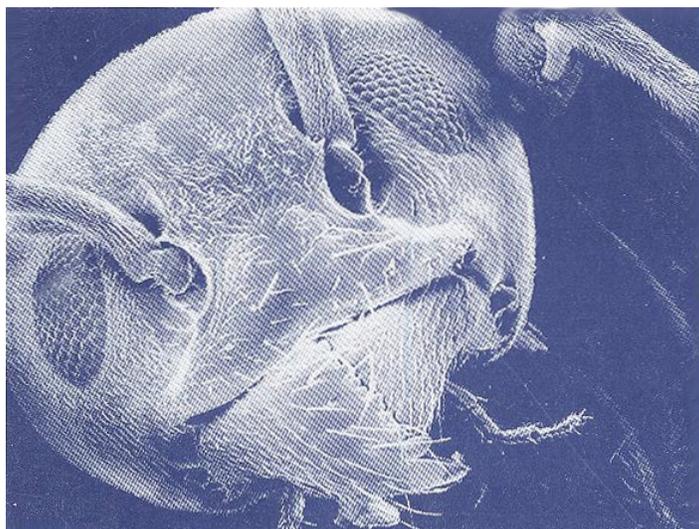




# Principios de Microscopía Electrónica de Barrido y Microanálisis por Rayos X Característicos



MC Guillermina González Mancera  
MC Ma. Eugenia Noguez Amaya





# **Principios de Microscopía Electrónica** de Barrido y Microanálisis por Rayos X **Característicos**

---

**Guillermina González Mancera**  
**Ma. Eugenia Noguez Amaya**



**Primera Edición 2006**  
D.R.© Facultad de Química, UNAM  
Ciudad Universitaria, 04510, México, D.F.

Impreso y hecho en México

ISBN 970-32-4011-9

## ***Prefacio***

Este trabajo está dirigido a quienes se introducen, por primera vez, en los temas de la Microscopía electrónica de barrido y de la Espectrometría por dispersión de energía de rayos X. Su objetivo es describir el propósito básico y los principios teóricos de estas técnicas. Reúne información de varias fuentes bibliográficas y, gran parte de ella proviene de los estudios que realicé en la especialidad en Microscopía electrónica (Facultad de Ciencias-UNAM), y de mi experiencia en el área. Así, espero que este material sea de ayuda para entender mejor como funcionan estos equipos y la utilidad que pueden tener en el estudio de un material determinado.

MC Guillermina González Mancera



## ***Agradecimientos***

La autora agradece los apoyos de la MC Ma. Eugenia Noguez Amaya de la Facultad de Química de la UNAM, que hicieron posible la publicación de este material. Asimismo, al Departamento de Idiomas de esta Facultad y especialmente a la Q Bertha Figueroa, a P. Cervantes Gutiérrez de la Sección de Publicaciones, al Comité Editorial de la Facultad de Química de la UNAM, al QFB Saturnino De León Chapa, al Dr. Jesús A. Arenas Alatorre del Instituto de Física de la UNAM y al MC Arturo Ortiz Ubilla, del Instituto Mexicano del Petróleo, por sus correcciones, comentarios y revisión crítica a este trabajo. Las gracias también al Lic. José Ruiz Díaz y al Lic. Alejandro Correa Sandoval de la Coordinación de Comunicación e Información por sus valiosas observaciones en el proceso de edición, lo que hizo posible afinar la presentación de la obra.



## ***Presentación***

El desarrollo de la Microscopía electrónica a través de la historia es paralelo al progreso de la ciencia y la tecnología en general. Su contribución al conocimiento de los detalles de la materia, ha llevado no sólo a lograr avances tecnológicos importantes que después han encontrado aplicación en otras ramas del quehacer humano, sino también ha permitido el avance de la ciencia pura.

El invento de Ernst Ruska en la década de los 30, permitió alcanzar el nivel de resolución espacial que muchos investigadores de diversas disciplinas demandaban y fundó una rama de investigación que a pesar de ser relativamente joven, ha avanzado de una manera vertiginosa en la ciencia contemporánea. Pero no únicamente por la resolución alcanzada, el microscopio electrónico se ha convertido en una fuente inagotable de información y desarrollo, sino también por las capacidades de análisis de las técnicas asociadas a un microscopio electrónico moderno, como son la Espectroscopía por dispersión de energía de rayos  $X$  (EDS), la Espectroscopía por dispersión de longitud de onda (WDS) y la Espectroscopía Auger, entre otras.

En particular, el microscopio electrónico de barrido (SEM) por su capacidad para proporcionar información morfológica, topográfica, química, cristalográfica, eléctrica y magnética de muestras másicas, ha contribuido considerablemente al dominio de la Física del estado sólido, de la ciencia de materiales, de la electrónica, de los polímeros, de los textiles, de la Biología,

Medicina y cirugía dental, etc. El futuro de esta técnica resulta muy prometedor debido a su desarrollo tecnológico a inicios del siglo XXI, en donde se ha alcanzado una resolución de hasta 1 nm (utilizando tecnología de emisión de campo) y con la posibilidad de trabajar a presión controlada, lo cual facilita la observación de muestras húmedas evitándose así la necesidad de recubrirlas con materiales conductores.

Estas notas sobre Microscopía electrónica de barrido y técnicas analíticas asociadas, son un estupendo esfuerzo de la M en C Guillermina González, especialista en SEM, para dar al lector de habla hispana un breve recorrido por los principios fundamentales de esta técnica que le puedan servir como base para decidir bajo qué condiciones trabajar en el SEM, así como el tipo de información que proporciona. Sin lugar a duda que los usuarios de esta técnica requerimos de este tipo de escritos, para poder explotar de mejor manera toda la gama de información que nos proporciona un SEM.

**Dr. Jesús Arenas Alatorre**  
**Responsable de Vinculación del Laboratorio**  
**Central de Microscopía IF-UNAM**

# **Contenido**

1. Introducción .....	13
2. Breve historia .....	15
3. ¿Qué es un microscopio electrónico de barrido? .....	19
4. Ventajas del microscopio electrónico de barrido .....	21
4.1. Aumentos .....	21
4.2. Resolución .....	22
4.3. Profundidad de campo .....	26
5. Principales componentes del microscopio electrónico de barrido .....	27
5.1. La columna electrón-óptica .....	27
5.1.1 Cañón .....	28
5.1.1.A Tipos de cátodo .....	29
5.1.2. Lentes electrostáticas y electromagnéticas .....	33
5.1.2.A. Lente electrostática y el crossover .....	33
5.1.2.B. Lentes electromagnéticas .....	33
5.1.3. Cámara del espécimen .....	35
5.2 Sistema de detección .....	36
5.2.1. Detector <i>scintillador</i> ó de Everhat y Thornley .....	37
5.2.2. Detector de estado sólido .....	38
5.2.2.A. Detector de electrones retrodispersados (BSE) .....	38

5.2.2.B. Detector del espectrómetro por dispersión de energía de rayos X(EDS) .....	40
5.3 Sistema de vacío .....	42
<b>6. Formación de la imagen .....</b>	<b>47</b>
6.1 Aspectos que influyen en la calidad de la imagen .....	50
6.1.1. Voltaje de aceleración en la calidad de la imagen .....	50
6.1.2. Efecto de carga .....	52
6.1.3. Distancia de trabajo (WD) .....	53
6.1.4. Diámetro de la apertura de la lente objetivo (LO) .....	54
6.1.5. Astigmatismo .....	55
<b>7. Interacción del haz primario de electrones con la muestra .....</b>	<b>57</b>
7.1. Electrones secundarios (SE) .....	60
7.2. Rayos X característicos .....	61
7.2.1. Nomenclatura .....	62
7.3. Electrones Auger .....	64
7.4. Fluorescencia secundaria .....	65
7.5. Electrones retrodispersados (BSE) .....	65
7.6. Radiación <i>bremsstrahlung</i> .....	66
<b>8. Microanálisis químico (EPMA) .....</b>	<b>67</b>
8.1 Microanálisis químico por EDS .....	68
8.1.1. Componentes del EDS .....	68
8.1.2. Análisis cualitativo por EDS .....	69

8.1.3. Problemas y artefactos en el microanálisis químico por EDS .....	70
8.1.3.A. Geometría incorrecta de la muestra .....	70
8.1.3.B. Resolución espacial .....	71
8.1.3.C. Artefactos: picos de escape, picos de suma y tiempo muerto excesivo .....	71
8.1.4. Análisis cuantitativo por EDS .....	73
8.1.5. Comparación entre la técnica de microanálisis EDS y WDS .....	75
8.1.6. Preparación de muestras para microanálisis químico por EPMA .....	77
<b>9. Procesamiento de muestras para su observación en el MEB .....</b>	<b>79</b>
9.1 Selección del material conductor .....	79
9.2 Esquema ordinario de preparación de especímenes .....	82
9.3 Esquema general de procesamiento de especímenes biológicos .....	83
9.4 Secado a punto crítico .....	84
9.5 Preparación de muestras metálicas .....	84
9.5.1 Preparación de muestras con productos de corrosión ó fracturas .....	85
9.5.2 Limpieza de superficies de fractura .....	86
9.6 Preparación de réplicas .....	86
<b>10. Microscopio electrónico de barrido de bajo vacío (MEB-LV) .....</b>	<b>87</b>
<b>11. Glosario .....</b>	<b>91</b>
<b>12. Bibliografía .....</b>	<b>95</b>
<b>13. Referencias en Internet .....</b>	<b>97</b>



# 1. Introducción

El área de la Microscopia electrónica incluye básicamente dos tipos de microscopios electrónicos (**Figura 1**): El Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) y el Microscopio Electrónico de Transmisión (MET); este trabajo trata especialmente de los principios teóricos básicos del MEB. Este instrumento surge de la necesidad de observar detalles muy pequeños o partículas sólidas que no son posibles de resolver con la longitud de onda de la luz visible (380 nm a 750 nm). El MEB usa, como radiación a los electrones acelerados con una  $\lambda$  de alrededor de 2800 veces menor que la de la luz, lo que permite obtener resoluciones de entre 3 nm y 4 nm.

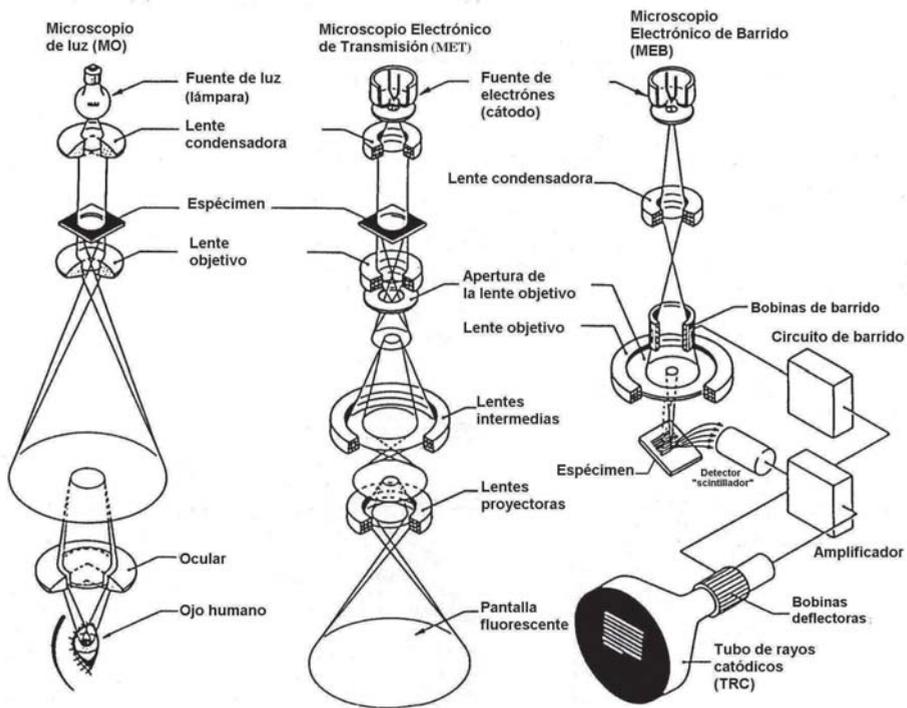
Una comparación general entre los microscopios de luz (MO), transmisión (MET) y barrido (MEB) [**Figura 1**] revela algunas semejanzas y diferencias entre ellos.

Para comenzar, en la parte superior de la **Figura 1** se observa que todos tienen una fuente de iluminación que al calentarse emite luz (MO) o electrones (MET y MEB); siguen las lentes condensadora y objetivo, que en el caso del MO son de vidrio y en el de los microscopios electrónicos son campos magnéticos de forma convergente llamadas lentes electromagnéticas.

La lente condensadora, tanto en el MO como en el MET, colima el haz de iluminación, el cual pasa a través de una muestra delgada; y la lente objetivo forma la imagen del espécimen sobre el ocular del MO o sobre la pantalla fluorescente del MET. En contraste, en el MEB, las lentes condensadora y objetivo disminuyen el diámetro del haz de electrones (entre 4 nm y 200 nm) que se produjo en el filamento.

Asimismo, la lente objetivo se encarga de enfocar este haz disminuido ( punta ) sobre la superficie del espécimen (**Figura 1**); de tal manera, esta lente no forma la imagen del material en estudio.

Finalmente, el haz barre la superficie de la muestra, lo cual produce varias señales; la de electrones secundarios, después de ser colectada, se convierte en una señal eléctrica, que se amplifica y sirve para alimentar el tubo de rayos catódicos (TRC). Esta señal, en el TRC se usa para controlar la brillantez del punto correspondiente. Así, la señal emitida por la superficie del espécimen es mostrada en la pantalla del monitor como una imagen.



**Figura 1.** Comparación entre los microscopios de luz, electrónicos de transmisión y de barrido. En el MO las lentes son de vidrio, mientras que en el MET y en el MEB son electromagnéticas; además en los dos primeros, la lente objetivo forma la imagen del espécimen; en cambio, en el MEB esta lente disminuye y enfoca el haz de electrones sobre la superficie de la muestra.

## 2. Breve historia

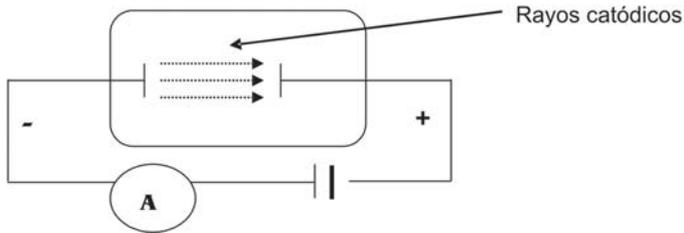
### La Microscopía Electrónica

La historia de la Microscopía electrónica está llena de información con la que podría escribirse un libro completo, la que se presenta a continuación es sólo un breve resumen de ella.

La Microscopía electrónica surge del descubrimiento en 1897 de los rayos catódicos, nombre con que eran conocidos inicialmente los electrones. Este hallazgo se da a partir de investigaciones previas.

En 1853, un científico francés llamado Mason envió por primera vez una chispa eléctrica, mediante una bobina de inducción de alto voltaje a través de un recipiente de vidrio donde se había hecho previamente un vacío parcial y advirtió que en lugar de una descarga eléctrica se observaba un resplandor.

Más adelante, Heinrich Geissler, un soplador de vidrio alemán, perfeccionó estos tubos de vidrio y fabricó unos de descarga en gases (**Figura 2**), que atrajeron la atención de muchos físicos que compraron esos recipientes conocidos como *tubos de Geissler*.



**Figura 2.** Esquema de un tubo de descarga en gas, o de *Geissler*, en el cual se muestra la propagación de los rayos catódicos en línea recta hacia el ánodo (A), bobina de inducción conectada a una batería.

En 1869, Johann Wilhelm Hittorf hizo algunas observaciones en estos tubos de Geissler cerrados con electrodos en su interior (**Figura 2**). Observó que, a medida que se iba haciendo el vacío, se notaban resplandores en forma de cintas entre los electrodos, después resplandores de color rosa, luego azules, hasta que finalmente a una presión de  $1 \times 10^{-3}$  mm de Hg apareció en todo el tubo una luz verdosa. El resplandor verdoso emanaba del cátodo y se dirigía hacia el ánodo. Por lo que el físico alemán Eugen Goldstein les denominó rayos catódicos.

Después, en 1895, el físico francés Jean-Baptiste Perrin descubrió que los rayos catódicos sufrían desviaciones en presencia de campos magnéticos. Y en 1897, J.J. Thomson obtuvo evidencia de que la carga de esas partículas era la misma que la de un ión de hidrógeno y recibió el *Premio Nobel* como consecuencia de sus estudios.

En conclusión, estos experimentos ponen de manifiesto que los rayos catódicos, a los que se les renombra como electrones, estaban formados por partículas materiales de tamaño infinitamente pequeño, que poseían masa y carga eléctrica, y no eran lo que al principio se creía, sólo un haz luminoso parecido a la luz.

En 1923, Luis De Broglie sugirió que los electrones tienen asociada una longitud de onda y una frecuencia, por lo tanto podían ser usados como una radiación, con la ventaja de que un haz de electrones acelerados tiene una longitud de onda mucho menor en comparación con la de la luz.

Si se podía usar a los electrones como radiación, había que encontrar una lente para ellos. Como se mencionó, Jean-Baptiste Perrin ya había descubierto que un campo magnético podía desviar a los electrones. Así, investigaciones de Hans Buch en 1927 le permitieron descubrir que el efecto que tiene un campo magnético (generado por una bobina) sobre un haz de electrones acelerados puede ser descrito por las leyes que explican la acción que tienen las lentes de vidrio sobre los rayos de luz.

Entre 1927 y 1928, Denis Gabor encajonó bobinas o solenoides dentro de una cubierta de hierro dulce para diseñar la primer lente electromagnética. Pero él no entendía su funcionamiento, de tal forma que Max Knoll y Erns Ruska fueron los que más adelante construyeron y probaron la primer lente de este tipo.

Y fue en 1931 que Erns Ruska, físico alemán, construyó el primer Microscopio Electrónico de Transmisión (MET); en 1986, fue galardonado con el *Premio Nobel de Física* por su gran aportación. Entonces, el primer microscopio electrónico construido fue el de transmisión y después surgió el de barrido.

En 1938, Manfred von Ardenne adicionó bobinas de barrido a un MET y desarrolló el primer STEM (Scanning Transmission Electron Microscope). La primera micrografía por STEM fue de un cristal de ZnO tomada a un voltaje de 23 Kv, aumento de 8,000x y con una resolución espacial de entre 50 y 100 nm.

En 1942, tres norteamericanos, Zworikin, Hiller y Snijder, sentaron las bases para construir un microscopio electrónico de barrido (MEB) que trabajaba con lentes electrostáticas. Ellos reconocieron que los electrones secundarios son los responsables del contraste topográfico de las imágenes. Entonces, construyeron y adicionaron un colector de electrones conectado a un potencial de 50V al MEB y lo acoplaron a un tubo multiplicador (preamplificador); después, la señal era mandada finalmente al tubo de rayos catódicos (TRC) o monitor de TV. Ellos usaron como fuente un filamento de emisión termoiónica de tungsteno. Sin embargo, no lograron comercializar el MEB pues sobrevino la Segunda Guerra Mundial.

En 1948 Charles W. Oatley y McMullan, en la Universidad de Cambridge, Inglaterra, construyen el primer MEB, que para 1952 tiene una resolución de 50 nm.

No obstante, antes de la comercialización del MEB se dieron otros avances. En 1960, Everhart y Thornley desarrollaron y adicionaron al MEB el detector de electrones secundarios conocido también como *scintillador* o detector de Everhart y Thornley. En 1963, Pease construyó un prototipo de MEB con tres lentes electromagnéticas y el detector de Everhart y Thornley.

Y fue hasta 1965 que la compañía *Cambridge Scientific Instruments* comercializó el primer MEB, que tenía una resolución de 20 nm.

Más adelante se dieron otros avances, principalmente relacionados con la mejoría de la resolución del MEB.

En 1965, Broers desarrolló el filamento de  $\text{LaB}_6$ , que proporciona una mayor brillantez y, por lo tanto, una muy buena calidad de imagen en alta resolución. Después, en 1970, Crewe y Wall desarrollaron el cátodo de emisión de campo, que logra resoluciones en el MEB desde 0.5 nm hasta 0.1 nm. Y, a partir de 1972, se inicia el procesamiento digital de imágenes (Goldstein, *et al.*, 1984).

Adjunto al MEB frecuentemente se encuentra acoplado un equipo de microanálisis por rayos X característicos (EPMA). El cual tiene su desarrollo histórico por separado.

### ***Análisis químico por EPMA (Electron Probe Microanalysis)***

EPMA es una técnica que se basa en la medición de rayos X característicos emitidos de una zona microscópica en un espécimen sólido, después de haber sido bombardeada por un haz de electrones. Cuando los rayos X se cuantifican por su longitud de onda la técnica se

conoce como espectrometría por dispersión de longitud de onda de rayos  $X$  (WDS) y cuando éstos se cuantifican por su energía se denomina espectrometría por dispersión de energía de rayos  $X$  (EDS).

