

**SAMPLE PREPARATION FOR SEM SURFACE INVESTIGATIONS OF
DIFFERENT MATERIALS****PARAUGU SAGATAVOŠANA SEM DAŽĀDU MATERIĀLU VIRSMAS
PĒTĪJUMIEM**

Jānis Ločs, PhD student, Mg.sc.ing

Riga Technical University, Riga Biomaterials Innovation and Development Centre

Address: Pulka street 3/3, LV-1007, Riga, Latvia

e-mail: janis.locs@rtu.lv

Jurijs Ozoliņš, Assoc.Prof., Dr.sc.ing.

Riga Technical University, Faculty of Materials science and Applied Chemistry

Address: Azenes street 14/24, Riga, LV-1048, Latvia

e-mail: juris_oz@inbox.lv

Līga Bērziņa-Cimdiņa, Assoc.Prof.,Dr.sc.ing.

Riga Technical University, Riga Biomaterials Innovation and Development Centre

Address: Pulka street 3/3, Riga, LV-1007, Latvia

e-mail: liga@ktf.rtu.lv

Kristīne Morozova, MSc student,

Riga Technical University, Riga Biomaterials Innovation and Development Centre

Address: Pulka street 3/3, Riga, LV-1007, Latvia

e-mail: kristine.morozova@rtu.lv

Dmitrijs Jakovļevs, MSc student,

Riga Technical University, Riga Biomaterials Innovation and Development Centre

Address: Pulka street 3/3, Riga, LV-1007, Latvia

e-mail: blablo@inbox.lv

Antra Ragauska, assist.

Riga Stradins University, Department of Prosthodontics

Dzirčiema 20, Riga, LV-1007, Latvia

e-mail: antraragauska@inbox.lv

Atslēgas vārdi: SEM, paraugu sagatavošana

Ievads

Skenējošā elektronu mikroskopija (SEM) ir viena no efektīvākajām dažādu materiālu virsmas pētīšanas metodēm. SEM tiek plaši pielietota materiālzinātnē, medicīnā, bioloģijā, ķīmijā, elektrotehnikā, kriminalistikā, izstrādājumu kvalitātes kontrolē. Ar skenējošo elektronu mikroskopu var iegūt palielinājumus, kas pārsniedz 100 000 reizes un iegūt attēlus

ar lielu izšķirtspēju. Pētāmo objektu virsmas attēliem ir trīsdimensionāls raksturs, kas būtiski atvieglo to uztveri un interpretāciju.

Elektronu mikroskopijas pirmsākumi ir saistīti ar franču zinātnieka Lui de Broļjē 1924. gadā izvirzīto hipotēzi par elektronu viļņveida dabu. Izmantojot šo principu, 1932. gadā M. Knolls un E. Ruska izgatavoja pirmo caurstarojošo elektronu mikroskopu, kurā izmantoja magnētiskās lēcas elektronu plūsmas fokusēšanai. Pirmo SEM izgudroja Č. Otlī 1952. gadā.

Skenējošās elektronu mikroskopijas pamatā ir parauga virsmas apstarošana ar fokusētu elektronu kūli jeb elektronu zondi, kuras diametrs ir 1-10 nm. Elektronu zonde skenē parauga virsmu, izveidojot uz tās rastru no liela skaita tuvu novietotām paralēlām līnijām. Katrā apstarotās virsmas punktā notiek elektronu kūļa mijiedarbība ar virsmu, kā rezultātā tiek iegūta virkne efektu: rodas atstarotie elektroni, sekundārie elektroni, ožē elektroni, rentgenstarojums un citi starojumi. Šie starojumi tiek uztverti un detektēti, pārveidoti videosignālos, kas modulē elektronu starus elektronstaru lampā (ESL) jeb monitorā [1]. Šie efekti ļauj iegūt vispusīgu informāciju par objekta reljefu, virsmas slāņu kristalogrāfisko orientāciju un ķīmisko sastāvu.

