

COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA
DEPENDIENTE DE LA PRESIDENCIA DE LA NACION
AREA INVESTIGACION, DESARROLLO Y SERVICIOS

PREPARACION Y OBSERVACION DE REPLICAS PARA
MICROSCOPIA ELECTRONICA

M. R. Marrapodi

M. Ipohorski

BUENOS AIRES
1975

I	INTRODUCCION
II	MEJORAMIENTO DEL CONTRASTE. SOMBREADO.
III	TECNICAS DE PREPARACION DE REPLICAS.
III.1	Réplica de una etapa.
III.2	Réplica de dos etapas. Réplica de tres etapas.
III.3	Réplica por extracción.
III.4	Réplica de óxido.
IV	METALIZADO.
V	PREPARACION DE SOPORTES DE PELICULAS AMORFAS.
VI	OBSERVACION DE REPLICAS EN MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISION.
VII	REPLICAS PARA MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO.

A P E N D I C E S

1	METALIZADO Y PREPARACION DE REPLICAS EN LA METALIZADORA EDWARDS.
2	PROCEDIMIENTO PARA OBTENER UNA REPLICA DIRECTA DE UN ACERO.
3	PREPARACION DE REPLICAS DE DOS ETAPAS.
4	REPLICAS POR EXTRACCION.
5	OBTENCION DE REPLICAS DE OXIDO POR ANODIZADO.

I

INTRODUCCION

Una micrografía óptica permite la observación de rasgos topográficos de superficies de muestras masivas hasta una resolución máxima de unos 0.5μ , valor limitado por la longitud de onda de la luz visible.

Las experiencias de difracción de electrones de Davisson y Germer (1927) permitieron comprobar el postulado formulado por De Broglie en 1924, según el cual la materia posee naturaleza ondulatoria, siendo la longitud de onda λ asociada a toda partícula inversamente proporcional a su energía. De esta manera un haz de electrones acelerados, por ejemplo por un potencial de 80 kV, es asimilable a una radiación de longitud de onda $= 0.0417 \text{ \AA}$, valor menor en varios órdenes de magnitud al correspondiente a la luz visible.

El conocimiento de la fuerza que ejerce un campo magnético sobre un electrón en movimiento permitió el diseño de las primeras lentes magnéticas (Bush, 1926). Las leyes de la óptica geométrica válidas para la radiación visible resultaron también aplicables a los electrones, y el desarrollo subsecuente de la óptica electrónica condujo a la construcción del primer microscopio electrónico por Knoll y Ruska en 1932. Este instrumento permitió la observación de microestructuras del orden de los $20 \text{ \AA}$ en muestras suficientemente delgadas ($500\text{-}3000 \text{ \AA}$) como para ser observadas por transmisión. En 1934 se obtuvieron las primeras micrografías electrónicas de sustancias cristalinas, utilizándose en todas estas experiencias láminas delgadas de los materiales correspondientes.

Recién en 1940, Mahl (1) sugirió la posibilidad de estudiar la topografía y distintos tipos de defectos superficiales mediante la observación en el microscopio electrónico de transmisión de réplicas delgadas de las superficies de muestras masivas. A partir de estas primeras experiencias se desarrollaron innumerables técnicas de replicación hasta llegar a la actual evaporación de carbono.

Con el nombre genérico de réplica se denomina a toda película delgada, constituida generalmente por un material amorfo, que contiene los rasgos topográficos de una superficie dada. El

contraste de la imagen electrónica (*) correspondiente a una réplica está por lo tanto directamente relacionado con la topografía de la muestra original. Si la superficie libre de la réplica es más bien plana (Fig.2) la intensidad transmitida sigue directamente las variaciones de espesor de la réplica. Se puede observar claramente que el perfil de intensidades corresponde al perfil de la superficie estudiada. En cambio, si la superficie libre de la réplica sigue los contornos de la superficie replicada (Fig.3) el perfil de intensidades no corresponde exactamente a sus variaciones de topografía, aunque de todos modos la interpretación de las imágenes sigue siendo sencilla.

Una aproximación al primer caso son las réplicas obtenidas con ciertas lacas de polímeros (Formvar) o con capas de carbono de espesor mayor que unos 1000 Å. Las películas de óxidos metálicos formados anódicamente y las réplicas delgadas de carbono constituyen algunos ejemplos de réplicas de espesor uniforme según la normal local de la superficie estudiada. Tanto en estos casos extremos como en los de una réplica real, el hecho fundamental que permite el estudio de superficies es que la distribución de intensidades de la imagen electrónica de una réplica está directamente relacionada con los rasgos topográficos de la superficie a partir de la cual fué obtenida.

(*) Se entiende por imagen electrónica, o micrografía electrónica, o contraste, el registro de las intensidades electrónicas transmitidas a través de una lámina delgada dada.

II MEJORAMIENTO DEL CONTRASTE. SOMBREADO.

El contraste de una réplica aumenta notablemente si la superficie a estudiar se "sombrea" bajo un cierto ángulo con un metal pesado antes de la evaporación de carbono. La imagen de la réplica compuesta así obtenida resalta variaciones en la topografía que no hubieran sido visibles en una réplica simple de carbono. El efecto del sombreado previo sobre las intensidades transmitidas puede ser observado en la Fig.4, para un caso sencillo de relieve superficial.

La visibilidad de pequeños rasgos topográficos se ilustra además en la situación particular siguiente: En la Fig.5 se representa la diferencia relativa ($\Delta I/I$) entre las intensidades transmitidas a través de una rampa como la de la Fig.6 y la zona de sombra, en función del ángulo α .

La curva A corresponde a una réplica de carbono de $150 \text{ \AA}$ de espesor, sin sombreado alguno. La curva B corresponde en cambio a la misma réplica de carbono pero sombreada previamente con paladio bajo un ángulo $\beta = 75^\circ$, de espesor $t_0 = 38 \text{ \AA}$.

En la misma figura se ha trazado la línea correspondiente a un valor de $\Delta I/I = 5\%$, que en general se considera como el mínimo contraste que puede detectarse en una placa fotográfica. De esta manera el ángulo mínimo que puede poner en evidencia una réplica simple de carbono es de unos 45° (curva A). Rasgos que forman ángulos menores con la superficie de la muestra no serán visibles en la imagen de esta réplica.

En la curva B, correspondiente a la réplica compuesta, se observa en cambio que son visibles elevaciones que forman ángulos muy pequeños, del orden de los 4° , debido al efecto del sombreado previo.

El contraste de la imagen electrónica de una réplica puede mejorarse aumentando, dentro de un cierto rango, el espesor t_0 de metal evaporado. Para una réplica dada el contraste es mayor si se opera el microscopio electrónico con tensiones de aceleración más bajas. (Ver sección VI).

En la Fig.6 se puede ver que el sombreado también permite medir la altura de un defecto superficial dado. Consideremos

por ejemplo una saliente o rampa de altura h , que forma un ángulo α con la superficie de la muestra. Si el sombreado se efectúa bajo un ángulo β respecto de la normal a la superficie, la longitud de la "sombra"(*) proyectada por el obstáculo es

$$x = h \cdot \operatorname{tg} \beta$$

Midiendo x a partir de la micrografía, conociendo β , (generalmente del orden de los 45°) y la magnificación de la fotografía, puede determinarse inmediatamente la altura h .

(*) En una copia positiva lo que se denomina "sombra" es en realidad la zona donde la intensidad transmitida es máxima.

III TECNICAS DE PREPARACION DE REPLICAS

Son dos los métodos que se utilizan comunmente para la obtención de réplicas de muestras metálicas.

- el método de una etapa, que permite la obtención de réplicas directas de alta resolución.
- el método de dos etapas, que implica la preparación de una réplica intermedia.

En el primer caso la resolución máxima obtenible es de unos 20-30 Å, mientras que en el segundo, detalles inferiores a los 150 Å son prácticamente inobservables.

III.1 Réplicas de una etapa.

El procedimiento mencionado en la sección anterior es el que permite la obtención de las réplicas más fieles de una muestra dada. El depósito directo de carbono sobre la superficie reproduce su topografía con mayor exactitud que cualquier otro método, obteniéndose de esta manera la máxima resolución.

El único inconveniente de la réplica de una etapa es la destrucción de la superficie replicada durante la separación de la película de carbono de la muestra.

La secuencia de operaciones para la obtención de una réplica es básicamente la siguiente:

- En primer lugar, la superficie debe estar convenientemente preparada. En el caso general de los metales, las muestras se preparan previamente con papeles abrasivos y pasta de diamante, y se atacan luego con el reactivo adecuado para producir el relieve que luego se evidenciará en la réplica.
- La muestra se coloca dentro de la cámara de evaporación. Se sombrea evaporando un metal pesado bajo un cierto ángulo y se deposita luego carbono en forma perpendicular a su superficie. En el apéndice I se detalla este procedimiento para la metalizadora Edwards del laboratorio. En algunos casos suele enmascararse parte de la superficie con alguna laca o barniz dejando libre solamente la zona que se desea observar.

- La muestra se raya con una aguja afilada o con una cuchilla de modo de formar un reticulado de unos 2 mm por 2 mm. Las líneas del reticulado dejan el metal expuesto a la acción del reactivo que se utilizará luego para remover la película de carbono.
- La remoción de las láminas de carbono (ver apéndice 1) de la superficie del metal puede hacerse mediante un ataque químico o electrolítico. El reactivo depende del material, utilizándose generalmente las mismas soluciones que se usan para el ataque metalográfico de dicho material. En todos los casos las condiciones de ataque (concentración del reactivo, voltaje) deben ser tales que el desprendimiento de la réplica sea más bien lento. Una evolución violenta de gas podría causar la rotura de la réplica. La separación de la película de carbono puede demorar desde unos pocos segundos hasta algunas horas, dependiendo fundamentalmente de la naturaleza de la muestra.
- Las réplicas desprendidas de la superficie del metal deben ser lavadas convenientemente con agua destilada para eliminar todo resto de reactivo. Se suele agregar a los baños de lavado gotas de alguna sustancia que reduce la tensión superficial a fin de evitar el movimiento algunas veces violento que pueden sufrir las réplicas al pasar del reactivo a la solución de lavado. De este modo se facilita también la recolección de las réplicas sobre las grillas de microscopía electrónica. Un eventual enrollamiento de las réplicas sobre si mismas se puede eliminar introduciéndolas en alcohol etílico y luego en agua destilada.
- Una vez recogidas sobre las grillas, las réplicas se dejan secar sobre un papel de filtro. Conviene dejarlas siempre guardadas en una caja de Petri para evitar posibles contaminaciones.