El desarrollo de la técnica de microanálisis químico por EPMA surge con el descubrimiento de los rayos  $X$  característicos, debido a estudios de espectros de fluorescencia que realiza Barkla y Sadler en 1909 y en base a investigaciones de Kaye (1909), quien bombardea con electrones elementos químicos puros, con el fin de producir sus espectros de longitud de onda de rayos  $X$ , utilizando filtros para discriminar las longitudes de onda.

En 1913 Bragg y Bragg desarrollan cristales de difracción de rayos  $X$ , que formarán más tarde parte del espectrómetro de dispersión de longitud de onda de rayos  $X$  (WDS).

Siguen las investigaciones con los rayos  $X$  pero ahora utilizando cristales de difracción para discriminar sus diferentes longitudes de onda. Así entre 1913-1914, Moseley establece que existe una relación entre la longitud de onda de un rayo  $X$  y el número atómico del elemento químico, conocida como Ley de Moseley .

Después en 1947, Hillier describe por primera vez el principio de análisis químico EPMA como la cuantificación de rayos  $X$  característicos emitidos por una zona microscópica en un espécimen sólido, después de que ha sido bombardeada por un haz de electrones enfocado.

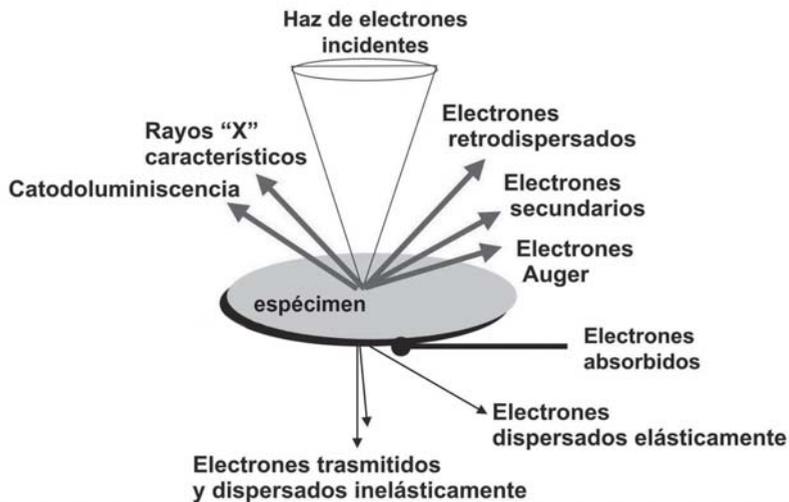
Entre 1948 y 1949, R. Castaing retoma el desarrollo de ésta técnica de EPMA en su tesis doctoral y demuestra que un haz de electrones enfocado puede utilizarse para irradiar la superficie de una muestra y producir rayos  $X$ .

En 1960, la compañía Cameca comercializa en Francia un instrumento llamado *Microscan* que consistía en un instrumento con cristales de difracción que cuantificaba los rayos  $X$  característicos por su longitud de onda, contaba con un haz de electrones que podía barrer la superficie de la muestra, proporcionando la distribución de un elemento químico en ella. Más adelante otras compañías, construyen otros aparatos de este tipo. Entonces la técnica conocida actualmente como microsonda o WDS surge antes que la técnica EDS.

La evolución de la técnica de microanálisis por EDS, inicia en 1968, cuando Fitzgerald, Keil y Heinrich desarrollan un detector de estado sólido (un semiconductor) de Si-Li que permite detectar a los rayos  $X$  por su energía. Este detector estaba separado del vacío del MEB por medio de una ventana de berilio; sin embargo, ésta absorbía la energía de los rayos  $X$  de elementos ligeros como el C, N, y el O, por lo que no era posible detectarlos. En los dos años siguientes (Reed,1993), se desarrollaron detectores con ventana removible o con ventana *ultra-thin windows* que permitieron analizar elementos ligeros.

### **3. ¿Qué es un Microscopio Electrónico de Barrido?**

El Microscopio Electrónico de Barrido convencional (MEB) es un instrumento cuyo funcionamiento se basa en el barrido de la superficie de un espécimen (**Figura 3**), por medio de un haz de electrones cuyo diámetro es disminuido (entre 4 nm y 200 nm), por lentes electromagnéticas formadas por el paso de corriente a través de solenoides (bobinas). Después de que el haz de electrones interacciona con la muestra, se generan varios tipos de señales (**Figura 3**), las cuales son colectadas por un detector específico para cada una de ellas. Finalmente, se produce una imagen en el monitor de TV que puede ser almacenada en una placa fotográfica o digitalmente.



**Figura 3.** En la interacción de los electrones del haz primario con el espécimen, unos generan varios tipos de señales (electrones secundarios, retrodispersados, Auger, rayos X, catodoluminiscencia, etc); mientras que otros electrones son absorbidos, transmitidos y difractados (éstos dos últimos se usan en el MET).



## **4. Ventajas del Microscopio Electrónico de Barrido**

### **4.1. Aumentos**

El MEB puede proporcionar aumentos bajos de la superficie de un material (**Tablas 1 y 2**), similares a los que podrían ser observados en un MO, lo cual ayuda a simplificar la interpretación de imágenes.

**Tabla 1.** Límites de resolución y aumentos del MEB convencional, el MET y MO .

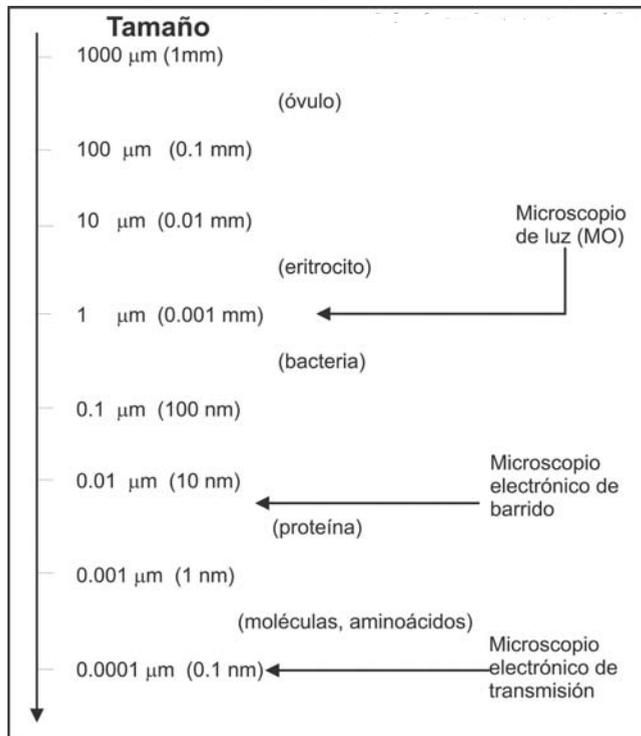
<b>Microscopio</b>	<b>Resolución (nm)</b>	<b>Aumento mínimo y máximo</b>
Microscopio electrónico de barrido (MEB) convencional	3-4	10 X - 300,000 X
Microscopio electrónico de transmisión (MET)	0.15-0.4	50 X - $4 \times 10^6$ X
Microscopio de luz (MO)	100-200	10 X - 2000 X

## 4.2. Resolución

La resolución o límite de resolución se define como la distancia mínima que separa dos puntos en un objeto y que pueden observarse en la imagen como dos puntos separados. Al comparar los límites de resolución del MEB y del MO (Tabla 1 y 2), se advierte que el MEB tiene la ventaja de permitir observar estructuras dentro del rango y mucho más pequeñas que el MO.

### *¿Qué podemos observar?*

Tabla 2. Límite de resolución de los microscopios de luz y electrónicos.



El límite de resolución depende de los siguientes parámetros:

### ***La longitud de onda ( $\lambda$ )***

La relación entre la longitud de onda promedio del haz de electrones y la resolución del MEB se explica mejor con base en la ecuación de Abbe (Ec.1); mientras, el valor en el numerador ( $\lambda$ ) sea más pequeño, el valor de la resolución (**R**) será menor; es decir, el MEB tendrá una mayor resolución e indicará que el instrumento óptico tendrá una mayor capacidad para revelar estructuras más pequeñas en la superficie del espécimen.

Ec. de Abbe

(Ec.1)

**R**= resolución

$\lambda$ = longitud de onda de la radiación utilizada

**K**= cte. (MO= 0.96)

**n**= índice de refracción del medio

$\alpha$ = apertura numérica

$$R = K \frac{\lambda}{n \sin \alpha}$$

### ***Voltaje de aceleración***

Por medio de la ecuación de De Broglie (Ec.2), se puede inferir que longitudes de onda menores se obtienen al incrementar la velocidad con que son acelerados los electrones (voltaje de aceleración) dentro de la columna electrón-óptica. Es decir, a mayores voltajes de aceleración, la longitud de onda de los electrones es menor e incrementa la resolución.

Mayor voltaje de aceleración → Menor longitud de onda → Mejor resolución

Ec. De Broglie

$$\lambda = \frac{h}{mv} \quad (\text{Ec. 2})$$

$\lambda$  = longitud de onda de la radiación ( $e^-$ )

$h$  = cte. De Planck ( $6.66 \times 10^{-24}$  Js)

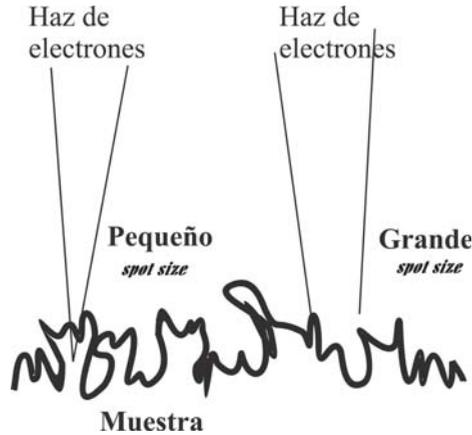
$m$  = masa del electrón ( $9.11 \times 10^{-31}$  Kg)

$v$  = velocidad del haz de electrones

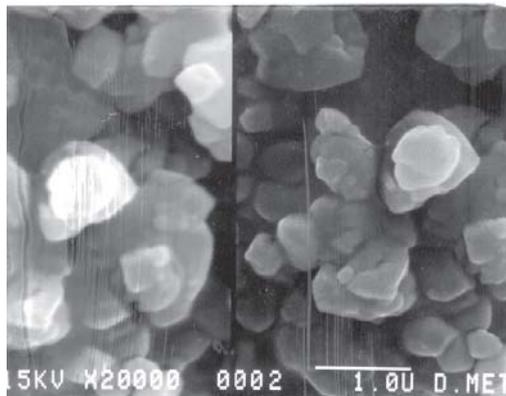
### ***Spot size***

El diámetro de la punta del haz o *spot size* influye en la resolución y depende de la capacidad que tenga el sistema óptico-electromagnético (lentes) para disminuir el diámetro del haz. Como se observa en la **Figura 4**, entre más pequeño sea el diámetro de la punta del haz con la que se barre la superficie de la muestra, éste tendrá mayor sensibilidad para detectar todos sus rasgos topográficos. En la **Figura 5** se percibe la diferencia entre usar un diámetro de haz pequeño y uno más grande por medio de la variación de la corriente en la lente condensadora; se observa que la imagen obtenida con menor diámetro tiene una mejor resolución.

La desventaja de usar un *spot size* pequeño es que habrá pocos electrones del haz primario que interaccionen con la muestra, y la señal de electrones secundarios o retrodispersados que salgan de la muestra para formar la imagen también serán pocos. Así, es necesario encontrar un balance adecuado entre el diámetro del haz y la corriente que se necesite; es decir, si lo que se quiere es resolución, será mejor usar un *spot size* pequeño, pero si lo que se necesita es mayor corriente en el haz (ej. para microanálisis químico), entonces será necesario usar un *spot size* grande ó un mayor voltaje de aceleración.



**Figura 4.** Un diámetro del haz de electrones (*spot size*) pequeño resuelve más detalles estructurales de la superficie de la muestra que un haz con un *spot size* grande.



**Figura 5.** Imágenes con diferente diámetro de haz (*spot size*), obtenidas al variar la corriente de la lente condensadora (LC). (A) Un haz con diámetro grande conseguido con una menor potencia de la lente condensadora (LC= 5.5), resuelve menos detalle (B) Un *spot size* pequeño obtenido con una mayor fuerza en la lente (LC= 9) muestra mayor resolución. Barra= 1  $\mu\text{m}$ , aumento= 20,000 X, voltaje= 15 Kv.

### ***4.3. Profundidad de campo***

La profundidad de campo es la distancia entre dos planos en relación con el objeto que pueden observarse en foco en el plano imagen; define la capacidad que tiene el microscopio para mostrar imágenes en foco de estructuras en un objeto a diferentes niveles de profundidad. Con el MEB se pueden obtener grandes profundidades de campo en comparación con el MO; por ejemplo, a 1000 X en el primero, la profundidad de campo es de 30  $\mu\text{m}$ , mientras que en el MO es de 0.1  $\mu\text{m}$ . Esta característica es la que le da aspecto tridimensional a las imágenes obtenidas con el MEB.

## 5. Principales Componentes del MEB

### 5.1. La Columna Electrón-óptica

La columna electrón-óptica está compuesta por: 1) el cañón, 2) las lentes electromagnéticas y 3) la cámara del espécimen (Figura 6).

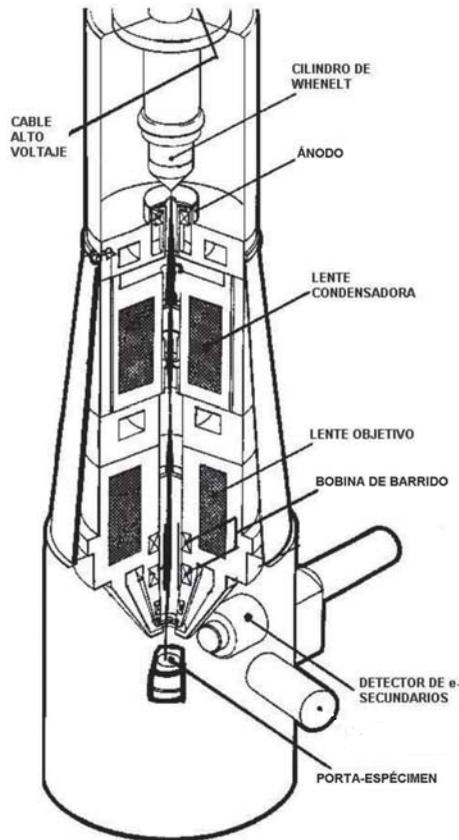
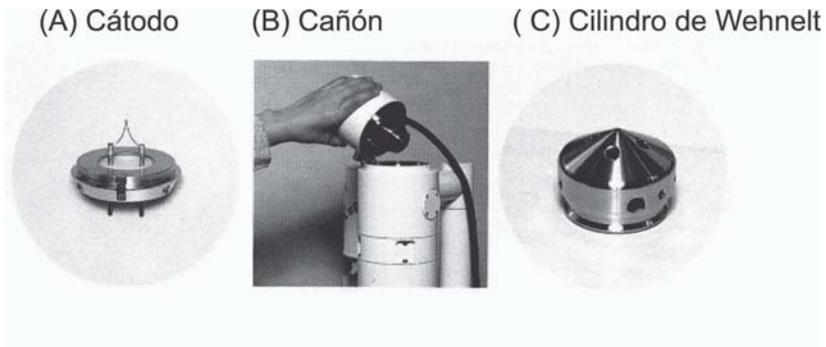


Figura 6. Componentes de la columna electrón-óptica del MEB convencional.

### 5.1.1 Cañon

El cañon está constituido por tres partes (**Figura 7**): El cátodo (-) o fuente de electrones del haz primario, el cilindro de Wehnelt, y el ánodo (+). Estos dos últimos son cilindros con un pequeño orificio por donde pasa el haz de electrones emitido por el filamento hacia las lentes electromagnéticas.



**Figura 7.** Constituyentes del cañon: (A) cátodo, consiste de un filamento con una punta en forma de V ; (B) localización del cilindro de Wehnelt, el cual, cubre al filamento, (C) cilindro de Wehnelt presenta un hueco en la punta, por donde pasan los electrones que salen del filamento

### 5.1.1.A Tipos de cátodo

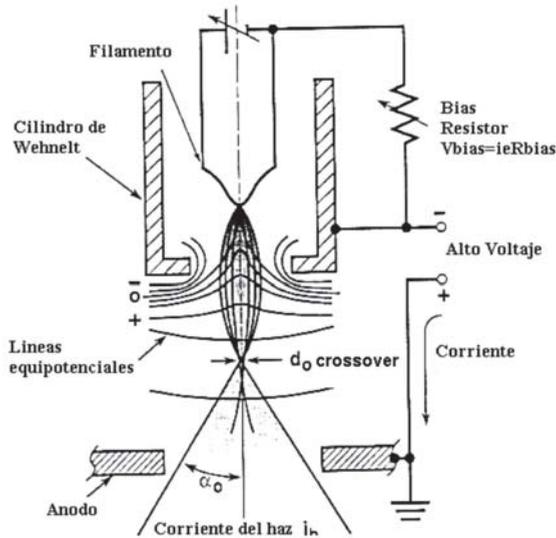
Las fuentes de electrones que se utilizan actualmente en microscopía electrónica de barrido son: El filamento de tungsteno (W), el filamento de hexaboruro de lantano ( $\text{LaB}_6$ ) y el cátodo de emisión de campo; algunas de sus características se presentan en la **Tabla 3**.

**Tabla 3.** Características generales de fuentes de electrones más comúnmente utilizadas en MEB. Recopilado de Goldstein, *et al.* (1992).

Filamento	Diámetro de la fuente (Crossover)	Corriente - del haz	Duración	Vacío requerido
1. Tungsteno (W)	50 $\mu\text{m}$	1.75 $\text{A}/\text{cm}^2$	40 a 80 hrs.	$10^{-6}$ Torr
2. Hexaboruro de lantano ( $\text{LaB}_6$ )	10 $\mu\text{m}$	65 $\text{A}/\text{cm}^2$	>1000 hrs.	$10^{-10}$ Torr
3. Emisión de campo (W)	10 nm	1000 a $10^6$ $\text{A}/\text{cm}^2$	>3 años.	$10^{-11}$ Torr

### Filamento de tungsteno (W)

Es un alambre de aproximadamente 0.01 cm de diámetro con una punta en forma de V (Figura 7A) de 100  $\mu\text{m}$  de diámetro, cubierto por el cilindro de Wehnelt (Figura 7C), el cual tiene un orificio en la punta por donde cruzarán los electrones. Éstos son emitidos del filamento (Figura 8) por un proceso llamado *emisión termoiónica*, es decir, es calentado a aproximadamente 2700 °C (4,530 °F) dentro del cañón en alto vacío, por lo cual emite electrones que forman una nube alrededor de la punta del filamento y son atraídos por el ánodo (Figura 8) mantenido a un voltaje positivo (de 5Kv a 30 Kv) respecto al cátodo (sección 5.1.2). A esta diferencia de potencial entre el cátodo y el ánodo se le conoce como voltaje de aceleración (el MEB trabaja comúnmente con voltajes desde 0.5 Kv hasta 30 Kv). El diámetro del crossover (sección 5.1.2) que produce este filamento es de 50  $\mu\text{m}$  (Tabla 3). Debido al calentamiento del filamento, su diámetro disminuye con el tiempo debido a la evaporación del tungsteno, y su período de vida varía desde 40 hasta 80 hrs (Tabla 3), con una corriente de emisión de 1.75 A/cm<sup>2</sup> que trabaja en un vacío de 10<sup>-5</sup> torr.



**Figura 8.** Diagrama del cañón, constituido por el filamento, cilindro de Wehnelt y el ánodo. Entre el cilindro de Wehnelt y el ánodo se observan líneas equipotenciales correspondientes a la lente electrostática. (Goldstein *et al.*, 1984).

### *Filamento de $\text{LaB}_6$*

Consiste en un cilindro (Figura 9) cuyo ápice es laminado hasta formar una punta de unos pocos micrómetros ( $\approx 15 \pm 2 \mu\text{m}$ ). Está compuesto por átomos de lantano contenidos dentro de una red formada por átomos de boro. Este filamento produce una densidad de corriente igual a la del filamento de tungsteno a una temperatura menor ( $\approx 1227^\circ\text{C}$ ), lo que permite que el rango de evaporación del filamento sea menor y se prolongue su tiempo de vida. Sin embargo, tiene la desventaja de ser extremadamente reactivo químicamente cuando se calienta y tiende a formar compuestos con todos los elementos (excepto carbón y rhenio) dejando de ser un buen emisor. Por lo tanto, cuando se trabaja con filamento de  $\text{LaB}_6$ , es recomendable hacerlo con bomba turbomolecular para lograr un vacío más eficiente ( $10^{-10}$  torr) que el que proporciona la bomba difusora ( $10^{-6}$  torr).

