

Pretražna elektronska mikroskopija u uvjetima niskog vakuma

Bakšaj, Ana

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Physics / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za fiziku**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:160:665540>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Department of Physics in Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
ODJEL ZA FIZIKU



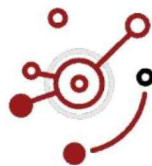
ANA BAKŠAJ

PRETRAŽNA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA
U UVJETIMA NISKOG VAKUUMA

Završni rad

Osijek, 2023.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
ODJEL ZA FIZIKU



ANA BAKŠAJ

PRETRAŽNA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA
U UVJETIMA NISKO VAKUUMA
(LOW VACUUM SEM)

Završni rad

predložen Odjelu za fiziku Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera
u Osijeku radi stjecanja zvanja prvostupnika fizike

Osijek, 2023.

Ovaj završni rad je izrađen u Osijeku pod mentorstvom doc. dr. sc. Domagoja Belića u sklopu Sveučilišnog preddiplomskog studija Fizike na Odjelu za fiziku Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

Odjel za fiziku

PRETRAŽNA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA U UVJETIMA NISKOG VAKUUMA (LOW VACUUM SEM)

ANA BAKŠAJ

Sažetak

Skenirajući elektronski mikroskop (SEM) postao je nezamjenjiv alat za analizu različitih materijala, uključujući metale, polimere, keramiku i drvo. Njegove bitne komponente uključuju izvor elektrona, elektromagnetske leće i detektore. JEOL SEM, moderan i široko korišten instrument, služi za akademska i industrijska istraživanja, kontrolu kvalitete i različite znanstvene primjene. U ovom radu usporedili smo SEM slike dobivene u području niskog vakuuma (LV SEM) i visokog vakuuma (HV SEM) koristeći JSM-IT200 JEOL SEM za skeniranje slabo vodljivih uzoraka drva i natrijevog klorida pri različitim povećanjima i mjerilima. Rezultati su otkrili da je HV SEM proizvodio svjetlije, ali zamucene slike, posebno za drvo, dok je LV SEM nudio višu rezoluciju, posebno za drvo. Nakon povećanja (x50 do x500), jako uvećani uzorci postali su mutniji i manje detaljni. LV SEM pokazao je značajno bolje karakteristike površine. Stoga je LV SEM dosljedno proizvodio vrhunske slike slabo vodljivih uzoraka, osobito pri malom povećanju, što je tema ovog završnog rada.

Ključne riječi: SEM, LV SEM, HV SEM, JEOL SEM

(30 stranica, 11 slika, 20 literaturnih navoda)

Mentor: doc. dr. sc. Domagoj Belić

Ocjenjivač: doc. dr. sc. Domagoj Belić

Rad prihvaćen: 21.09.2023.

Department of Physics

SCANNING ELECTRON MICROSCOPY IN LOW VACUUM CONDITIONS (LOW VACUUM SEM)

ANA BAKŠAJ

Abstract

The Scanning Electron Microscope (SEM) has become indispensable for analyzing various materials, including metals, polymers, ceramics, and wood. Its essential components include the electron source, electromagnetic lenses, and detectors. The JEOL SEM, a modern and widely used instrument, caters to academic and industrial research, quality control, and diverse scientific applications. This study compared low vacuum SEM (LV SEM) and high vacuum SEM (HV SEM) using the JSM-IT200 JEOL SEM to scan poorly conductive wood and sodium chloride samples at different magnifications and scales. The results revealed that HV SEM produced brighter but blurred images, particularly for wood, while LV SEM offered higher resolution, especially for wood. Upon magnification (x50 to x500), highly magnified samples became more blurred and less detailed. LV SEM exhibited significantly better surface features. Thus, LV SEM consistently produced superior images of poorly conductive samples, particularly at low magnification, making it the preferred choice for this study.

Keywords: SEM, LV SEM, HV SEM, JEOL SEM

(30 pages, 11 figures, 20 references)

Supervisor: Domagoj Belić, PhD, Assistant Professor

Reviewer: Domagoj Belić, PhD, Assistant Professor

Thesis accepted: 21.09.2023.

Sadržaj

1. UVOD	7
2. SKENIRAJUĆI ELEKTRONSKI MIKROSKOP (SEM)	8
2.1. STRUKTURA SEM-a	8
2.2. PRINCIP RADA SEM-a	10
2.3. PRIMJENA SEM-a	13
2.4. NEDOSTACI SEM-a	13
3. JEOL MIKROSKOP.....	14
3.1. PRIPREMA SEM-a ZA ANALIZU UZORAKA	16
3.2. ANALIZA UZORAKA SNIMANIH U LV I HV SEM-u.....	18
3.2.1 Slika drvene čačkalice skenirane pri malom povećanju (x50)	18
3.2.2 Slika drvene čačkalice skenirane pri velikom povećanju (x500)	21
3.2.3 Slike natrijevog klorida (NaCl) skenirane pri povećanju (x100)	23
4. ZAKLJUČAK.....	26
5. LITERATURA.....	27
6. ŽIVOTOPIS.....	30

1. UVOD

Skenirajući elektronski mikroskop (eng. scanning electron microscope), skraćeno SEM, snažan je znanstveni instrument koji se koristi za snimanje površine uzorka u vrlo visokoj rezoluciji. Površina uzorka skenira se fokusiranom zrakom elektrona u SEM-u, a interakcija elektrona s uzorkom rezultira različitim signalima koji se koriste za izradu detaljnih crno - bijelih slika. Razvitak elektronske mikroskopije počinje od ranog 20. stoljeća kada su znanstvenici počeli istraživati mogućnosti korištenja elektrona umjesto svjetla za snimanje. Ernst Ruska, njemački fizičar, često se smatra zaslužnim za postavljanje temelja za elektronsku mikroskopiju. Ernst Ruska je 1931. godine zajedno s Maxom Knollom izradio prvi transmisijski elektronski mikroskop (TEM) koji je omogućio prijenos elektrona kroz tanki uzorak i stvaranje prve slike dobivene na taj način [1].

SEM je 1930-ih razvio Manfred von Ardenne, njemački inženjer. Prvi SEM koristio je magnetske leće i zavojnice za skeniranje i fokusiranje elektronske zrake preko površine uzorka. Međutim, njegov je rad ostao relativno nepoznat izvan Njemačke. Nekoliko godina kasnije prvi skenirajući elektronski mikroskop (SEM) koji je doživio veliku primjenu dalje u istraživanjima izumio je Vladimir K. Zworykin 1942. godine. U 1950-ima došlo je do naglog razvoja SEM tehnologije i nekoliko je tvrtki počelo koristiti SEM u znanstvene svrhe. Jedan od prvih ljudi koji je počeo koristiti SEM u svojim istraživanjima bio je Albert Crewe sa Sveučilišta u Chicagu [1].