En general todo método mediante el cual se pueda disolver el metal sin afectar la réplica es adecuado y da buenos resultados. En el caso de existir dificultades en la remoción de una réplica se puede recurrir a una sustancia separadora, soluble en agua, que se evapora en vacío sobre la superficie de la muestra antes del sombreado. Sumergiendo el espécimen en agua destilada la réplica quedará flotando inmediatamente. La resolución de la réplica no se verá mayormente afectada si la capa separadora es suficientemente delgada. Puede ocurrir también que la réplica directa extraiga partículas de la superficie replicada o que queden adheri

das a ella algunos productos de la solución con la que se separó la réplica. Estos elementos contaminantes pueden ser disueltos en una solución diluida de ácido nítrico, que no daña la réplica ni disuelve el sombreado si éste fué hecho con oro o cromo. La réplica debe lavarse luego en agua destilada para eliminar todo resto de ácido.

Recientemente se han puesto a punto técnicas de separación en seco de réplicas directas, conservándose de esta manera la superficie original de la muestra. Uno de estos métodos consiste en lo siguiente: Se sombrea la muestra con un compuesto formado por partes iguales de platino y carbono, y luego se deposita carbono para aumentar la resistencia mecánica de la réplica. Se cubre luego el espécimen y su réplica con una delgada película de una solución de 2% de Parlodian en acetato de amilo (el Parlodian es una forma no explosiva y altamente purificada de nitrato de celulosa). Esta sustancia es la que permite el fácil desprendimiento en seco de la réplica; como se rompe fácilmente se hace un recubrimiento con una capa gruesa (0.5 mm) de una solución saturada de un compuesto polivinílico (Mowital) que cumple la función de soporte. Una vez seca la película combinada de Pt-C/C/Parlodian/Mowital se desprende de la superficie tomando el borde con unas pinzas y tirando suavemente, sumergiéndola luego en un solvente que disuelva el parlodian dejando libre la réplica (acetato de amilo o acetona). Este método ha dado muy buenos resultados con todo tipo de materiales, no así con aceros.

Mediante la réplica de una etapa es posible llegar a observar rasgos topográficos del orden de los 20-30 Å. Para ello la réplica misma no debe tener estructuras propias y el tamaño de los granos del metal de sombreado debe ser mucho más pequeño que el de los detalles de la superficie replicada. La estructura del sombreado es muy sensible a la contaminación de la superficie y por lo tanto se obtienen mejores resultados mientras mayor sea el vacío dentro de la cámara de evaporación. Además, la granularidad del sombreado será menor si la evaporación es más bien lenta.

Actualmente se suelen usar también electrodos de carbono/platino con lo cual el sombreado se realiza durante la misma evaporación del carbono y se minimiza el efecto de tamaño de grano del material de sombreado.

La Fig.7(a) muestra un ejemplo de réplica directa sin sombreado previo correspondiente a una estructura perlítica en un

acero laminado..

En la Fig.7(b) se puede observar una réplica de un acero similar en la cual se ha efectuado un sombreado previo con oro. Puede notarse el notable aumento del contraste de las láminas de perlita.

III.2 Réplicas de dos y tres etapas.

Réplicas de dos etapas.

Este método es el más comunmente usado en el laboratorio puesto que no implica la destrucción de la superficie que se estudia. En la Fig.8 se indica esquemáticamente la preparación de una réplica de doble etapa. Las rugosidades de la superficie se replican primero mediante una capa intermedia de barniz o plástico. Se prepara a continuación una réplica compuesta a partir de esta réplica intermedia evaporando sobre ella un metal pesado y carbono (como se describe en la Sección III.1). El último paso consiste en la disolución de la etapa intermedia en un solvente adecuado.

La preparación de la etapa intermedia puede hacerse depositando sobre la superficie un barniz o laca líquida o también presionando sobre ella una cinta de plástico (acetato de celulosa). En este último caso es necesario aplicar previamente a la superficie una pequeña cantidad de solvente para disolver localmente el plástico. Una vez seca la réplica intermedia suele despegarse por sí sola si el material utilizado en su preparación fué barniz; si se usó cinta de plástico se debe recurrir a una pinza para desprenderla.

Mediante este sistema se pierden detalles de la superficie original y por lo tanto la resolución de la réplica final es menor que la de una réplica directa. Además en la interpretación de las micrografías se debe tener en cuenta que los rasgos topográficos se invierten: las elevaciones corresponden a depresiones en la superficie original y viceversa.

El procedimiento completo para preparar una réplica de doble etapa se describe detalladamente en el Apéndice 3.

Réplicas de tres etapas.

Si la superficie a replicar es porosa o presenta grandes rugosidades, se recurre a la llamada réplica de tres etapas.

La operación inicial consiste en obtener una primer réplica de la superficie mediante una goma de siliconas. Los pasos siguientes son los correspondientes a una réplica de dos etapas (plástico/carbono) descritos en el Apéndice 1.

También se puede utilizar la técnica desarrollada por Hall (3) que se basa fundamentalmente en la disminución de la profundidad de los poros por inmersión de la probeta en agua. Al retirar la muestra el líquido queda relleno parcialmente los poros más profundos.

En el capítulo V del libro de Desmond Kay (4) se detallan numerosas técnicas para la obtención de réplicas de partículas de pequeño radio de curvatura, materiales fibrosos y distintos tipos de sustancias orgánicas.

III.3 Réplicas por extracción.

En las primeras observaciones de réplicas se había notado la gran adherencia de pequeñas partículas de impurezas a la película de carbono (*).

Fisher (5), teniendo en cuenta este fenómeno, fué el primero en sugerir la posibilidad de extraer partículas de la superficie de una muestra compuesta por dos o más fases.

El procedimiento general para obtener una de estas réplicas, llamadas de extracción, es el siguiente: Sobre una mues-

(*) Para obtener réplicas limpias se obviaba este inconveniente limpiando previamente la superficie estudiada con una primer capa de barniz o plástico. Este procedimiento se sigue utilizando actualmente repitiéndose la operación incluso dos o más veces.

tra pulida y atacada convenientemente se deposita una capa de carbono mediante el procedimiento convencional. Luego por medio de un reactivo selectivo se disuelve la matriz, quedando de esta manera adheridos solamente los precipitados de la segunda fase. En la Fig.9 se puede observar una réplica en la cual se han extraído carburos de hierro (Fe_3C , cementita) a partir de un acero.

La ventaja de este tipo de réplicas es inmediata, puesto que en la micrografía electrónica se observan los precipitados originales. A partir del diagrama de difracción de los mismos se puede obtener información acerca de su estructura y eventualmente de su naturaleza.

En el apéndice 4 se detalla la secuencia de operaciones para la extracción de carburos de un acero.

III.4 Réplicas de óxido.

Una réplica de óxido se obtiene oxidando superficialmente una muestra mediante un anodizado y desprendiendo luego la película así formada. Se utiliza para ello un cátodo inerte generalmente de platino o acero inoxidable. Si el anodizado es parejo la película de óxido sigue directamente el relieve de la superficie.

En el apéndice 5 se detalla el procedimiento para obtener una réplica de óxido de una muestra de aluminio de 99.99%.

La Fig.10 muestra una réplica de óxido obtenida de una muestra de aluminio de 99.99% pulida electrolíticamente y anodizada.

IV

METALIZADO

En el laboratorio es a menudo necesario depositar capas finas de metal sobre la superficie de distintas muestras. Tal es el caso de materiales no conductores que necesitan ser metalizados para su observación en el microscopio de barrido electrónico (6) o el sombreado de réplicas para microscopía electrónica de transmisión.

Los depósitos de metales se hacen en una campana de vacío. El metal se coloca en un soporte adecuado calentado por una corriente eléctrica controlada desde el exterior. El metalizado de superficies para microscopía de barrido se hace preferentemente con una aleación de oro/paladio dada la alta emisión de electrones secundarios de estos elementos. También puede hacerse con aluminio, que se suele evaporar a partir de un alambre de tungsteno arrollado en espiral (el aluminio fundido queda adherido al alambre por tensión superficial).

La evaporación de oro se utiliza tanto en microscopía electrónica de barrido como de transmisión. Para pequeñas cantidades de oro la evaporación puede realizarse a partir de un alambre de tungsteno de aproximadamente 0.5 mm de diámetro; cantidades mayores se evaporan a partir de un soporte fabricado con una lámina de molibdeno de 0.2-0.5 mm de espesor, 3-6 mm de ancho, con una pequeña depresión en su centro. En microscopía por transmisión se usa también cromo, que se evapora desde una espiral de tungsteno.

En la tabla V del libro de Desmond Kay (4) se indican distintos tipos de soportes para la evaporación de los metales más comunmente utilizados en el laboratorio.

PREPARACION DE SOPORTES DE PELICULAS AMORFAS.

Ocasionalmente es necesario disponer de películas delgadas, constituidas por material amorfo, para ser utilizadas como soporte para la observación de muestras tales como polvos, pequeñas partículas suspendidas en un líquido, etc. La elección del material depende de la naturaleza del especimen, pero comunmente se usan películas de plástico y de carbono evaporado. Con Formvar y Colodión es posible preparar películas plásticas de espesores inferiores a los 200 Å, pero cuando se desea trabajar con alta resolución se prefiere utilizar películas de carbono evaporado que, aunque más gruesos, son más estables frente al haz electrónico.

La preparación de una película delgada de plástico es relativamente simple. En una caja de Petri o recipiente adecuado se coloca una rejilla fina de alambre y sobre ésta una cierta cantidad de grillas de microscopía electrónica. Se agrega agua destilada hasta cubrir completamente las grillas y se dejan caer unas pocas gotas del plástico disuelto en el solvente adecuado (2% de colodión en acetato de amilo o 2% de Formvar en dicloroetileno). La solución se extiende sobre toda la superficie del agua y una vez que el solvente se ha evaporado queda flotando sobre ella una película delgada del plástico. Este se recoge sobre las grillas levantando simplemente el soporte de alambre.