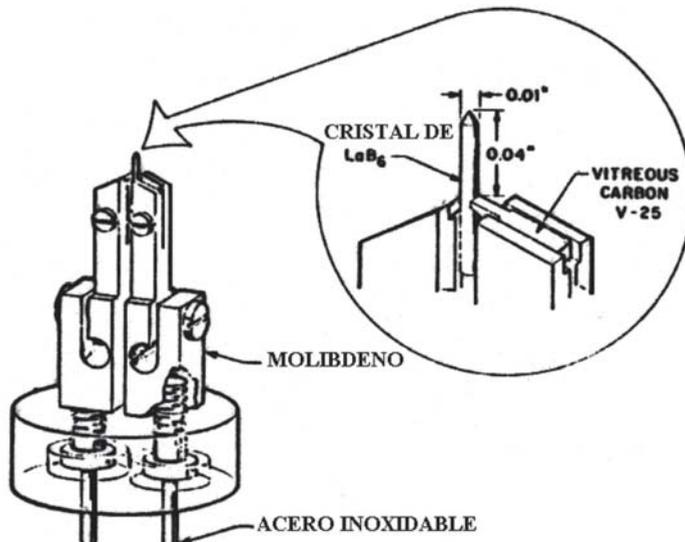
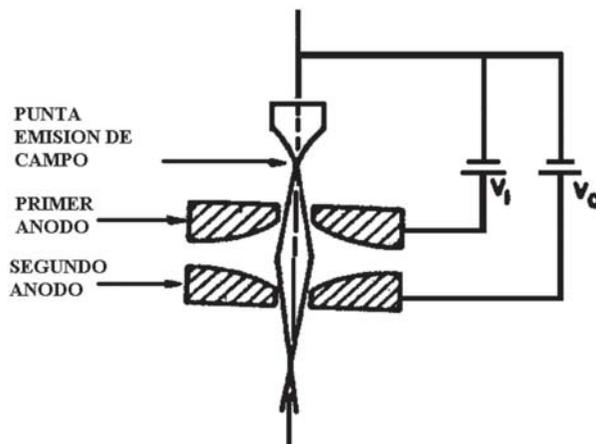


Figura 9. Esquema del filamento de hexaboruro de lantano ( $\text{LaB}_6$ ). (Goldstein et al, 1984).

### Cátodo de emisión de campo

El cátodo de emisión de campo, o también llamado cátodo frío, es comúnmente de tungsteno y tiene forma de rodillo (**Figura 10**) con una punta fina en uno de sus extremos (típicamente de 100 nm de diámetro o menos). La emisión de electrones en este caso no es por efecto termoiónico como en los mencionados anteriormente, sino por un proceso conocido como de emisión de campo. Los electrones son extraídos del cátodo por acción de dos placas que funcionan como ánodos (**Figura 10**), es decir, cuando el cátodo es conectado a un potencial negativo relativo al ánodo, el campo eléctrico en la punta del filamento es tan fuerte que se reduce la barrera que evita que los electrones salgan de la punta y, como resultado, los electrones pueden saltar (*efecto tunnel*) y salir del cátodo, sin necesidad de energía térmica para sacar electrones de él. Sin embargo, este filamento requiere trabajar a un vacío mayor (**Tabla 3**) que el del de tungsteno y  $\text{LaB}_6$  ( $10^{-9}$  Pa. o mejor que esto), pues la presencia de pocas moléculas de gas causan que la corriente emitida sea inestable; eventualmente el cátodo debe limpiarse calentándolo a altas temperaturas (2000 °C) por unos pocos segundos.

Este tipo de fuente de electrones produce un punta de haz (crossover) después de pasar por el ánodo con un diámetro mucho menor (10 nm) que el generado por los filamentos de  $\text{LaB}_6$  (10  $\mu\text{m}$ ) y tungsteno (50  $\mu\text{m}$ ), logrando obtener alta resolución con este tipo de filamento. Sin embargo, debido al tamaño tan pequeño del haz, pueden generarse problemas de aberraciones ópticas.



**Figura10.** Esquema de la estructura del cátodo de emisión de campo. (Goldstein *et al.*, 1984).

### 5.1.2 Lentes electrostática y electromagnéticas

En la columna electrón-óptica del MEB existen dos tipos de lentes: (A) la lente electrostática generada en el cañón (**Figura 8**), y (B) las lentes electromagnéticas en la columna electrón-óptica (**Figuras 6 y 11**).

#### 5.1.2.A Lente electrostática y el crossover

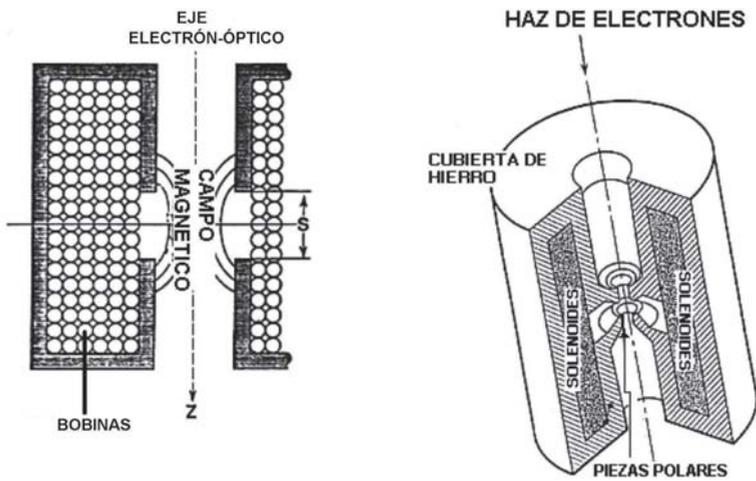
La lente electrostática se forma por efecto de diferencias de potencial entre el filamento, cilindro de Wehnelt y el ánodo. El haz de electrones al pasar a través de las líneas equipotenciales de este campo electrostático (**Figura 8**) se comporta como la luz al pasar por un medio de menor a uno de mayor índice de refracción, convergiendo en un punto denominado *crossover* (**Figura 8**), definido como la primer imagen de la nube de electrones formada en la punta del filamento.

El diámetro de este *crossover*  $d_0$  depende principalmente del material del que esté hecho el filamento (**Tabla 3**); por ejemplo, el filamento de tungsteno produce el *crossover* con diámetro más grande (50  $\mu\text{m}$ ), comparado con los producidos por el filamento de  $\text{LaB}_6$  o de emisión de campo (**Tabla.3**). Entre más pequeño sea el diámetro del *crossover* más pequeña será la “punta” del haz (*spot size*) con la que se barrerá al espécimen, y mayor será la resolución del equipo (**Figura 4**), debido a que el diámetro final del *spot size* será el que se obtenga después de la reducción del diámetro del *crossover* por la lente condensadora y objetivo.

#### 5.1.2.B Lentes electromagnéticas

Las lentes electromagnéticas consisten de bobinas (**Figura 11**) o solenoides enrollados por las que se hace pasar una corriente eléctrica generándose un campo magnético. Están rodeadas por una cubierta de hierro dulce con un pequeño hueco en su interior que las conecta con dos piezas de hierro denominadas piezas polares (**Figura 11**) que concentran el flujo magnético.

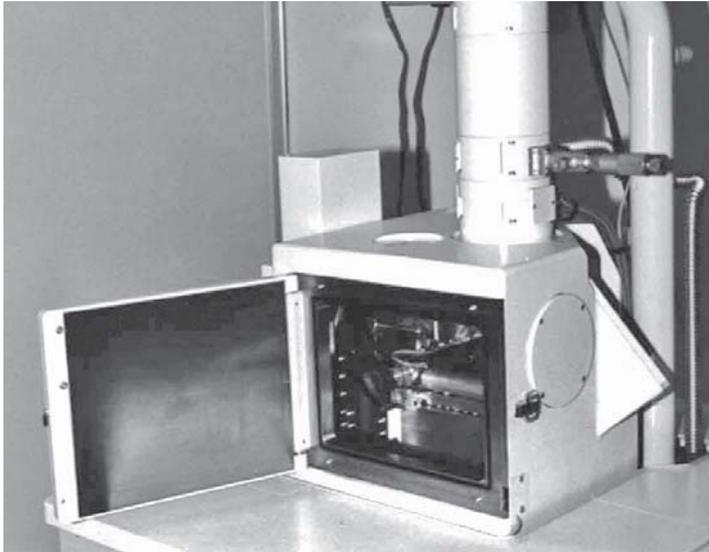
En el MEB las lentes electromagnéticas comprenden la lente condensadora y la lente objetivo, son usadas para disminuir el diámetro del haz primario de electrones (10-50  $\mu\text{m}$ ) denominado *crossover* (**Figura 8**) generado en el cañón; hasta una *punta* muy fina (*spot size*) de entre 5 y 200 nm con la que es barrida la superficie del espécimen. Un aspecto importante es que, cuando se incrementa la corriente de las lentes condensadora y objetivo, puede llegarse a la saturación magnética de las partes de hierro de las piezas polares de las lentes. Por ejemplo, generalmente es necesario resetear la lente condensadora después de un cambio de corriente para eliminar el magnetismo residual conocido como *histéresis*.



**Figura 11.** Corte transversal de una lente electromagnética. Del lado izquierdo se muestra la distribución de los solenoides o bobinas a lo largo de la lente, la dirección de las líneas del campo magnético y de los electrones primarios paralelos al eje electrón-óptico. Del lado derecho, una sección con aspecto tridimensional muestra la cubierta de hierro dulce que evita que el campo magnético se disperse y las piezas polares en el centro que concentran el campo magnético (Goldstein, *et al.*, 1984).

### 5.1.3 Cámara del espécimen

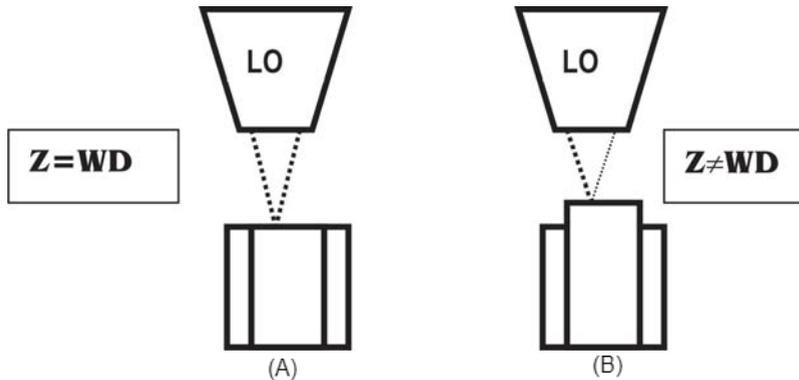
Comprende la plataforma donde se coloca el porta-espécimen y su tamaño varía de acuerdo con el microscopio (**Figura 12**). El tamaño de la muestra que puede introducirse puede ser tan pequeña como de unos cuantos milímetros hasta de un poco más de 12 cm, dependiendo del microscopio.



**Figura 12.** Cámara del espécimen.

La plataforma donde se coloca el porta-muestra puede rotar, inclinarse o moverse en los ejes  $X$ ,  $Y$  y  $Z$ . El parámetro  $Z$ , es la distancia de base de la lente objetivo a la superficie del porta-muestra (**Figura 13**), término que es importante distinguir del denominado *distancia de trabajo*, cuyas siglas en inglés son  $WD$ , que consiste en la distancia de la base de la lente objetivo a la superficie de la muestra (donde el haz de electrones es enfocado por la lente objetivo).

A veces  $Z=WD$  (Figura 13 A), pero a menudo  $Z\neq WD$  (Figura 13 B), esto ocurre porque la muestra es más alta o más baja que el porta-muestra, lo cual es importante tener en cuenta sobre todo si el microscopio trabaja con WD variable, debido a que en este tipo de equipos, cuando se enfoca la imagen, tanto la punta del haz de electrones primarios como el porta-muestra se acercan o alejan de la lente objetivo. Por lo tanto, es recomendable tener precaución en este aspecto, pues si la muestra es demasiado alta se le puede pegar al detector de electrones retrodispersados o a la lente objetivo en el momento de enfocar.



**Figura 13.** (A) La muestra no rebasa la parte superior del porta-muestra, por lo tanto  $Z=WD$ . (B) La muestra es más alta que el porta-muestra, entonces  $Z\neq WD$ .  $Z$ = distancia de la base de la lente objetivo a la superficie del porta-espécimen,  $WD$ = distancia de la base de la lente objetivo a la superficie del espécimen,  $LO$ = lente objetivo.

La cámara del espécimen está aislada de las vibraciones externas que pueden deteriorar la resolución y en ella se acomodan varios aditamentos que forman parte del sistema de detección y que amplían las aplicaciones del MEB, como son los espectrómetros para microanálisis químico y detectores de electrones secundarios, retrodispersados, Auger, etc.

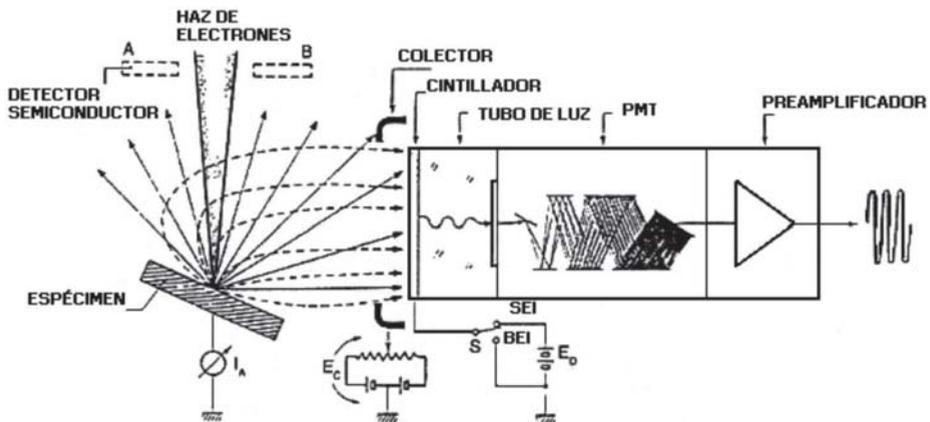
## 5.2 El Sistema de Detección

Este sistema se encarga de coleccionar distintas señales (ej. electrones secundarios, electrones retrodispersados ó *backscattered* (*BSE*), electrones Auger, radiación *bremsstrahlung*, etc) que surgen del espécimen debido a la interacción del haz de electrones con los átomos de la muestra. Estas radiaciones proporcionan diferentes clases de información si se coloca un detector específico para cada una de ellas. Los dos principales tipos de detectores que se utilizan son: 1) el detector *scintillador* [conocido como de Everhart y Thornley (1960)] y 2) el detector de estado sólido.

### 5.2.1 Detector Scintillador o de Everhart y Thornley

Es usado ampliamente para la detección de electrones secundarios y en menor proporción para electrones retrodispersados. Consiste principalmente en una jaula de faraday (colector), *scintillador*, tubo de cristal o cuarzo (*light pipe*), fotomultiplicador y preamplificador (**Figura 14**).

Funcionamiento: Los electrones secundarios (considerados de energía menor a 50 eV) generados en la muestra son atraídos hacia el colector (**Figura 14**), el cual es conectado a un potencial de 200 V que asegura que estos sean atraídos y acelerados hacia el *scintillador* (fluorescente) usualmente compuesto de plástico, vidrio o  $\text{CaF}_2$  con Europium. Entonces, los electrones producen fotones que son conducidos por el tubo de vidrio (*light pipe*) hasta el fotomultiplicador (aislado del vacío del MEB), creándose una cascada de electrones al chocar con los electrodos; por último, la señal es amplificada en el preamplificador y enviada al tubo de rayos catódicos (TRC) produciendo la imagen.



**Figura 14.** Detector de Everhart y Thornley (1960) o *scintillador* para la colección de la señal de electrones secundarios. PMT= fotomultiplicador, SEI= imagen de electrones secundarios, BEI= imagen de electrones retrodispersados. (Catálogo JEOL, No.1501A176).

## 5.2.2 Detector de estado sólido

Es un semiconductor delgado (varios milímetros) y plano. Hay dos: (A) uno es usado para la detección de electrones retrodispersados o backscattered (BSE), y el otro (B) para la colección de la señal característica de rayos  $X$ .

### 5.2.2.A. Detector electrones retrodispersados (BSE)

De unos pocos milímetros de grosor, se localiza generalmente en la parte superior del espécimen (**Figura 15**); comprende un par de semiconductores anulares y uno para imagen *shadow*. Procesa las señales obtenidas y produce tres tipos de imágenes: *topo*, *shadow* y *compo*, que dan información de la topografía y de las propiedades físicas y químicas del espécimen.

La señal de BSE proveniente de diferentes direcciones de la muestra es colectada por dos elementos semiconductores A y B (**Figura 15**) y es transformada en señales eléctricas que son amplificadas por el preamplificador y que alimentan el amplificador el cual adiciona o sustrae las señales de A y B. La adición de señales (A+B) produce una imagen *compo* y la sustracción (A-B) sirve para formar una imagen *topo*. Por último, las señales eléctricas de los elementos A y B son adicionadas a la señal eléctrica de un tercer elemento C para dar la imagen *shadow*.

En una imagen *compo*, los elementos químicos más ligeros se ven más oscuros y los más pesados se ven más brillantes. En *shadow*, la imagen se observa como si la luz fuera proyectada desde el lado derecho del espécimen. En caso de una forma convexa el lado derecho aparece más brillante que el lado oscuro, y en el caso de una forma cóncava el comportamiento es inverso.

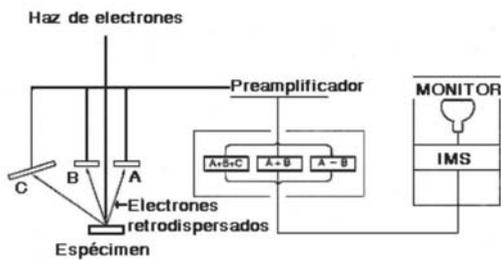
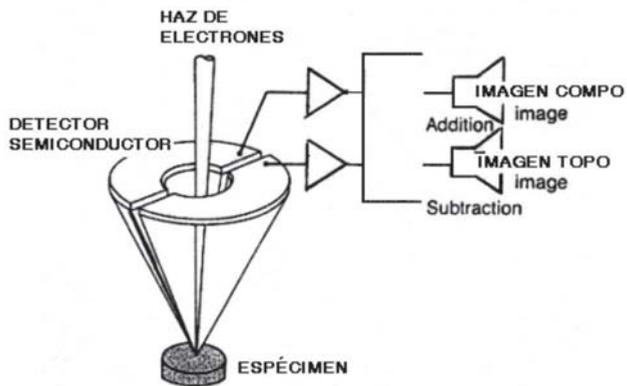


Figura 15. Detector semiconductor para la colección de electrones retrodispersados (BSE). En la parte inferior se muestra un diagrama de las diferentes opciones de procesamiento de la señal. (Catálogo JEOL No.1501A176).

### 5.2.2.B. Detector del espectrómetro por dispersión de energía de rayos X (EDS)

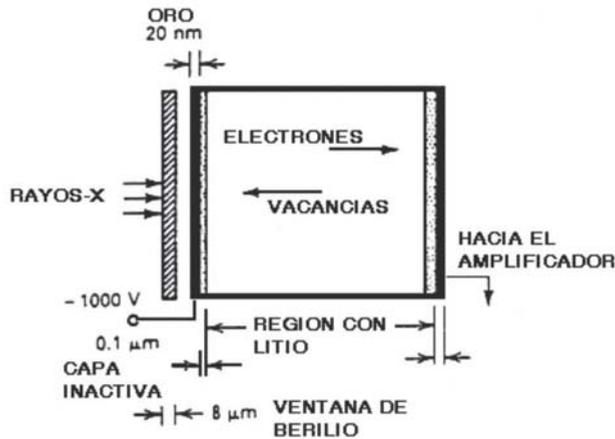
El detector de estado sólido del EDS es un semiconductor compuesto generalmente por un cristal de silicio-litio, el cual, tiene comúnmente un diámetro de 10 mm y un grosor de 3 mm (**Figura 16**). Idealmente, se debería usar un cristal de estructura perfecta y alta pureza; sin embargo, mientras más puro sea un cristal, menos corriente conduce, a diferencia de uno con impurezas. Para compensar la falta de impurezas en el cristal de silicio puro, átomos de litio son difundidos en el cristal, lo que da como resultado un detector de Si(Li). Así, las imperfecciones e impurezas en la estructura cristalina del silicio contribuirán a mejorar la conductividad del cristal y disminuir el ruido o *background* producido por conductividad residual que causa un incremento en la absorción de rayos X .

Este detector está aislado del vacío del MEB por medio de una ventana (**Figura 16**), que anteriormente era de berilio (Goldstein, *et al.*, 1992; Philips, 1995); sin embargo ésta absorbía la energía de los rayos X de elementos ligeros, por lo que los elementos con número atómico  $Z < Na$  no podían ser cuantificados. En la actualidad este detector tiene una ventana transparente a los rayos X , la cual puede ser de dos tipos: *ultra-thin windows (UTW)* o *super ultra-thin windows (SUTV)*. La ventana consiste de una capa evaporada de aluminio o de un polímero delgado, normalmente de alrededor de 0.3 mm de grosor (Philips, 1995); ésta puede permanecer a presiones atmosféricas por lo que la ventilación de la cámara del espécimen no causa problemas.