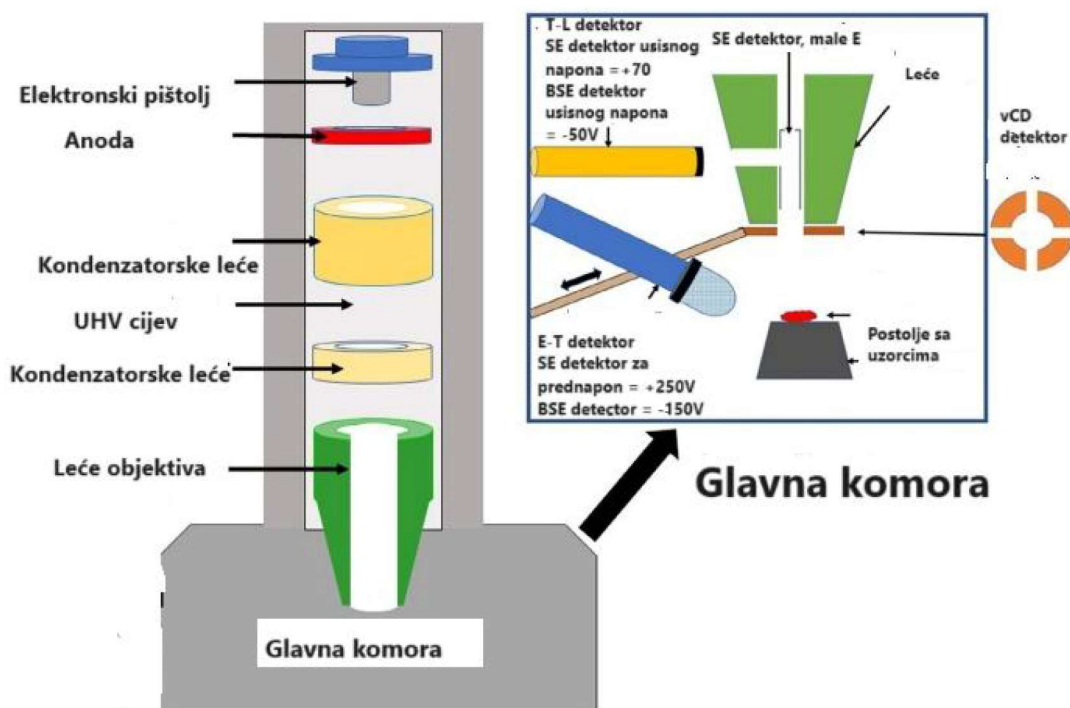
Tijekom desetljeća, SEM tehnologija nastavila se poboljšavati, što je dovelo do veće razlučivosti i jasnijih prikaza površine uzorka na slikama. Zbog toga je SEM ubrzo posato nezamjenjiv alat u istraživanjima različitih područja kao što su znanost o materijalima, biologija, geologija i nanotehnologija. U 1980-ima razvijen je Environmental SEM (ESEM) koji je omogućio snimanje električno slabo vodljivih uzoraka u plinovitom okruženju čime se proširio raspon uzoraka koji se mogu ispitati [2].

2. SKENIRAJUĆI ELEKTRONSKI MIKROSKOP (SEM)

U području mikroskopije, SEM je visoko sofisticirani instrument koji služi za dobivanje realne trodimenzionalne slike uzoraka, visoke razlučivosti reda veličine $10^{-8}m$. Osnovni princip rada temelji se na elektromagnetnim lećama čija je uloga fokusiranje snopa elektrona na dobiveni uzorak. Ovisno o veličini fokusirane točke koju pogađa elektronski snop određuje se razlučivost dobivene slike. Manji elektronski snop pogađa i manju površinu uzorka te daje precizniju konačnu sliku uzorka [3].

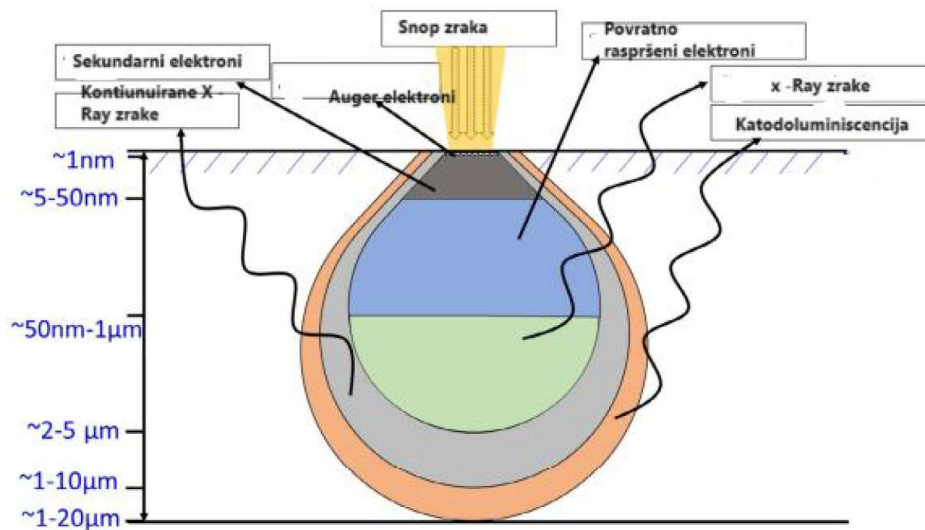
2.1 STRUKTURA SEM – a

Struktura SEM – a složen je i precizan raspored njegovih komponenta (Slika 1.) dizajniranih za generiranje, kontrolu i detektiranje elektrona u njihovoj interakciji s uzorkom. Osnovni dijelovi su:



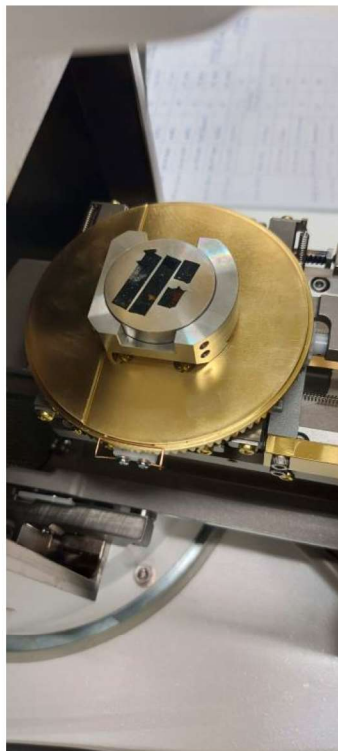
Slika 1: Komponente SEM – a [13]

- Elektronski top (pištolj) ili volframova nit je izvor snopova elektrona koji pogađaju uzorak prilikom zagrijavanja elektrona.
- Elektromagnetske leće kontroliraju i fokusiraju početni snop elektrona koji pada na uzorak.
- Zavojnica za skretanje sastavljena je od elektromagnetskih leća koja ima funkciju stvaranja magnetskog polja koje onda usmjerava snop elektrona na samu površinu uzorka.
- Detektori primaju različite signale (Slika 2.) koji se emitiraju iz uzorka, a tri osnovne vrste su:
 - a) Detektor sekundarnih elektrona koji je postavljen odmah iznad uzorka te skuplja sekundarne elektrone (SE) emitirane s površine uzorka. Koristi se za snimanje površinske topografije visoke rezolucije.
 - b) Detektor povratno raspršenih elektrona koji prikuplja povratno raspršene elektrone (BSE) koji su raspršeni unatrag od teških atoma u uzorku. BSE snimanje daje informacije o sastavu uzorka.
 - c) Detektor X-zraka prikuplja karakteristične X-zrake koje emitiraju atomi uzorka kada su pobuđeni snopom elektrona.