Iegūto attēlu kvalitāte un rezultātu objektīva izvērtēšana ir lielā mērā atkarīga no pētāmo paraugu sagatavošanai pielietotajām metodēm.

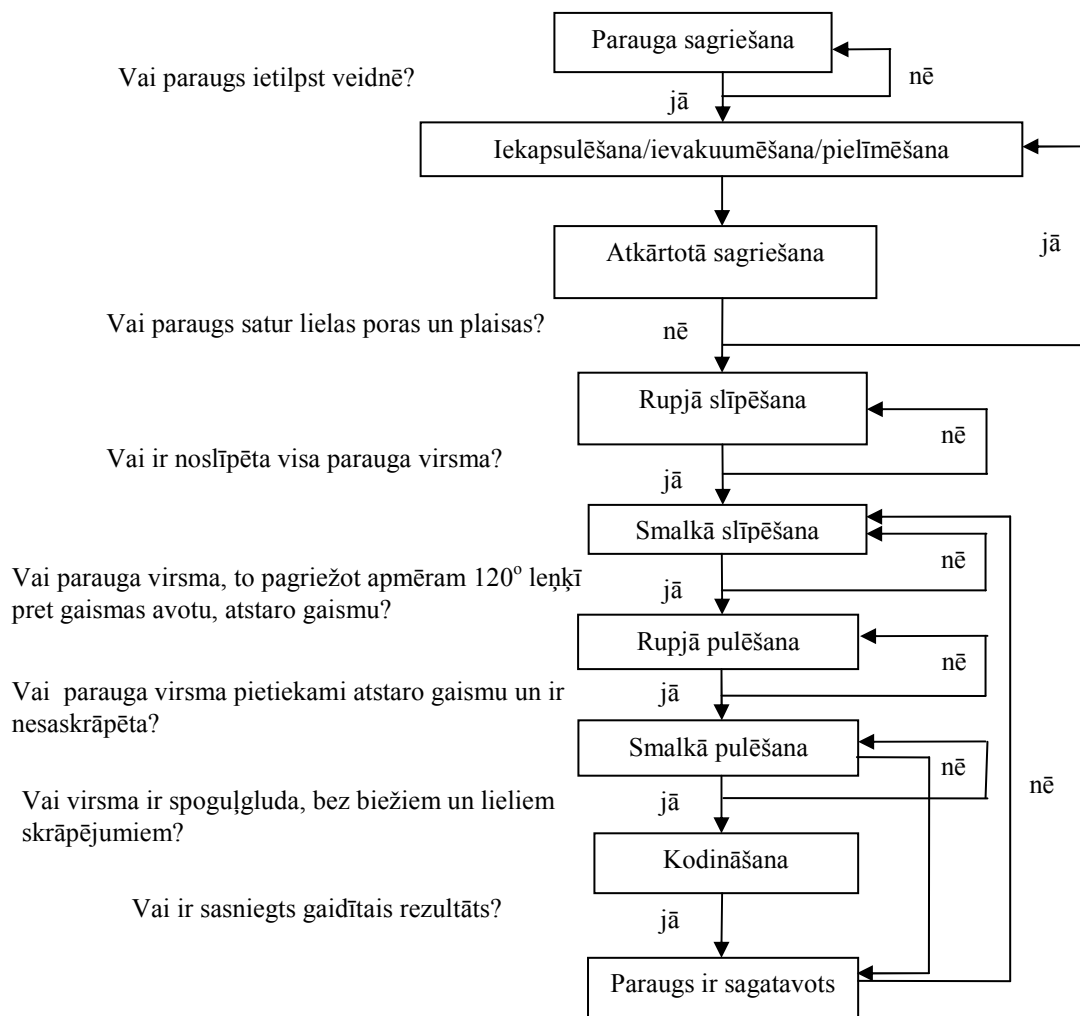
Materiāli un metodes

Pētījumu veikšanai izmantots lauka emisijas skenējošais elektronu mikroskops Mira/LMU (Tescan), aprīkots ar sekundāro elektronu (SE), atstaroto elektronu (BSE), zema vakuuma sekundāro elektronu (LVSTD) un transmisijas elektronu (TE) detektoru, paraugu turētāju – dzesētāju, enerģijas dispersīvo rentgenstaru (EDS) spektrometru. Elektronu paātrināšanas spriegums no 3 līdz 30 kV, darba attālums - no 6 līdz 15mm. Elektro-nevadošus paraugus pārklāja ar zeltu, izmantojot plazmas uzputināšanas iekārtu K550X (Emitech). Vidēji uzklātā zelta slāņa biezums - 15nm. Paraugu griešanai izmantots zemu apgriezīenu zāģis „IsoMet” Low Speed Saw (Buehler). Paraugu slīpēšanai un pulēšanai izmantots MiniMet 1000 Grinder/Polisher (Buehler). Slīpēšanai un pulēšanai izmantoti sekojoša izmēra dimanta abrazīvi: 20, 5, 3, 1 un 0,25 μm. Paraugu ķīmiskai kodināšanai izmantoti sekojoši reaģenti: k. HNO₃, CH₃CH₂OH un k. H₃PO₄.

Tika izmantotas dažādas materiālu grupas: metāli – kaparotas dzelzs, neorganiskas dabas materiāli - TiO₂ keramikas un cietie bioloģiskie audi – ekstrahēta zoba paraugi.

Paraugu sagatavošana ietver dažādas tehnoloģijas, kuras nepieciešamas to morfoloģijas pētījumiem, kas apskata lielāko daļu sekundāro fāžu, graudu robežas, poras un mikroplaisas, neatkarīgi no tā, vai apstrādā keramiku, metālus, polimērus vai kādu citu materiālu.

