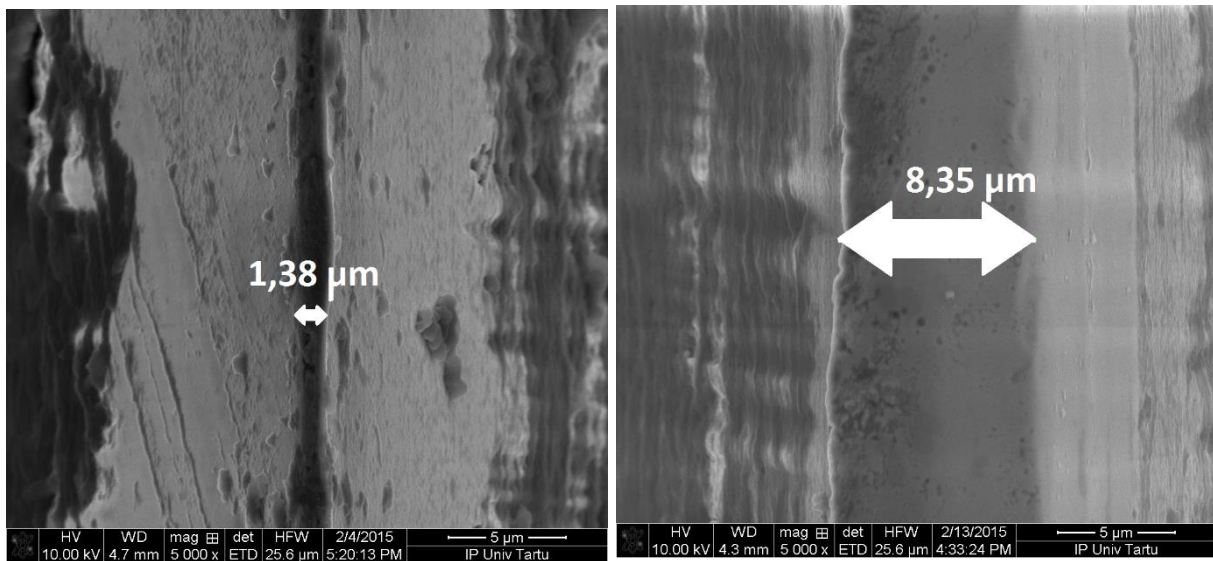
Joonis 36. Tera pinnaprofiil karestamise (vasak) ja sadestamise (parem) järel. Pind on sadestamise järel endiselt auklik.

Tera lõikevõimet testides säilitati 3., 5. ja 6. viil, kuna järgmiste viilude lõikamisel oli tulemus säilitamiskõlbmatu ehk viil purunes või rullus. Viilude kvaliteeti optilise mikroskoobi abil hinnates (joonis 37) eristusid nürile terale iseloomulikud tumedad viirud ning lõigud olid katkised ja justkui tolmu või puruga kaetud. Lõikeserva vaatlus SEM-i abil (joonis 38) näitas, et lõikeserval oleks kate justkui eemaldunud ja lõikeserv oli muutunud nürimaks. Tera



Joonis 37. 3. (ülemine vasak), 5. (ülemine parem) ja 6. (alumine) viil. Esineb tumedaid viirge, puru ja purunenud osi.

lõikevõime oli nii originaal kui ka teiste töödeldud teradega võrreldes kõige kehvem. Seega avaldab liiga suur pinnakaredus tera lõikevõimele kahjulikku mõju.



Joonis 38. Tera peale ALD-d (vasak) ja peale lõikevõime testimist (parem).

4. Järeldused

Eksperimentide tulemustest järeldus, et alumiiniumoksiidi aatomkihtsadestamist on võimalik kasutada mikrotoomiterade lõikeomaduste parendamiseks. Selgus, et selleks tuleb eelnevalt terade pinnakaredust mõõdukas koguses tõsta, sest karestamata Al_2O_3 kattega tera lõikevõime ei olnud hea. Lühiajaliselt karestatud kattega terad olid nii lõikevõimelt kui ka viilu kvaliteedi järgi paremad kui originaaltera, karestamata kattega tera ja pikema karestamisajaga kattega tera. Pikema karestamisajaga kattega tera korral oli kare pind toimunud koeproovi viilutades nagu riivina.

Edaspidi tasuks projekti raames keskenduda optimaalseima karestamisaja ja sadestatava kile paksuse väljaselgitamisele. 1100 tsüklilise Al_2O_3 korral olid edukad nii 30 sekundiline kanges lahuses karestamine kui ka sama pikk lahjendatud lahuses karestamine. Sellest lähtuvalt tasuks uurida mõnekümne sekundi võrra pikema karestamisperioodi mõju. Samuti pakub huvi sadestatava kile paksuse suurendamise ja määrdeaine mõju tera lõikevõimele. Lisaks tasuks uurida puhastatud terasid eesmärgiga välja selgitada, kas puhastatud tera lõikeserval esinenud $10\mu\text{m}$ laiune tasapind viitas millelegi terale iseloomulikule või oli tegu defektiga.