Slika 2: Vrste signala koje izlaze iz uzorka izloženog elektronskom snopu [13]

- Komora za uzorke (Slika 3) sadrži postolje na koje se stavlja uzorak koji se analizira. Komora se održava u uvjetima visokog ili niskog vakuuma kako bi se osiguralo da elektroni budu pošteđeni od sudara na molekulama zraka. Položaj i orijentacija uzorka mogu se promijeniti podešavanjem postolja [4].



Slika 3: Postolje s uzorcima prije umetanja u komoru

2.2 PRINCIP RADA SEM – a

Među bitnim elementima SEM-a je izvor elektrona. SEM proizvodi snop visokoenergetskih elektrona pomoću elektronskog topa u čijem je središtu volframova nit. Kada kroz volframovu nit poteče električna struja ona se zagrijava i pretvara električnu energiju u toplinsku energiju. U tom procesu odvija se termoelektronska emisija prilikom čega se slobodni (valentni) elektroni koji postignu dovoljno veliku kinetičku energiju izbijaju iz niti. Nadalje elektroni pod utjecajem visokog napona (do 30 000 V) putuju od katode prema anodi [5].

Izbijeni elektroni prolaze dalje kroz sustav elektromagnetskih leća koje djeluju kao zavojnica. Prolaskom struje kroz zavojnicu oko nje se stvara magnetsko polje i na elektrone djeluje Lorentzova sila (Jednadžba 1) tako što usmjerava, sabija i koncentrira snop elektrona prema jednoj fokusiranoj točki. Elektromagnetske leće u ovome slučaju imaju ulogu sazimanja (fokusiranja) snopa elektrona.

$$\vec{F} = q\vec{v} \times \vec{B}$$

Jednadžba 1: Formula za izračun Lorentzove sile

Zadnja leća kroz koju elektroni prolaze je zavojnica za skretanje i pomoću nje elektrone točno fokusiramo na određeno mjesto u uzorku tj. njome lako mijenjamo putanju elektronima. Tanki snop elektrona skenira površinu uzorka i daje informaciju o elementu na uzorku. Ključno je naglasiti da, bez obzira na to kako je proizvedena elektronska zraka, ona mora biti generirana u okruženju visokog vakuuma kako bi se kontrolirao njen smjer i spriječilo rano raspršenje elektrona.

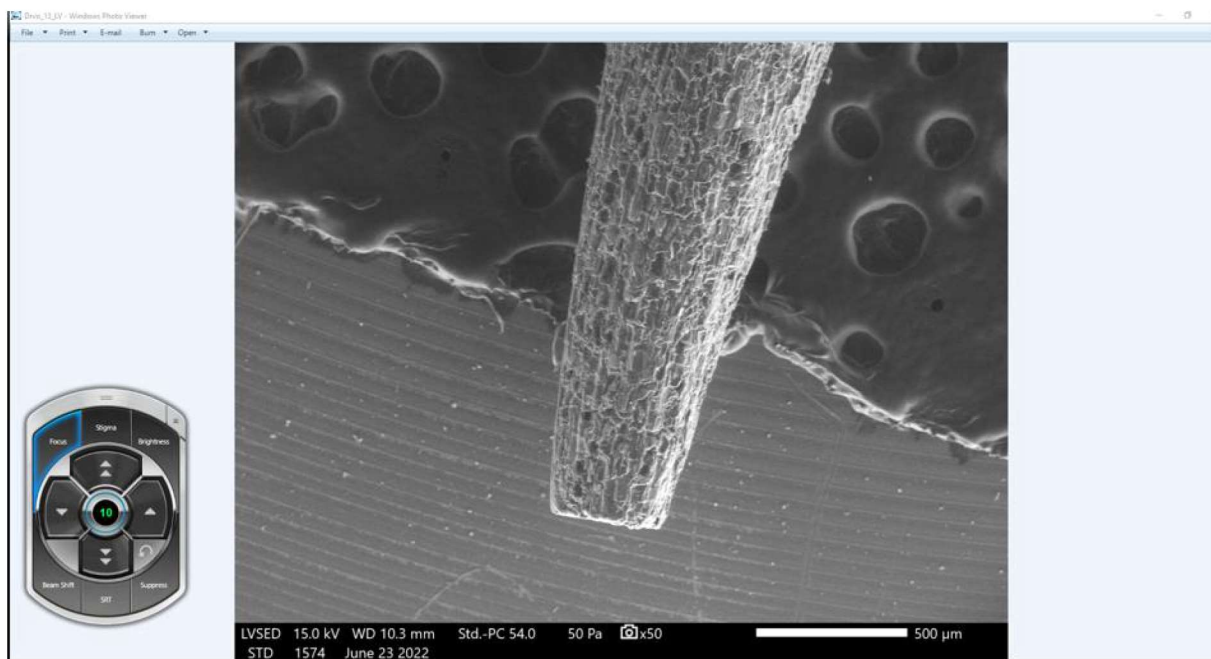
Razlučivost konačne, crno – bijele slike, ovisi o otvoru tj. promjeru kroz koji prolazi snop zraka prema uzorku. Veličina otvora ovisi o broju postavljenih elektromagnetskih leća. Veći broj leća kao rezultat dat će užu snop zraka koji djeluje na uzorak, time se rezolucija slike povećava, ali se smanjuje dubinska oštrina. Također mijanjem struje snopa elektrona, mijenja se i svjetlina slike tj. što je veći broj elektrona slika je svjetlija i oštrija. S obzirom na to da SEM komora tipično radi u okruženju ultravisokog vakuuma (UHV) s tlakom manjim od 10^{-6} torra, korištenje niže energije snopa može pomoći u ublažavanju izobličenja slike minimiziranjem oštećenja uzorka i pojave učinaka elektriziranja [6].

Signale koji tvore konačnu sliku nastalu od promatranog uzorka bilježimo pomoću različitih detekora (Slika 1). Everhart-Thornley (ETD) i detektori kroz leće (TLD) dva su primjera mnogih vrsta detektora dostupnih u SEM-ovima. Mogu identificirati i sekundarne elektrone (SE) i povratno raspršene elektrone (BSE), a uglavnom se koriste za topografsko snimanje (SE) odnosno elementalno mapiranje uzorka (BSE) [7].

ETD se obično koristi za snimanje slika niže rezolucije u načinu rada bez polja [8]. TLD se uvijek koristi za dobivanje slike visoke rezolucije. Slike nastale otkrivanjem SE daju korisne informacije o topografiji uzorka, dok slike proizvedene otkrivanjem BSE otkrivaju mnogo više detalja o sastavu uzorka [9]. Svaki detektor ima jedinstvenu primjenjivost u određenim uzorcima. Za snimanje slike pri niskom naponu ubrzanja koristi se detektor čvrstog stanja (vCD). Moderni SEM instrumenti također uključuju detektor energetski disperzivnih rendgenskih zraka (EDX) koji se može koristiti za analizu sastava bilo kojeg materijala [10].

Detektori sekundarnih elektrona prikupljaju elektrone niske energije emitirane s površine uzorka [11]. SE slike pružaju detaljne informacije o morfologiji površine. Kada primarni elektroni visoke energije stupe u interakciju s atomima u uzorku, rasprše se unatrag i postanu BSE. Pripadne BSE slike otkrivaju elementalni sastav tj. relativnu gustoću uzorka. Detektor rendgenskih zraka koristi se za ispitivanje rendgenskih zraka koje uzorak emitira, a neki SEM-ovi imaju spektroskopske detektore s disperzijom energije (EDX) koji omogućuje ispitivanje kemijskog sastava uzorka [12].