Paraugu sagatavošana balstās uz virkni likumu, kuri ir attiecināmi uz lielāko daļu materiālu. Dažādi materiāli ar līdzīgām īpašībām, piemēram, cietību un elastību, tiek apstrādāti līdzīgi un prasa līdzīgu materiālu izlietojumu sagatavošanas procesa laikā. Tāpēc paraugus, atkarībā no to īpašībām, nevis no to piederības pie vienas konkrētas materiālu grupas, ir iespējams apstrādāt ar vienu un to pašu tehnoloģiju.



1.att. Paraugu sagatavošanas shēma

Paraugu sagatavošanas procedūra sastāv no vairākiem etapiem. Pamatojoties uz paraugu apstrādi tika izveidota shēma (skat. 1. att.). Šo algoritmu iespējams lietot jebkuram paraugam. Pēc tā iespējams vadīties apstrādes procesa laikā, īpaši ērti to lietot, sagatavojot metāliskus un keramiskus materiālus.

Iekapsulēšanu un/vai parauga piesūcināšanu ar epoksīdsveķiem veic, ja materiāls ir mīksts, pulverveida, trausls, bojāts vai irdens. Šī procedūra palīdz:

- 1) papildīt tukšumus, poras un spraugas;
- 2) pasargāt oriģinālo mikrostruktūru un saglabāt monolītu paraugu [2].

Nākamā procedūra ir parauga sagriešana, kas nepieciešama, lai atklātu iekšējo virsmu, kuru pēc tam turpina apstrādāt, un lai samazinātu parauga biezumu, ja tas ir nepieciešams. Slīpēšanas mērķis ir samazināt deformācijas, virsmas nelīdzenumus un zāģa radītos bojājumus, nodrošināt plakanu un matētu virsmu, bet pulēšanas - nodrošināt gludu, plakanu virsmu bez defektiem un skrāpējumiem. Parauga virsmai jābūt spoguļgludai, bez asām malām un vizuālām robežām starp sastāvdaļām [3].

Ja nepieciešams tālāk paraugu kodina ar selektīvu ķīmisko reaģentu, lai atklātu graudu un fāžu robežas.

