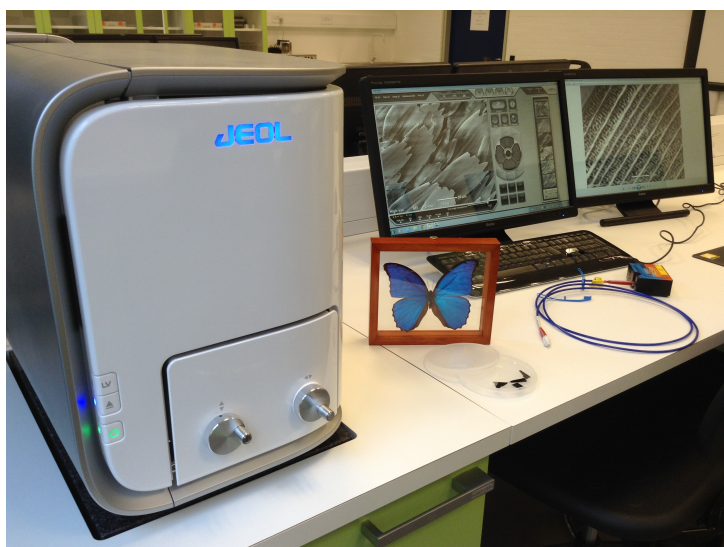

Visualisering med SEM - Farver og strukturer



Øvelsesvejledning til brug i Nanoteket
Udarbejdet af Louise Haaning, Institut for Fysik, DTU
Rettelser sendes til Ole.Trinhammer@fysik.dtu.dk

27. august 2015

Indhold

1	Indledning	3
2	Sommerfuglens farver	3
2.1	Tyndfilmsinterferens	4
2.2	Diffraction	5
3	Skanningelektronmikroskopet	5
3.1	Visualisering af en prøve	5
3.2	Opbygning af skanningelektronmikroskopet	6
3.3	Signaler fra prøven	7
3.3.1	Sekundære elektroner	7
3.3.2	Tilbagespredte elektroner	8
3.3.3	Karakteristisk røntgenstråling	9
3.4	Accelerationsspænding	9
4	Eksperimentel øvelse	10
4.1	Fremstilling af tyndfilm og strukturelle farver	10
4.2	Undersøgelse af tyndfilm med spektrofotometer	11
4.3	Undersøgelse af sommerfuglevinger og kunstige strukturer med spektrofotometer	12
4.4	Visualisering af strukturer med SEM	13
5	Regneopgaver	14
6	Sponsorer	16

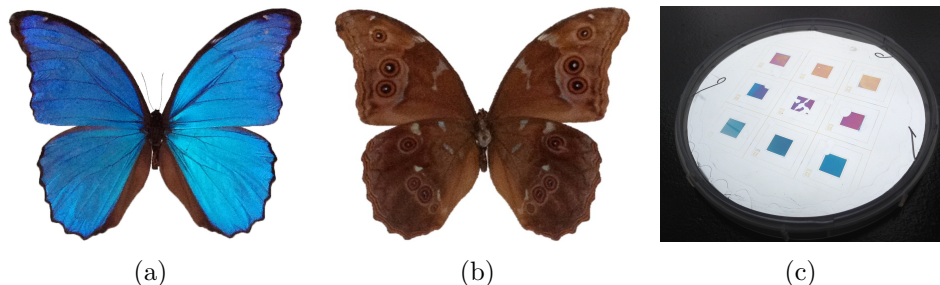
1 Indledning

Formålet med øvelsen er at lære, hvordan strukturer kan forårsage forskellige farver samt lære, hvordan et skanningelektronmikroskop (SEM) virker.

I øvelsen skal I undersøge en sommerfuglevinge samt kunstigt fremstillede nanostrukturer. Strukturernes undersøges ved at bruge et skanningelektronmikroskop og farverne undersøges med et spektrofotometer. Derudover skal I selv fremstille strukturelle farver.

2 Sommerfuglens farver

Sommerfugle er dyr, som er kendt for at have mange flotte farver. Vingernes farver stammer enten fra pigmenter, strukturer eller begge dele. Sommerfuglevinger som har gule, orange, røde, sorte og brune farver stammer fra pigmenter [4]. Pigmenter får deres farver ved selektivt at absorbere og reflektere bestemte bølgelængder af synligt lys. Der er dog ingen pigmenter, der kan producere de farvestrålende blå, violette og grønne farver, som nogle sommerfuglearter har. Disse farver er derimod forårsaget af skæl på vingerne, som har specielle mikro- og nanostrukturer [4].