Una película delgada de carbono puede prepararse fácilmente de la manera siguiente: Se limpia un vidrio portaobjetos, se sumerge en agua con detergente y se deja escurrir. Se coloca el vidrio en la cámara de evaporación y se deposita carbono mediante el método ya descrito. Se sumerge luego el vidrio en un recipiente con agua destilada. La lámina de carbono flota inmediatamente sobre la superficie debido a la capa delgada de detergente adherida originalmente al vidrio. (Es prácticamente imposible despegar una película de carbono evaporada sobre un vidrio limpio). La película se recoge sumergiendo una grilla debajo de la misma y levantándola bruscamente.

Existen numerosas maneras de preparar muestras sobre películas amorfas (4). Si las partículas están suspendidas en un líquido lo usual es colocar una gota de éste sobre la grilla y esperar hasta que se deposite un número considerable de partículas sobre la película. El exceso de líquido se remueve mediante un papel filtro. Para la observación de partículas en forma de polvo suele dar buen resultado dejarlas caer directamente sobre la grilla. Un número apreciable de partículas queda adherido directamente a la película de carbono.

VI OBSERVACION DE REPLICAS EN MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISION.

El manejo del microscopio electrónico está descrito en los manuales correspondientes y en particular la secuencia de operaciones para la colocación de la muestra y la obtención de imágenes en el microscopio electrónico Phillips EM 300 se detalla en una publicación del laboratorio (7). Por lo tanto nos limitaremos solamente a mencionar algunas normas generales que conviene tener presente en la observación de réplicas.

La elección del voltaje acelerador depende fundamentalmente del espesor de la muestra observada. Un haz de mayor energía permite observar detalles de muestras de gran espesor que podrían ser indetectables con tensiones de aceleración bajas. Pero como por otra parte la difusión de electrones por un objeto dado disminuye al aumentar el potencial acelerador, en una muestra amorfa el contraste aumenta al disminuir el voltaje de aceleración. Por lo tanto la observación de muestras de espesores menores que unos 1000 Å, como es el caso de las réplicas de carbono, se realiza con potenciales más bien bajos (40-80 kV).

En cuanto a la intensidad del haz electrónico, el criterio general que se sigue durante una observación es mantenerla en un valor bajo compatible con un brillo adecuado en la imagen final. De este modo se disminuye la probabilidad de ruptura de la réplica. Por último, un buen contraste se obtiene normalmente con una apertura de objetivo de 40 μ ; éste se puede mejorar usando aperturas menores (de 20 a 25 μ).

Si se desea observar una misma réplica durante un tiempo más bien prolongado conviene utilizar el dispositivo de anticontaminación del microscopio, así como también las aperturas delgadas llamadas de "no contaminación".

En general la interpretación de las micrografías no presenta mayores dificultades. En una réplica directa sombreada las zonas más oscuras corresponden a escalones o pendientes que han estado en posición más bien normal a la dirección de sombreado, pero en una réplica de doble etapa los rasgos topográficos se invierten. Normalmente no existen ambigüedades en la determinación de la dirección de sombreado. En caso de duda siempre se puede observar alguna partícula extraña sobre la misma réplica (impurezas, etc.)

que presenta un efecto de sombreado claro a partir del cual se puede conocer la dirección de sombreado (ver Fig.1). La interpretación de réplicas sin sombreado previo es también simple, aunque puede presentar algunas indeterminaciones que provienen principalmente de su superficie libre.

La resolución de una réplica depende de su naturaleza y su forma. Las réplicas de plástico sin sombreado como las de Formvar tienen en general una baja resolución en comparación con las réplicas finas de carbono evaporado. En este último caso el contraste es producido por las variaciones de inclinación de la lámina y la resolución está dada principalmente por el tamaño de los cristalitos depositados sobre la réplica y fluctúa entre los 50 y 100 Å. Si se utilizan electrodos de carbono/plátino, que disminuyen el efecto de tamaño de grano de sombreado, la resolución está limitada por la estructura propia de la réplica, que a su vez depende del vacío en la cámara de evaporación. Se han obtenido mediante este método réplicas que han puesto en evidencia detalles del orden de los 30 Å (4).

VII REPLICAS PARA MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO

En el microscopio electrónico de barrido es posible observar directamente muestras de tamaño apreciable sin preparación especial previa. Sin embargo cuando el material que se desea analizar sobrepasa las medidas permitidas por los portamuestras y por alguna razón no se puede reducir al tamaño adecuado, se recurre a algún tipo de réplica.

El método utilizado comunmente se basa en la aplicación de un derivado celulósico (barniz de nitrocelulosa, acetato de celulosa) sobre la superficie (ver Fig.11, a y b). Después de 1 a 2 horas de secado la réplica se retira cuidadosamente y se procede a su metalizado tal como se indica en la sección IV. Conviene que el espesor de la capa metálica evaporada sea el mínimo posible para no enmascarar los detalles finos de la superficie. Para ello es conveniente evaporar primero una delgada capa de carbono, puesto que espesores de tan sólo 10 Å ya son totalmente coherentes (8). De este modo evaporando luego una capa muy fina de metal prácticamente toda la superficie de la réplica quedará recubierta uniformemente.

Si la superficie es extremadamente irregular o porosa conviene preparar una primera impresión con una goma de siliconas y luego replicar este molde de acuerdo al procedimiento indicado anteriormente (réplica de tres etapas). Puesto que en este método se pierden los detalles finos, se utiliza únicamente en casos extremos.

BIBLIOGRAFIA

- 1) MAHL, H., Zeit f. Tech.Phys., 21, 17, (1940).
- 2) BARNES, C.R., Metallurgical Transactions, 1, 1085, (1970).
- 3) HALL, D.M., Brit.J.Appl.Phys., 8, 295, (1957).
- 4) "Techniques for Electron Microscopy", Ed.by Desmond Kay, Blackwell, Cap.V, (1965).
- 5) FISHER, R.M., "Electron Metallography Symposium on Techniques" Am.Soc.Testing Materials, Spec.Tech., Pub.Nº155, (1953).
- 6) IPOHORSKI, M. y MARRAPODI, M.R., "Microscopía Electrónica de Barrido", Comisión Nacional de Energía Atómica, CNEA/TE 31/125, (1973).
- 7) MARCONE, N.J. e IPOHORSKI, M., "Operación del Microscopio Electrónico Philips EM 300", X Curso Panamericano de Metalurgia, Comisión Nacional de Energía Atómica, PMM/A-155, (1974).
- 8) DUMLER, I. y MARRAPODI, M.R., Thin Solid Films, vol.12, Nº2, pp.279-285, (1972).

A P E N D I C E 1

METALIZADO Y PREPARACION DE REPLICAS EN LA METALIZADORA EDWARDS MODELO 12E6/1229.

El evaporador de carbono es esencialmente una campana de vacío convencional que incluye una bomba mecánica y una bomba difusora de aceite (ver Fig.12). Dentro de la cámara de evaporación propiamente dicha se encuentran diferentes terminales de tensión y dispositivos para la evaporación de metales a partir de filamentos o navecillas. En particular el evaporador Edwards modelo 12E6/1229 dispone de 4 terminales independientes de tensión. Asimismo, algunos evaporadores poseen dispositivos que permiten enmascarar algunas muestras, o parte de ellas, durante las sucesivas evaporaciones, controlándose este proceso desde el exterior de la campana.

Las instrucciones precisas para realizar una evaporación de carbono y metales están consignadas al final de este apéndice. Tanto en la evaporación de carbono como en los distintos metalizados es necesario tener en cuenta que el vacío debe ser superior a 10^{-4} mm de Hg. De esta manera se disminuye la contaminación de la superficie del especimen y las colisiones con las moléculas de gases residuales.

En general, la evaporación de oro se realiza sobre navecillas de molibdeno, mientras que el aluminio se evapora a partir de una gota formada sobre un filamento de molibdeno o de tungsteno en forma de espiral (ver sección IV). La evaporación de carbono se realiza siempre a partir de dos electrodos que forman un arco. Algunos dispositivos también permiten rotar la muestra durante la evaporación con el objeto de obtener una película continua y uniforme.

Al preparar una réplica de carbono convencional conviene evaporar primero el elemento metálico y luego la capa de carbono que forma la réplica propiamente dicha. Estas operaciones pueden invertirse, pero en este caso el contraste es menor. A título de ejemplo, para realizar un buen sombreado es suficiente evaporar totalmente una lámina de oro de 0.2 mm de espesor y 0.5 por 0.5 mm a una distancia de aproximadamente 10 cm de la muestra, bajo un ángulo conveniente (30-60°). Un espesor adecuado de carbono se obtiene haciendo saltar el arco durante unos 2 segundos, a una distancia de unos 15 cm de la muestra. Si es necesario el espesor de la

película de carbono puede medirse por el conocido método de Tolansky.

El evaporador Edwards posee dos rangos de tensión y corriente que se seleccionan por medio de una única llave. Para evaporar metales a partir de un filamento o navecilla se aplican 10 volts(60 Amp) y para carbono 30 volts(20 Amp).

Finalmente, después de toda evaporación la campana debe quedar siempre en vacío.

Secuencia de operaciones para la preparación de réplicas en la metalizadora Edwards.

- 1) Conectar la llave principal (tablero de fusibles) y abrir la llave de paso de agua (en la pared). Asegurarse de que las válvulas High Vacuum Valve, Roughing Line Valve y Chamber Air Admittance Valve estén cerradas.
- 2) Colocar la llave izquierda (llave 1 de la Fig.13) en la posición Rot.Pump. e inmediatamente cerrar la válvula de entrada de aire (Rotatory Pump Air Admittance Valve)
- 3) Abrir la válvula Backing Line Valve para comenzar a hacer vacío en la difusora.
- 4) Colocar la llave 1 en posición Rot.& Diff.Pump.. El aceite de la difusora demora unos 20 minutos en calentarse. Durante este tiempo se pueden realizar las operaciones siguientes, desde la 5) hasta la 11) inclusive.
- 5) Colocar la llave del instrumento Pirani (3 en la Fig.13) en SV. Con la llave 4 de la misma figura llevar la aguja del manómetro hasta la marca roja (Set voltage). Colocar luego la llave 3 en posición Head 1.
- 6) Para colocar la probeta y preparar los electrodos para la evaporación se deja primero entrar aire a la campana de vacío, abriendo la válvula Chamber Air Admittance Valve. Precaución: durante esta operación la jaula debe estar puesta.
- 7) Retirar la jaula y luego la campana teniendo cuidado que esta última no se golpee con alguno de los electrodos.