Keramikas un metāla paraugi tika apstrādāti līdzīgi. Vispirms paraugi tika sagriezti mazākās daļās, lai to izmēri nepārsniegtu 1x1x0,5 cm. Tālāk paraugus ar izkausētu kalifoniju pielīmēja pie polimēru pamatnes un slīpēja ar dimanta abrazīviem. Sākumā veica rupjo

slīpēšanu ar 20 μm, pēc tam smalko – ar 5 μm abrazīvu izmēru. Pulēšanai izmantoja 3, 1 un 0,25 μm dimanta abrazīvus uz pulēšanas audumiem. Lai nodrošinātu kvalitatīvu beigu virsmu, izmantoja beigu pulēšanu ar SiO₂ koloidālo suspensiju.

Metāla paraugus ķīmiski kodināja ar Nitala reagentu, kas sastāv no HNO₃ un CH₃CH₂OH šķīdumiem, bet TiO₂ keramiku - ar 5% HF [3].

Cieto bioloģisko audu paraugus vispirms iekapsulēja epoksīdsveķos. Tālākā apstrāde ir līdzīga kā metāla un keramikas paraugu apstrādē. Kodināšanu veica ar 50% H₃PO₄ šķīdumu [4]. Tā kā zoba materiāls nav elektronu vadītājs, to pārklāja ar zelta kārtiņu.

Rezultāti un to izvērtējums

Metāla paraugiem analizēja virsmu pēc katra apstrādes posma.

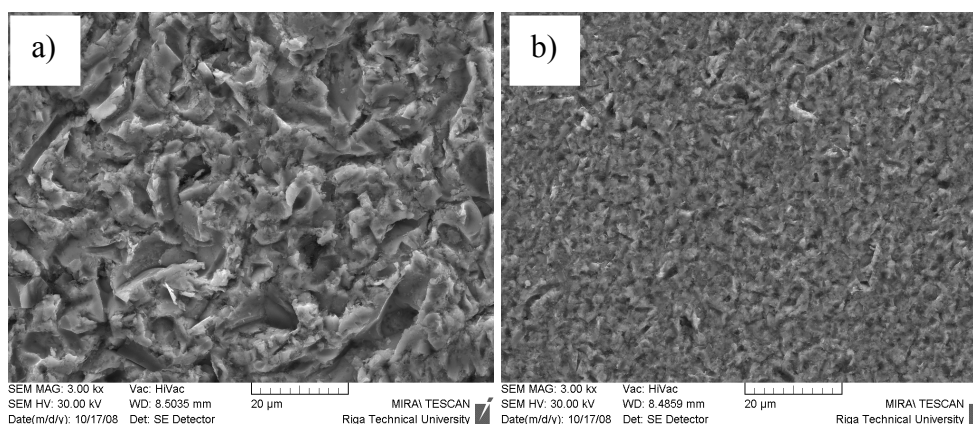
2. attēlā redzams, ka virsma pēc slīpēšanas ar 20 μm abrazīviem ir rupji apstrādāta un pētījumiem nav piemērota, bet pēc pulēšanas ar 0,25 μm abrazīviem virsma ir izlīdzināta, spoguļgluda un der mikrostrukturā un defektu analīzei.

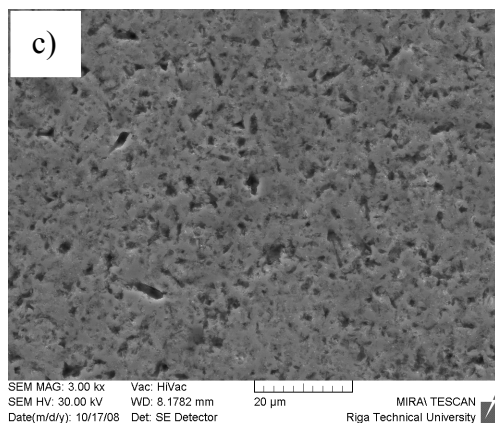
Papildinformāciju par virsmas reljefu var iegūt, izmantojot mikroskopa programmatūru. 3. attēlā parādītas noslīpēta (skat. 2a.att.) un nopolēta (skat. 2b.att.) parauga virsmas nosacītās profilogrammas.