Kada detektori prikupe sve informacije sa odabranog uzorka, podaci se šalju računalu koje je spojeno s mikroskopom te se konačna slika prikaže na zaslonu računala (Slika 4.)



Slika 4: Prikaz korisničkog sučelja SEM-a na zaslonu računala

2.3 PRIMJENA SEM-a

SEM ima nekoliko primjena koje uključuju: analizu morfologije površine, ispitivanje topografije hrapavosti i sitnih detalja materijala i bioloških uzoraka, elementalna analiza za određivanje kemijskog sastava uzorka, karakterizacija materijala za proučavanje mikrostrukture materijala, nanotehnologija za karakterizaciju i manipuliranje nanostrukturama i biološka istraživanja za ispitivanje strukture stanica, tkiva i mikroorganizama. SEM je vitalni alat u mnogim znanstvenim i industrijskim disciplinama jer nudi mogućnosti snimanja slike visoke razlučivosti, često u rasponu nanoskala, što je nemoguće postići optičkim mikroskopima [14].

2.4 NEDOSTACI SEM-a

SEM je vrijedan alat za procjenu mikrostrukturnih svojstava nemođificiranih i modificiranih uzoraka u raznim studijama. Međutim, njegova je učinkovitost ograničena kada se radi o uzrocima koji nisu potpuno suhi ili ne provode dobro elektrone. Dobar primjer je uzorak bitumena u

vakuumskoj komori mikroskopa koji ima tendenciju isparavanja zbog vakuumnog okruženja. Pojava isparavanja kod uzorka bitumena predstavlja izazov za učinkovito promatranje njegove mikrostrukture. Bitumen je vrlo osjetljiv na oštećenja elektronskim snopom. Intenzivni elektronski snop može promijeniti njegovu strukturu i svojstva, čineći dobivanje točnih slika izazovnim. SEM također može izazvati naboj na površini uzorka, posebno za slabo vodljive odnosno električki izolacijske uzorke. Ovo elektriziranje uzorka dovodi do izobličenja slike i popratnih artefakata: nabijena područja nepravilno skreću zraku upadnog elektrona tijekom skeniranja što rezultira nestabilnim signalnim elektronima.

Da bi se proizvele pouzdane SEM slike slabo vodljivih uzoraka, potrebno je izraditi vodljivi put na uzorku kako bi se lokalni višak elektrona pravilno razišao. Obično se prije oslikavanja takvih uzoraka na njih nanosi tanak sloj vodljivog metala kako bi se osigurao što bolji vodljivi put i ublažio problem elektriziranja. Međutim, ovaj pristup ima ograničenja jer nanosenje tankog vodljivog sloja može promijeniti tj. prikriti originalnu strukturu uzorka. Kako bi riješili taj problem kod bitumena, neki su znanstvenici pokušali ukloniti neprovodljiv uljasti sloj prije SEM analize. To uključuje nanošenje asfalta u tankom sloju na filter papir i uklanjanje uljnog sloja ekstrakcijom, pritom koristeći papir kao potporu za zaštitu strukture asfalta. Međutim, ovaj proces iz temelja mijenja izvornu strukturu asfalta. Unatoč početnim izazovima, neke su studije pokazale da je moguće snimiti SEM slike asfaltnog veziva bez uklanjanja uljnog sloja [13].

3. JEOL MIKROSKOP

Jedan od najsvestranijih i najnaprednijih SEM-ova koji se danas koristi u znanstve svrhe je JEOL mikroskop kojeg je na tržište stavila tvrtka JEOL Corporation (Slika 5).

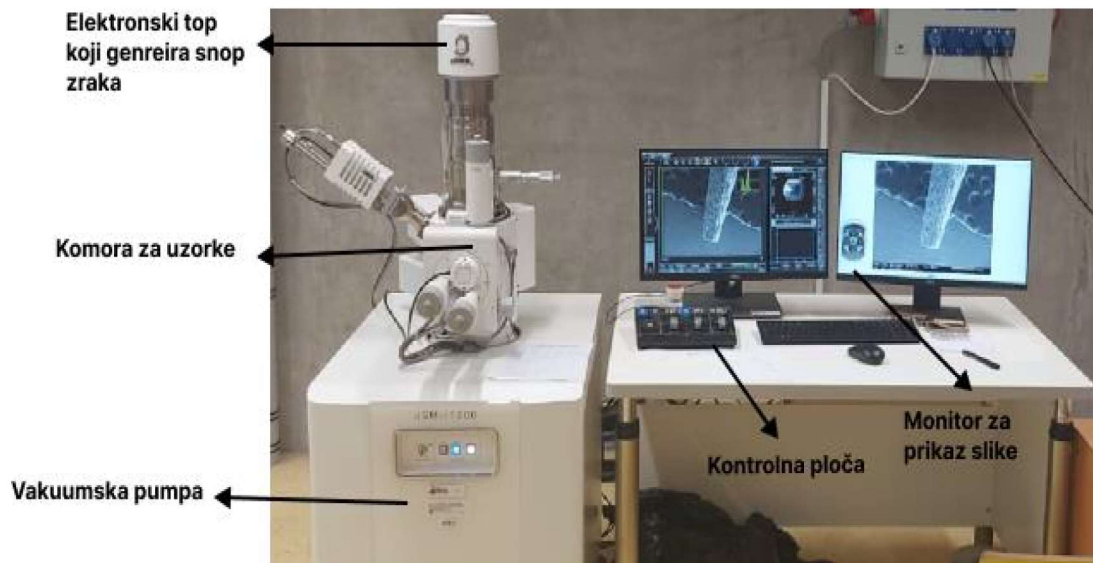


Slika 5: JEOL skenirajući elektronski mikroskop

Osnovne vrste JEOL mikroskopa su:

- transmisijski elektronski mikroskop (TEM)
- skenirajući elektronski mikroskop (SEM)
- skenirajući elektronski mikroskop s fokusiranom ionska zrakom (SEM/FIB)
- mikroskop atomske sile (AFM) [5].

U ovom radu za eksperimentalni dio primijenjen je SEM JEOL mikroskop (JSM-IT200) za dobivanje slika različitih uzoraka. Osnovni dijelovi tog mikroskopa prikazani su na Slici 6.