Positiivne tulemus on ajendiks võimalusele, et edasiste eksperimentide tulemusena võib ALD kasutamine mikrotoomiterade parendamisel muutuda uueks ALD rakendusalaaks. Sellisel juhul oleks mikrotoomiterade tootjate rohkuse tõttu üheks oluliseks faktoriks töödeldud tera hind. Sellega seoses tasub mainida, et peagi kiletehnoloogia laborisse lisanduv tööstuslik ALD reaktor võimaldaks korraga suuremale kogusele teradele kile sadestamise ja muudaks seega ALD kasutamise materiaalses mõttes mõistlikumaks.

5. Kokkuvõte

Mikrotoomiga MIKROM HM 200 ja Feather S35 teradega viile lõigates esines tõrkeid proovi läbistamisel ja tervikliku viilu saamisel. Käesoleva töö eesmärgiks oli välja selgitada, kas mikrotoomiterade karestamine ja teradele Al_2O_3 sadestamine ALD abil suurendab tera lõikevõimet ehk muudab luukoeproovi lõikamise sujuvaks ja tõrgetevabaks ning lõigatud viilud kvaliteetseks. Eesmärgiks oli ka karestamise vajalikkuse hindamine.

Töö käigus iseloomustati kõigepealt algset ja kasutatud tera. Originaaltera külje pinnaprofiili iseloomustamine SEM-i abil näitas, et tera pinnal esines mõne μm suuruste mõõtudega ebatasasusi. Elementanalüüsist lähtuvalt koosnes tera peamiselt rauast (81 %) ja kroomist (11 %). Iseloomustamiseks valitud tera lõikeserval leidis 10 μm laiune tasapinnaline ala ja tera keskmine läbimõõt oli 253 μm . Kasutatud tera korral oli lõikeserval vagu ning esines kriime ja ebakorrapärasusi.

Seejärel töödeldi puhastatud terasid erinevaid karestamisaegu ja ALD-d kasutades. Nende terade seast selgitati mikrotoomiga luukoeproovi lõigates välja tera lõikeomadusi parendavad karestamise ja ALD kombinatsioonid. Lisaks töödeldud teradele, testiti ka originaaltera ning karestamata kattega tera lõikevõimet. Viilude kvaliteeti hinnati optilise mikroskoobi abil. Peale iga töötlemisetappi ja tera testimist, iseloomustati SEM-i abil eelkõige tera lõikeserval toimunud muutusi.

Originaalteraga luukoeproovi lõikamisel esines probleeme. Kõiki soovitud viile tervelt lõigata ei õnnestunud – esines viilude katkiminemist ja rullumist. Karestamata kattega teraga lõigatud viiludel esines artefakte puru, aukude ning tumedate viirgude kujul. Seega polnud terale Al_2O_3 sadestamine piisav tera lõikeomaduste ja viilu kvaliteedi tõstmiseks.

Karestamise tulemusi võrreldes selgus, et kahe minuti pikkuse ja pikema karestamisperioodi korral oli happeline lahus tera pinda muutnud niivõrd suurel määral, et valitud tsüklite arv ei oleks olnud piisav söövitatud pinna (ja aukude) täitmiseks. Seetõttu valiti sadestamiseks teradest pikima ehk 20 min pikkuse karestamisajaga tera, kuna see tera oli tõenäoliselt kõige karedam ja võimaldas kareda pinna poolt tera lõikevõimele avaldatavat mõju kõige selgemalt hinnata. Lõikamiseksperimendi ja viilude iseloomustamise käigus selgus, et teraga viilutamine ei olnud sujuv, esines rohkelt ebaõnnestunud viile ja peale kuuendat viilu polnud enam ühegi jäädvustamiskõlblikku viilu. Lõigud olid katkised ja defektsed, seega on pinnakaredusel suur roll kvaliteetse viilu saamisel.

Lühema karestamisajaga ehk 30 sekundit lahjendatud happelises lahuses ja 30 sekundit kanges lahuses töödeldud kattega terad osutusid eelnevatest teradest edukamateks. Lahjendatud lahuses hoitud kattega tera lõikevõime oli märgatavalt tõrgetevabam. Viiludel esines vähesel määral puru ja purunenud kohti, kuid viirge oli märgatavalt vähem ja võrreldes eelnevate kattega teradega olid need tunduvalt heledamad. 30 sekundit happelises lahuses karestatud kattega tera lõikas koeproovist järjest ja ilma tõrgeteta kõik soovitud viilud, luukude eristus ja tumedaid viirge ei esinenud. Sellist sujuvat lõikamist originaaltera korral ei esinenud, mistõttu võib öelda, et selle tera lõikevõime oli originaalterast tunduvalt parem. Järelikult on ALD eelne mõõdukas koguses tera karestamine tera lõikeomaduste parendamiseks vajalik ja lühema karestamisajaga terade edukusest järeldub, et mõõdukas karestamine ja teradele Al_2O_3 sadestamine suurendas tera lõikevõimet ja säilitas viilu kvaliteedi, seega oli lõputöö alguses püstitatud eesmärk täidetud.