Pēc mehāniskās apstrādes metāla paraugus ķīmiski kodināja. Kā redzams 4. attēlā, parauga virsma ir palikusi raupjāka, iezīmējas graudu robežvirsmas.

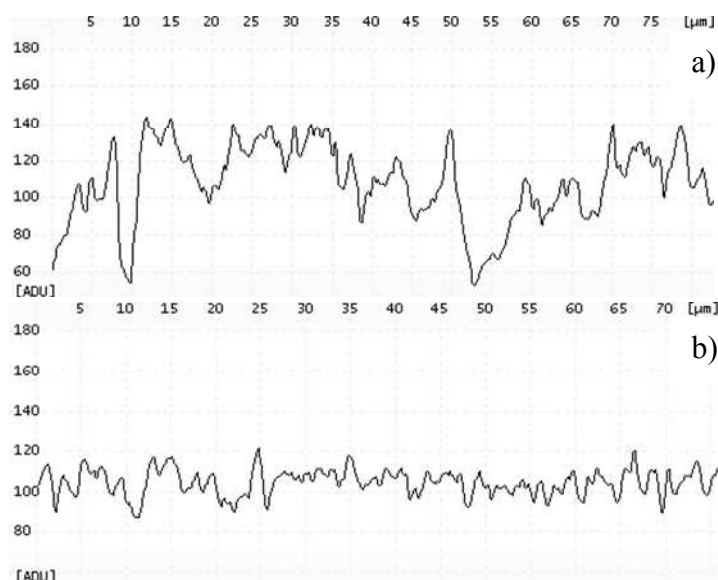
Ekstrahēta zoba paraugam salīdzināja dentīna daļas virsmu pēc salaušanas, sagriešanas un pēc mehāniskās un ķīmiskās apstrādes. Kā redzams 5. attēlā, dentīna kanālus labi var saskatīt tikai pēc pilnās apstrādes (skat. 1.att.), ieskaitot ķīmisko kodināšanu. Mehāniski pārgriežot iekapsulētu zoba paraugu, dentīna kanāli nav redzami, bet paraugu laužot, redzama kļūst daļa kanālu.

Graudu izmēru noteikšanai izmantoja TiO₂ keramikas paraugus. Salīdzināja divus apstrādes veidus: salaužot un pēc mehāniskās un ķīmiskās apstrādes. 6. attēlā redzams, ka objektīvākai graudu izmēru noteikšanai vislabāk paraugu ir salauzt, jo tas sagrūst pa atsevišķo graudu robežvirsmām. Ķīmiskā kodināšana ar 5% HF šķīdumu nesniedza gaidīto rezultātu un nekādas redzamas virsmas izmaiņas netika novērotas – virsma ir palikusi gluda, atsevišķi graudi neiezīmējas.