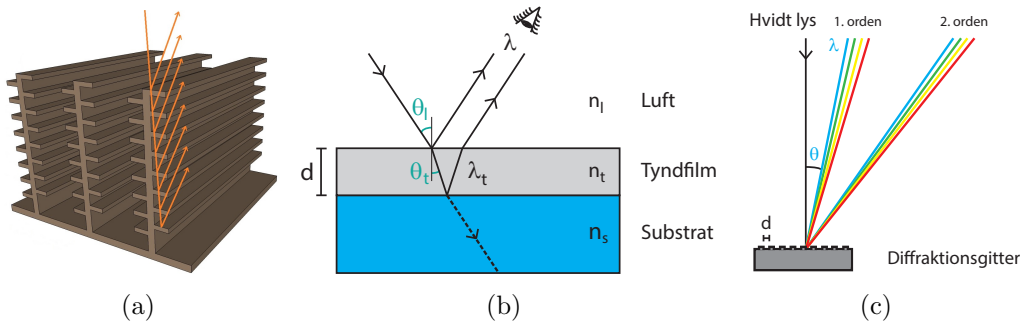


Figur 1: *Morpho didius* sommerfuglen set fra (a) oversiden og (b) undersiden. (c) Eksempel på kunstigt fremstillede nanostrukturer der reflekterer forskellige farver. Prøven er fremstillet af [2].

Sommerfuglearten *Morpho didius* (se figur 1(a) og figur 1(b)), som findes i Sydamerika, er blandt de sommerfugle, der har farvestrålende blå farver med metallisk skær [4]. På sommerfuglens vinger ligger skæl placeret i rækker ligesom tagsten på et tag. Vingerne består af to typer skæl - skiftevis grundskæl og dækskæl [3]. Dækskællene er gennemsigtige, mens grundskællene indeholder pigment, som giver vingen en brunlig farve [3]. Det er grundskællene, der er ansvarlige for den strukturelle blå farve, og farven skyldes hovedsageligt en kombination af fænomenerne interferens og diffraktion [3]. Betragtes

tværsnittet af et grundskæl, kan man se lange rækker med træ-lignende lamelstrukturer (se figur 2(a)). Når lyset rammer de mange lag af skiftevis lameller og luft, skabes der såkaldt *tyndfilmsinterferens*. Derudover virker afstanden mellem rækkerne som diffraktionslinier, som sammen med lamellerne bidrager til at give sommerfuglen sin flotte farve.

Mennesker inspireres ofte af naturen. Figur 1(c) viser et eksempel på strukturelle farver, som er kunstigt fremstillet af forskere.



Figur 2: (a) Interferens af lys på strukturen af et grundskæl. (b) Interferens mellem bølger fra overfladen og bunden af en tyndfilm. (c) Spredning af hvidt lys på et diffraktionsgitter.

2.1 Tyndfilmsinterferens

Tyndfilmsinterferens forekommer, når tykkelsen af en film er sammenlignelig med lysets bølgelængde. Når lys rammer overfladen af en tyndfilm, der er placeret på et substrat og omgivet af luft (se figur 2(b)), reflekteres lyset dels ved overfladen og dels ved bunden af tyndfilmen. Lyset fra de to overflader interfererer enten konstruktivt eller destruktivt afhængigt af filmens tykkelse d . Ved overgangen fra et materiale til et andet kan der, afhængigt af materialernes brydningsindeks, forekomme et faseskift af den reflekterede bølge. Brydningsindeks for luft, tyndfilm og substrat betegnes n_l , n_t og n_s , og lysets bølgelængde i tyndfilmen og luften betegnes λ_t og λ . Hver gang enten $n_l < n_t$ eller $n_t < n_s$, så sker der et faseskift. For nemheds skyld ses der bort fra transmissionen gennem substratet, og det antages, at alt lyset bevæger sig vinkelret på tyndfilmsoverfladen, dvs. $\theta_l \approx \theta_t \approx 0$. Konstruktiv interferens afhænger af antallet af faseskift, og kan beskrives ved sammenhængen [5]:

$$2d \cdot n_t = \begin{cases} (m + \frac{1}{2}) \lambda & , 1 \text{ faseskift} \\ m\lambda & , 0 \text{ eller } 2 \text{ faseskift} \end{cases} \quad (1)$$

hvor $m = 0, 1, 2, \dots$ angiver ordenen.