6. Summary

USING ATOMIC LAYER DEPOSITED ALUMINIUM OXIDE FOR ENHANCING MICROTOME BLADE CUTTING PERFORMANCE

Helina Seemen

Slicing thin sections of bone tissue using microtome MIKROM HM 200 and Feather S35 microtome blades, could be considered challenging as there were failures during cutting and obtaining comprehensive slice. This study was conducted to determine whether using atomic layer deposition (ALD) of aluminium oxide (Al_2O_3) and different acid pre-treatments could improve the cutting performance and the slice quality.

During the course of work at first the original and used blades were characterised. The profile characterisation of original blade using scanning electron microscope (SEM) showed that there were a few small (a few μm wide) irregular hollows on the blade surface. Using energy-dispersive spectroscopy (EDS) showed that the blade consisted mainly of iron (81 %) and chrome (11 %). On the cutting edge of the blade had a 10 μm wide flat area and blade average diameter was 253 μm . On a used microtome blade had a furrow on the cutting edge, also scratches and irregularities were noticed.

The surface roughness of blades was increased by dipping them into acid solution for different time intervals that varied from 30 seconds to 20 minutes and blades were coated with Al_2O_3 using ALD. After ALD the microtome blades were used for cutting bone tissue to test the influence of different surface roughness and ALD combinations. In addition to roughened blades, original blade and blade with ALD coating alone were tested. Tissue sections were examined afterwards using optical microscope to assess the quality of the section and possible artefacts. Microtome blades were characterized using SEM to detect transformations caused by any experimental steps.

While cutting tissue with original blade some problems occurred. Blade failed to cut all 15 slices – some slices broke and rolled. On the slices, that were cut with the ALD coated original blade, had artefacts, dark lines and holes. Therefore coating blade with Al_2O_3 without raising surface roughness was not enough to improve the cutting performance and the slice quality.

Töötlus with longer periods, due to 20 minutes tekitas nii suuri auku, et nende täitmine selle jaoks, et näha, kuidas pinna karedus mõjutab lõikekvaliteeti, seetõttu valiti

It was found that in case of two minutes and longer roughening period an acid solution had changed the surface of the blade evidently. The blade with 20 minutes roughening period was

chosen for ALD and cutting test as this blade was probably with the highest roughness and permitted to assess the influence left by rough surface most visibly. In the course of sectioning it became evident that slicing was not smooth as there was plenty of failed sections and after cutting the sixth slice the blade was not able to cut suitable sections for preserving. Examined sections were broken and defective, therefore it was concluded that surface roughness has a noticeable role in slicing and the quality of sections.

Using short roughening periods that were 30 seconds in diluted acid solution and 30 seconds in undiluted acid solution and ALD coating proved to be the most successful among different treatments. Cutting with the blade that had been processed in diluted acid solution and coated proved to be noticeably smoother. There was a bit dust and broken parts on the slices but considerably less dark lines occurred and they were remarkably lighter. The blade that had been in undiluted solution for 30 seconds and coated cut all 15 slices desired in a row without any failure. Bone tissue was identifiable and there was no dark defective lines on it. As any other blade including the original blade did not manage to cut slices so smoothly it was concluded that reasonable roughening in combination of ALD improves the microtome blades cutting performance and the purpose of this study was fulfilled.

7. Tänuavaldused

Soovin tänada oma juhendajaid Taivo Jõgiaasa ALD põhitõdede õpetamise, mitmekülgsede ideede, otsekohese, kiire ja detailse tagasiside eest ning Ragnar-Toomas Kiburit motiveeriva uurimisprobleemi tutvustamise, mikrotoomiga viitumise ja lõikudele asjatundja hinnangu andmise eest. Samuti soovin tänada Jekaterina Kozlovat ja Maido Merisalu SEM-i ja EDX-i puudutavate teadmiste ja kogemuste jagamise ning minu koolitamise eest ja Alma-Asta Kiislerit objektide puhastamist ja karestamist puudutava õpetuse eest. Lisaks soovin tänada Aile Tamme, Kaupo Kuklit ja teisi kiletehnoloogia labori töötajaid nõuannete ja soovitude eest ning oma pereliikmeid, sõpru ja kursusekaaslasi rohke toetuse ja innustamise eest kogu bakalaureuseõppe jooksul.