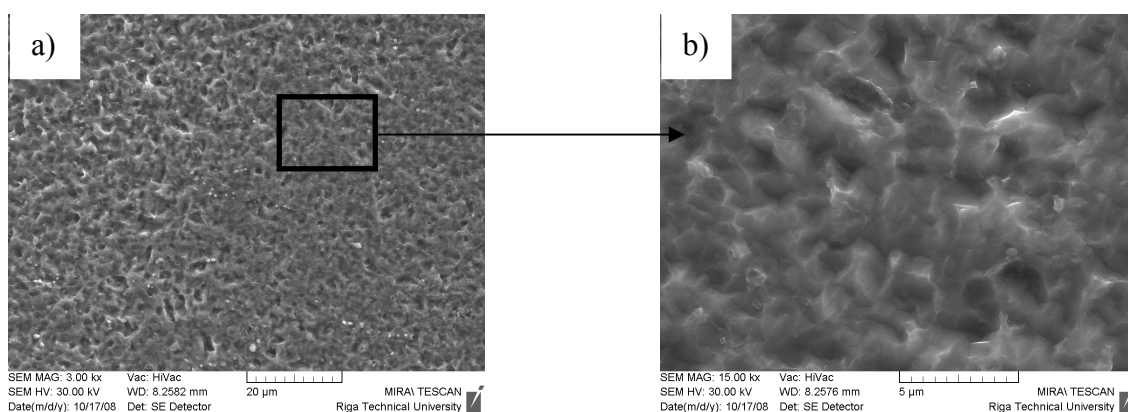




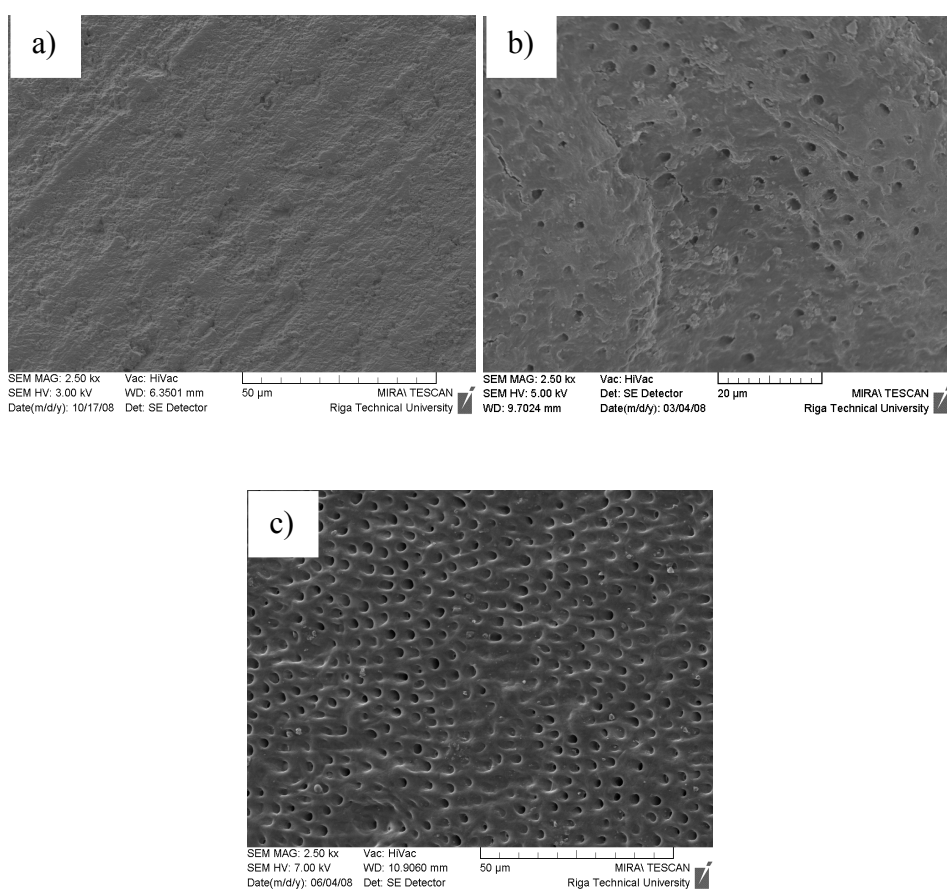
2.att. Kaparotas dzelzs paraugs: a) slīpēts līdz 20 μm, b) slīpēts līdz 3 μm, c) pulēts līdz 0,25 μm