Con esta clase de ventana es posible detectar elementos ligeros (B, C, N, O y F); sin embargo, la exactitud de su análisis es bajo (5-10%). También existen detectores con ventana removible (*windowless*) que debe ser cerrada cuando se hace el cambio de muestras.

El proceso de detección de los rayos X producidos por la interacción del haz primario de electrones con la muestra comienza cuando un haz de rayos X (Figura 16) entra en el cristal de Si(Li), es absorbido al interactuar con uno de los electrones de los átomos de silicio y produce un fotoelectrón de alta energía, el cual al disipar su energía promueve el movimiento de electrones de la banda de valencia en los átomos de silicio y deja huecos en esta capa. Un promedio de 3.8 a 3.9 eV son disipados en la creación de cada par de huecos de electrones. De tal forma que, el proceso de detección de rayos-x consiste en la medición del número de electrones y pares de huecos creados en el cristal durante la absorción de cada rayo X.

El proceso de movimiento de electrones en la banda de valencia produce calentamiento en el cristal de Si-Li y ruido (a temperatura ambiente cambia su estructura y deja de funcionar); para disminuir esta excitación térmica, el detector es mantenido a temperatura baja, mediante su conexión a un *deward* de nitrógeno líquido.



**Figura 16.** Esquema del detector de rayos X. Los rayos X pasan a través de una delgada ventana y producen pares de huecos dentro del cristal semiconductor. (Philips,1995).

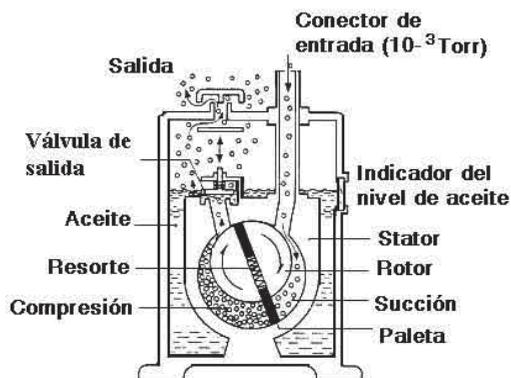
### 5.3. Sistema de Vacío

Las bombas de vacío tienen como función producir el alto vacío necesario para que el haz de electrones no sea desviado por los átomos de gas. Actualmente existen varios tipos de bombas de vacío: la mecánica (RP), la difusora (DP), la turbomolecular (TP) y la iónica (IP) (**Figura 17**). Cada una de ellas trabaja y alcanza diferentes valores de vacío (**Tabla 4**).

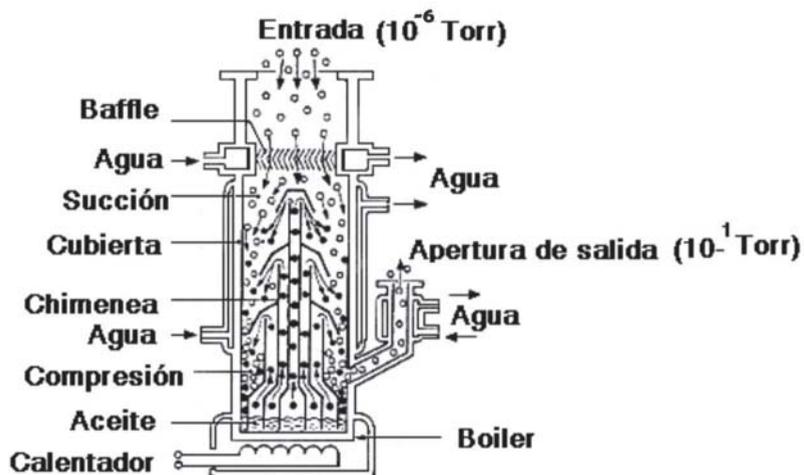
La bomba mecánica o rotatoria efectúa el prevacío (**Tabla 4**) y, al trabajar simultáneamente con la bomba difusora, saca las moléculas de gas que extrae ésta última de la columna para obtener el alto vacío. Sin embargo, la bomba difusora presenta la desventaja de trabajar con aceite, el cual puede contaminar la columna con monocapas de aceite que al interactuar con el haz de electrones contaminan la superficie de la muestra e interfieren en su análisis químico. Por esta razón, la bomba difusora está siendo reemplazada actualmente por la bomba turbomolecular.

Las bombas iónicas, a diferencia de las primeras mencionadas, son limpias, libres de vibraciones; se utilizan para obtener un ultra alto vacío ( $10^{-11}$  torr) requerido comúnmente cuando se utiliza cátodo de emisión de campo o microscopía electrónica de alta resolución.

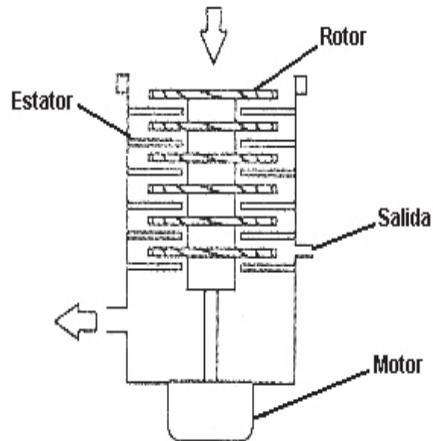
A) Bomba rotatoria



B) Bomba difusora



## C) Bomba Turbomolecular



## D) Bomba iónica

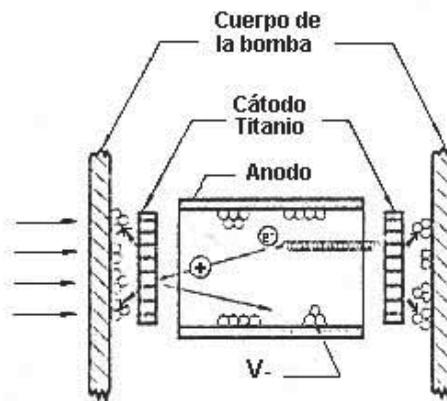


Figura 17. Diagramas de los diferentes tipos de bombas de vacío usualmente utilizadas en el MEB. (A) bomba rotatoria, (B) bomba difusora, (C) bomba turbomolecular, (D) bomba iónica.

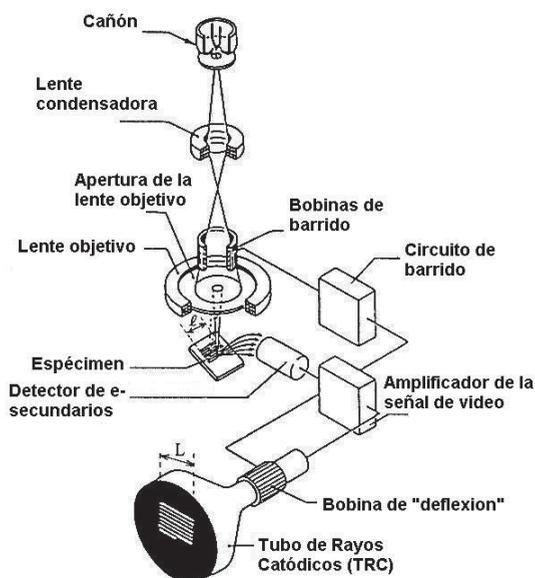
**Tabla 4.** Características de los principales tipos de bombas de vacío utilizados en microscopios electrónicos. Recopilado de <http://www.lesker.com>

Bomba de vacío	Vacío que alcanza
Bomba rotatoria (RP)	$10^{-3}$ Torr
Bomba difusora (DP)	$10^{-6}$ Torr
Bomba turbomolecular (TP)	$10^{-10}$ Torr
Bomba iónica (IP)	$10^{-11}$ Torr



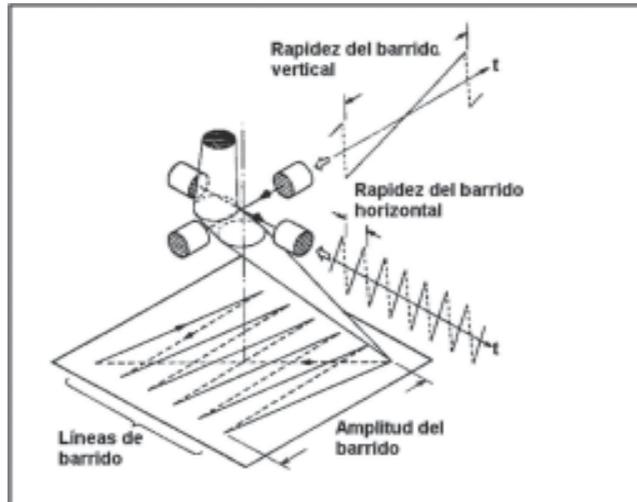
## 6. Formación de la Imagen

El proceso para generar la imagen del espécimen se inicia en el cañón al calentarse el filamento por corriente alterna y emitir un haz de electrones primario (**Figura 18**), que es atraído por el ánodo, el cual es mantenido a un voltaje positivo (entre 5 y 30 Kv) con respecto al filamento. Este haz de electrones con diámetro  $d_0$  (sección 5.1.2A), al seguir su camino a través de la lente condensadora y de la lente objetivo, es reducido a un diámetro final, con el que barrerá la superficie del espécimen.



**Figura 18.** Formación de la imagen del espécimen en el MEB. Los electrones de haz primario, al interactuar con los átomos de la muestra, generan electrones secundarios, los cuales son colectados por el detector de Everhart y Thornley; después éstos, en sincronía con otro haz, barrerán la pantalla del monitor del TRC para modular su contraste y brillantez, lo que producirá la imagen.

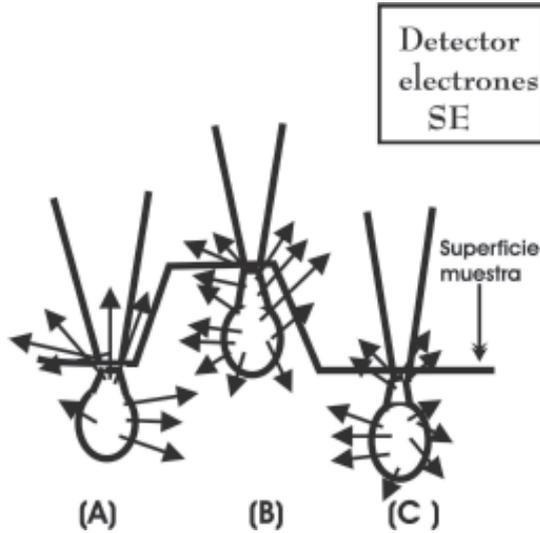
El barrido del haz sobre la superficie de la muestra se realiza a través de bobinas de barrido (**Figura 19**), ubicadas cerca de la lente objetivo, que lo mueven primero de manera horizontal y luego diagonalmente con un movimiento rápido sin tocar la superficie, es decir “volando”, para regresar justo a un punto debajo de donde inició la primera línea de barrido . Así continúa su movimiento barriendo renglones muy cercanos, hasta el último punto de la última línea en el área rectangular elegida por el aumento seleccionado (**Figura 19**).



**Figura 19.** Dos pares de bobinas de barrido mueven el haz de electrones primario sobre el espécimen. Primero, el haz de electrones es movido por las bobinas de barrido horizontal y después, por efecto de ambas bobinas (horizontal y vertical), el haz es movido diagonalmente “sin tocar la muestra”; esto define una línea de barrido.

Al interactuar el haz de electrones primario con los átomos de la muestra, se generan electrones secundarios que, en sincronía con otro haz, barrerán el monitor del tubo de rayos catódicos (TRC) para modular su brillantez (**Figura 18**). Es decir, el movimiento del haz en dirección  $x$ - $y$  en el TRC está sincronizado con los voltajes de desviación del haz de electrones primarios, de tal forma que cada punto en el espécimen con que el haz primario interactuare será proyectado directamente como un punto sobre el monitor (**Figura 18**), lo que producirá una imagen de la topografía de la superficie del espécimen.

**Contraste de la imagen.** La brillantez de cada punto en la imagen del monitor de TV dependerá de la cantidad de electrones secundarios que salgan del punto correspondiente en la superficie de la muestra. Entonces, electrones producidos de la parte más profunda de un hueco (**Figura 20**); tendrán menor probabilidad de llegar al detector, que los que están más en la superficie (**Figura 20**); de esta manera, una superficie con bajo relieve se observará más oscura que una con mayor relieve.



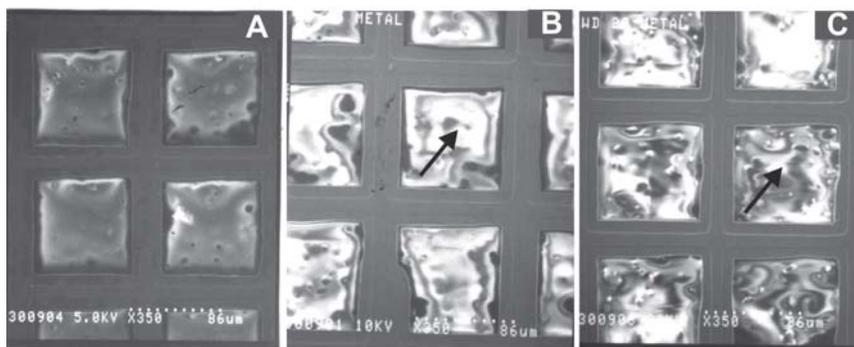
**Figura 20.** Variación en la colección de electrones secundarios (SE) de la superficie de la muestra. Algunos electrones son eyectados de zonas sin relieve (A) y (C). El efecto de borde se produce cuando muchos SE salen de zonas con aristas agudas (B). Y pocos electrones son atraídos por el detector de electrones secundarios debido a su posición en la muestra (A).

## **6.1 Aspectos que influyen en la calidad de la imagen**

### **6.1.1 Voltaje de aceleración**

Como se explicó mediante la ecuación de De Broglie en el capítulo 3, conforme se incrementa el voltaje de aceleración se obtendrá una mejor resolución (**Figura 21 A-C**). Sin embargo, en algunos casos al utilizar voltajes altos, se genera una cantidad de señal innecesaria (ruido), que producirá una falta de detalle en las estructuras del espécimen debido a que se acentúa la brillantez en las orillas de superficies redondas o con forma de picos (efecto de borde). Además, aumenta la posibilidad de carga (**Figura 21 B,C**) en especímenes que no conducen los electrones, como polímeros y muestras biológicas y, por lo tanto, hay mayor daño del espécimen por el haz.

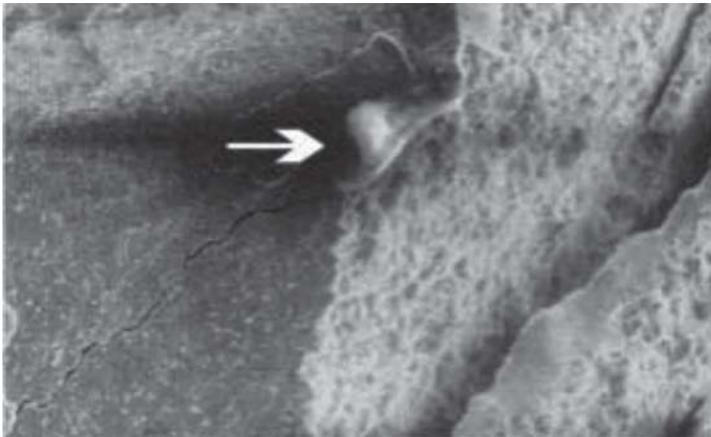
Por ello, es necesario elegir un voltaje de aceleración de acuerdo con lo que se necesita, resolución o mayor corriente. En material biológico comúnmente se sugiere emplear entre 15 y 20 Kv, según la resistencia del espécimen, y en material inorgánico como mineral o metal pueden emplearse entre 20 y 25 Kv. Para observar el detalle fino de la superficie de un espécimen, se sugiere utilizar un voltaje intermedio (15 Kv) o cuando se requieren aumentos bajos donde no importa ver tanto el detalle, es mejor emplear un voltaje de aceleración bajo y aumentar la corriente por medio de la lente condensadora (*spot size*).



**Figura 21.** Microfotografías que muestran el efecto del incremento de voltaje de aceleración en la calidad de la imagen de una rejilla de Cu con membrana de fomvar. (A). La calidad de la imagen a 5 Kv presenta poca resolución, bajo contraste, pero no hay efecto de borde o de carga. (B). A 10 Kv tiene una mejor resolución, pero se presenta un poco de efecto de carga (flecha). (C). A 20 Kv se obtiene la mejor resolución en la imagen de la rejilla, pero hay mucho efecto de carga y la membrana de formvar se empieza a dañar (flecha). Barra= 86  $\mu\text{m}$ , aumento= 350X.

### 6.1.2 Efecto de carga

Como se verá en el capítulo 8, para observar muestras no conductoras en el MEB deben ser recubiertas con algún material conductor como carbón, oro, plata etc. De lo contrario se producirá el efecto de carga, el cual ocasiona descargas entre el haz de electrones y la muestra; esta carga, se refleja como rayas, contraste anormal, deformación y movimiento en la imagen del espécimen (**Figura 22**). Para evitar este efecto, se sugiere bajar el voltaje de aceleración, recubrir la superficie de la muestra y no proteger las muestras con algodón, pues sus fibras se pueden quedar adheridas al espécimen y producir carga.



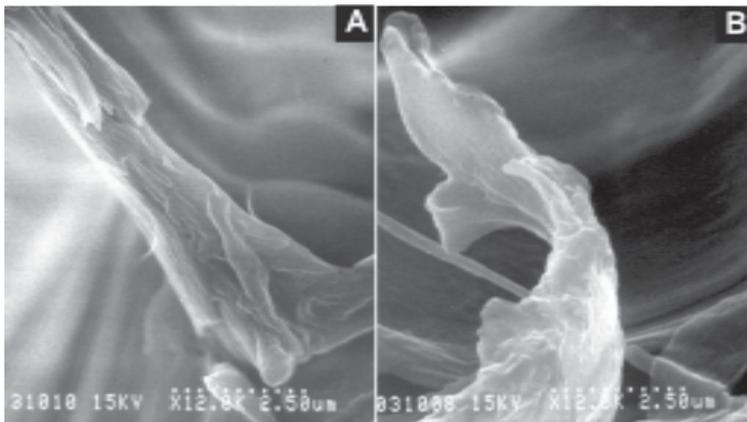
**Figura 22.** Efecto de carga (flecha) debido a la presencia de una partícula no conductora sobre acero de herramienta.

### 6.1.3 Distancia de trabajo (WD)

Se mencionó en el capítulo 5 que la distancia entre la lente objetivo y la superficie de la muestra es conocida como distancia de trabajo ( $WD$ ) y al cambiarla produce variaciones en la resolución y en la profundidad de campo. Así, al incrementar  $WD$  se perderá resolución, pero se tendrá una mejor profundidad de campo, y al disminuir  $WD$  se tendrá una mejor resolución, pero la profundidad de campo será menor (Tabla 5; Figura 23).

**Tabla 5.** Efecto de la distancia de trabajo ( $WD$ ) en la calidad de la imagen en el MEB.

WD	RESOLUCION	PROFUNDIDAD DE CAMPO
pequeña	alta	menor
grande	menor	mayor



**Figura 23.** Imágenes que muestran la relación entre distancia de trabajo ( $WD$ ), resolución y profundidad de campo. (A). Con  $WD= 2$  mm se observa mejor detalle de la superficie, pero la profundidad de campo disminuye. (B). Con  $WD= 20$  mm la resolución se reduce, pero la profundidad de campo es mejor.

### 6.1.4 Diámetro de la apertura de la lente objetivo (LO)

La apertura de la lente objetivo (LO) tiene como función reducir el diámetro del haz de electrones para producir una determinada corriente del haz (*probe current*). En el MEB generalmente hay tres aperturas de diferente diámetro ( $\approx 100 \mu\text{m}$ ,  $200 \mu\text{m}$  y  $600 \mu\text{m}$ ) que pueden ser seleccionadas. Éstas controlan la cantidad de señal emitida para formar la imagen, con los efectos resultantes señalados en la Tabla 6.

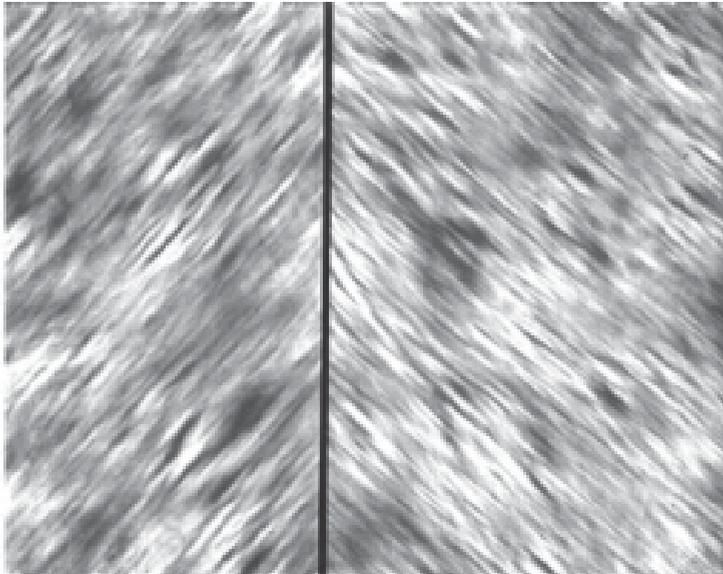
**Tabla 6.** Resumen de la influencia del tamaño de apertura en la calidad de imagen en el MEB.