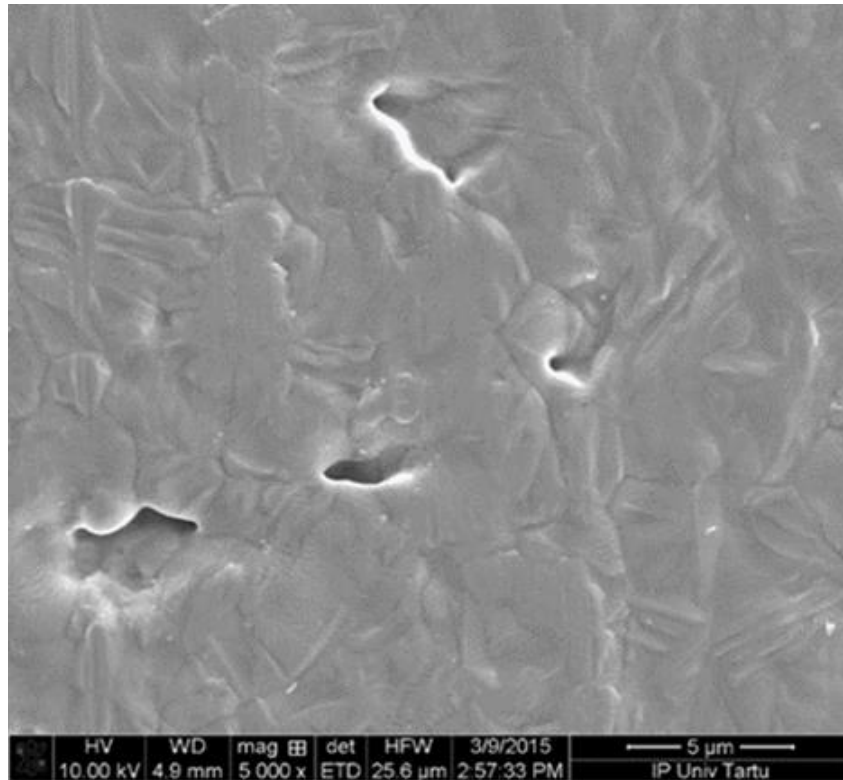
Kasutatud kirjandus

- [1] P. Hussar, Ü. Hussar, J. Kärner, T. Suuroja, Histoloogia: miniloengud. Praktikumid, (Halo kirjastus, Tartu, 2005) lk 4, 15-18.
- [2] Ü. Arend, J. Kärner, H. Kübar, K. Pöldvere, Üldhistoloogia (Valgus, Tallinn, 1994), lk 7-15, 180-187.
- [3] L. P. Gartner, J. L. Hiatt, Color textbook of histology 2nd Edition (Saunders, Philadelphia, 2001), lk 1-3.
- [4] „Histoloogiline uuringumaterjal,“ [Võrgumaterjal] Sihtasutus Tartu Ülikooli Kliinikum Patoloogiateenistus, [Kasutatud 13.03.2015]
<http://www.kliinikum.ee/patoloogia/histoloogiline-uuring#1>.
- [5] A. Rosental, J. Aarik, K. Kukli, „Aatomkihtsadestamine - arenguvõimalus tehnoloogiale, väljakutse füüsikale,“ Teadusmõtte Eestis. Täppisteadused (Eesti Teaduste Akadeemia, Tallinn, 2006), lk. 81-83.
- [6] Mosby, Mosby's Medical Dictionary 8th Edition (Elsevier, 2009).
- [7] Meditsiinisõnastik (Medicina, Tallinn, 2004), lk. 476.
- [8] A. L. Mescher, Junqueira's Basic Histology 13th Edition (Medical, Singapore, 2013), lk. 1-5.
- [9] „Product Catalog 2005/2006,“ [Võrgumaterjal] Microm International, [Kasutatud 02.05.2015] <http://www.twbnbt.com/%E6%9C%80%E6%96%B0%E7%B5%84%E7%B9%94-%E7%97%85%E7%90%86-%E6%9D%90%E6%96%99%E5%88%87%E7%89%87%E6%A9%9F%E5%9E%8B%E9%8C%84.pdf>.
- [10] „Life Science & Laboratory Microtomes Equipment,“ [Võrgumaterjal]] An AZoNetwork Site, [Kasutatud 25.04.2015] <http://www.news-medical.net/Life-Science-and-Laboratory/Microtomes>.
- [11] „HM 325 Rotary Microtome,“ Thermo Fisher Scientific Inc., [Võrgumaterjal] [Kasutatud: 25.04.2015] <http://www.thermoscientific.com/en/product/hm-325-rotary-microtome.html>.
- [12] „HM 430 Sliding Microtome,“ [Võrgumaterjal] Thermo Fisher Scientific Inc, [Kasutatud: 25.04.2015] <http://www.thermoscientific.com/en/product/hm-430-sliding-microtome-3.html>.