- 8) Afilar uno de los electrodos de carbono de modo que presente una punta muy aguda y lijar el otro hasta obtener una superficie plana que luego se pondrá en contacto con la punta aguda. El resorte que sostiene la punta aguda debe tener la suficiente tensión que asegure un buen contacto antes y durante la evaporación.
- 9) Colocar el filamento o navecilla para la evaporación del metal en otro de los terminales de la campana. Para evaporar oro se utiliza una navecilla de molibdeno.
- 10) Colocar la muestra a sombrear de modo que el ángulo de sombreado sea el adecuado y que la evaporación de carbono sea aproximadamente normal a la superficie de la muestra. Generalmente se usan los terminales EV3 para evaporar oro y los terminales EV4 para evaporar carbono. La llave que se usa para seleccionar los terminales es la Filament selector (6).
- 11) Colocar la campana y la jaula protectora. Cerrar la válvula Chamber Air Admittance Valve. Una vez transcurridos los 20 minutos necesarios para el calentamiento del aceite de la difusora se puede comenzar a evacuar la campana.
- 12) Cerrar la válvula Backing Line Valve.
- 13) Abrir la válvula Roughing Line Valve.
- 14) Cuando el manómetro del Pirani marca 75μ de Hg el vacío dentro de la cámara es suficiente y puede hacerse funcionar la difusora. Para ello se cierra la válvula Roughing Line Valve y se abren las válvulas Backing Line Valve y High Vacuum Valve.
- 15) Colocar la llave 5 del instrumento Penning en la posición Range 1, que corresponde a la escala I del instrumento. Cuando la aguja de dicho instrumento indica un vacío de 10^{-4} mm Hg se pasa la llave 5 a la posición Range 2, que corresponde a la escala II del Penning. Un vacío de 10^{-4} mm Hg es suficiente para evaporar carbono y oro, pero es conveniente esperar a que llegue a unos 6×10^{-5} mm Hg.
- 16) Para sombrear se coloca la llave 6 (Filament selector) en el punto correspondiente a los terminales entre los cuales se puso la navecilla (EV3).
- 17) Colocar la llave 7 del costado derecho del aparato en el punto 10 volt/60 Amp.
- 18) Colocar la llave 2 en L.T.

- 19) Asegurarse que el reóstato (8) esté en mínimo. Desconectar el Penning, colocando la llave del instrumento (5) en Off.
 - 20) Colocar el interruptor(9) en On.
 - 21) Mediante el reóstato (8) comenzar a calentar la navecilla de evaporación hasta que el metal se funda y evapore totalmente.
 - 22) Una vez evaporado todo el metal, colocar el reóstato en mínimo y el interruptor 9 en Off. Colocar la llave 2 en Off.
 - 23) Para evaporar el carbono se coloca primero la llave del costado derecho (7) en posición 30 volt/20 Amp; la llave 2 en posición RH & Carbon evaporation y el selector de filamento (6) en la posición correspondiente a los electrodos de carbono dentro de la campana (EV4).
 - 24) Se coloca el interruptor 9 de la mesa principal en On. Apretando el botón Carbon evaporation (Evaporate)(10) de la mesa principal se hace saltar el arco entre los electrodos de carbono. Para obtener un espesor normal de réplica es suficiente evaporar durante unos dos segundos.
 - 25) Poner nuevamente el interruptor 9 en Off; pasar la llave 2 a Off.
 - 26) Para retirar la muestra: cerrar la válvula High Vacuum Valve, asegurarse que la válvula Roughing Line Valve esté cerrada y abrir la válvula Chamber Air Admittance lentamente. Tener la precaución de que la jaula esté colocada durante la operación. Una vez que ha penetrado aire en la campana, ésta se retira con sumo cuidado.
- Si se desea realizar una nueva evaporación de metal o de carbono se siguen las instrucciones a partir del punto 8).

Apagado del equipo.

- 1) Colocar la campana de vidrio y la jaula protectora.
- 2) Cerrar la válvula Chamber Air Admittance.
- 3) Cerrar la válvula Backing Line.
- 4) Abrir la válvula Roughing Line para dejar la campana en vacío. Para ésto es suficiente que el instrumento Pirani llegue a 100 μ de Hg.

- 5) Llevar la llave del Pirani (3) a la posición Off.
- 6) Cerrar la válvula Roughing Line.
- 7) Pasar la llave 1 a Rotatory Pump.
- 8) Abrir la válvula Backing Line. Esperar aproximadamente media hora hasta que se enfríe el aceite de la bomba.
- 9) Pasar la llave 1 a posición Off.
- 10) Abrir la válvula Rotatory Pump Air Admittance, que permite la entrada de aire a la bomba mecánica. Este paso es muy importante pues sin él el aceite puede subir y contaminar el sistema de vacío.
- 11) Cerrar la llave de paso del agua y la llave principal del panel.

A P E N D I C E 2

PROCEDIMIENTO PARA OBTENER UNA REPLICA DIRECTA DE UN ACERO. (At. Ing. Teresa García de Castillo)

- 1) Se pule cuidadosamente la probeta.
- 2) Se ataca suavemente con Nital al 1-0.5%.
- 3) Se sombrea con oro y luego se evapora carbono tal como ya se ha detallado.
- 4) Se marca con una hoja de afeitar un reticulado del tamaño de la grilla del microscopio (aproximadamente 2 x 2 mm).
- 5) Se coloca una gota de pulido tampón sobre la muestra.
- 6) Se levanta la réplica con el pulido tampón empleando una tensión mucho menor que la que se utiliza para el pulido electro^lítico. En general un acero se pule electrolíticamente con una solución de 90% de butilcellosolve y 10% de ácido perclórico, utilizando una tensión de 40 volts. Para levantar la réplica conviene emplear una tensión de 8-10 volts solamente.
- 7) Se aplica el tampón sobre la réplica hasta que se forme una burbuja. Conviene seguir actuando con el tampón un instante más hasta que se despegue completamente la réplica. Se suelen despegar simultáneamente varias laminillas.
- 8) Se introduce la probeta en agua destilada. Las réplicas despegadas flotarán en la superficie del agua.
- 9) Se lavan las réplicas sumergiéndolas en una caja de Petri en una solución de ácido nítrico al 50% durante 10 o 15 minutos. Se lavan luego en tres recipientes distintos con agua destilada y finalmente en alcohol. Las réplicas se trasladan de un recipiente a otro sobre las grillas.
- 10) Se secan las réplicas aplicando lateralmente un papel de filtro. No se debe emplear nunca aire.

A P E N D I C E 3

PREPARACION DE REPLICAS DE DOBLE ETAPA

A) Preparación de réplicas de doble etapa usando una cinta de acetato de celulosa.

- 1) Se prepara la superficie de la muestra mediante el pulido o ataque metalográfico adecuado.
- 2) Se coloca una gota de acetona sobre la superficie a replicar.
- 3) Se aplica una cinta de acetato de celulosa sobre la superficie presionando durante unos segundos con el fin de que la parte disuelta de la película se adapte a los contornos. Si la superficie es rugosa o irregular conviene aplicar sobre ella una solución al 10% de acetato de celulosa en acetona y luego colocar y presionar la película de acetato.
- 4) Se deja secar completamente (1 a 2 horas). Generalmente la película se desprende sola, pero en caso contrario se retira cuidadosamente con una pinza.
- 5) Se coloca la película sobre un soporte adecuado (vidrio portaobjeto) teniendo la precaución de que la parte que estuvo en contacto con la superficie de la muestra quede hacia afuera. Para sujetar la película pueden usarse pequeños trozos de cinta adhesiva.
- 6) Se sombrea y se deposita carbono de acuerdo al procedimiento descrito en el Apéndice 1.
- 7) Para disolver la réplica intermedia se puede sumergir el conjunto en acetona hasta que el acetato se disuelva completamente y quede la réplica flotando en la superficie. En este caso la réplica se recoge finalmente en grillas del microscopio electrónico. Otra manera de disolver la réplica intermedia es la siguiente: se corta el conjunto en pequeños trozos de unos 2 x 2 mm que se colocan sobre las grillas del microscopio electrónico; éstas a su vez se depositan sobre una rejilla de acero inoxidable o cobre dentro de una caja de Petri. Se vierte acetona hasta un nivel en que ésta moje constantemente las grillas. Al cabo de una hora aproximadamente la película de acetato se disuelve quedando la réplica directamente depositada sobre la grilla. Si la réplica es muy frágil se puede disolver la película de

acetato sometiendo el conjunto a vapores de acetona.

- 8) En todos los casos conviene lavar las grillas con la réplica adherida en uno o más baños de acetona para eliminar posibles restos de película de acetato.

B) Preparación de réplicas de doble etapa usando barniz de nitrocelulosa. (At.: D.I.Vassallo, E.Vassallo y L.Recalde).

- 1) Se prepara adecuadamente la superficie de la muestra.
- 2) Se aplica una cierta cantidad de barniz de nitrocelulosa sobre la superficie. La viscosidad así como la cantidad de barniz adecuadas depende de la naturaleza específica de la superficie y deberán ser determinadas en cada caso.
- 3) Se deja secar entre 40 y 60 minutos y se despega cuidadosamente mediante una pinza.
- 4) Se sombrea y se deposita carbono. (Ver Apéndice 1).
- 5) Se cortan trozos de aproximadamente 2 x 2 mm y se colocan sobre grillas de microscopía electrónica dispuestas a su vez sobre una rejilla metálica.
- 6) Se coloca el conjunto en un recipiente con acetato de butilo en su fondo y un embudo cerrado conteniendo agua fría en su parte superior.
- 7) Se calienta el recipiente hasta unos 120-140°C. Los vapores de acetato de butilo van disolviendo lentamente el barniz y se condensan sobre la pared fría del embudo. Mediante este sistema cada réplica queda asentada sobre su correspondiente grilla, lista para su observación.