Apertura "LO"	Corriente haz e-	Resolución	Profundidad de Campo
Pequeña	Menor	Alta	Grande
Grande	Mayor	Pequeña	Pequeña

### 6.1.5 Astigmatismo

El astigmatismo es una aberración causada por defectos muy finos de fabricación en las piezas polares de las lentes electromagnéticas; es difícil de detectar y de corregir, y puede ser eliminada por ajuste de las lentes astigmadoras moviendo los botones (astigmadores)  $X$  y  $Y$ .

Si este defecto no es corregido, la imagen en la micrografía se verá fuera de foco o con falta de resolución. La forma de comprobar si se tiene astigmatismo en la imagen es realizar un sobre-enfoque y bajo-enfoque, si la imagen se distorsiona hacia la derecha o hacia la izquierda (**Figura 24**), entonces hay astigmatismo. Se sugiere corregir el astigmatismo al doble del aumento del que se tomará la micrografía (generalmente a ampliificaciones mayores a 5,000  $X$  o 10,000  $X$ ).



**Figura 24.** Aspecto de una imagen con astigmatismo. La imagen se alarga hacia un lado y hacia otro al sobreenfocar y subenfocar.



## **7. Interacción del haz Primario de Electrones con la Muestra**

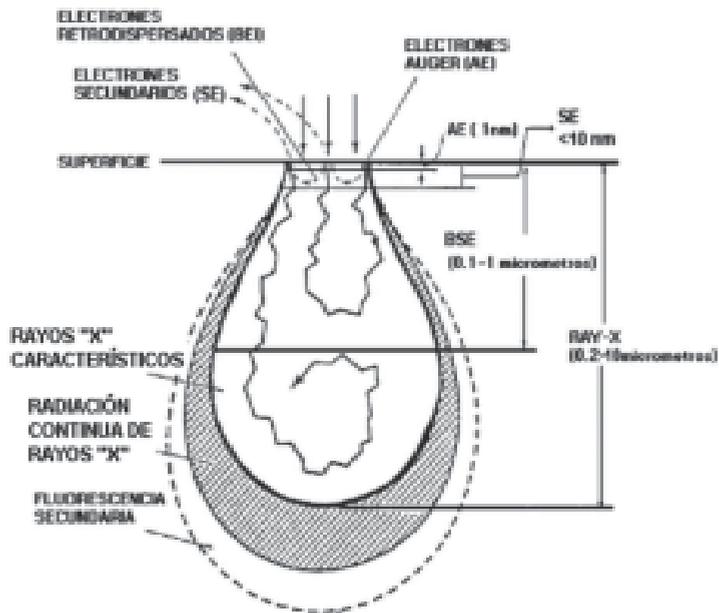
La interacción del haz de electrones primario con el espécimen es un proceso que se inicia cuando el haz se origina en la punta del filamento; después, es acelerado y conducido por la columna hasta la muestra, donde interacciona con los átomos del espécimen en un volumen con forma de pera (**Figura 25**).

Al disipar su energía cinética, el haz produce varias señales, entre las cuales están: (1) electrones secundarios, (2) rayos *X* característicos, (3) electrones Auger, (4) fluorescencia de rayos *X*, (5) electrones retrodispersados (BSE) y (6) radiación continua o *Bremsstrahlung*. Cada una de estas señales proporciona distinta información (**Tabla 7**) y se generan a diferentes niveles de profundidad en la muestra (**Figura 25**).

El tamaño del volumen de interacción depende de los siguientes factores: corriente del haz de electrones incidente, voltaje de aceleración y densidad atómica de la muestra. A mayor corriente y voltaje de aceleración, el haz penetrará la muestra a una mayor profundidad y, entre más elementos químicos con número atómico grande estén presentes (densidad atómica grande), el haz penetrará menos la muestra.

Existen programas de *software*, como el de Monte Carlo diseñados para modelar la profundidad de la dispersión de los electrones del haz al chocar contra la muestra (**Figura 26**), además de que proporcionan información sobre la resolución espacial, definida como el diámetro del volumen de interacción del cual proviene el 99 % de la señal.

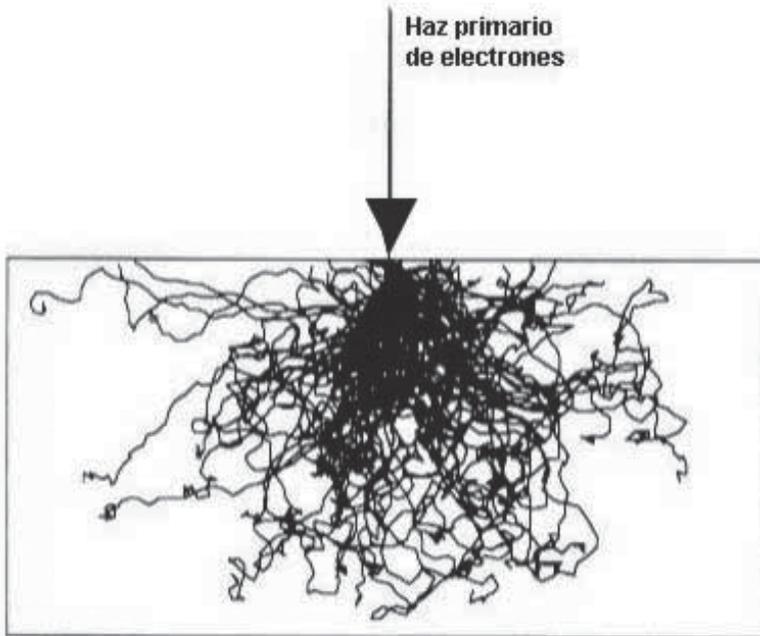
De acuerdo con esta definición; si se tiene una partícula con un tamaño de 10 nm, la señal de electrones secundarios proviene sin duda alguna de ésta; debido a que la resolución espacial de esta señal es de 10 nm (**Tabla 7**), pero la señal de rayos *X* característicos procederá de un volumen mayor, debido a que su resolución espacial es de 1  $\mu\text{m}$ . De esta forma, una estructura que se observa en la pantalla del monitor no representa el volumen completo desde el cual están saliendo los rayos *X*. En la práctica, no es recomendable analizar con rayos *X* característicos partículas con diámetros menores a 1 o 2  $\mu\text{m}$  (Verhoeven, 1986).



**Figura 25.** Esquema del volumen de interacción de los electrones primarios con el espécimen. Los electrones Auger se producen de una región más delgada que los electrones secundarios y los rayos X surgen de la zona más profunda de la muestra. (SE) = electrones secundarios, (AE) = electrones Auger, (BSE) = electrones retrodispersados.

**Tabla 7.** Resolución espacial y tipo de información que proporcionan las señales emitidas por interacción del haz primario de electrones en el espécimen.

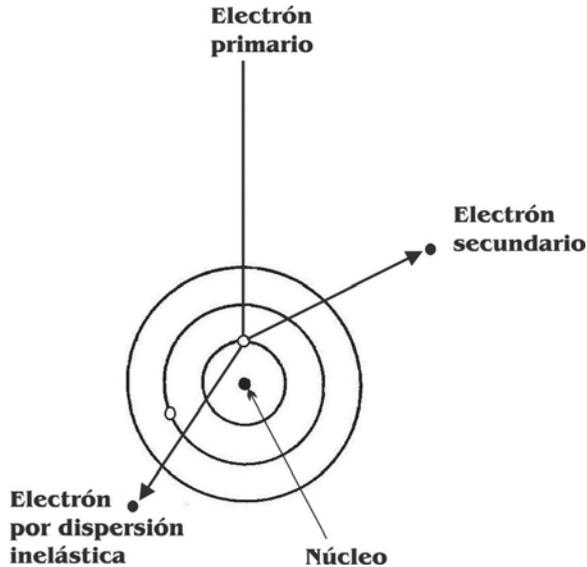
Señal	Resolución Espacial	Información	Referencia
Electrones secundarios	10 nm	Topografía	Prasad, <i>et al.</i> (1995),
Electrones retrodispersados	100 nm	Topografía, composición química, estado cristalino	Prasad, <i>et al.</i> (1995)
Electrones Auger	varios 10 nm	Topografía, composición química	Kenichi, <i>et al.</i> (2001); <a href="http://www.thermo.com">www.thermo.com</a>
Radiación característica de rayos x	1 $\mu$ m	Composición química	Prasad, <i>et al.</i> (1995); Heinrich y Dale (1986); Philips (1995)
Catodoluminiscencia	100 nm	Luminiscencia visible ó infrarroja	Prasad, <i>et al.</i> (1995)



**Figura 26.** Simulación de la trayectoria de los electrones primarios, por el método de Monte Carlo: Cu puro, Voltaje de aceleración 20 Kv, rectángulo  $2\ \mu\text{m} \times 1\ \mu\text{m}$ . (Reed, 1993).

### ***7.1 Electrones secundarios (SE)***

La señal de *SE* tiene la mayor densidad comparada con las demás señales mencionadas, y por lo tanto, la mayor resolución. Se genera cuando un electrón en el haz primario interactúa con un electrón en los átomos en la muestra, y lo saca de su órbita con cierta cantidad de energía cinética (**Figura 27**). Los electrones secundarios se generan a profundidades diferentes de la muestra, pero, debido a que son electrones de baja energía (menor a 50 eV), sólo los que se emiten cerca de la superficie alcanzarán a llegar al detector y se considerarán como electrones secundarios. Esta señal, en consecuencia lleva información principalmente del relieve o topografía de la muestra.



**Figura 27.** Producción de electrones secundarios, esquematizado en el modelo del átomo de Bohr. Un electrón en el haz primario interacciona con uno en el átomo de la muestra y lo eyecta; éste último se denomina electrón secundario. Mientras, el electrón primario se dispersa de manera inelástica (con pérdida de energía).

## 7.2 Rayos *X* característicos

Esta señal se genera de un volumen mucho mayor que el de los electrones secundarios o retrodispersados y de una profundidad mucho mayor, por lo que tiene una resolución espacial pobre (Tabla 7). **La señal característica de rayos *X*** se produce después de que un electrón es eyectado de su orbital, entonces el átomo se vuelve inestable y, para regresar a su estado basal, otro electrón del orbital siguiente o de cualquier otro llena la vacancia, (Figura 28).

Sin embargo, la energía de estos orbitales es diferente, y al llenarse el hueco, la diferencia de energía entre los orbitales se libera como radiación característica de rayos  $X$  (Figura 28). La diferencia de energía que se libera será mayor cuando la transición se da entre los orbitales K-L (rayos  $X$ ,  $K\alpha$ ) o K-M (rayo  $X$   $K\beta$ ), que cuando se da entre los orbitales L-M (rayo  $X$   $L\alpha$ ) ó M-N (rayo  $X$ ,  $M\alpha$ ); debido a esto, los picos de las líneas K tienen generalmente una mayor intensidad en el espectro.

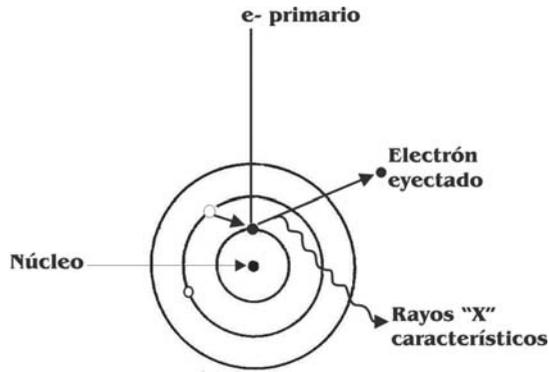
### 7.2.1 Nomenclatura

La nomenclatura que se usa para identificar a los rayos  $X$  por microanálisis químico, consiste en nombrarlos de acuerdo con el orbital donde se originó la vacancia y con base en el orbital del cual salió el electrón que llenó esa vacancia. Por ejemplo, si inicialmente un electrón es eyectado del orbital  $K$  (Figura 29) y la vacancia es llenada por un electrón del siguiente nivel (orbital  $L$ ), el rayo  $X$  emitido se denominará rayo- $X$   $K\alpha$ ; pero si es llenada por un electrón del orbital  $M$ , la radiación de rayos- $X$  será  $K\beta$ . De igual manera, si el electrón es eyectado del orbital  $L$  y un electrón del orbital  $M$  llena la vacancia, la radiación emitida será  $L\alpha$ .

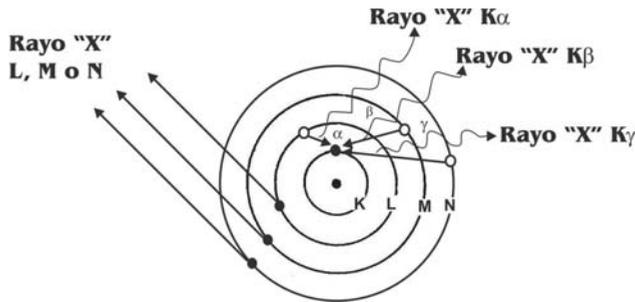
En MEB la mayoría de los rayos  $X$  que se utilizan para el microanálisis químico están dentro de las series de rayos  $X$ : K, L y M. Este modelo de producción de rayos- $X$  implica que, para que el electrón sea eyectado del átomo, éste debe ser excitado con una energía ligeramente mayor a aquella con la cual se encuentra unido el electrón al orbital (energía de enlace). La energía de enlace para el electrón del orbital K es más grande que la de un electrón en el orbital L, pues el electrón en el orbital K está más cerca del núcleo y, por lo tanto, está unido más fuertemente.

La energía necesaria para excitar una línea dada de rayos- $X$  se conoce como energía de ionización o energía crítica de excitación y es ligeramente mayor (2.5 a 3 veces) que la energía de la línea de emisión de rayos  $X$  (Thermo-NORAN, 2001). En la práctica, para saber el voltaje de aceleración que hay que usar para excitar una determinada línea de rayos  $X$ , se calcula multiplicando su valor de energía por un factor de entre 2.5 o 3. Por ejemplo, para excitar la línea  $K\alpha$  (6.4 Kev) del Fe, será suficiente con utilizar un voltaje de alrededor de 20 Kv [ $3 \times 6.4$  Kev (Fe  $K \alpha$ ) = 18.12]; si se utiliza un sobrevoltaje, puede producirse la absorción de la señal a niveles más profundos de la muestra.

Sin embargo, existen valores de energía de rayos  $X$  que no sería posible alcanzar con el voltaje del MEB; por ejemplo la línea  $K\alpha$  del Sn es de 25.27 Kev, entonces para excitarla sería necesario aplicar un voltaje de alrededor de 75 Kv. En consecuencia, se recomienda que para identificar elementos con número atómico igual o menor a 30 se utilice la línea K y para elementos con número atómico mayor de 30, las líneas L y/o M.



**Figura 28.** Representación de la emisión de rayos  $X$  característicos. El electrón en el haz primario eyecta un electrón (secundario) en uno de los orbitales del átomo, lo cual, deja inestable al átomo. Para regresar a su estado basal, otro electrón de distinta órbita llena el hueco; la diferencia de energía debido a la transición del electrón se libera como rayos  $X$  característicos.



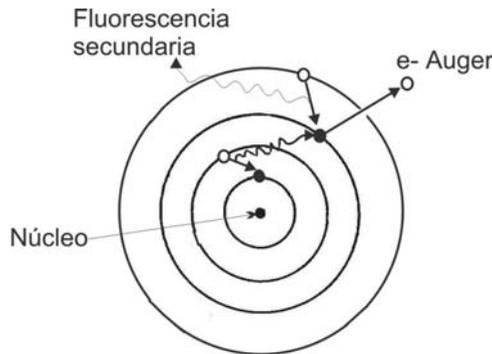
**Figura 29.** Nomenclatura de los rayos  $X$  característicos. Éstos se nombran de acuerdo con el orbital, donde, ocurrió la vacancia y del cual, provino el electrón que llenó el hueco; de tal forma, si el electrón fue eyectado del nivel  $K$ , entonces el rayo  $X$  se denominará rayo  $X K$ , y si el electrón que llenó el hueco provenía del nivel siguiente, será un rayo  $X K\alpha$ ; pero si el electrón que llenó el hueco viene de la subsiguiente órbita entonces será un rayo  $X K\beta$  y, si es de la posterior a la subsiguiente será un rayo  $X K\gamma$ . Mientras, si el electrón fue eyectado del orbital  $L, M$  o  $N$  entonces será un rayo  $X L, M$  o  $N$ , respectivamente, y  $\alpha, \beta$  o  $\gamma$  según de donde provino el electrón que llenó el hueco.

### 7.3 Electrones Auger

Los electrones Auger son producidos por desexcitación de un átomo. Es decir, se originan cuando la radiación característica de rayos  $X$  no sale de la muestra (**Figura 30**) sino que es reabsorbida dentro del mismo átomo y ésta se utiliza para eyectar un electrón de más baja energía, conocido como electrón Auger (**Figura 30**).

Los electrones Auger llevan información química específica del átomo que los originó; son de muy baja energía, por lo que sólo pueden atravesar distancias cortas ( $< 1$  nm) dentro de la muestra (**Figura 25**) y, por lo tanto, la información que llevan es específica de la superficie de la muestra (unas pocas capas atómicas). Sin embargo, los electrones detectados pueden contener electrones Auger producidos, por electrones retrodispersados, fuera del punto de análisis; si el punto irradiado por el haz se localiza muy cerca de la orilla ( $\approx 1 \mu\text{m}$  o menos desde el borde) de un espécimen grueso (Kenichi *et al.*, 2001). En contraste, si el espécimen es muy delgado, solo electrones Auger emitidos por la superficie serán detectados.

El proceso de producción de la señal Auger se favorece en elementos con número atómico bajo y, en elementos con número atómico alto, se propicia más la formación de radiación característica de rayos-x.



**Figura 30.** Emisión de un electrón Auger y fluorescencia secundaria. El rayo  $X$  producido por desexcitación es reabsorbido y su energía sirve para eyectar un electrón denominado Auger. La salida de éste provoca que el átomo quede inestable nuevamente, entonces otro electrón llena el segundo hueco, lo cual genera rayos  $X$  conocidos como fluorescencia secundaria.

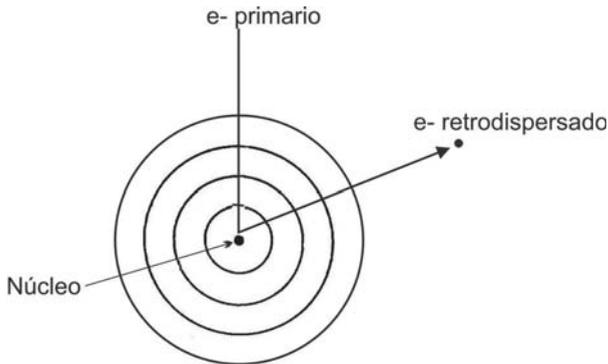
## 7.4 Fluorescencia secundaria

Después de haberse generado un electrón Auger (**Figura 30**), el átomo queda inestable nuevamente, entonces otro electrón de un nivel externo llena la segunda vacancia, lo que produce rayos  $X$  conocidos como fluorescencia secundaria.

## 7.5 Electrones retrodispersados (*Backscattered = BSE*)

A diferencia de los electrones secundarios, los retrodispersados o BSE tienen mucho más energía ( $> 50$  eV) y pueden escapar desde una profundidad mucho mayor (**Figura 25**), hasta la superficie de la muestra y llegar al detector. Esta señal se produce cuando un electrón en el haz primario interactúa con el núcleo de un átomo (**Figura 31**), y rebota al electrón primario hacia afuera de la muestra sin pérdida de energía (dispersión elástica).

Esta señal no tiene tanta resolución ni lleva tanta información de la topografía de la muestra como la señal de SE, sin embargo, proporciona información acerca de la composición química por medio del contraste en la imagen. Es decir, en zonas compuestas por elementos con número atómico grande, el haz primario de electrones tendrá mayor posibilidad de interactuar con los núcleos, por lo que producirá una mayor cantidad de BSE y estas zonas se observarán más claras en la imagen del monitor que aquellas con número atómico pequeño, las cuales, se percibirán más oscuras.

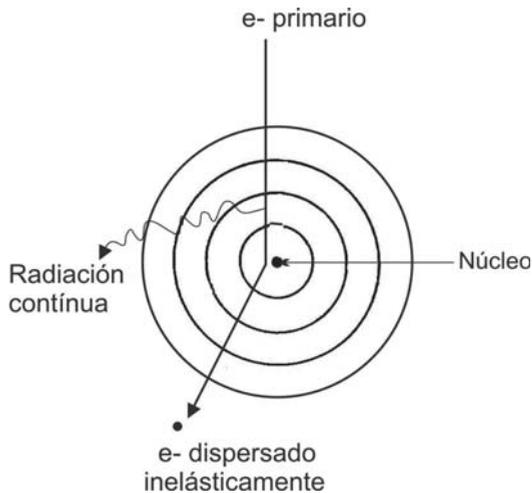


**Figura 31.** Un electrón retrodispersado se produce cuando un electrón primario es desviado sin pérdida de energía (dispersión elástica) por el núcleo del átomo. Por lo tanto, entre mayor sea el número atómico del elemento mayor probabilidad de que se produzca esta señal.