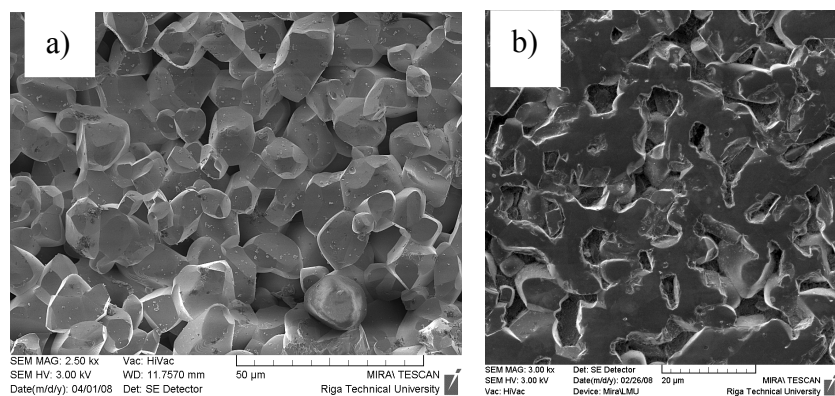
3.att. Kaparotas dzelzs parauga virsmas nosacītās profilogramma: a) slīpēta līdz 20 μm, b) pulēta līdz 0,25 μm



4.att. Kaparota dzelzs paraugs kodināts ar Nitala reaģentu



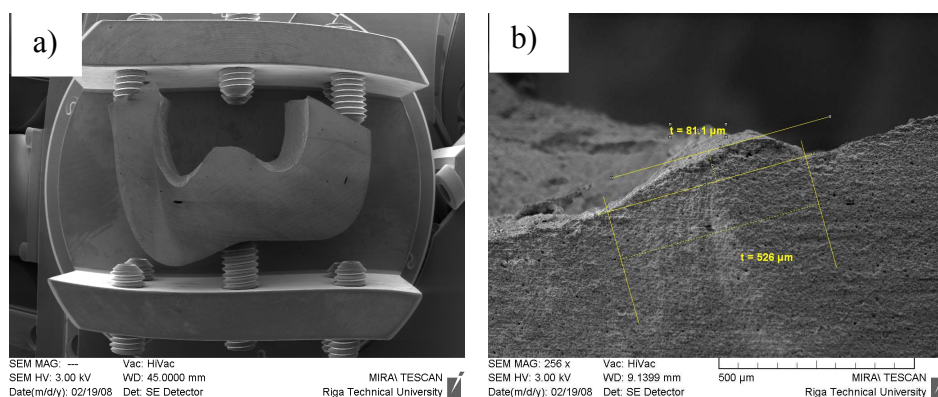
5.att. Zoba dentīna daļa: a) pēc sagriešanas; b) pēc salaušanas; c) pēc mehāniskās un ķīmiskās apstrādes



6.att. TiO_2 keramikas paraugu virsma: a) pēc salaušanas, b) pēc mehāniskās apstrādes

Svarīga stomatoloģijas problēma ir plombējamā materiāla ilgzturība zoba emaljas-plombes robežvirsmā. Zoba emaljas un plombes saites pētījumiem paraugu sagatavošana ir sarežģīts un darbietilpīgs process, kas sevī ietver periodisku vairākkārtēju zoba virsmas negatīvās un pozitīvās replikas iegūšanu, kuras laikā var izmainīties pētāmās robežvirsmas profils. Izstrādātajā metodē tiek veikts periodisks zoba negatīva atlējums. Atlējuma šķēsgriezums tika pētīts ar SEM metodi (skat. 7. att.). Kā redzams 7b. attēlā, robežvirsmā plombe - zoba emalja veidojas padziļinājums, ko izsauc plombējamā materiāla pakāpeniska

noārdīšanās. Kvalitatīvi šo padziļinājumu var raksturot, nomērot tā dziļuma un platuma izmaiņas laikā SEM iegūtajos attēlos.