A P E N D I C E 4

REPLICA POR EXTRACCION. (EXTRACCION DE PRECIPITADOS DE UN ACERO SAE 3335 TEMPLADO Y REVENIDO A 600° C). (At.: Dr. José V. Ovejero García).

- 1) Se debasta la muestra con papeles abrasivos y pasta de diamante (hasta de 0.25μ).
- 2) Se atacan suavemente con picral al 2% durante aproximadamente 15 segundos.
- 3) Se deposita carbono hasta obtener una capa de color azulado.
- 4) Con una cuchilla se dibuja un reticulado de unos 2 x 2 mm.
- 5) Se pule electrolíticamente con tampón (alambre de Kantal y 10% de ácido nítrico en alcohol etílico, V = 20 volts) hasta que comiencen a desprenderse las láminas de carbono.
- 6) Se coloca la muestra en agua destilada hasta que las réplicas se desprendan completamente y floten sobre la superficie. Se deja un cierto tiempo en el agua.
- 7) Se recogen las réplicas en grillas de microscopía electrónica y se sumergen en alcohol etílico. Se dejan secar.

A P E N D I C E 5

PROCEDIMIENTO PARA OBTENER UNA REPLICA DE OXIDO DE ALUMINIO DE 99.99%. (At.: Irene A. Maier)

- 1) Se pule electrolíticamente la probeta con ácido perclórico y butilcellosolve.
- 2) Se efectúa el anodizado en una celda electrolítica usando una solución compuesta por 3% de ácido tartárico en agua, ajustada a ph 5.5 con hidróxido de amonio. Se pule durante 20 a 30 minutos con una tensión de 28 a 30 volts, utilizando un cátodo de acero inoxidable.
- 3) Con una cuchilla muy fina se raya la probeta formando un reticulado de aproximadamente 2 x 2 mm.
- 4) Se sumerge la muestra en una solución saturada de cloruro mercurico durante un minuto.
- 5) Se lava en alcohol etílico y luego se deja en agua destilada.
- 6) El ataque con cloruro mercurico (HgCl_2) prosigue estando la probeta en el agua y se van desprendiendo lentamente las películas de óxido.
- 7) Finalmente se recogen las réplicas así desprendidas en grillas de microscopía electrónica y se lava en agua destilada.

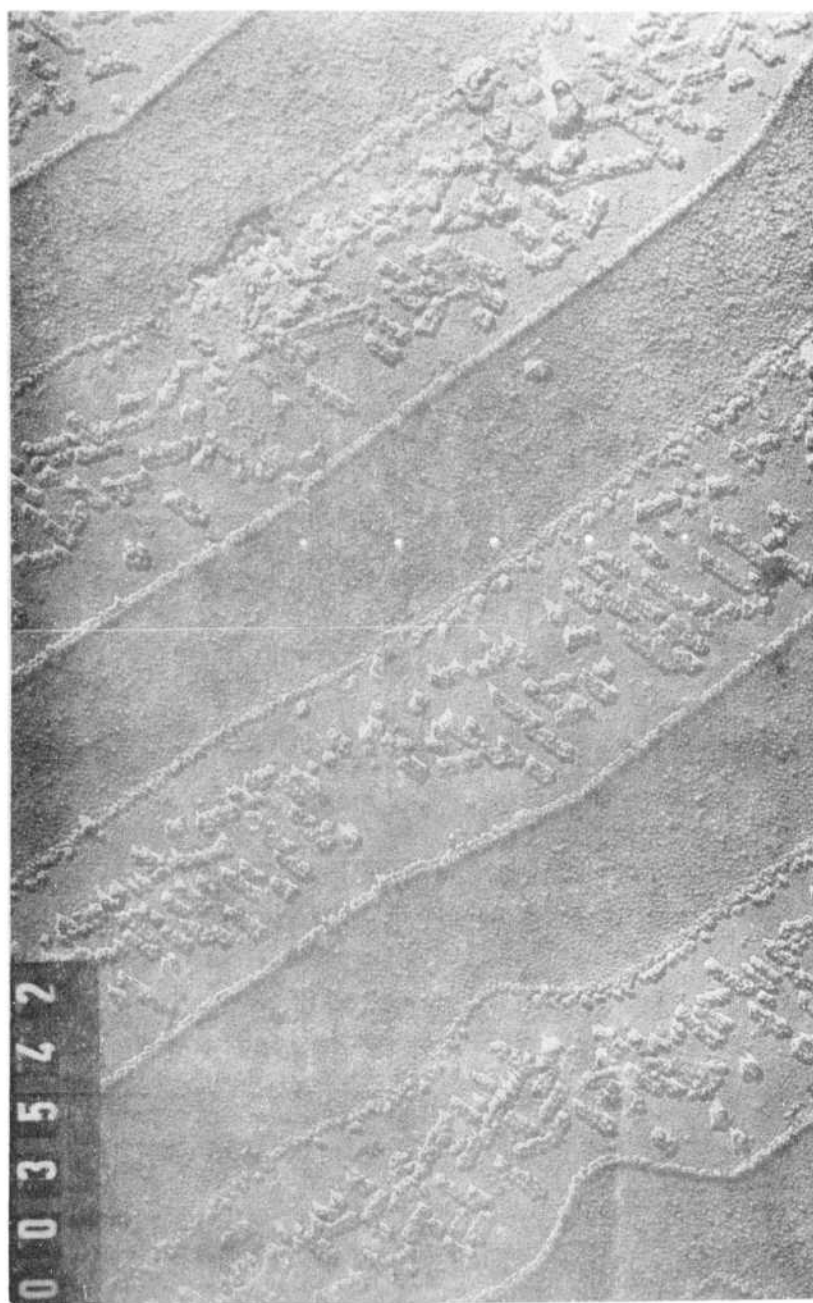


Fig.1: Réplica directa de una aleación eutéctica Al-Al₂Cu. M = 20.000x
Foto: Ana María Monti.

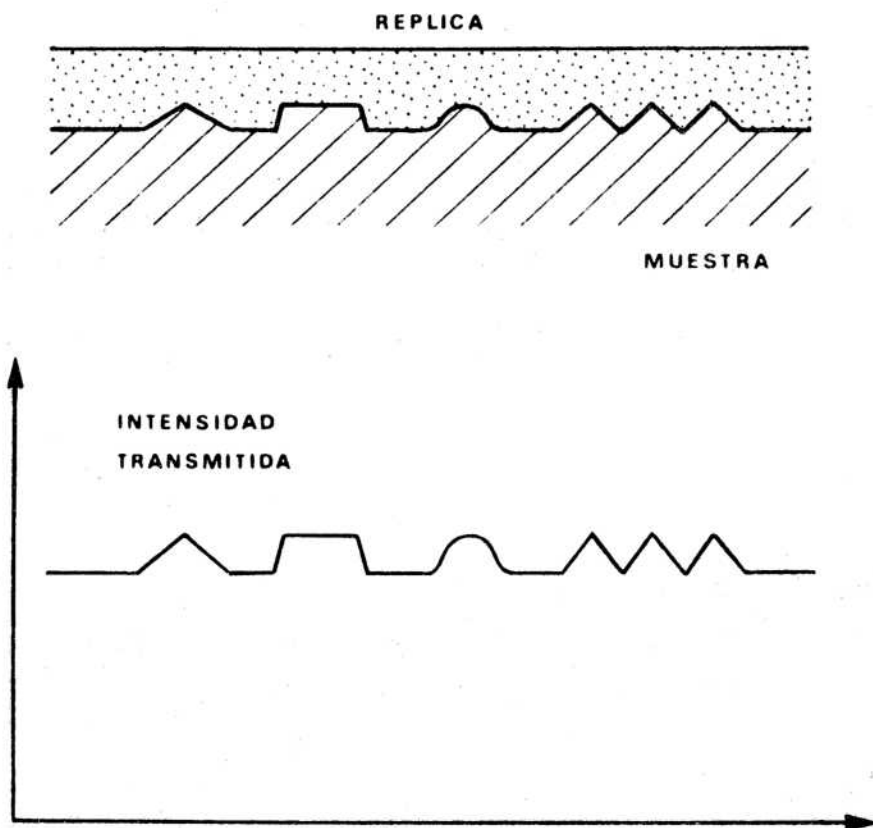


Fig.2: Variación de la intensidad transmitida a través de un réplica cuya superficie libre es plana. El perfil de intensidades sigue las variaciones de espesor de la réplica.

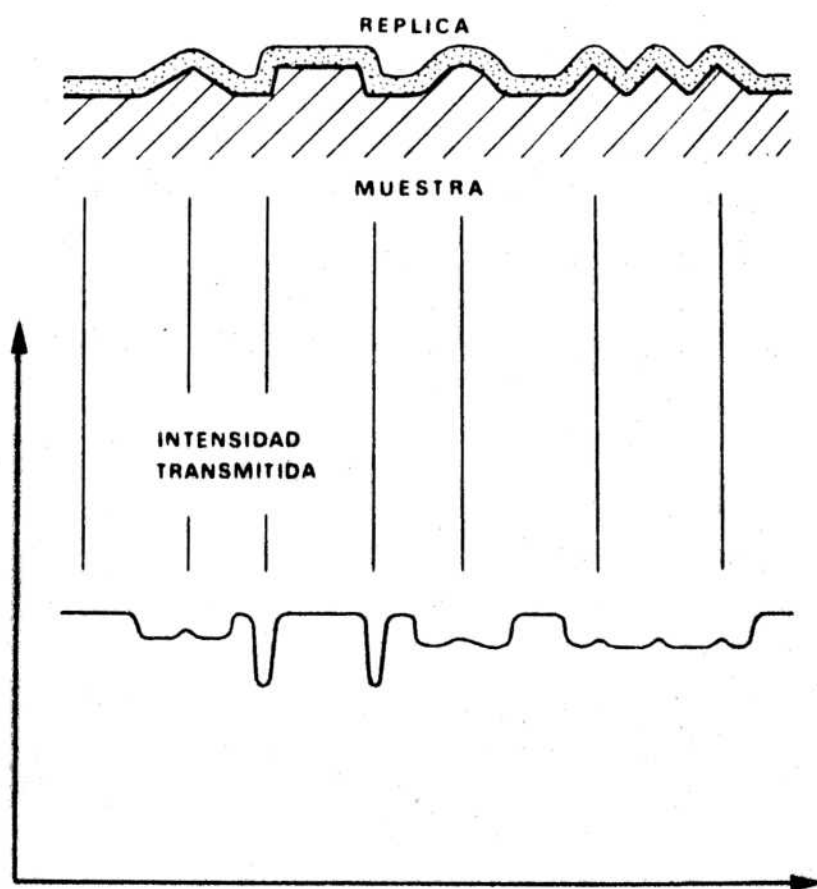


Fig.3: Variación de la intensidad transmitida a través de una réplica cuya superficie libre sigue los contornos de la muestra. El perfil de intensidades no corresponde exactamente a la topografía pero la interpretación es igualmente sencilla.