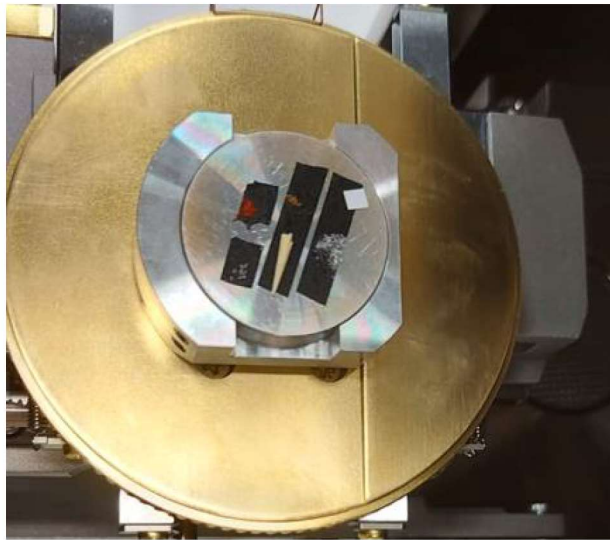


Slika 6: Aparatura za analizu uzoraka uz pomoć SEM - a

3.1 PRIPREMA SEM – a ZA ANALIZU UZORAKA

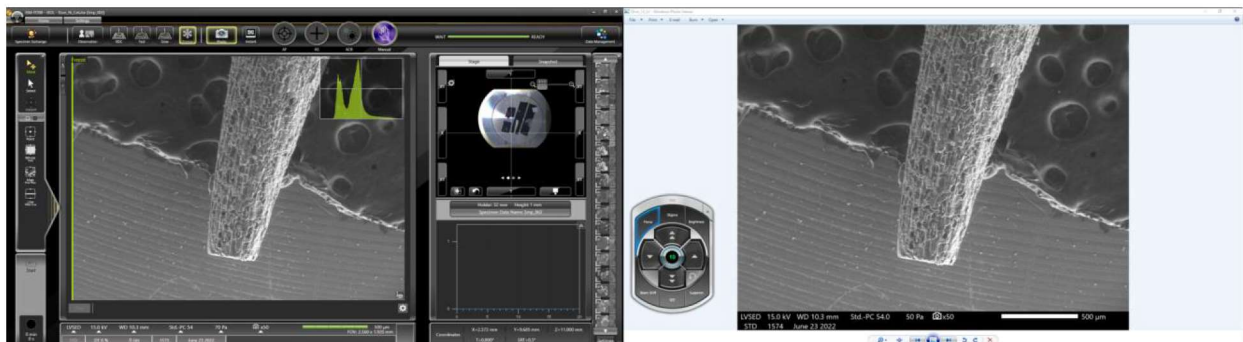
Da bismo uspješno mogli analizirati različite uzorke uz pomoć SEM –a, mikroskop je prvo potrebno pripremiti za rad.

Korisnik koji ispituje dobivene uzorke prvo isključuje vakuumsku pumpu na kontrolnoj ploči i upumpava zrak u komoru za uzorke. Nako što je tlak u komori izjednačen s atmosferskim, komora se može otvoriti i spremna je za prihvatanje uzoraka. Uzorci se postavljaju na okruglo postolje (Slika 7) unutar komore. Istovremeno je moguće analizirati više različitih uzoraka, ovisno o njihovoj veličini i raspoloživom mjestu na postolju.



Slika 7: Postolje s nevodljivim uzorcima za analizu

Kada su svi uzorci dobro posloženi, komora se može zatvoriti i odmah se uključuje pumpa koja je zadužena za postizanje i održavanje vakuuma u komori. Potrebno je oko 3 – 5 minuta da se u komori postigne dovoljno visoki vakuum, što se prati na kontrolnoj ploči. Nakon toga korisnik pokreće program na računalu koji kontrolira rad mikroskopa i pojavljuje se nejasna slika. Podešavanjem fokusa, stigmatičnosti, kontrasta i svjetline slika postaje sve jasnija i oštrija. Znanstvenik joystickom pomiče postolje (u svim smjerovima kao žiroskop) do željenog uzorka i izoštrava sliku uzorka na monitoru (Slika 8) što bolje može. Postupak traženja slike ponavlja se za svaki uzorak na postolju [15].



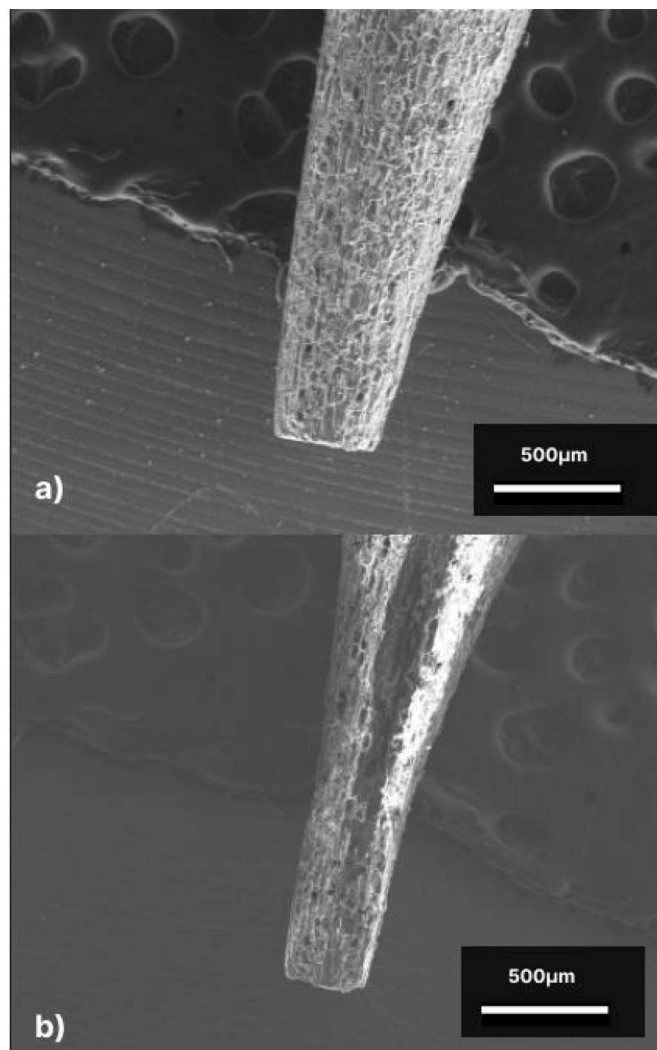
Slika 8: Prikaz nevodljivog uzorka na zaslonu računala

3.2 ANALIZA UZORAKA SNIMANIH U LV I HV SEM – u

U ovom radu uzorci dva različita materijala (drvo i natrijev klorid) slabe električne vodljivosti skenirani su u području niskog vakuuma (LV SEM), a dobivene slike uspoređene su s onima iz područja visokog vakuuma (HV SEM).

3.2.1 Slika drvene čačkalice skenirane pri malom povećanju (x 50)

Slika 9 prikazuje uzorak drvene čačkalice gledan ispod SEM - a. Uzorak čačkalice skeniran u području HV SEM - a (Slika 9b) izgleda svjetlije od uzorka skeniranog u području LV SEM - a (Slika 9a). Posvjetljenje slike uzrokovano je mnogim čimbenicima, uključujući varijacije u topografiji uzorka što dovodi do razlika u raspršenju i detekciji elektrona. Visoke točke na uzorku će raspršiti više elektrona i djelovati svjetlije, dok će niske točke raspršiti manje elektrona i djelovati tamnije. Taj se učinak često naziva topografski kontrast. Vodljivost uzorka utječe na svjetlinu slika dobivenih SEM – om. Vodljivi uzorci obično pružaju bolji kontrast i smanjuju efekte nabijanja što rezultira ujednačenijom svjetlinom. S druge strane, izolacijski uzorci mogu akumulirati naboj, uzrokujući nejednaku svjetlinu i izobličenje.