## 7.6 Radiación *bremstrahlung*

Los rayos  $X$  (descritos en la sección 7.2) se producen cuando los electrones del haz primario interactúan con los orbitales de los electrones del átomo. Otro tipo de radiación se origina cuando el haz primario de electrones interactúa con el núcleo del átomo (Figura 32), ya que los electrones son desacelerados por el campo que rodea al núcleo (campo de Coulomb) y sufren dispersión inelástica (con pérdida de energía). La cantidad de energía perdida en este evento es convertida en un fotón de rayo  $X$  conocido como radiación *bremstrahlung*, continua, blanca o de frenado.

Debido a que un electrón primario puede perder cualquier cantidad de energía, este tipo de radiación forma un espectro continuo desde energía cero hasta la energía del haz (voltaje de aceleración) y, por lo tanto, más grande será la energía perdida. En el caso extremo, un electrón primario puede ceder toda su energía en un choque con el campo de Coulomb y causar un límite máximo de radiación continua, que sería principalmente el voltaje de aceleración utilizado en la columna electrón-óptica.



**Figura 32.** Un electrón primario interactúa con el campo eléctrico del núcleo y pierde energía (dispersión inelástica), ésta se libera como radiación *bremstrahlung*, continua, de frenado, o blanca.

## **8. Microanálisis Químico (EPMA)**

La técnica de microanálisis, conocida como *EPMA* (*electron microprobe analysis*), se basa en la adquisición y cuantificación de rayos *X* emitidos desde una zona microscópica en un espécimen sólido que es bombardeada por un haz de electrones y es muy útil en el análisis de micro-volúmenes hasta de un micrómetro cúbico.

Esta técnica se basa en el hecho de que la estructura química de cada elemento químico es diferente y al excitarlos emiten un patrón característico de rayos *X*. Es decir, cada elemento químico emite un rayo *X* con determinada energía, longitud de onda y patrón, que es como su huella digital. Entonces, los rayos *X* emitidos pueden ser medidos por su energía [en unidades de kilo-electron volts (Kev)] o por su longitud de onda (en unidades Å) y así identificar y cuantificar a dichos elementos.

Cuando el análisis se realiza midiendo la longitud de onda del rayo *X*, se utiliza el espectrómetro por dispersión de longitud de onda de rayos *X* (WDS), que consta de cristales de difracción que separarán los rayos "X emitidos por la muestra de acuerdo con su longitud de onda. Cuando se mide la energía del rayo *X*, se utiliza el espectrómetro por dispersión de energía de rayos *X* (EDS), que está constituido básicamente por un detector de Si-Li.

### **8.1 Microanálisis químico por EDS**

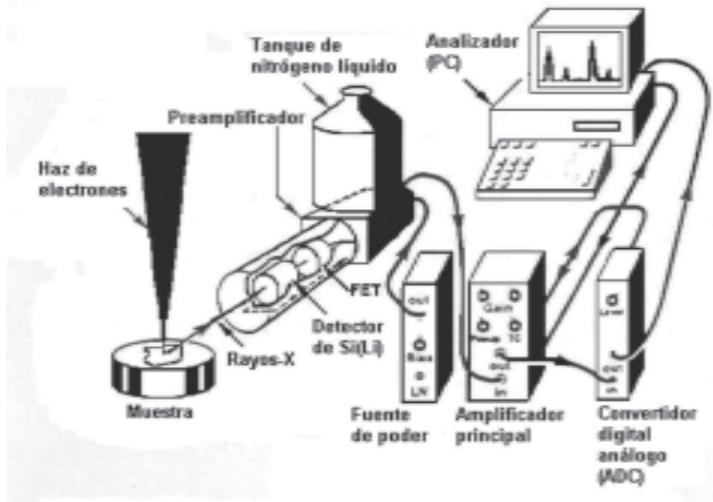
La técnica de espectrometría por dispersión de energía de rayos *X* (EDS) se aplica en: 1) el estudio de la composición química de inclusiones o pequeñas partículas de material desconocido, 2) en el análisis de la distribución de la concentración de elementos químicos en una muestra heterogénea, ya sea en un punto, a lo largo de una línea (*line-scan*) o en una área (mapeo) y, 3) en la composición química de películas delgadas depositadas sobre un sustrato.

La técnica EDS se caracteriza por analizar todos los elementos de la tabla periódica con número atómico  $Z \geq \text{Be}$  (berilio), la concentración mínima detectada varía desde un 0.1 % en peso a 1 % en peso (**Tabla 7**), con una exactitud en el análisis cuantitativo del 2-5% para elementos con  $Z > 9$  (F) y del 5-10% (Philips, 1995) para elementos ligeros como el B, C, N, O y F. El tiempo de análisis controlado por el tiempo de adquisición en la computadora es menor a 2 minutos, la resolución espacial es de  $\approx 1 \mu\text{m}$  (**Tabla 7**) y la profundidad de análisis varía desde 0.5 a 10  $\mu\text{m}$  (según de la densidad atómica de la muestra y del voltaje de aceleración).

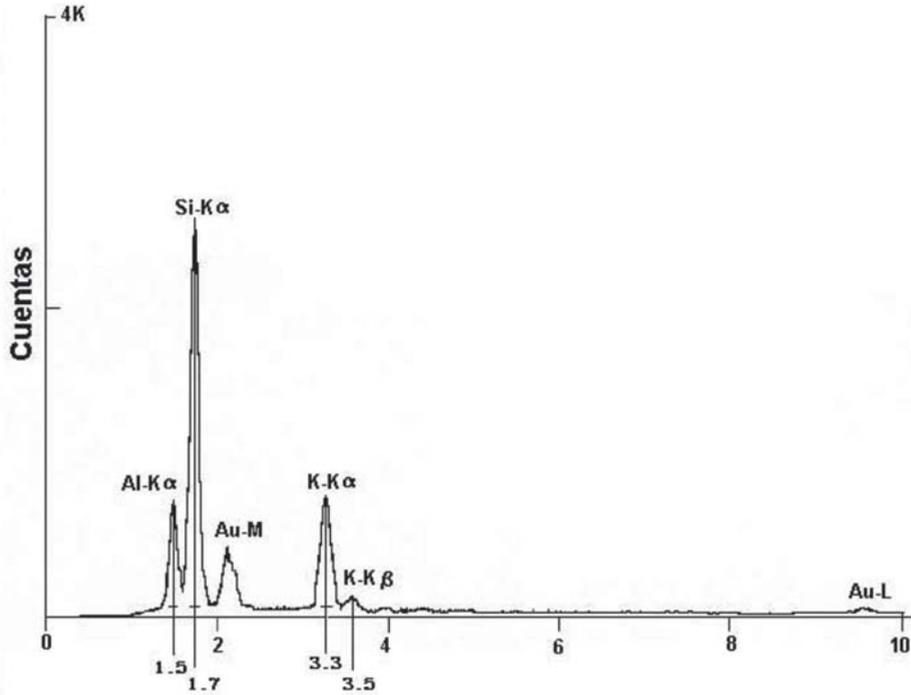
### 8.1.1 Componentes del EDS

Los componentes principales de un espectrómetro de dispersión de energía de rayos  $X$  son (**Figura 33**): detector, compuesto de un cristal de silicio-litio conectado a un dedo frío acoplado a un tanque de nitrógeno líquido; preamplificador (PAMP); procesador de pulsos (PP); convertidor de energía digital (ADC); multicanal analizador (MCA) y computadora (PC).

El funcionamiento de este espectrómetro se explica a continuación: la muestra, al ser excitada por un haz de electrones acelerados, emite un fotón de rayos  $X$  (**Figura 28**), el cual, al entrar al detector de Si-Li (**Figura 16**), se transforma en un pulso de carga, que después es convertido en un pulso de voltaje (por el PAMP y el PP) y luego en una señal digital (por el ADC), que produce una cuenta adicionada a un canal específico en un multicanal analizador (MCA). Después de un tiempo, las cuentas correspondientes a los elementos químicos en la muestra se acumulan en un canal diferente, dependiendo de la energía del rayo  $X$  que las produjo, y forman un histograma o espectro de rayos  $X$ , el cual, se observa en el monitor de la computadora (**Figuras 33 y 34**).



**Figura 33.** Representación esquemática de un espectrómetro EDS. Sus piezas consisten en: detector conectado a un tubo enfriado por nitrógeno líquido, componentes electrónicos y el multicanal analizador adjunto a la PC.



**Figura 34.** Espectro del mineral feldespato potásico ( $\text{KAlSi}_3\text{O}_8$ ). Comparar la altura de los picos con la fórmula química y observar la relación atómica Al:Si = 1:3 y Al:K = 1:1. Los picos de Au corresponden al material que se usó para recubrir el espécimen.

### 8.1.2 Análisis cualitativo por EDS

El análisis cualitativo consiste en identificar los elementos presentes en la muestra. En resumen, este proceso se efectúa al determinar las energías de los picos presentes en el espectro y, al comparar éstas, con energías conocidas de emisión de rayos X descritas en tablas.

La identificación de cada pico en el espectro se realiza haciendo coincidir el indicador de la escala de energía con la parte central del pico (Figura 34); el dato de la escala de energía (keV) en la base del gráfico se compara con la energía de rayos X en tablas. La identificación puede realizarse también utilizando el cursor con etiquetas o el modo de identificación automática del *software* de microanálisis.

Durante el análisis cualitativo se debe tener presente que un elemento químico puede tener más de un pico (**Figura 34**) en el espectro de rayos  $X$  porque, como se vio en la sección 7.2, la desexcitación del átomo se da por una serie de transiciones que involucran los niveles orbitales K, L, M y N. Asimismo, la altura de los picos en ocasiones es influenciada por la concentración del elemento.

En la **Figura 34** puede verse una correlación entre la altura de los picos de Si, Al y K con la fórmula química del mineral analizado, en donde, en este caso, las alturas de los picos son proporcionales a su concentración (Welton, 1984). Sin embargo, esto no siempre se cumple pues la altura de los picos depende también del tipo de línea de energía de rayos  $X$  que se excitó. Es decir, debido a que la transición de un electrón desde un orbital de mayor energía (Ej. orbital M) a uno de menor (Ej. orbital K), libera más energía que la transición de un M a un L, la línea K es la de mayor intensidad y mayor altura.

Generalmente la línea K es la que se va a buscar para identificar los picos de elementos con número atómico hasta 30 y, para elementos con  $Z > 30$ , se usan las líneas L y M ya que en éstos últimos será más difícil excitar el nivel K. Finalmente, después de que todos los picos del espectro son determinados, las concentraciones relativas de cada uno de los elementos son solicitadas.

### ***8.1.3 Problemas y artefactos en el microanálisis químico por EDS***

#### ***8.1.3.A. Geometría incorrecta de la muestra***

Cuando la superficie de la muestra es muy irregular, los rayos  $X$  que salen de ella con caminos rectilíneos pueden encontrar algunas estructuras en la superficie que bloquean su camino hacia el detector, lo que se reflejará ya sea como una disminución en el número de rayos  $X$  (expresado en cuentas/segundo) o en ausencia de rayos  $X$  de energía baja (debido a bloqueo o reabsorción). Por lo tanto, es recomendable que la muestra sea pulida antes del análisis químico para obtener datos confiables. No obstante, en ocasiones es necesario analizar productos depositados sobre una superficie (ej. productos de corrosión) que no es posible pulir pues se eliminaría el objeto de interés, de ser así la cuantificación debe tomarse con mucha precaución.

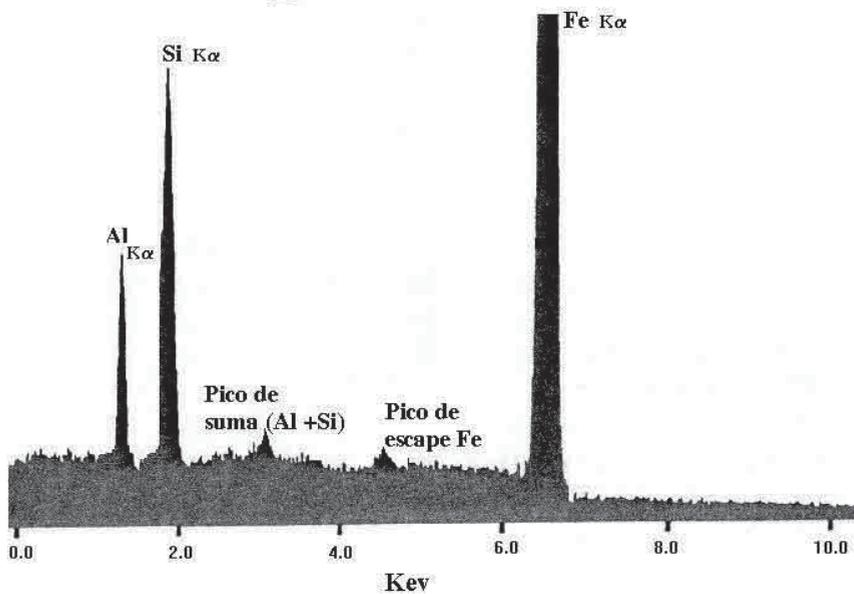
### 8.1.3.B Resolución espacial

Una de las principales consideraciones que se hace en el microanálisis químico, es que los rayos  $X$ , en efecto, provienen de la microzona de interés en la muestra. Sin embargo, rayos  $X$  provenientes de otras zonas pueden estar presentes en el análisis. Por ello es importante recordar que la resolución espacial de los rayos  $X$  es de  $1\ \mu\text{m}$  (Tabla 7), por lo que es preferible analizar partículas mayores a  $2\ \mu\text{m}$  para estar seguros de que en realidad se está analizando lo que interesa. No obstante, como se mencionó en el capítulo 6, los rayos  $X$  provienen de un volumen que tiene forma de pera y, si la partícula que analizamos es muy delgada, los rayos  $X$  seguramente provendrán no solo de ésta sino de la matriz en la que está incluida.

### 8.1.3.C Artefactos

En el espectro de rayos  $X$  que se obtiene del microanálisis químico en un punto determinado se pueden observar artefactos como: picos de escape, picos de suma, traslape de picos y tiempo muerto (dead time =DT ) excesivo.

Pico de suma se tiene cuando hay un alto rango de cuentas; entonces dos rayos  $X$  pueden entrar al detector al mismo tiempo (Figura 35) y éste no puede distinguirlos separadamente por lo que los procesa como un solo pulso con una energía igual a la suma de los dos rayos  $X$ . Si esta señal corresponde a dos elementos en el espécimen, es conocida como **pico de suma**. Por ejemplo, si se tienen en la muestra Si ( $K\alpha$  de 1.74 Kev) y Al ( $K\alpha$  de 1.487 Kev) y se presenta en el espectro un pico con una energía de 3.22 Kev, éste corresponderá a un pico de suma (Figura 35) y no debe ser confundido con el pico de K ( $K\alpha$  3.31 Kev).



**Figura 35.** Picos de suma y escape en un espectro. Dos pulsos [Al ( $K\alpha$  1.487 KeV) + Si ( $K\alpha$  1.74 KeV)], separados por un tiempo muy corto se combinan para formar un pico de suma en 3.22 KeV; y el Si  $K\alpha$ , en el detector de rayos X genera un pico de escape para el Fe  $K\alpha$  en 4.66 KeV.

**Picos de escape.** Se producen cuando entra un rayo  $X$  al detector y ioniza átomos de Si  $K\alpha$  del detector, lo cual disminuye la energía del rayo  $X$  original (**Figura 35**) y el pulso transmitido tiene una energía igual a la original -1.74 KeV (1.74 KeV = energía de la radiación Si  $K\alpha$ ). Es decir, se observará un pico en el espectro en una posición 1.74 KeV menor a la energía del rayo  $X$  del elemento que produjo el rayo  $X$ , por ejemplo, un pico de escape del Fe [6.40 KeV (Fe $K\alpha$ ) - 1.74 KeV (Si  $K\alpha$ )] aparecerá en 4.66 KeV (**Figura 35**).

**Traslape de picos.** Se produce porque más de un elemento puede presentar un pico correspondiente a una línea de emisión, con energía de rayos  $X$  similar. Este efecto

está relacionado con la resolución de la técnica. La resolución se define comúnmente como la amplitud completa en la mitad máxima del pico (siglas en inglés = FWHM). El EDS tiene una resolución mucho menor (150 eV) que la del WDS (<10 eV). En EDS entre más anchos y cercanos estén los picos, serán más difíciles de resolver y algunas veces se traslaparán. Por ejemplo, en EDS el pico de la línea  $K\alpha$  del S se traslapa con la línea  $L\alpha$  del Mo y en caso de encontrarse uno de ellos en baja concentración, será difícil cuantificarlo adecuadamente, por lo que será imprescindible usar el WDS.

**Tiempo muerto excesivo.** El tiempo muerto (DT = Dead Time) se define como el tiempo total, en el cual, el detector procesa un pulso recién llegado y no está disponible para recibir otros. El DT puede excederse ya sea porque el detector está muy cerca de la muestra o porque se estén usando corrientes altas, en donde, la cantidad de rayos  $X$  que llega al detector es demasiado alta y la electrónica no puede procesar toda la señal que le llega. La manera de disminuir el tiempo muerto es alejando el detector o disminuyendo la corriente por medio de la lente condensadora (spot size). Generalmente es recomendable que el valor de DT esté entre 20 % y 30 % para tener una buena resolución.

### 8.1.4 Análisis Cuantitativo por EDS

El análisis cuantitativo busca no sólo identificar los elementos presentes en el espécimen, sino también conocer sus concentraciones, para lo cual las intensidades de las líneas de rayos-X emitidas del espécimen son comparadas con las producidas por estándares de composición conocida. Sin embargo, la relación entre la intensidad (I) de una línea de rayos  $X$  y la concentración del elemento correspondiente depende de la composición de la muestra.

Correcciones de matrices se utilizan para convertir las razones de intensidad espécimen/estándar en concentraciones. Estas correcciones son agrupadas en tres categorías: el efecto por número atómico (Z), la absorción (A), y la fluorescencia (F) inducida por rayos  $X$  dentro de la muestra. Así, la mayoría de los cálculos cuantitativos se basan en lo que se conoce como correcciones ZAF.

La fórmula para calcular la concentración (C) de un elemento (x) por referencia a un estándar del elemento de composición conocida (kx) se expresa como sigue:

$$C_x = C_{kx} \cdot \frac{I_x}{I_{kx}} \cdot \frac{(Z_{kx} A_{kx} F_{kx})}{(Z_x A_x F_x)}$$

La corrección  $Z$  tiene en cuenta el efecto del número atómico en la eficiencia de excitación y el campo de fluorescencia. La eficiencia de excitación depende de la probabilidad de que se produzca una vacancia inicial (ionización) y no por ejemplo un electrón retrodispersado. De acuerdo con Reed (1993), la eficiencia de ionización por el bombardeo de electrones es bastante baja; típicamente un electrón entre mil produce una vacancia en el orbital K. La mayoría de la energía de los electrones del haz incidente se disipa en interacciones, las cuales producen calor.

El campo de fluorescencia se refiere a la probabilidad de que, una vez creada la vacancia, se produzca un rayo  $X$  característico, pues existe la posibilidad de que esta señal no salga sino sea usada para eyectar otro electrón del átomo (efecto Auger). Por otra parte, el número atómico promedio de la muestra también afecta la cantidad de energía que se pierde en otros procesos de dispersión, la cual ya no se utilizará para producir una vacancia.

La corrección  $A$  refleja la probabilidad de que el rayo  $X$  característico emitido sea absorbido antes de ser detectado y en su lugar se produzca fluorescencia secundaria. El efecto de absorción se explica con este ejemplo: un rayo  $X$  de alta energía del elemento  $A$  puede ser absorbido por un átomo del elemento  $B$ , entonces la presencia de los elementos  $A$  y  $B$  en la misma muestra incrementan la intensidad de la emisión característica del elemento  $B$  y disminuyen la de  $A$ .

La corrección  $F$  se refiere a la contribución por fluorescencia en picos observados en el espectro, la cual surge de la excitación de elementos en la muestra y se genera por rayos  $X$  dentro de ella. Esta fluorescencia inducida por rayos  $X$  tiene dos componentes: la fluorescencia causada por rayos  $X$  característicos de otros elementos y la causada por radiación continua (**Figura 32**). Debido a la alta concentración de elementos ligeros en especímenes biológicos, usualmente, la fluorescencia producida por rayos  $X$  característicos es insignificante y puede ignorarse. En contraste la radiación Bremsstrahlung es pequeña para elementos ligeros, pero puede ser muy significativa para elementos pesados en una matriz de elementos ligeros.