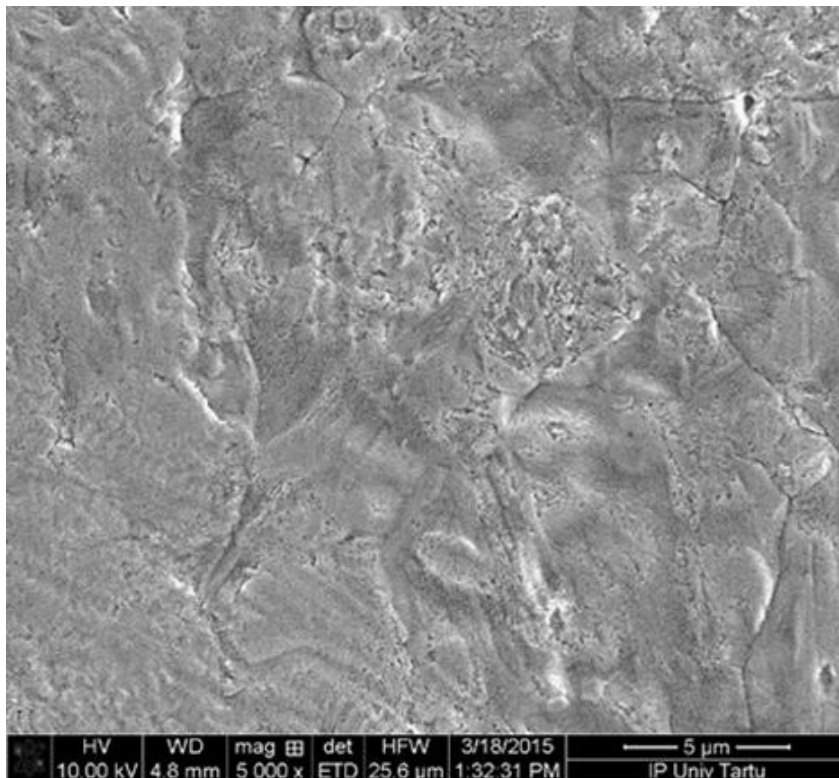
- [13] „CryoMicrotome,“ [Võrgumaterjal] UTS, [Kasutatud 22.04.15]
<http://www.unitechs.co.kr/nproduct/sub31.asp?mode=view&page=1&idx=108&search=&searchstr=>.
- [14] „Ultramicrotome,“ [Võrgumaterjal] Leica-Microsystems, [Kasutatud: 25.04.2015].
<http://www.leica-microsystems.com/products/em-sample-prep/biological-specimens/room-temperature-techniques/ultramicrotomy/details/product/leica-em-uc7/>.
- [15] „Microsampling and Sample Preparation,“ [Võrgumaterjal] Geomar, [Kasutatud: 24.05.2015] <http://www.geomar.de/en/research/fb2/fb2-mg/marine-isotope-geochemistry/microsampling-and-sample-preparation/>.
- [16] „Vibrating Microtome,“ [Võrgumaterjal] Bio-Equip, [Kasutatud: 24.04.2015]
<http://www.bio-equip.com/show1equip.asp?equipid=467725>.
- [17] „Richard-Allan Scientific HM 200 ERGOSTAR Microtome,“ [Võrgumaterjal] Berktree, LLC, [Kasutatud 23.04.15] <http://www.berktree.com/richard-allan-scientific-hm-200-ergostar-microtome-microtome-package-model-920020a-each.html>.
- [18] A. Lepp, „Inimese anatoomia I osa. Teine, täiendatud ja parandatud trükk, (Tartu Ülikooli Kirjastus, Tartu, 2013), lk 42-45.
- [19] C. R. Leeson, T. S. Leeson, A. A. Paparo, „Textbook of Histology 5th Edition“, (Saunders, Philadelphia etc., 1985), lk 131-135.
- [20] G. Rolls, „Microtomy and Paraffin Section Preparation,“ [Võrgumaterjal]] Leica Microsystems, [Kasutatud 26.04.2015]
http://www.leicabiosystems.com/fileadmin/academy/2011/Microtomy_booklet_english_online.pdf.
- [21] R. Rammula, „Atomic layer deposition of HfO₂ - nucleation, growth and structure development of thin films,“ (Tartu University Press, Tartu, 2011).
- [22] V. Miikkulainen, M. Leskelä, M. Ritala, R. L. Puurunen, „Crystallinity of inorganic films grown by atomic layer deposition: Overview,“ Journal of Applied Physics, 2013.
- [23] J. Aarik, „Atomic Layer Deposition of Titanium, Zirconium and Hafnium Dioxides: Growth Mechanisms and Properties of Thin Films,“ (Tartu Ülikooli Kirjastus, Tartu, 2007).