Slika 9: SEM slike dobivene promatranjem uzorka drvene čačkalice pri povećanju x50 na skali od 500 µm: (a) LV SEM, and (b) HV SEM

Intenzitet elektronskog snopa također može utjecati na svjetlinu slike. Veće struje snopa mogu dovesti do svjetlijih slika, dok niže struje mogu rezultirati tamnijim slikama. Podešavanjem struje snopa kontrolira se svjetlina slike. Ova značajka ovisi o veličini otvora kroz koju snop zraka prolazi na mikroskopu. SEM često imaju detektore koji se mogu naginjati pod različitim kutovima za hvatanje SE, BSE ili drugih signala. Odabir kuta detektora može utjecati na kontrast i svjetlinu slike. Na primjer, SE detektori su osjetljiviji na topografiju površine, dok BSE detektori daju kontrast kompozicije. Udaljenost između izvora elektrona (pištolja) i uzorka, poznata kao putanja prolaska elektrona također može utjecati na svjetlinu slike. Dulja putanja elektrona može dovesti

do tamnije slike, dok kraća putanja elektrona može dovesti do svjetlije slike. Podešavanjem putanje kojom elektroni putju do uzorka može pomoći u optimizaciji svjetline slike [16]. Uočeno je da skenirani uzorak (Slika 9a) u području LV SEM - a ima bolju kvalitetu uzorka nego kod uzorka skeniranog u području HV SEM - a. To se primarno pripisuje manjem lokalnom električnom nabijanju, što rezultira visokom omjeru signala i šuma, većoj rezoluciji te svjetlini i kontrastu [17].

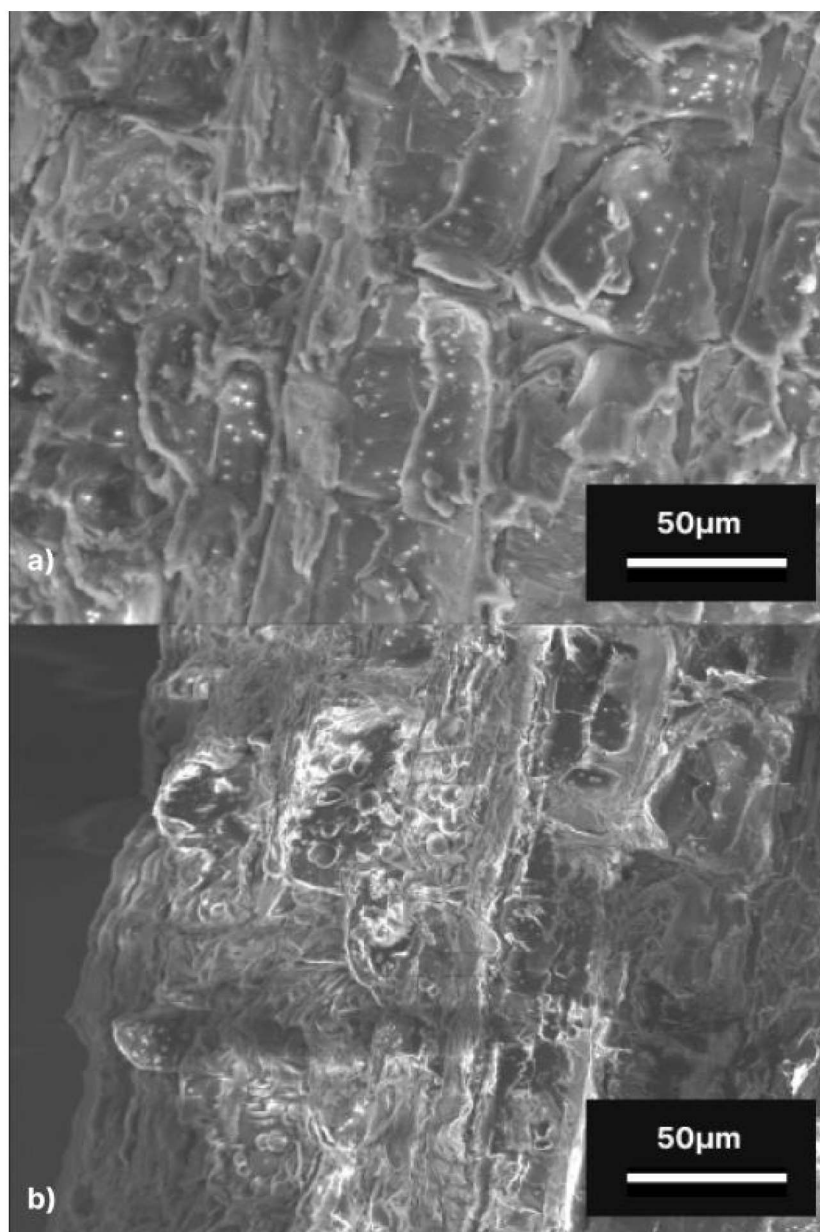
Također se može uočiti da pozadina na Slici 9b) izgleda zamagljena, dok je ona na Slici 9a) jasna. To se može pripisati dubini polja. SEM slike nastaju skeniranjem fokusirane zrake elektrona preko površine uzorka. Međutim, elektronske zrake imaju ograničenu dubinsku oštrinu, baš kao i optički mikroskopi. To znači da će samo određeni raspon dubina od površine uzorka biti u oštrom fokusu u bilo kojem trenutku. Područja iznad ili ispod ovog raspona bit će zamućena. Štoviše, ako uzorak ima neravnu topografiju ili grube karakteristike, različiti dijelovi uzorka mogu biti na različitim udaljenostima od izvora elektronske zrake. Kao rezultat toga, neka će područja biti u fokusu dok druga nisu, što dovodi do zamućenja pozadine.

Naginjanje uzorka ili elektronske zrake također može utjecati na fokus SEM slika. Kada je uzorak nagnut, različiti dijelovi uzorka mogu doći u fokus, uzrokujući zamućenje pozadine u nekim regijama. Osim toga, kontaminanti na površini uzorka ili učinci naelektriziranja mogu poremetiti fokus na SEM slikama. Kontaminanti mogu promijeniti interakciju elektronske zrake s uzorkom što dovodi do zamućenih područja u pozadini. Međutim, to nije vjerojatan faktor u ovom radu, budući da je isti uzorak korišten u oba slučaja. Javlja se samo ako je uzorak kontaminiran u procesu provođenja eksperimenta. Kako bi se zamućene pozadine u SEM slikama svelo na minimum, bitno je optimizirati postavke instrumenta, uključujući putanju elektrona, energiju snopa i kutove detektora. Osim toga, potrebno je osigurati da je uzorak ispravno pripremljen i da nema kontaminacije da bismo dobili što bolje slike SEM – om.

Slika 9b također ima zatamnjenje slike, gdje pojedina područja postaju tamnija od ostatka. Ovaj fenomen je uzrokovan prisutnošću nečistoća u uzorku ili SEM komori. Uobičajeni zagađivači uključuju ulje i mast. Kako bi se uklonio ovaj učinak, potrebno je poduzeti nekoliko mjera, uključujući čišćenje površine organskim otapalima, izbjegavanje dodirivanja uzorka golim rukama, čišćenje vakuumskih sustava, povećanje putanje elektrona i smanjenje veličine leće objektiva [18].