7.att. *Zoba emaljas – plombes robežvirsmas negatīvs atlējums: a) atlējuma šķērs griezums paraugu turētājā, b) robežvirsmas izmaiņu fiksācija*

Secinājumi

1. Izstrādāta paraugu sagatavošanas metodika SEM pētījumiem; piedāvātais algoritms ļauj iegūt labus rezultātus metālu, keramisku un bioloģisku materiālu sagatavošanā.
2. Keramisko materiālu sagatavošana SEM, izmantojot ķīmiskās kodināšanas metodi, nerāda vēlamo rezultātu; efektīvāka varētu būt paraugu termiskā kodināšana.
3. Izstrādāta vienkāršota metode zobu replikas noņemšanai un sagatavošanai SEM. Šī metode ļauj precīzāk noteikt plombējamā materiāla – zoba emaljas robežvirsmas izmaiņas pacienta dzīves laikā.

Literatūra

1. P. J. Goodhew, J. Humphreys, R. Beanland. *Electron microscopy and analysis*; Taylor & Francis: London, 2001, 243 pp.
2. J. Dipayan. *Sample preparation techniques in petrographic examinations of construction materials: a state-of-the-art review*. In *Proceedings of the twenty-eight conference on cement microscopy*; Colorado, USA, 2006.
3. G.F. Vander Voort. *Buehler's Guide to Materials Preparation and analysis*, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, 2004, 133 pp.
4. R. Y. Ballester, S. K. Moura, J. F. F. Santos. *Morphological Characterization of the Tooth/Adhesive Interface*. *Braz. Dent. J.*, 2006, 17(3), 179-185.

J. Ločs, J. Ozoliņš, L. Bērziņa-Cimdiņa, K. Morozova, D. Jakovļevs, A. Ragauska. Paraugu sagatavošana SEM dažādu materiālu virsmas pētījumiem.

Darbs vēlīts dažādu materiālu paraugu sagatavošanas metodikas izstrādei skenējošās elektronu mikroskopijas (SEM) pētījumiem ar lauka emisijas skenējošo elektronu mikroskopu Mira/LMU (Tescan, Čehija). Izstrādāts un eksperimentāli pierādīts paraugu secīgas sagatavošanas algoritms, kas ļauj iegūt kvalitatīvas dažādu metālu, keramisku un bioloģiskas dabas materiālu virsmas struktūras mikrofotogrāfijas.

Pētot cietos bioloģiskos audus, tai skaitā ekstrahētus zobu paraugus, izstrādāta jauna vienkāršota metode zobu replikas noņemšanai tālākiem SEM pētījumiem, kas ļauj precīzāk noteikt izmaiņas robežvirsmā plombējamais materiāls – zoba emalja pacienta dzīves laikā.

Locs J., Ozolins J., Berziņa-Cimdina L., Morozova K., Jakovlevs D., Ragauska A. Sample preparation for SEM surface investigations of different materials.

Current work dedicated for development of different material sample preparation methodology for research on field emission scanning electron microscopy (SEM) Mira/LMU (Tescan Czech Republic). Developed and experimentally approved the sequential sample preparation algorithm, what allows obtaining of high quality different metal, ceramic and biological origination surface structure microphotographs.

During research of hard biological tissues, also dental samples, new simplified method for obtaining of tooth replica for further SEM investigations was developed. This method allows more accurately determine the changes in plugged material - tooth enamel boundary during the patient lifetime.

Лочс Я., Озолинш Ю., Берзиня-Цимдиня Л., Морозова К., Яковлев Д., Рагауска А. Подготовка образцов для исследования поверхности разнородных материалов методом СЭМ.

Работа посвящена разработке методики подготовки образцов разнородных материалов для исследования методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на сканирующем электронном микроскопе Mira/LMU (Tescan, Чехия). Разработан и экспериментально проверен алгоритм последовательной подготовки образцов, позволяющий получить качественные микрофотографии структуры поверхности разных металлов, керамических материалов и материалов биологического происхождения.

При исследовании твердых биологических тканей, в том числе образцов эксерагированных зубов, разработан новый упрощенный метод получения реплики зубов для дальнейшего исследования методом СЭМ, позволяющий более точно определить изменения на границе раздела пломба – зубная эмаль во время жизни пациента.