- [24] L. Aarik, „Aatomkihtsadestamine - kvartsresonantskaalumine praktikumijuhend,“ (Tartu, 2012).
- [25] H. Fujiwara, „Spectroscopic Ellipsometry: Principles and Applications,“ (Wiley Online Library, 2007).
- [26] P. J. Goodhew, J. Humphreys, R. Beanland, „The Scanning Electron Microscope, Electron Microscopy and Analysis, 3rd Edition, (London and New York, Taylor & Francis, 2001), lk. 122-162.
- [27] M. Dunlap, J. E. Adaskaveg, „Introduction to the Scanning Electron Microscope,“ (1997) lk 3-28.
- [28] W. Zhou, Z. L. Wang, „Scanning Microscopy for Nanotechnology,“ (Springer, 2006).
- [29] D. Briggs and M. P. Seah, „Practical Surface Analysis: Auger and X-ray photoelectron spectroscopy,“ (Wiley, 1990), lk 657.
- [30] „S35,“ [Võrgumaterjal] PFM Medical, [Kasutatud 12.04.2015], http://www.pfmmedical.com/en/productcatalogue/disposable_microtome_blades/s35/index.html.

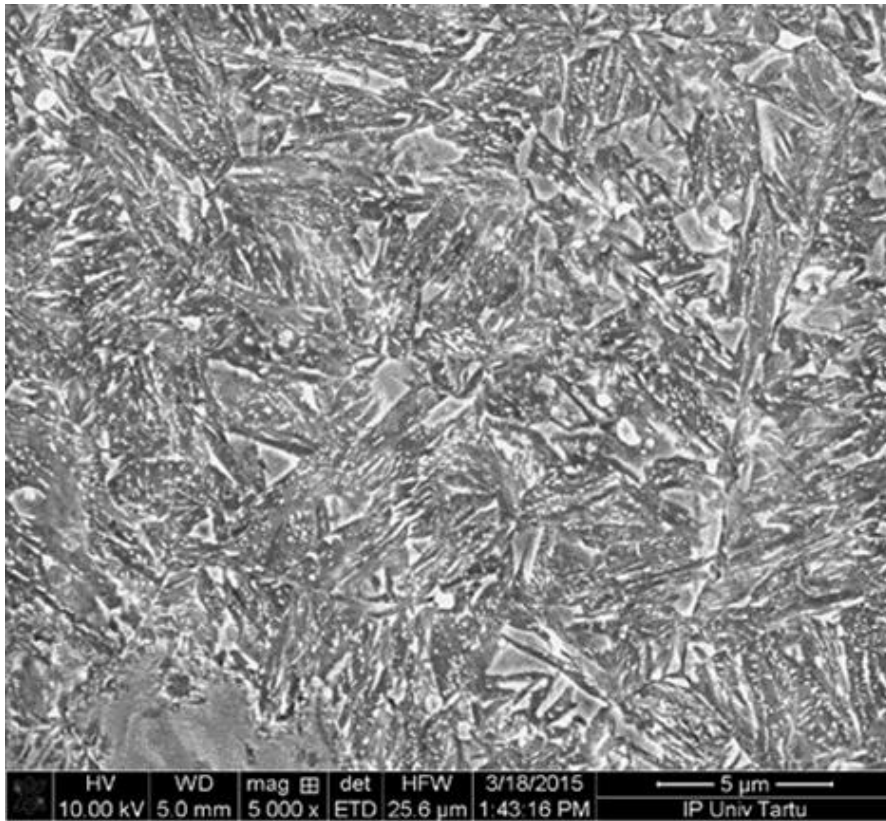
Lisa 1 – Terade pinnaprofiilid



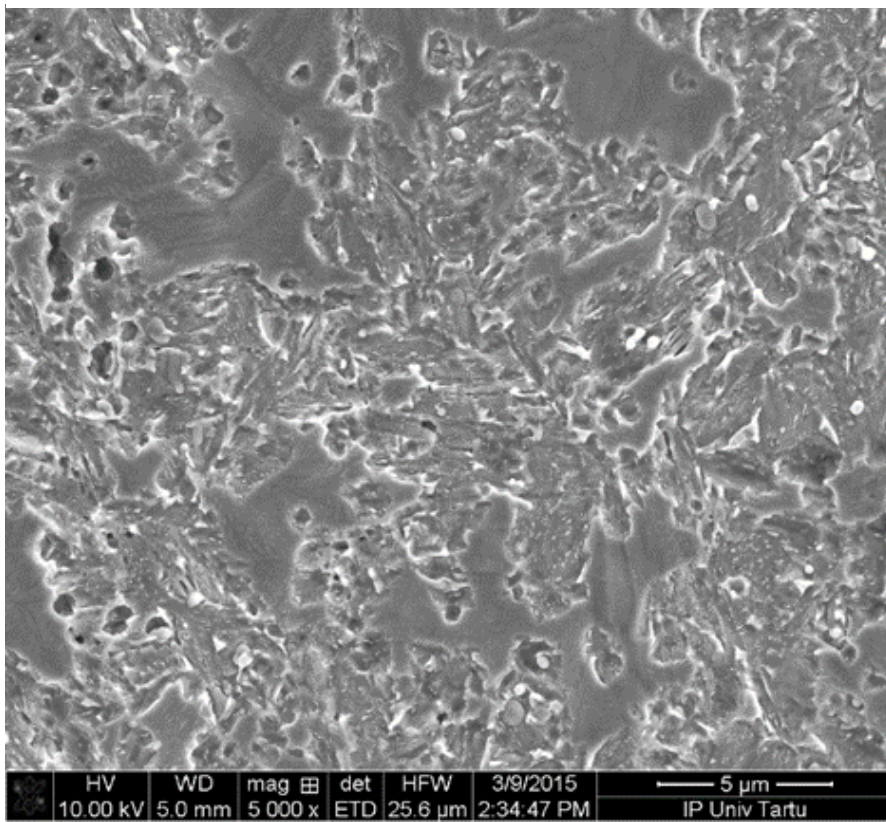
Joonis 39. Karestamata mikrotoomitera



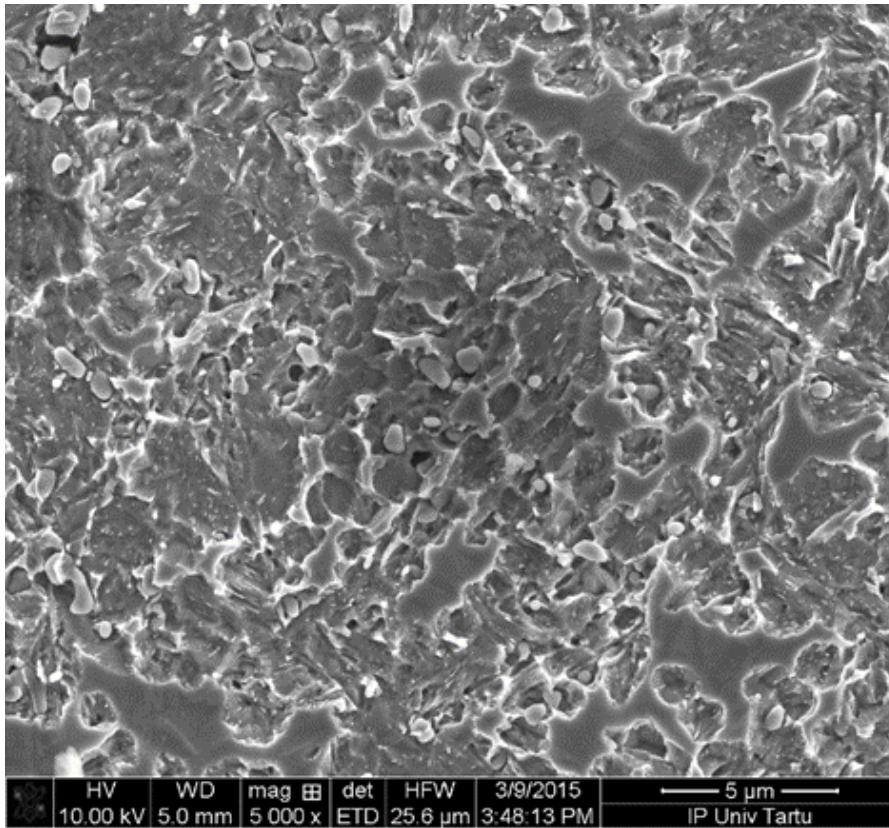
Joonis 40. 30 sekundit lahjendatud happelises lahuses hoitud tera