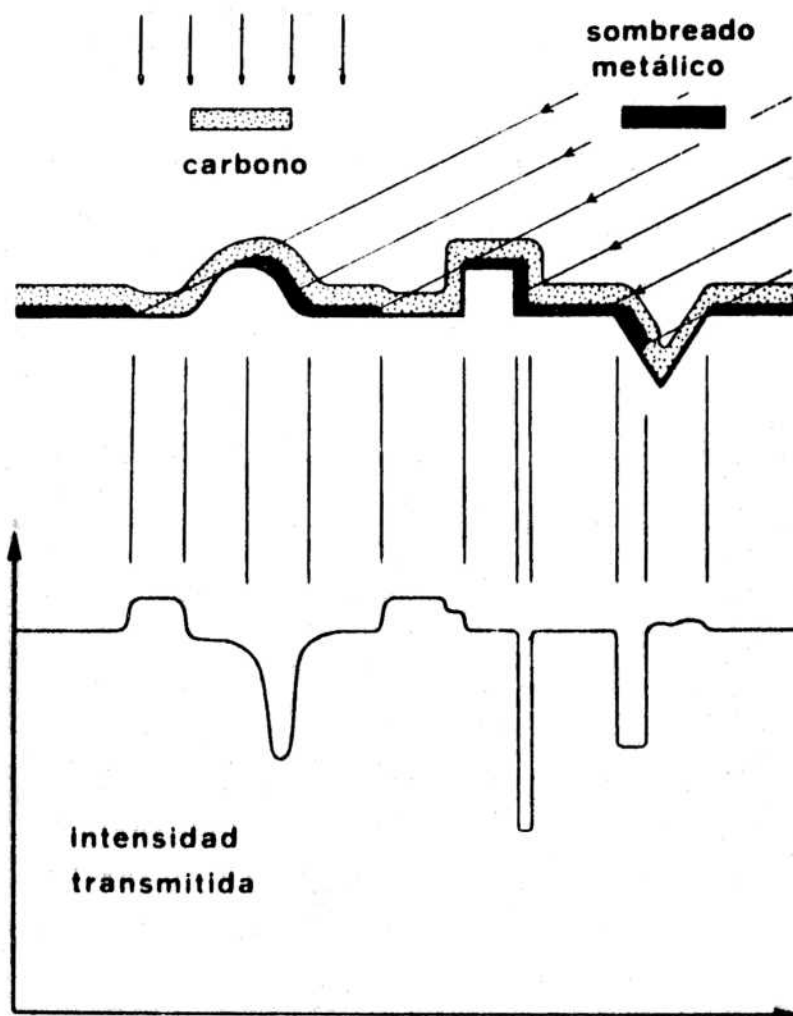


Fig.4: Variación de la intensidad transmitida a través de una réplica compuesta. Puede observarse el efecto del sombreado previo sobre las intensidades transmitidas aumentando notablemente el contraste.

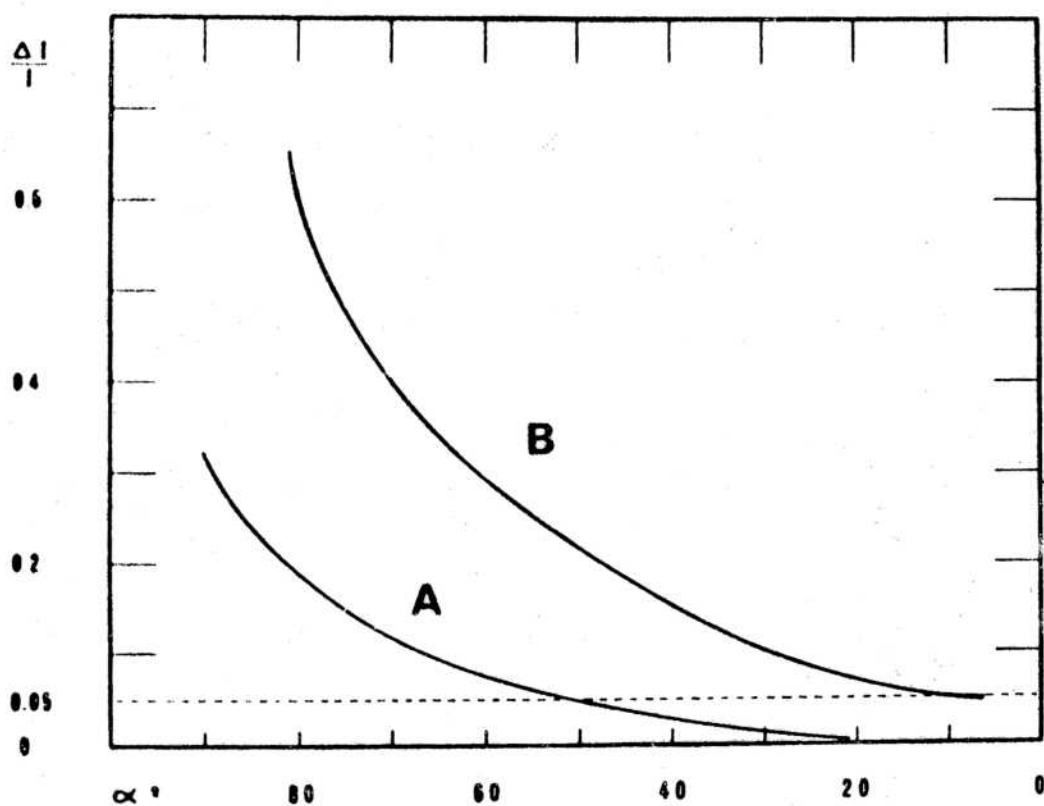


Fig.5: Variación relativa entre las intensidades transmitidas a través de una elevación que forma un ángulo α con la superficie de la muestra y sus regiones adyacentes. A : réplica simple de carbono. B : la misma réplica con sombreado previo. El valor $\Delta I/I = 5\%$ corresponde al mínimo contraste que puede ser detectado normalmente en una placa fotográfica. Nótese el efecto del sombreado previo. Elevaciones que forman solamente 4° con la superficie de la muestra pueden ser detectadas en una réplica compuesta.

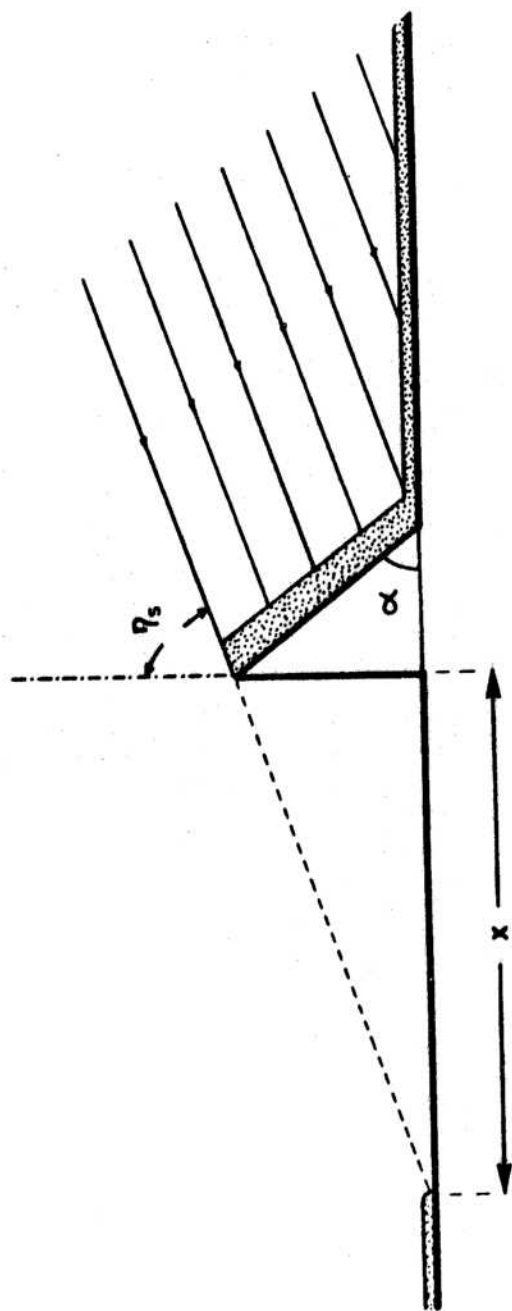


Fig.6: Efecto de un sombreado previo para evidenciar pequeños cambios de elevación en una superficie. Además de aumentar el contraste es posible medir el valor de h a partir de la longitud x de la "sombra" y el ángulo β .