### ***8.1.5 Comparación entre la técnica de microanálisis EDS y WDS***

En microanálisis, el espectro de rayos  $X$  se registra ya sea por medio de un espectrómetro de dispersión de longitud de onda o por uno de dispersión de energía (**Tabla 8**).

El primero utiliza cristales de difracción, los cuales actúan como un monocromador, es decir, seleccionan una longitud de onda a la vez, dependiendo del ángulo de incidencia de los rayos  $X$ . El cristal es curvo, de tal manera que el ángulo en el punto fuente (espécimen) es constante. Requerimientos geométricos establecen que el detector de rayos  $X$  debe estar a la misma distancia de los cristales, como ellos de la fuente de rayos  $X$ .

La mayoría de los instrumentos tienen dos o más espectrómetros con cristales para cubrir diferentes rangos de longitud de onda. Estos espectrómetros, se encuentran dentro de una cámara al vacío, con el fin de prevenir la absorción de los rayos  $X$  por el aire. Cada espectrómetro tiene asociado una electrónica para amplificar y contar los pulsos del detector. En la actualidad, estos equipos son controlados por computadora.

El EDS utiliza un detector de estado sólido que complementa y, en cierta forma, reemplaza al WDS. Debido a que el EDS registra un espectro completo simultáneamente, el análisis de la altura del pulso electrónico se usa para seleccionar los pulsos producidos en el detector de acuerdo con la energía del rayo  $X$ .

La técnica EDS tiene muchas ventajas (**Tabla 8**), sin embargo, su poder de resolución es inferior al que ofrece el WDS; éste último permite una razón pico/ruido diez veces más alta y, por lo tanto, es posible resolver picos que por EDS se traslaparían. Además, la técnica de EDS tiene un límite de detección menor (1000 ppm) que la de WDS (100 ppm) y presenta la desventaja de ser afectada por una serie de artefactos (sección 8.3.1C), que se corrigen muchas veces por medio del mismo programa de análisis (correcciones ZAF).

Se considera, en general, que el EDS y el WDS son técnicas que se complementan pues la primera se utiliza comúnmente para identificar a los elementos químicos presentes en la muestra problema y la segunda para cuantificarlos con exactitud.

**Tabla 8.** Comparación de los espectrómetros de dispersión de energía (EDS) y de dispersión de longitud de onda (WDS) de rayos X.

Características de operación	Detección por EDS	Detección por WDS	Referencia
Sistema de detección	Se mide la energía de los rayos X.  Detector de estado sólido (cristal Si-Li).	Se cuantifica la longitud de onda de los rayos "X" emitidos.  Cristales de difracción (Ej. LIF, PET, TAP y MIR).	Reed (1993); Kurt y Dale (1986)
Sensibilidad	1000 ppm (0.1% en peso)	100 ppm (0.01% en peso)	Kurt y Dale (1986)
Resolución	≈145 eV (para Mn K $\alpha$ )	< 10 eV (para Mn K $\alpha$ )	Kurt y Dale (1986); Barker y Fournelle (1996)
Tiempo de adquisición	Décimas de minutos	Minutos	Kurt y Dale (1986)
Principales artefactos	Picos de escape (pulse pileup), dispersión del haz, traslape de picos, efectos de absorción, fluorescencia secundaria y número atómico.	Pocos; relacionados con la naturaleza de los procesos de difracción. Ej. En reflexión de alto orden ( $n > 1$ ), V K $\alpha$ interfiere con la línea K $\beta$ de Ti (en altas concentraciones)	Kurt y Dale (1986); Barker y Fournelle (1996)

### ***8.1.6 Preparación de muestras para microanálisis químico por EPMA***

La preparación de las muestras para ser observadas en el MEB es relativamente sencilla. Los requisitos principales son que la muestra no contenga contaminantes como aceite, polvo, alúmina o volátiles; que sea resistente al alto vacío y al haz de electrones; que esté libre de agua; que sea conductor y que tenga buena capacidad para producir electrones secundarios.

Las muestras biológicas, minerales, cerámicos, etc., no son conductoras y requieren una cubierta de material conductor ( $< 10$  nm). Para no tener problema de traslape de picos en EDS, el carbón (sin Au u otro metal) es el material frecuentemente empleado, que se aplica por medio de una evaporadora de metales, así se elimina la carga y posibles errores en el análisis.

Para análisis cuantitativos con WDS o EDS es muy importante tener una superficie pulida a espejo, que forme un ángulo de  $90^\circ$  (específicamente en WDS). Si esto no es así, la longitud del camino que sigan los rayos  $X$  a través del material hasta el detector no será constante, y la corrección por absorción que realiza el *software* de microanálisis químico será incorrecto.



## ***9. Procesamiento de muestras para su observación en el MEB***

Debido a que es muy amplio el campo de aplicación del MEB, hay muchos tipos de especímenes y, por lo tanto, diferentes técnicas de preparación de los mismos. Sin embargo, en casi todos los casos, hay tres puntos principales que se deben tener en cuenta:

A. Limpieza de la superficie por observar. En algunos casos, es necesario realizar una limpieza con ultrasonido, sumergiendo la pieza por limpiar en alcohol, acetona o algún otro solvente orgánico para eliminar las sustancias contaminantes.

B. El espécimen no debe contener agua para poder ser observado en el MEB. La eliminación del agua no debe modificar la morfología original del espécimen, para lo cual, en caso de especímenes biológicos, es necesario realizar previamente un tratamiento de fijación, deshidratación y secado. Este último puede realizarse por sublimación o usando la técnica de secado a punto crítico.

C. El espécimen debe ser conductor. Cuando no sucede esto, es necesario recubrirlo con algún material conductor como Ag, Al, Au, Pd-Au, C, etc., debido a que cuando el haz de electrones irradia la muestra, algunos electrones como los secundarios son emitidos o retrodispersados, pero el resto de los irradiados son absorbidos por el espécimen y, si éste no es conductor, se cargará eléctricamente, lo que ocasionará problemas en su observación. Muchas veces este efecto de carga se reduce trabajando con un voltaje bajo u observando la muestra en bajo vacío.

### ***9.1 Selección del material conductor***

Cuando se va a seleccionar el material conductor (**Tabla 9**) para recubrir una muestra no conductora, deben tenerse en cuenta características como: que sea un buen emisor de electrones secundarios, que sea un buen conductor, que forme una capa uniforme en la superficie del espécimen y que no tenga un tamaño de grano demasiado grande que pueda interferir con la observación de su detalle. Sin embargo, un solo material no reúne todas las cualidades, por esta razón a veces es necesario utilizar una mezcla, ej. C-Au.

**Tabla 9.** Ventajas y desventajas de materiales comúnmente utilizados para recubrir muestras no conductoras.

Material	Ventaja	Desventaja
Ag	Alto coeficiente de emisión de e- secundarios	Tamaño de grano grande
Au	Buen conductor	Tiende a acumularse y formara aglomerados. No crea una cubierta uniforme
C	Forma una capa uniforme sobre el espécimen	Es semiconductor
Al	Alta conductividad igual que el oro	Tamaño de grano grande
Au-Pd	Tiene menor tendencia a acumularse	Forma aleaciones con la canastilla de tungsteno de la evaporadora
C-Au	Juntos forman una capa uniforme y conductora	No es recomendable para microanálisis por posible traslapa de picos del Au

La plata tiene un alto coeficiente de emisión de electrones secundarios y es una de las mejores sustancias para observar fielmente los contornos de la superficie; desafortunadamente presenta la desventaja de tener un tamaño de grano muy grande comparado con otros metales.

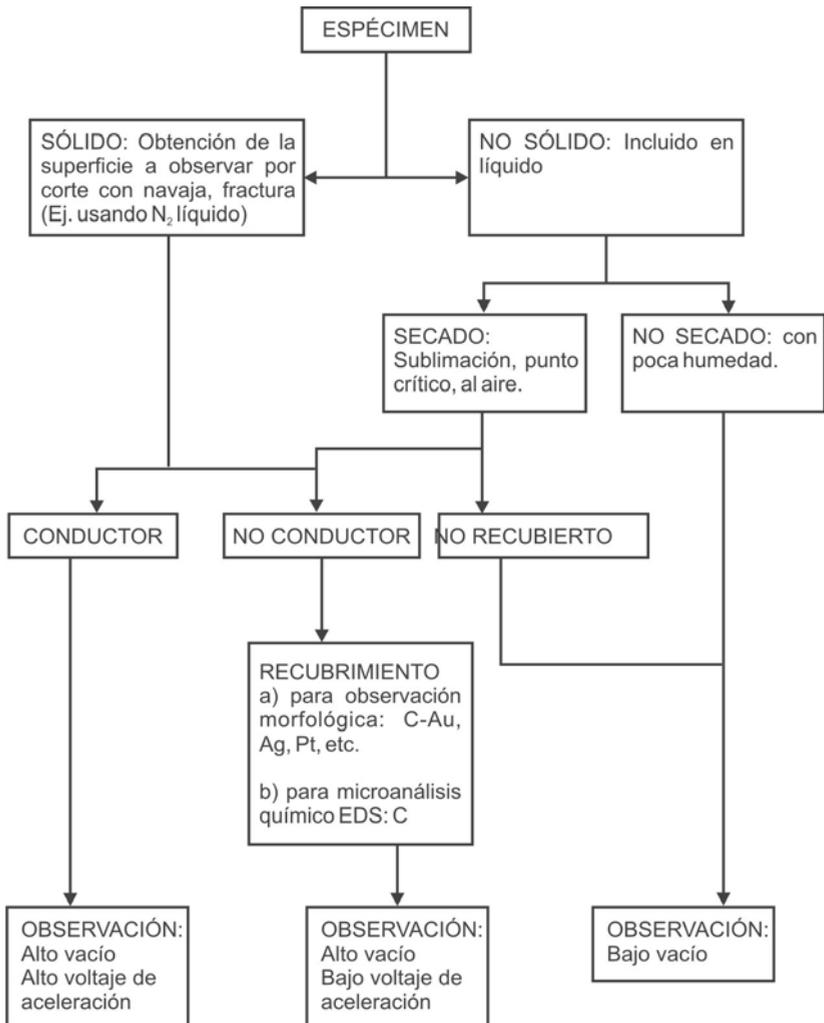
El oro posee también un alto coeficiente de emisión de electrones secundarios, y es fácilmente evaporado desde la canastilla de tungsteno, pero tiene la tendencia a crear aglomerados durante el recubrimiento por lo que, para formar una capa uniforme sobre la superficie del espécimen, es necesario formar una cubierta bastante gruesa de oro para asegurar que se forme una película continua.

Un prerrecubrimiento con carbón da como resultado pequeños núcleos críticos de igual tamaño cuando se recubre con una subsiguiente capa de metal (ej. Au). Sin embargo, el carbón no emite muchos electrones secundarios, por lo que se emplea cuando se va a estudiar la emisión de rayos  $X$  o imágenes formadas por electrones retrodispersados, en los que la presencia de átomos metálicos puede alterar los resultados.

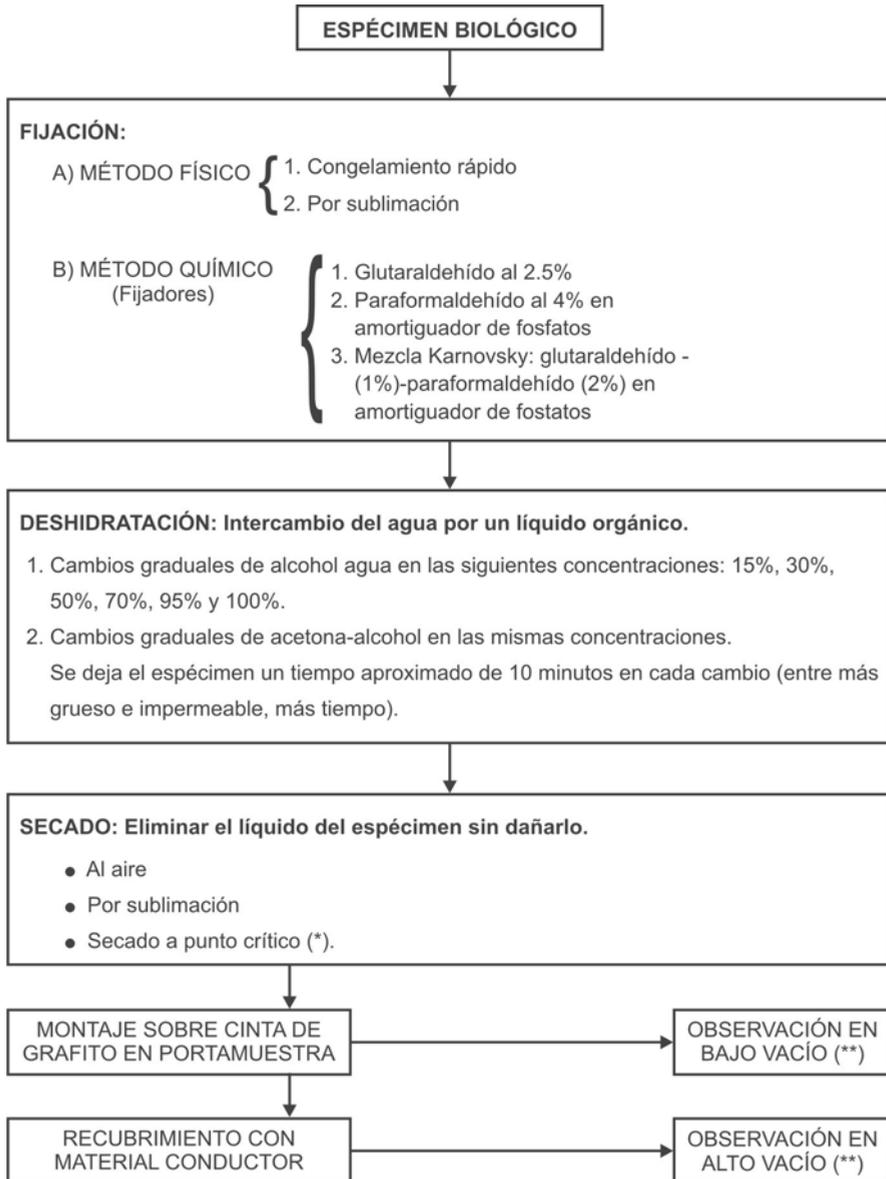
**Grosor del recubrimiento.** En términos prácticos, el grosor del recubrimiento depende del voltaje de aceleración, la corriente del haz y del tiempo de exposición al haz al que se someta el espécimen. Es difícil asegurar un depósito fino, pero en general se recomiendan recubrimientos menores a 10 nm y, para especímenes biológicos, se recomienda una cubierta de 15 a 25 nm.

El grosor del material evaporado puede regularse variando la cantidad de metal que se pone a evaporar o el tiempo de evaporación. En la práctica, es común medir el espesor mediante el color de una tarjeta de cartulina blanca o portaobjetos de vidrio que se coloca debajo de los portamuestras, que puede dar rápidamente un grosor estimado. Para la mayoría de los especímenes, una capa de carbón visible de color chocolate y una de oro de color bronce-rojizo por reflexión de la luz son suficientes. Para el aluminio, una cubierta depositada de grosor suficiente dará un color azul con luz transmitida.

## 9.2 Esquema ordinario de preparación de especímenes



### 9.3 Esquema general de preparación de especímenes biológicos



### \* 9.4 *Secado a punto crítico*

Este método se basa en que, en la mayoría de los líquidos volátiles, la interfase líquido-gas desaparece y la tensión superficial es cero a cierta presión y temperatura, este punto es denominado punto crítico.

Se podría considerar eliminar directamente el agua por punto crítico, pero la temperatura crítica del agua es muy alta (374 °C) y quemaría al espécimen, por lo que el agua debe ser reemplazada primero por solventes orgánicos como el alcohol o la acetona en la deshidratación y después por fluidos transicionales como el CO<sub>2</sub>, cuya temperatura crítica es de aproximadamente 31 °C a 7.39 Mpa (1073 psi) o el freón (monoclorotrifluorometano) a 28 °C y 3.87 (561 psi) Mpa.

Al sumergir el espécimen en un líquido transicional, éste reemplaza al solvente intermediario y, al ser llevado al punto crítico, pasa a la fase gaseosa sin cruzar por la interfase líquido-gas y, por lo tanto, sin los problemas de la tensión superficial, por lo que el tejido queda intacto.

### 9.5 *Preparación de muestras metálicas*

Las muestras metálicas son buenas conductoras y no necesitan recubrimiento conductor, por lo que su preparación es relativamente sencilla comparada con las muestras biológicas. Así, el método que se usa para preparar muestras metálicas para MEB es básicamente el mismo que en luz reflejada o en petrografía. A continuación se describe la secuencia generalmente seguida:

1. Cortar una sección con la zona de interés por medio de un disco de carburo de silicio enfriado con agua.
2. Si la muestra es demasiado pequeña para el paso de pulido, incluir la muestra metálica en una resina termo-resistente en un rango de presión de 24 a 31 Mpa y en un rango de temperatura de 140 a 150 °C, o en resina epóxica a temperatura ambiente (elevando suavemente la temperatura para endurecerla).
3. Hacer un prepulido por fricción sucesiva de la muestra en lijas de carburo de silicio en rangos desde 75 a 15 µm (lijas #180 a 600).
4. Pulir la superficie a espejo con polvo de alúmina o pasta de diamante en el rango de 6 a 0.05 µm.

5. Finalmente, efectuar un sobre ataque en la superficie de la muestra con un reactivo químico para revelar su microestructura. Este procedimiento consiste en dejar el reactivo químico en contacto con la superficie del metal un mayor tiempo del normalmente empleado para microscopia de luz, ya que en el MEB el contraste de la imagen es producido por el relieve en la superficie de la muestra, a diferencia del microscopio de luz donde el contraste es dado por los diferentes colores. Así, el sobre ataque provocará un desgaste suficiente en la superficie del espécimen para revelar límites de grano o la microestructura.

### ***9.5.1 Preparación de muestras con productos de corrosión o fracturas***

En estudios de muestras con productos de corrosión, fracturas, deposición metálica, deformación plástica e inclusiones, no es necesario un pulido o ataque. Sin embargo, debe tenerse cuidado en su preparación, como se menciona en seguida.

**Productos de corrosión.** En corrosión, la preparación requiere mucho cuidado debido a que generalmente el material depositado por corrosión es soluble en agua (específicamente cloruros). Por ejemplo, el proceso de corte utiliza comúnmente agua que puede disolver los cloruros en forma de sales presentes en fracturas o sobre la superficie del material; para evitar este problema, se deben usar otros solventes como aceite mineral, alcohol isopropílico, keroseno, etc.

Sin embargo, algunos de estos materiales tienen desventajas, ej. el aceite mineral puede penetrar en fracturas y huecos, y es difícil de eliminar, los alcoholes pueden absorber agua del medio ambiente y consecuentemente reaccionar con el espécimen.

**Fracturas.** La correcta interpretación de una fractura depende principalmente de eliminar el material extraño (óxido) que encubre sus características reales, lo que da conclusiones erróneas. Además, una pieza fracturada puede perder información por daño mecánico al ser removida de sus alrededores o en el transporte de un lugar a otro. Para evitarlo, la fractura puede ser protegida temporalmente con una gasa o algodón, pero hay que tener precaución al quitarla pues estos materiales pueden adherirse y afectar la interpretación.

También debe evitarse tocar la fractura con los dedos; de preferencia, hay que mantener las dos mitades de una fractura unidas.

El daño por corrosión en una fractura puede evitarse secando lo mejor posible la fractura con aire comprimido, que además removerá cualquier material extraño, e inmediatamente colocar la pieza metálica.

Otro factor importante en la preparación de muestras fracturadas para ser observadas en el MEB es la limpieza, mediante la cual se pretende remover cubiertas protectoras, productos de corrosión, óxidos y depósitos de polvos que dificultan la interpretación de la fractura. No obstante, antes de la limpieza debe tenerse en cuenta que existe la posibilidad de que esos depósitos puedan contener información de la causa de la fractura. Entre las técnicas empleadas para la limpieza se encuentran:

### ***9.5.2 Limpieza de superficies de fractura***

- Aire comprimido.
- Tratamiento con solventes inorgánicos, ya sea por inmersión o inyectados por medio de una bomba, para remover aceite, grasa o cubiertas plásticas.
- Tratamiento con ácido suave o con una solución alcalina (dependerá del metal) que ataque los depósitos, pero no al metal base. Este recurso debe usarse como última opción pues destruye frecuentemente los detalles finos en la fractura. Para la limpieza de aleaciones base hierro, se usan comúnmente soluciones de ácido acético, ácido fosfórico e hidróxido de sodio. Capas gruesas de óxido pueden eliminarse con citrato de amonio y soluciones de oxalato de amonio. Otro procedimiento recomendado para aleaciones base hierro es sumergirlas en una solución de ácido clorhídrico 6N con 12 g. por litro de hexametileno tetramina. Para la limpieza de aleaciones de titanio se puede usar ácido nítrico y para aleaciones de aluminio solventes orgánicos.
- La limpieza con ultrasonido es un método que no daña la fractura, consiste en sumergir la pieza en solventes orgánicos o soluciones ácidas o básicas suaves, y someterla a agitación ultrasónica. Además, para eliminar productos de corrosión y oxidación, se pueden usar soluciones de carbonato de sodio o hidróxido de sodio simultáneamente con el ultrasonido.