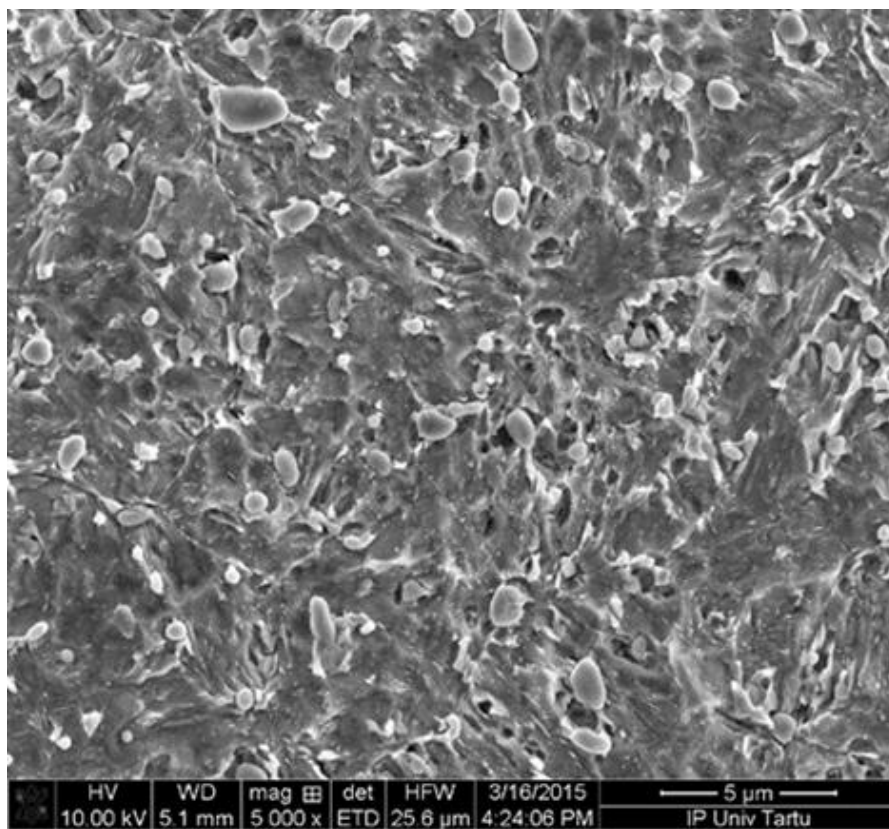
Joonis 41. 30 sekundit karestatud tera



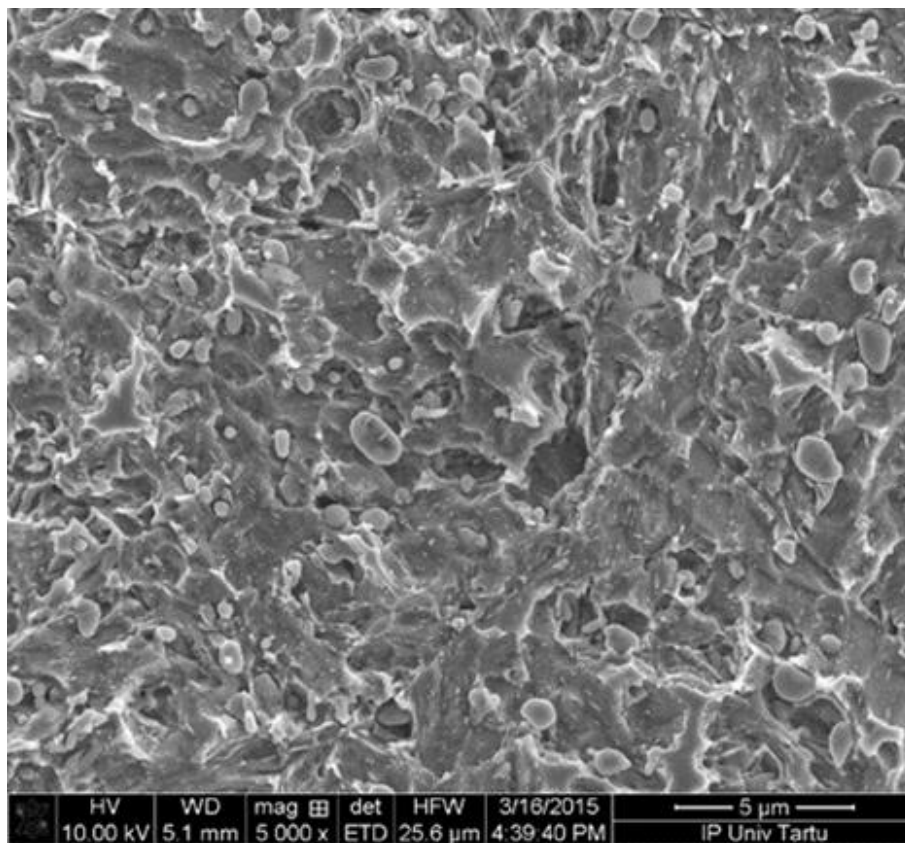
Joonis 42. 2 minutit karestatud tera



Joonis 43. 5 minutit karestatud tera



Joonis 44. 10 minutit karestatud tera



Joonis 45. 20 minutit karestatud tera

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Helina Seemen (26. aprill 1993),

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

„AATOMKIHTSADESTATUD ALUMINIUMOKSIIDI MÕJU MIKROTOOMITERA LÕIKEVÕIMELE“,

mille juhendajad on Taivo Jõgiaas ja Ragnar-Toomas Kibur,

1.1.reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2.üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 25.05.2015