3.2.2 Slika drvene čačkalice skenirane pri velikom povećanju (x 500)

Na slikama 10a) i 10b) prikazane su slike istog uzorka drvene čačkalice pri povećanju od x500 i u mjerilu od 50 μm . Oba uzorka izgledaju mutno, što se može pripisati velikom povećanju u usporedbi s onima na slikama 9a) i 9b). Uzorak skeniran u području HV SEM - a (Slika 10b) i dalje je bio svjetliji od onog skeniranog u području LV SEM - a (Slika 10a), baš kao i oni na slikama 9a) i 9b). Ova pojava „rastezanja“ slika visoke rezolucije posljedica je izraženog lokalnog nabijanja slabo vodljivih uzoraka uslijed interakcije primarnog elektronskog snopa s uzorkom. LV SEM daje mogućnost odvođenja tog lokaliziranog naboja putem sudara s molekulama zraka koje se nalaze u komori: pri takvim sudarima naboj s površine uzorka moguće je prenijeti na molekule zraka i pritom ih ionizirati. Navedeni efekt je slabije izražen pri HV SEM oslikavanju što u tom slučaju limitira rezoluciju i čini slike manje oštrima u odnosu na one dobivene LV SEM metodom.

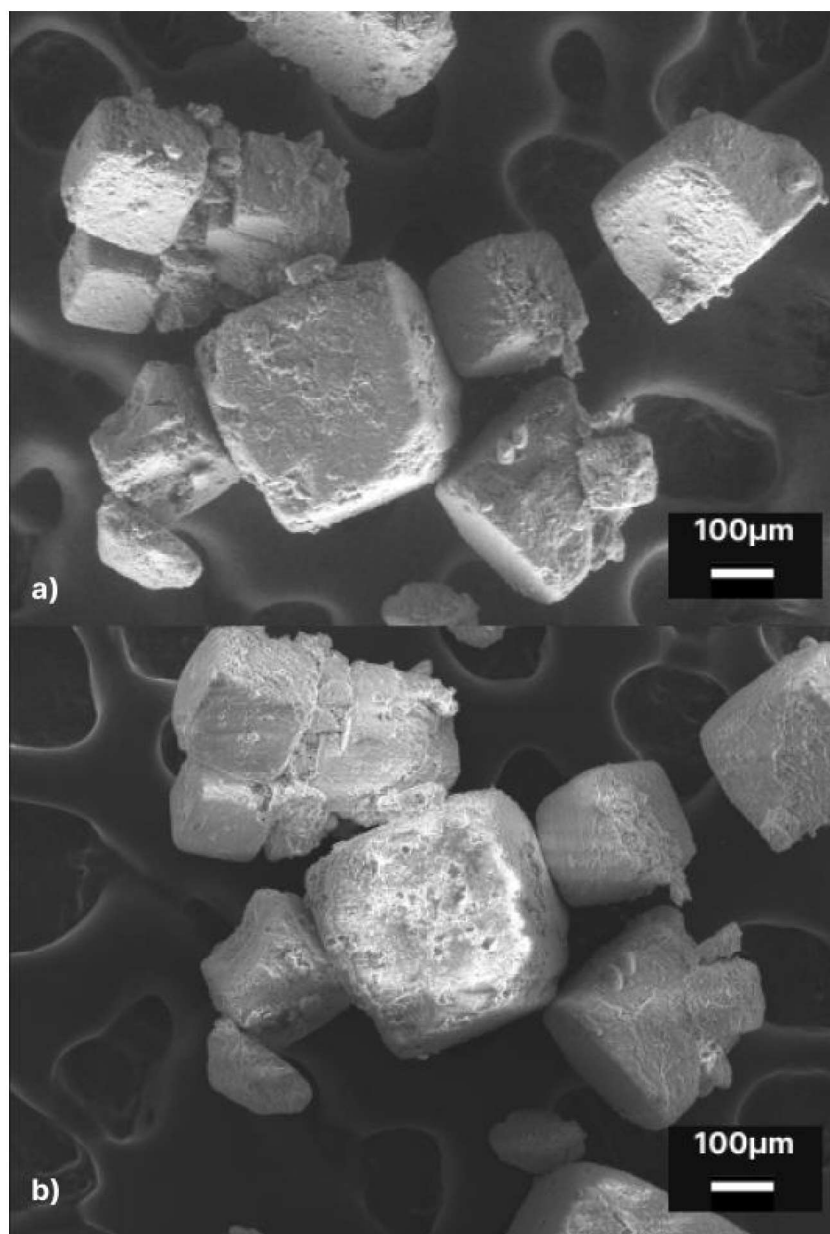


Slika 10: SEM slike dobivene promatranjem uzorka drvene čačkalice pri povećanju x500 na skali od 50 µm: (a) LV SEM, and (b) HV SEM

3.2.3 Slike natrijevog klorida (NaCl) skenirane pri povećanju (x 100)

Slike 11a) i 11b) prikazuju slike natrijevog klorida skenirane u području LV SEM – a (Slika 11a) i u području VH SEM - a (Slika 11b), koje također pokazuju da su uzorci skenirani u području visokog vakuuma još uvijek svjetliji od onih skeniranih u području niskog vakuuma. Međutim, za razliku od uzoraka drvene čačkalice gdje je slika HV SEM - a pokazala zamućenu pozadinu, slika LV SEM - a je ta koja ima zamućenu pozadinu.

Napon (napon ubrzanja ili energija snopa) koji se koristi u SEM - u ima značajan utjecaj na kvalitetu i karakteristike SEM slika. Niski i visoki naponi imaju svoje prednosti i ograničenja. Niski napon (1 kV - 3 kV) prikladan je za oslikavanje površine nevodljivih ili izolacijskih uzoraka, budući da smanjuje učinke naboja. Pri niskim naponima, manje elektrona prodire u uzorak, smanjujući vjerojatnost nakupljanja naboja na površini uzorka. Štoviše, LV SEM je koristan za dobivanje materijalnog kontrasta u biološkim ili organskim uzorcima. Pri nižim naponima, SE emisija je osjetljivija na površinu što omogućuje bolju vizualizaciju površinskih struktura i morfologije. Pri niskim naponima, dubina polja je mala, što može dovesti do uskog žarišnog raspona i izazova u održavanju fokusa, posebno za uzorke sa složenom topografijom [19]. To je vidljivo na Slici 11a).



Slika 11: SEM slike dobivene promatranjem uzorka natrijevog klorida (NaCl) pri povećanju $\times 100$ na skali od $100 \mu\text{m}$: (a) LV SEM, and (b) HV SEM

Visoki napon (obično $>3 \text{ kV}$), s druge strane, osigurava veću dubinsku oštrinu, što može biti prednost za prikaz uzoraka s trodimenzionalnim strukturama. Širi žarišni raspon olakšava zadržavanje cijelog uzorka u fokusu, što je vidljivo na Slici 11b). Viši naponi također omogućuju

veću penetraciju, omogućujući proučavanje značajki ispod površine i analizu rasutih materijala. Elektroni visokog napona mogu pružiti veću prostornu rezoluciju u smislu snimanja finih detalja i manjih struktura zbog svoje kraće valne duljine.

Međutim, HV SEM ima svoje nedostatke, uključujući induciranje naboja na izolacijske uzorke, što dovodi do poteškoća u prikazivanju i oštećenja uzorka [20]. Može biti potrebna odgovarajuća priprema uzorka, kao što je vodljivi premaz. Štoviše, u HV SEM - u, BSE se često koristi za snimanje. BSE daje kontrast kompozicije koji može biti manje osjetljiv na površinu od SE. Zbog toga u nekim slučajevima može biti teško prikazati površinske značajke. To je vidljivo na Slikama 9b) i 11b).