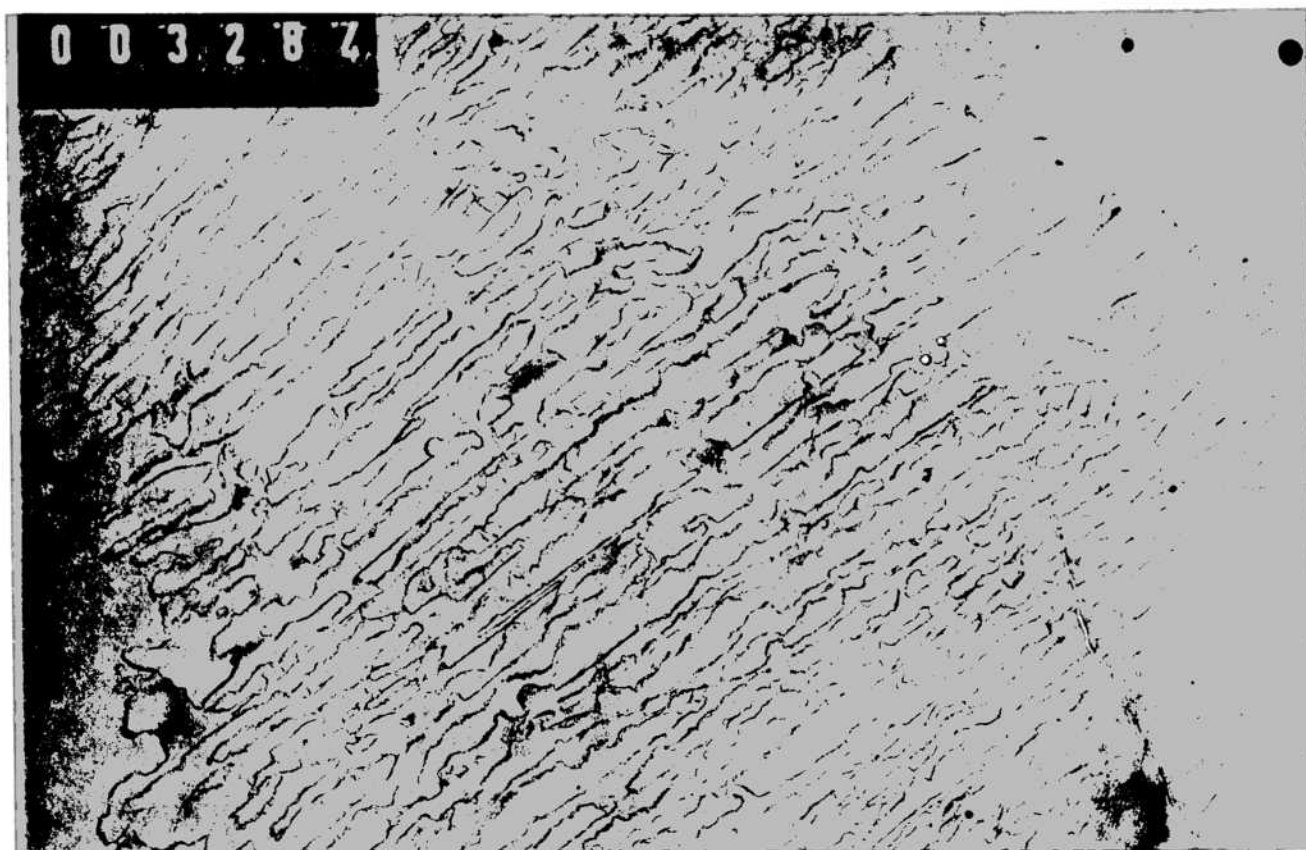


Fig.7: (a) Réplica directa, sin sombreado previo, de un acero laminado en el que se observa estructura perlítica. $M = 5000 \times$.

(b) Réplica directa de un acero similar al anterior, obtenida con sombreado previo con oro. $M = 5000 \times$.

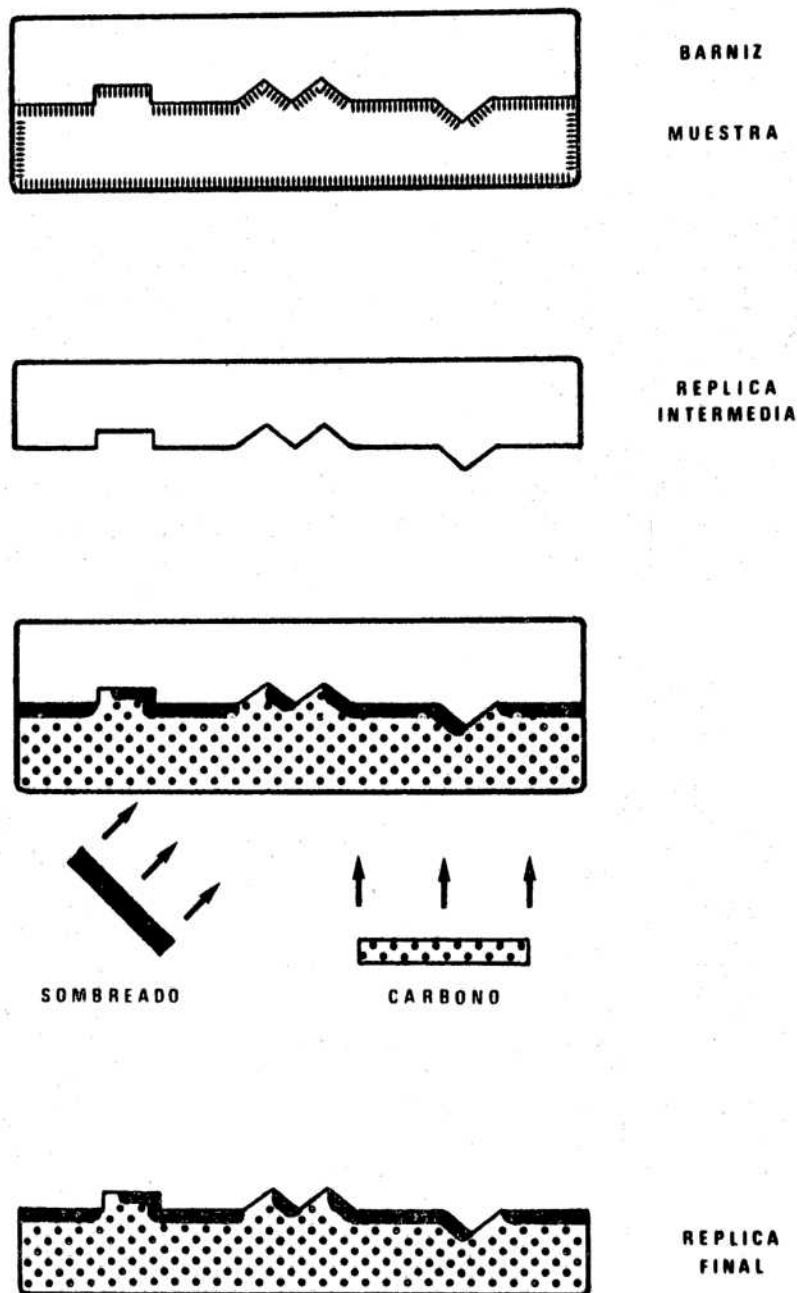


Fig.8: Preparación de una réplica de dos etapas. La topografía de la superficie se reproduce primeramente mediante una capa intermedia de barniz o película plástica. Posteriormente se prepara una réplica compuesta sombreando con un metal pesado y evaporando luego carbono. La réplica final se obtiene disolviendo la capa intermedia en un solvente adecuado.



Fig.9: Réplica de extracción obtenida a partir de un acero 3335 tratado una hora a 600°C. Se pueden observar los carburos de hierro, Fe₃C(cementita). M = 8000 x. Foto: José V.Ovejero García.

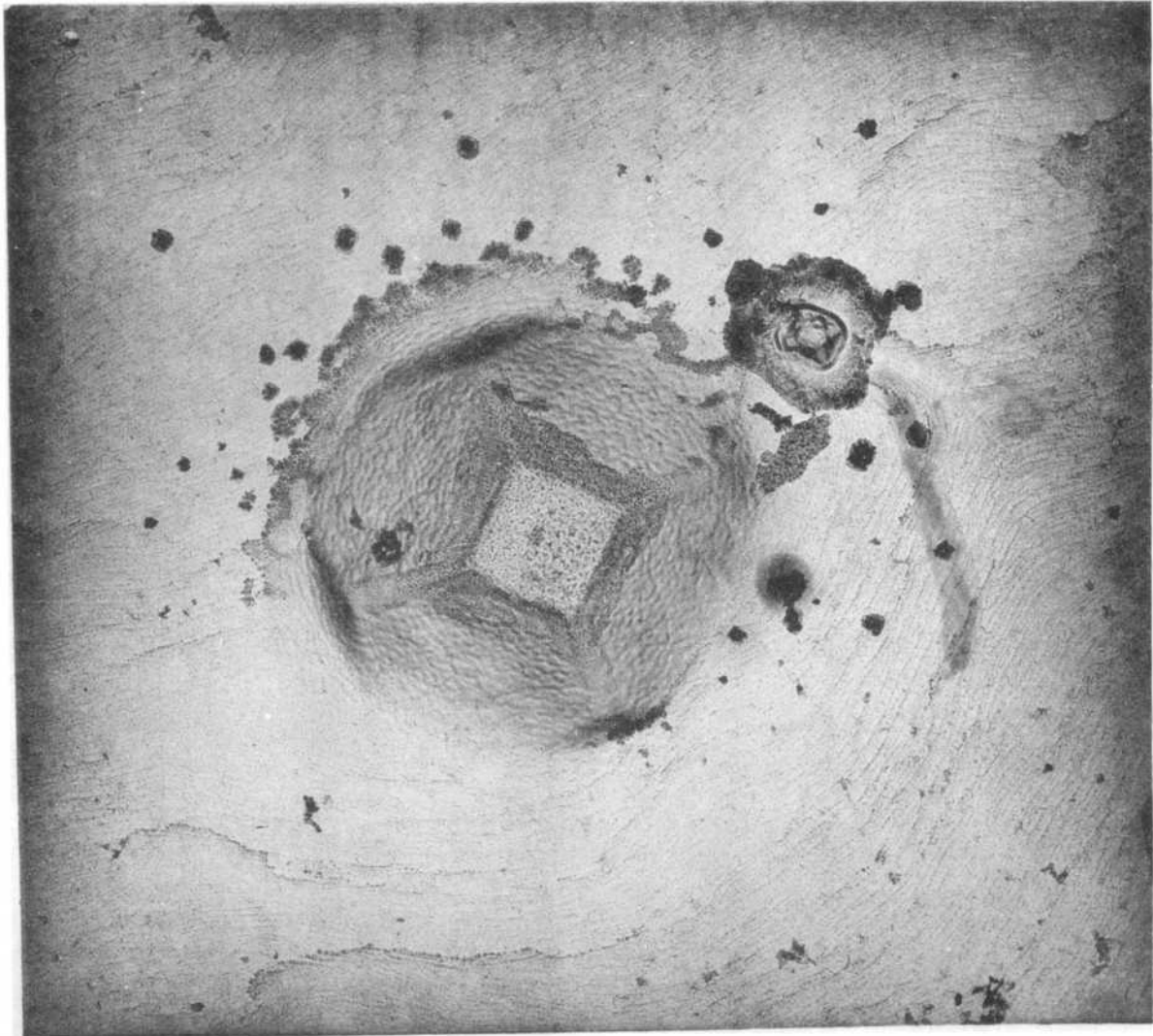


Fig.10: Réplica de óxido obtenida a partir de la superficie de una muestra de aluminio 99.99% pulida electrolíticamente y luego anodizada. Se puede observar la picadura característica del pulido electrolítico. M = 8000 x Foto: Irene A. Maier.