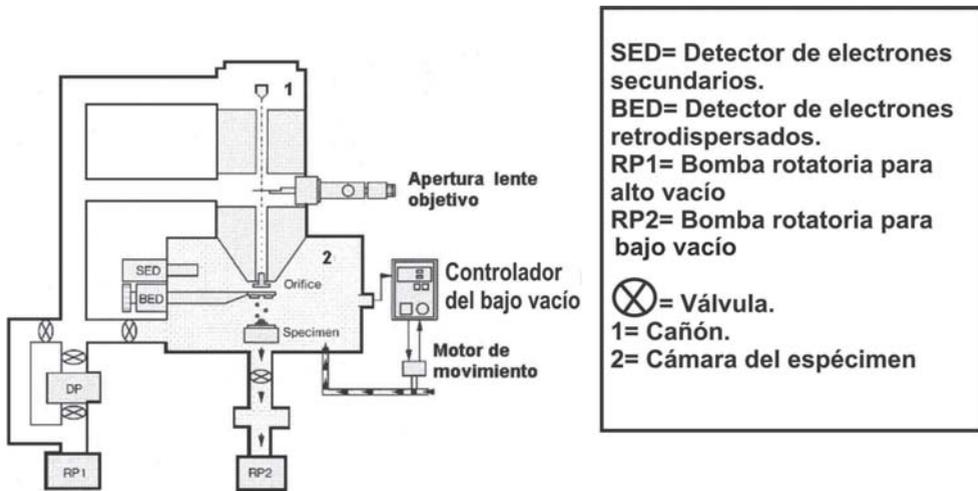
### ***9.6 Preparación de réplicas***

El estudio de fracturas en el MEB requiere a veces de la preparación de réplicas, cuando el tamaño de la muestra es muy grande y no se puede introducir a la cámara del microscopio. La preparación de réplicas consiste en hacer un molde de la superficie de la zona de interés usando para ello un material plástico como el acetato de celulosa, Triafol (un acetobutirato) o colodión. Previo a la preparación de la réplica es importante remover contaminantes, después se coloca una gota de acetona sobre la superficie de la muestra y encima, sin presionar, el acetato de celulosa (con un grosor de por lo menos 0.125mm). Se debe esperar aproximadamente 20 minutos y despegar la réplica. A continuación la réplica se recubre con grafito para ser observada en el MEB.

## 10. Microscopio Electrónico de Barrido de Bajo Vacío

El microscopio electrónico de barrido de bajo vacío SEM-LV (*Scanning Electron Microscope Low-Vacuum*) es usado para observar especímenes no conductores, que contienen relativamente poca agua y que se deforman al ser procesados de manera convencional. Éste equipo permite observarlos directamente en modo de bajo vacío, sin tener que deshidratarlos o recubrirlos con material conductor, lo que evita la introducción de artefactos por el procesamiento.

Las principales diferencias entre un MEB convencional y un MEB de bajo vacío son el sistema de evacuación (**Figura 36**) y el tipo de señal que forma la imagen. El MEB convencional consta de un solo sistema de evacuación (una bomba rotatoria y una difusora o turbomolecular) que mantiene al alto vacío la columna electrón-óptica y la cámara del espécimen.



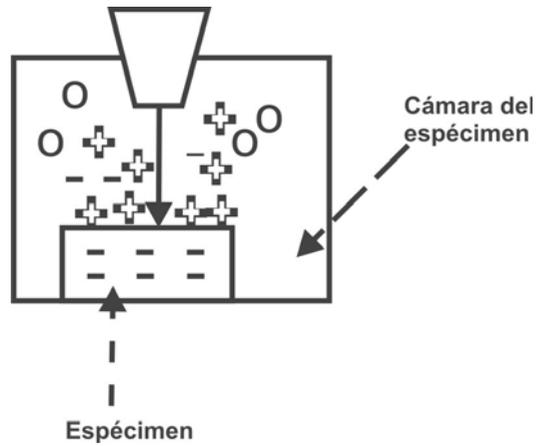
**Figura 36.** Esquema de un microscopio electrónico de barrido de bajo vacío, donde se muestra la localización de las dos bombas rotatorias (RP1 y RP2). RP1 se encarga de evacuar la columna electrón-óptica y a la bomba difusora (DP) para trabajar en modo de alto vacío, mientras que RP2 evacua la cámara del espécimen para el modo de bajo vacío. (Takeo, *et al.*, 1996).

El MEB, de bajo vacío está equipado con dos sistemas de evacuación: el primero constituido de una bomba rotatoria y una difusora conectadas a la columna electrón-óptica (**Figura 36**) para mantenerla al alto vacío; el segundo consta de una bomba rotatoria conectada a la cámara del espécimen (**Figura 36**) para producir el bajo vacío (entre 6 a 270 Pa). Así, los vacíos en la columna electrón-óptica y en la cámara del espécimen se realizan separadamente, por lo que este equipo puede trabajar tanto en modo de alto vacío como en bajo vacío.

Sin embargo, se debe tener en cuenta que, si se requiere observar un espécimen en el modo de bajo vacío, se sacrificará resolución, sobre todo si se trata de observar microestructuras (poros, flagelos, etc.) a altos aumentos ( $>10,000 \times$ ), pues la señal de electrones retrodispersados (de alta energía, pero de menor resolución que la de electrones secundarios) es la que se utiliza para formar la imagen en el monitor de TV.

Surge la pregunta de cómo se logra observar un espécimen no conductor en modo de bajo vacío sin que éste se cargue. La explicación es la siguiente: algunos de los electrones del haz primario atraviesan la cámara del espécimen y alcanzan a llegar a él y lo cargan negativamente (**Figura 37**), pero otros electrones del haz primario colisionan en su camino con las moléculas de gas residual (del bajo vacío) y las ionizan; estas moléculas ionizadas son atraídas entonces hacia la superficie cargada del espécimen (**Figura 37**), neutralizando la carga electrostática y permitiendo así que el espécimen no conductor (sin una cubierta conductora) pueda ser observado sin carga.

Debido a que existen moléculas de aire en la cámara del espécimen (en modo de bajo vacío), los electrones secundarios que salen de la muestra no logran alcanzar al detector y ésta es la razón por la cual en modo de bajo vacío son los electrones retrodispersados los que forman la imagen, cuyo contraste está muy relacionado con la densidad atómica de la muestra; así, entre mayor número atómico tenga una zona determinada, ésta se observará más brillante en comparación con una de menor número atómico.



**Figura 37.** Neutralización de la carga en la superficie del espécimen en un MEB en modo de bajo vacío. Algunos electrones del haz primario logran llegar a la superficie del espécimen (flecha continua); como ésta no es conductora, se carga negativamente (-) y otros electrones al colisionar con las moléculas de aire en la cámara del espécimen, las ionizan (+, -), entonces los iones positivos (+) se van a pegar a la superficie de la muestra y la neutralizan. De esta forma, un espécimen no conductor no se carga durante su observación en el MEB-LV.

# TABLA DE ENERGÍAS DE RAYOS-X CARACTERISTICOS (Energías en keV)

		Número atómico																																			
		←																																			
		M $\alpha$																																			
		L $\beta$																																			
		K $\alpha$																																			
H 1	0.052	Li 3	0.11	Be 4	0.11	B 5	0.18	C 6	0.28	N 7	0.39	O 8	0.52	F 9	0.67	Ne 10	0.85	He 2																			
Na 11	1.04	Mg 12	1.25	Al 13	1.48	Si 14	1.74	P 15	2.01	S 16	2.30	Cl 17	2.62	Ar 18	2.95	K 19	3.31	Kr 36																			
Ca 20	3.7	Sc 21	4.08	Ti 22	4.5	V 23	4.95	Cr 24	5.41	Mn 25	5.9	Fe 26	6.4	Co 27	6.92	Ni 28	7.47	Cu 29	8.04	Zn 30	8.63	Ga 31	9.24	Ge 32	9.87	As 33	10.53	Se 34	11.21	Br 35	11.9	Kr 36	12.63				
Rb 37	13.37	Sr 38	14.14	Y 39	14.93	Zr 40	15.74	Nb 41	16.58	Mo 42	17.44	Tc 43	18.32	Ru 44	19.23	Rh 45	20.16	Pd 46	21.12	Ag 47	22.10	Cd 48	23.10	In 49	24.13	Sn 50	25.19	Sb 51	26.27	Te 52	27.38	I 53	28.51	Xe 54	29.66		
Fr 87	85.12	Ra 88	87.43	Ac 89	89.79	Th 90	92.19	Pa 91	94.64	U 92	97.14	Np 93	99.96	Pu 94	102.29	Am 95	104.95	Cm 96	107.67	Bk 97	110.45	Cf 98	113.29	Es 99	116.21	Fm 100	119.21	Md 101	122.42	No 102	125.90	Lr 103	129.68	Rn 86	132.81		
Cs 55	30.85	Ba 56	32.06	La 57	33.30	Ce 58	34.56	Pr 59	35.86	Nd 60	37.18	Pm 61	38.53	Sm 62	39.91	Eu 63	41.32	Gd 64	42.76	Tb 65	44.22	Dy 66	45.72	Ho 67	47.25	Er 68	48.81	Tm 69	50.41	Yb 70	52.03	Lu 71	53.69	Rn 86	88.5		
55	4.28	56	4.46	57-71	4.65	58	4.84	59	5.03	60	5.23	61	5.43	62	5.63	63	5.84	64	6.06	65	6.27	66	6.50	67	6.72	68	6.94	69	7.18	70	7.41	71	7.65	85	88.5		
85	85.12	86	87.43	87	89.79	88	92.19	89	94.64	90	97.14	91	99.96	92	102.29	93	104.95	94	107.67	95	110.45	96	113.29	97	116.21	98	119.21	99	122.42	100	125.90	101	129.68	102	132.81	103	136.15
102	120.2	103	122.42	104	124.65	105	126.88	106	129.11	107	131.34	108	133.57	109	135.80	110	138.03	111	140.26	112	142.49	113	144.72	114	146.95	115	149.18	116	151.41	117	153.64	118	155.87	119	158.10	120	160.33

## 11. Glosario

**Aumento en el MEB.** Número de veces que se está incrementando el tamaño del objeto en la imagen. Al variar el aumento, se cambia la corriente de las bobinas de barrido y, por lo tanto, el tamaño del área que barren con el haz de electrones. Las lentes que controlan los aumentos principalmente son las bobinas de barrido y no la lente objetivo como en el microscopio de luz.

**Análisis químico cualitativo.** Tipo de análisis utilizado para determinar qué elementos químicos se encuentran en un determinado sitio del espécimen.

**Análisis químico cuantitativo.** Tipo de análisis usado para determinar la concentración de cada elemento químico que compone un determinado lugar en el espécimen.

**Angstrom (Å).** Unidad de longitud ( $1\text{Å} = 0.1\text{ nm} = 10^{-10}\text{ m}$ ).

**Astigmatismo.** Aberración de las lentes electromagnéticas debida a defectos de fabricación en las piezas polares. Por lo tanto el campo magnético no será uniforme ni simétrico axialmente y, además, el poder de refracción será diferente en los dos planos mutuamente ortogonales que pasan a través del eje. Como resultado de esto, el haz de electrones no será enfocado en un punto sino que parecerá una elipse. Si hay astigmatismo en la lente objetivo, no se podrá enfocar la imagen adecuadamente y permanecerá borrosa.

**BSE.** Abreviatura en inglés de electrones retrodispersados.

**Crossover.** La primera imagen de la nube de electrones que salen de la punta del filamento y que se forma entre el cátodo y el ánodo.

**Distancia de trabajo.** ( $WD = work\ distance$ ). La distancia desde la base de la pieza polar de la lente objetivo a la superficie del espécimen. Si se quiere incrementar la profundidad de campo en la observación de una muestra, es necesario incrementar la WD.

**EDS = Energy Dispersive Spectrometer.** Técnica que usa un detector semiconductor (Si-Li) para medir las energías de los rayos-X emitidos por el espécimen.

**Electron beam.** Término en inglés empleado para referirse al haz de electrones acelerado que atraviesa la columna del MEB al vacío.

**Electron gun.** Término en inglés usado para referirse al cañón del MEB, donde se genera el haz de electrones. Consiste en un cátodo (filamento de W, LaB<sub>6</sub> o de emisión de campo), un cilindro de Wehnelt y un ánodo.

**Electrón probe.** Término en inglés empleado para referirse al haz de electrones que es enfocado sobre la superficie del espécimen.

**EPMA.** Abreviatura en inglés de “Electrón Microprobe analysis”. Consiste en utilizar un haz muy fino de electrones acelerados para analizar químicamente una zona muy pequeña sobre la superficie de un espécimen, sin destruirlo.

**Método de correcciones ZAF.** Correcciones por número atómico (Z), absorción (A) y fluorescencia (F); que realiza el *software* de microanálisis químico por EDS.

**Límite de resolución.** Describe la capacidad que tiene un sistema óptico para mostrarnos detalles muy pequeños de una estructura. Se define como la distancia mínima entre dos puntos en el objeto, la cual puede resolver el instrumento óptico como dos puntos separados en la imagen.

**Microsonda.** Un MEB es usado básicamente para observar la morfología de un objeto, no necesariamente para realizar análisis químico elemental. Pero, si tiene detectores de rayos X, podrá cuantificarlos por su energía o por su longitud de onda. Un MEB provisto de uno o varios espectrómetros por dispersión de longitud de onda de rayos “X (WDS) y de los aditamentos necesarios para realizar específicamente microanálisis químico, es conocido como microsonda.

**Nanómetro (nm)** = Unidad de longitud.  $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ .

**Pascal (Pa).** Unidad usada principalmente en la ingeniería del vacío.  $1 \text{ Pa} = 10 \text{ } \mu\text{bar}$ ,  $133 \text{ Pa} = 1 \text{ Torr} = 1 \text{ mm Hg}$ .

**Piezas polares.** Las piezas por medio de las cuales se concentra el campo magnético de las lentes condensadora y objetivo en eje axial de la columna del MEB. Son fabricadas con un material de alta permeabilidad como hierro Armco.

**SE.** Abreviatura en inglés de electrones secundarios.

**Spot size.** Término en inglés utilizado para referirse al botón en el MEB de la lente condensadora ó al diámetro del haz.

**Vacío.** Estado de un espacio, el cual contiene gas con una presión menor que la presión atmosférica.

**Voltaje de aceleración.** Se refiere a la diferencia de potencial entre el cilindro de Wehnelt y el ánodo. Se usa para acelerar los electrones emitidos desde el cátodo e irradiarlos sobre el espécimen.

Work Distance (WD) o Distancia de Trabajo. Es la distancia de la base de la lente objetivo al punto focal de esta lente. Nota: este punto focal estará sobre el espécimen solo cuando la imagen está enfocada.



## ***Bibliografía***

- Chandler, J.A. 1977. *X-ray Microanalysis in the Electron Microscope*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam, 547 pp.
- Everhart, T.E. and Thornley, R.F.M. 1960. "Wide-band detector for micro-microampere low-energy electron currents". *J.Sci Instrum.* 37, 246-248.
- Goldstein Joseph I., E. Newbury, P. Echlin, D. Joy, C. Fiori, el Lifshin. 1992. *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*. Plenum Press. New York, 820 pp.
- Hayat, M. A., 1975. *Principles and Techniques of Scanning Electron Microscopy. Biological Applications*. Van Nostrand Reinhold Co., New York. 4,1-221.
- JEOL. LTD. 1981. *Instructions 4-Crystal X-Ray spectrometer 35CF*. Tokio, Japan. 42 pp.
- Kenichi Tsutsumi, Toshiaki Suzuki and Yuji Nagasawa. 2001. "Effective methods to prevent charging in Auger Electrón Spectroscopy". *Application & Research Center, JEOL News.* 36E (1).
- Knoll, M. y E. Ruska. 1932. *Z Physik.* 78, 318-339.
- Kurt, F.J. Heinrich and D.E. Newbury, 1986. *Electron probe X-Ray microanalysis, In Metals Handbook.* 9a. Ed., Material Characterization. 10, 516-536.
- McMullan D. 1953. "An improved scanning electron microscope for opaque specimens". *Proc. Inst. Electr. Engrs.* 100, Part II, 245-249. Reprinted in: *Selected Papers in Electron optics.* MS94 (Ed. Hawkes PW). SPIE milestones. 186-200.
- Prasad K.V., M.V. Shankar, G.N. Subbana, and K.B.R. Varma. 1995. "Principles of Scanning Electronic Microscope (SEM) for Structural Characterization". In: *Handbook of advanced materials testing.* Ed. Nicholas P. Chremisinoff, Paul N. Chremisinoff. USA, 51-63.
- Philips. 1995. *Manual for the course SEM-EDX Microanalysis*. Philips Electron Optics. Application Laboratory. Copyrights Philips Electron Optics, Eindhoven, Netherlands. 1-50.

- Reed, S. J. B. 1975. *Electron microprobe analysis*. 2da. Ed. University press Cambridge. Pág. 1-326.
- Reed, S. J. B. 1993. *Electron microprobe analysis*. Cambridge University Press. Second edition. 1-326.
- Takeo Suzuki and Tatsuki Toda. 1996. *Low-Vacuum SEM and its application to plankton observation*. JEOL NEWS. Tokyo 192 Japan. 32E (1), 31-34.
- Takeo Suzuki, Mikiko Hioka, Jun Suzuki, Iwao Murata, Rie Murata, and Satoshi Morozumi. 1998. "Observation of cryptosporidium using a low-vacuum SEM". *JEOL NEWS*. 33E (1), 32-34.
- Termo-NORAN. 2001. *Energy-dispersive x-ray microanalysis. An introduction*. Middleton, Wisconsin. 1-54.
- Vázquez Nin G., O. Echeverría. 2000. *Introducción a la microscopía electrónica aplicada a las ciencias biológicas*. Fac. de Ciencias-UNAM. Fondo de Cultura Económica. México. 1-168.
- Verhoeven, J.D., 1986. "Scanning electron microscopy". In: *Metals Handbook*. 10 ed. Iowa State University. 491-515.
- Welton, Joann E., 1984. *SEM petrology atlas. Methods in exploration series. The American association of petroleum geologist*. USA. 1-232.
- Zworykin, V.K., Hillier, J., and Snyder, R.L. 1942. "A scanning electron microscope". *ASTM. Bull.* 117, 15-23.

## ***Referencias en Internet***

Termo electron corporation. Auger electron spectroscopy (AES). USA.

[http://www.thermo.com/com/cda/products/product\\_application\\_details/1,1063,11250,00.html](http://www.thermo.com/com/cda/products/product_application_details/1,1063,11250,00.html)

[fecha consulta: 090206]

Barker William and John Fournelle.1996. *X ray compositional microanalysis: EDS and WDS*. Chapter 9 Electron Microscopy: Theory and Practice Department of Geology and Geophysics, University of Wisconsin-Madison.

<http://www.geology.wisc.edu/~johnf/660.html>

[fecha consulta: 090206]

JEOL. A guide to scanning microscope observation. Catálogo No.1501A176. Japan.

[http://www.jeol.com/sem/docs/sem\\_guide/tbcontd.html](http://www.jeol.com/sem/docs/sem_guide/tbcontd.html)

[fecha consulta: 090206]

Kenichi Tsutsumi, Toshiaki Suzuki and Yuji Nagasawa. 2001. Effective methods to prevent charging in Auger Electrón Spectroscopy. Application & Research Center, JEOL News. 36E (1)

[http://www.jeoleuro.com/news/jeolnews/NEWSHOME/JEOLNews\\_36E\\_1\\_old.htm](http://www.jeoleuro.com/news/jeolnews/NEWSHOME/JEOLNews_36E_1_old.htm)

[fecha consulta: 090206]

Kurt, J. Lesker Company. 2004. Vacuum products. Technical notes.

[http://www.lesker.com/newweb/Vacuum\\_Pumps/Individual\\_Pumps/Ion\\_Pumps/Ion\\_TechNotes.cfm?CFID=1003238&CFTOKEN=11942074&section=ionpumps&init=skip](http://www.lesker.com/newweb/Vacuum_Pumps/Individual_Pumps/Ion_Pumps/Ion_TechNotes.cfm?CFID=1003238&CFTOKEN=11942074&section=ionpumps&init=skip)

[fecha consulta: 090206]

*Principios de Microscopía Electrónica de Barrido y Microanálisis por Rayos X Característicos* es una obra aprobada por el Comité Editorial de la Facultad de Química.

La edición y composición tipográfica se realizó en la Sección de Publicaciones, área adscrita al Departamento Editorial. El tiraje fue de 250 ejemplares y la impresión se hizo en los talleres de la Sección de Imprenta de la misma Facultad.

**Coordinación de Comunicación e Información  
Noviembre de 2006.**