4. ZAKLJUČAK

U ovom radu uz pomoć skenirajućeg elektronskog mikroskopa analizirani su slabo vodljivi uzorci u području viskog vakuuma (HV) i području niskog vakuuma (LV) čiju primjenu koristimo gotovo svakodnevno. Materijali od kojih su izrađeni analizirani uzorci su drvo i natrijev klorid.

Utvrđeno je da se uzorak skeniran u području viskog vakuuma čini svjetlijim zbog raspršenja elektrona izazvanog topografijom. Vodljivi uzorci obično nude bolji kontrast i smanjuju efekte nabijanja, osiguravajući ujednačeniju svjetlinu. Za uzorak skeniran u području niskog vakuuma dobili smo sliku više kvalitete, a na to su utjecali primarno bolje odvođenje električnog naboja s površine slabo vodljivog uzorka uslijed višeg tlaka zraka u komori, te veći otvor kroz koji je prolazio snop zraka. Zapaženo je zamućenje pozadine u SEM slikama, što je pripisano ograničenoj dubinskoj oštrini, nagibu uzorka ili elektronskog snopa, kontaminantima na površini uzorka ili učincima nakupljanja naboja. HV SEM slika uzorka drva pokazala je tamnjenje u srednjem dijelu, a pripisano je nečistoćama u uzorku ili SEM komori, poput ulja i masti. Skeniranje uzoraka drva pri višoj razlučivosti rezultiralo je mutnim slikama, primarno zbog izraženijeg lokalnog nabijanja uzoraka. Slike natrijevog klorida skenirane na HV SEM - u izgledale su svjetlije, ali su imale zamućenu pozadinu, što implicira da HV SEM pruža kontrast kompozicije, ali može biti manje osjetljiv na površinu.

Zaključno, odabir SEM napona ovisi o prirodi uzorka i ciljevima istraživanja, budući da je LV SEM prikladan za snimanje površine slabo vodljivih uzoraka, a HV SEM za vodljive uzorke i/ili analizu ispod površine. U oba slučaja, pravilne postavke instrumenta i priprema uzorka ključni su za dobivanje visokokvalitetnih SEM slika.

5. LITERAURA

- [1] Mohammed, A. & Abdullah, A. (2019). Scanning electron microscopy (SEM): A review. *Proceedings of International Conference on Hydraulics, Pneumatics, Sealing Elements, Tools, Precision Mechanics, Specific Electronic Equipment & Mechatronics*, 1-9.
- [2] Zhou, W. Apkarian, R. Wang, Z. L. & Joy, D. (2006). *Fundamentals of scanning electron microscopy (SEM)*. In: Zhou, W. Wang, Z. L. (eds). *Scanning microscopy for nanotechnology*. Springer: New York.
URL: https://doi.org/10.1007/978-0-387-39620-0_1
- [3] O. C. Wells, *Scanning Electron Microscopy*, McGraw-Hill, New York (1974).
URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4684-2454-6_13
- [4] S. Wischnitzer, *Introduction to Electron Microscopy*, Pergamon Press, New York (1962).
URL: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.138.3545.1093.b>
(Pristupljeno: 12.7.2023.)
- [5] Yoshimura, N. (2014). *History of JEOL electron microscopes*. In: *Historical evolution toward achieving ultrahigh vacuum in JEOL electron microscopes*. SpringerBriefs in Applied Sciences and Technology. Springer, Tokyo.
URL: https://doi.org/10.1007/978-4-431-54448-7_2
(Pristupljeno: 12.7.2023.)
- [6] Beckman Institute for Advanced Science and Technology, University of Illinois at Urbana-Champaign
URL: http://virtual.itg.uiuc.edu/training/EM_tutorial/
(Pristupljeno: 12.7.2023.)

- [7] Everhart, T. E. & Thornley, R. F. M. (1960). Wide-band detector for micro-microampere low-energy electron currents. *Journal of Scientific Instruments*, 37 (7), 246. DOI 10.1088/0950-7671/37/7/307.
- [8] Kannan, M. (2018). Scanning electron microscopy: principle, components and applications. In: A textbook on fundamentals and applications of nanotechnology. New Delhi: Daya Publishing House® A Division of Astral International Pvt. Ltd.
- [9] Merugu, R. & Gothalwal, R. (2021). Microscopic techniques for characterisation of nanomaterials: A minireview. *Materials Today: Proceedings*, 47, (14), 4753-4757.
URL: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.05.665>
(Pristupljeno: 20.7.2023.)
- [10] Mikhailenko, P. (2015). *Valorization of by-products and products from agro-industry for the development of release and rejuvenating agents for bituminous materials (Doctoral dissertation)*, Université Paul Sabatier-Toulouse III.
- [11] Stokes, D. (2001). Characterisation of soft condensed matter and delicate materials using environmental scanning electron microscopy (ESEM). *Advanced Engineering Materials*, 3(3), 126-130.
- [12] Toth, M. Thiel, B. L. & Donald, A. M. (2003). Interpretation of secondary electron images obtained using a low vacuum SEM. *Ultramicroscopy*, 94, 71-87. doi:10.1016/s0304-3991(02)00203-6.
- [13] Mazumder, M. Ahmed, R. Ali, A. W. & Lee, S-J. (2018). SEM and ESEM techniques used for analysis of asphalt binder and mixture: A state of the art review. *Construction and Building Materials*, 186, 313-329.
URL: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2018.07.126>

- [14] Avula, A. Galor, A. Blackwelder, P. Carballosa-Gautam, M. Hackam, A. S. Jeng, B. & Kumar, N. (2017). Application of scanning electron microscopy with energy-dispersive X-ray spectroscopy for analyzing ocular surface particles on schirmer strips. *Cornea*. 36(6), 752-756. doi: 10.1097/ICO.0000000000001173.
- [15] Material Science 2000 – You Tube kanal
URL: <https://www.youtube.com/watch?v=GY9lfO-tVfE>
(Pristupljeno: 6.9.2023.)
- [16] Larionov, Y. V. & Novikov, Y. A. (2013). Mechanisms of image formation in SEM. *International Conference on Micro-and Nano-Electronics*, 8700. DOI: 10.1117/12.2016850
- [17] Zotta, M. D. Han, Y. Bergkoetter, M. D. & Lifshin, E. (2016). An evaluation of image quality Metrics for scanning electron microscopy. *Microscopy and Microanalysis*, 22(S3), 572-573.
URL: <https://doi.org/10.1017/S1431927616003718>
- [18] Goldstein, J. I. Newbury, D. E. Echlin, P. (2003). *Scanning electron microscopy and x-ray microanalysis*. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publishers.
- [19] Boyes, E. (2018). *Pros and cons of low voltage SEM EDX elemental analysis*. Cambridge: Cambridge University Press.
- [20] Stokes, D. J. (2013). *Environmental scanning electron microscopy (ESEM): principles and applications to food microstructures*. Eindhoven: FEI Company.

6. ŽIVOTOPIS

Ana Bakšaj rođena je 30.06.1995. godine u Zagrebu. Osnovnu školu Vladimir Nazor Budinščina završila je 2010. godine. Iste je godine upisala Prvu gimnaziju u Varaždinu koju je završila 2014. godine.