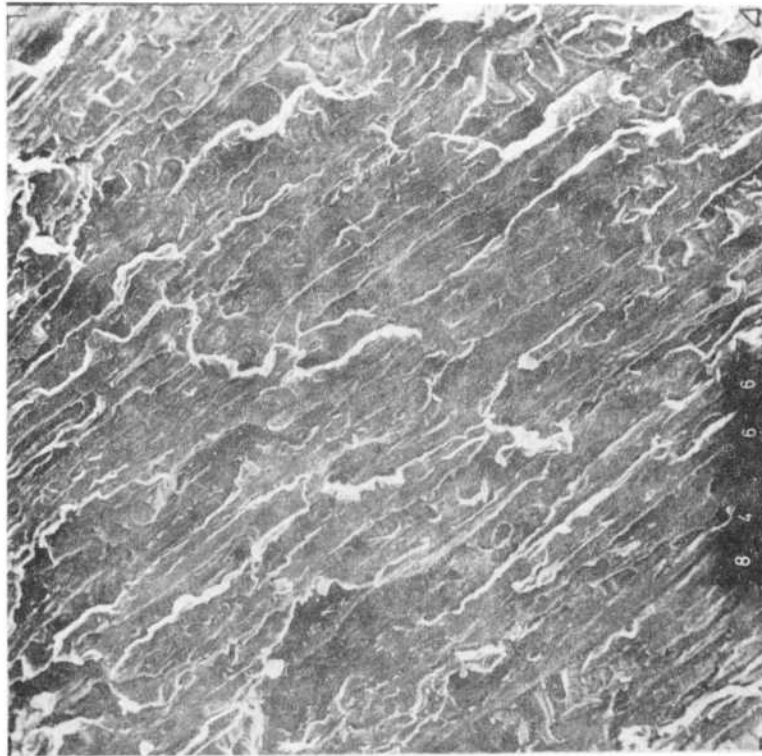


Fig.11: Réplicas preparadas con barniz de nitrocelulosa a partir de superficies de fractura y obtenidas en el microscopio electrónico de barrido.

- (a) Zona de origen de una falla producida en un perno de pistón de un rompehielos. $M = 100 \times$.
- (b) Superficie de fractura de una biela de avión. $M = 300 \times$.

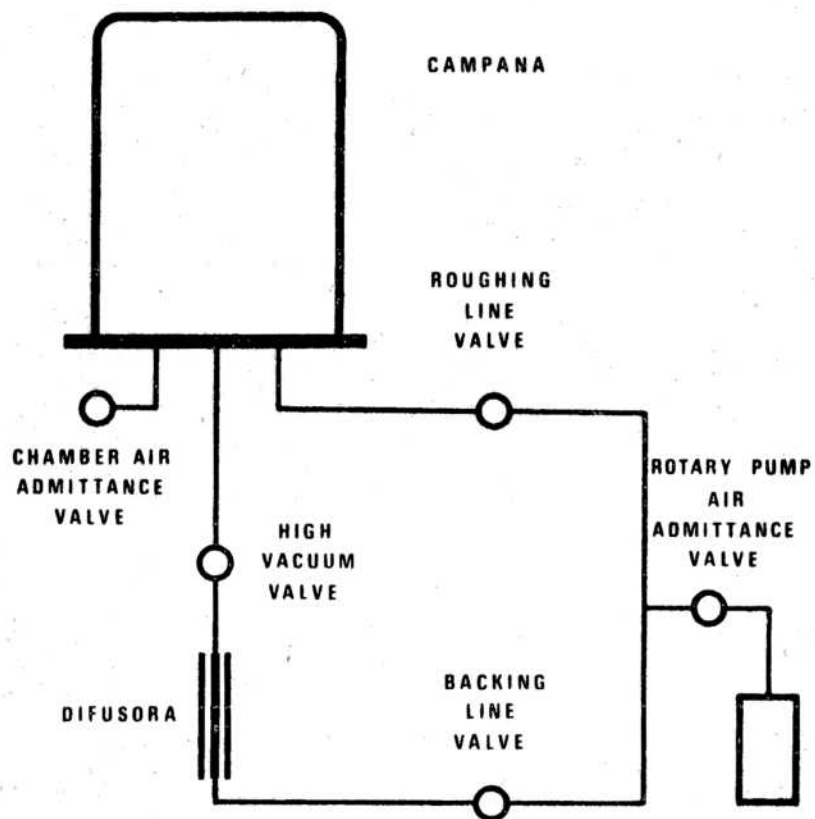


Fig.12: Esquema de una cámara de evaporación convencional.

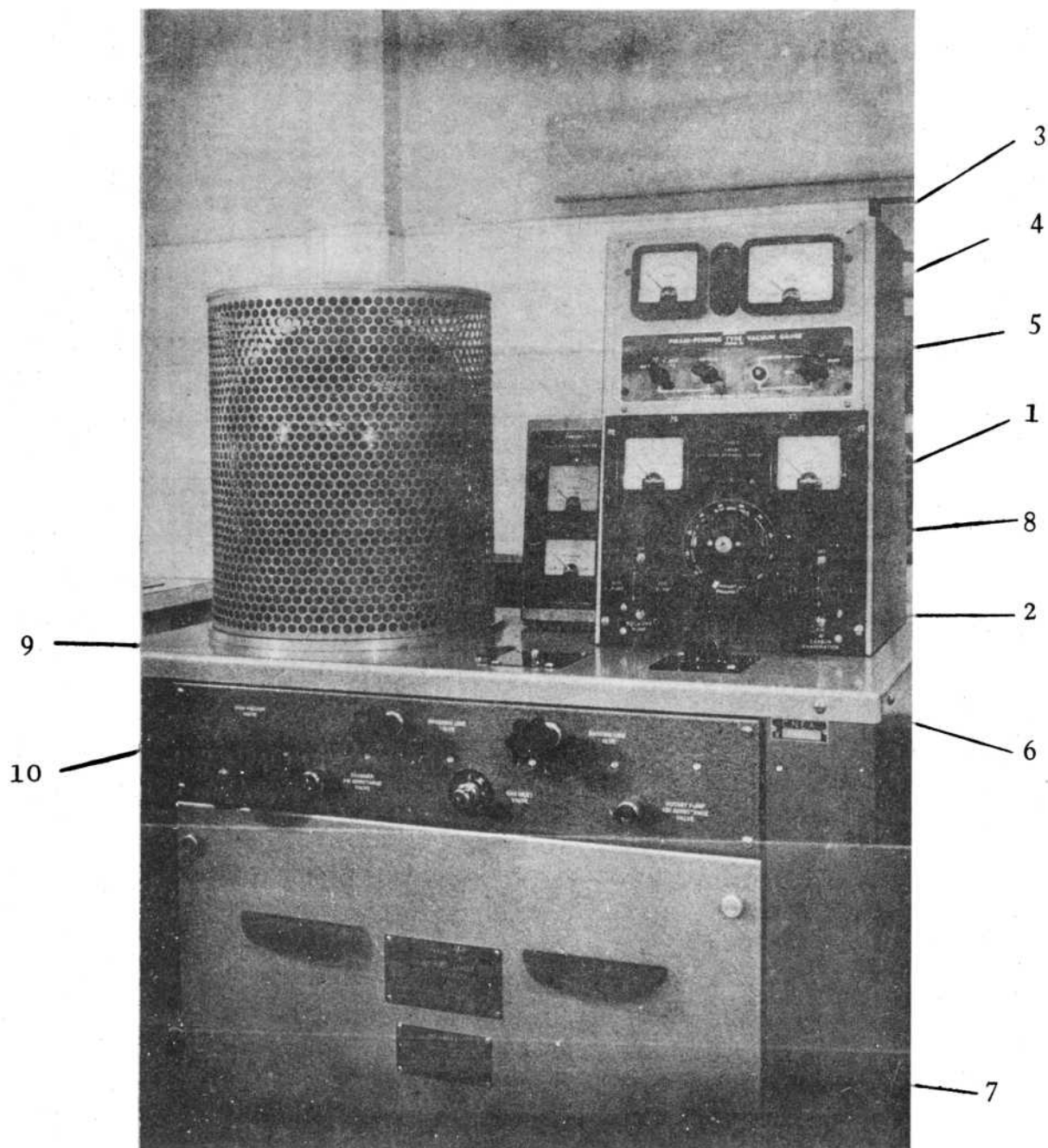


Fig.13: Vista general de la metalizadora Edwards instalada en el Departamento de Metalurgia de la CNEA.

- 1 : llave que pone en funcionamiento las bombas rotatoria y difusora.
- 2 : llave selectora de tensión.
- 3 : llave correspondiente al manómetro Pirani.
- 4 : ajuste de tensión del Pirani.
- 5 : llave correspondiente al manómetro Penning.
- 6 : llave selectora de los 4 terminales de tensión dentro de la cámara de evaporación.
- 7 : llave general selectora de tensión y corriente.
- 8 : reóstato.
- 9 : interruptor.
- 10 : pulsador para evaporación de carbono.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su reconocimiento al Ing. D.I.Vassallo por la lectura crítica del manuscrito y sugerencias, al Sr. N.I.Marccone por la asistencia técnica prestada y a los Sres. P.Nieto y F.Segovia por la labor fotográfica.