2.2 Diffraction

Diffraction forekommer når lys rammer strukturer, hvor afstanden mellem gitter eller linier er sammenlignelige med lysets bølgelængde. Herved bliver lyset spredt, og danner farver ved konstruktiv interferens. Når hvidt lys rammer vinkelret ind på linier/gitter, og afstanden mellem linierne er d , og vinklen af det spredte lys med en bestemt farve er θ (se figur 2(c)), så kan lysets bølgelængde λ udregnes fra [5]:

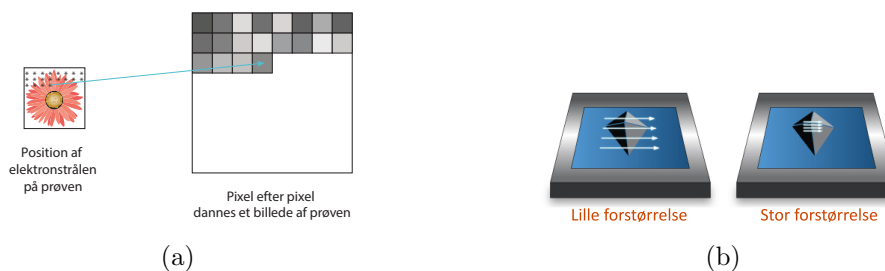
$$m\lambda = d \sin \theta \quad , m = 0, 1, 2, \dots \quad (2)$$

3 Skanningelektronmikroskopet

Det er altså mikro- og nanostrukturer, der forårsager sommerfuglens flotte farve. Strukturerne kan ikke ses med det blotte øje og heller ikke med et optisk mikroskop. Det er til gengæld muligt at se strukturerne med et skanningelektronmikroskop (SEM). Et SEM bruger elektroner til at danne tredimensionel-lignende billeder af overfladestrukturer helt ned på nanometerskala. Elektroner har en mindre bølgelængde λ end synligt lys, og man kan derfor observere detaljer på en mindre længdeskala med et elektronmikroskop i forhold til med et lysmikroskop.

3.1 Visualisering af en prøve

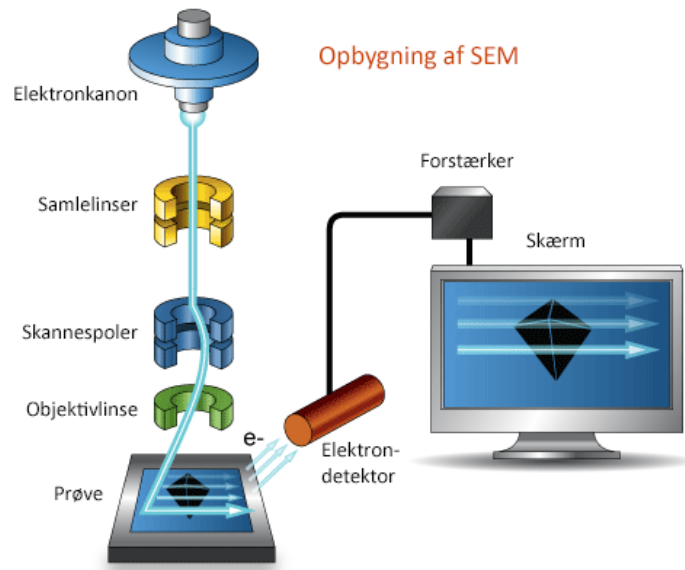
Når en prøve skal visualiseres i et SEM, skanner man hen over prøven med en stråle af elektroner. Idet elektronstrålen rammer prøven, genereres der signaler (se afsnit 3.3), som omsættes til en gråtone, og pixel efter pixel dannes et billede af prøven (se figur 3(a)). Når størrelsen af skanneområdet reduceres, øges forstørrelsen (se figur 3(b)).



Figur 3: (a) Signalet fra elektronstrålen position omsættes pixel efter pixel til et forstørret billede af prøven. (b) Skanneområde i forhold til forstørrelsen af prøven. Illustrationen er fra AMMRF [1].

3.2 Opbygning af skanningelektronmikroskopet

Et skanningelektronmikroskop består i store træk af en elektronkanon, elektromagnetiske linser (samlelinser, skannespoler og objektivlinse), en prøveholder, en eller flere detektorer, en forstærker samt en computer med skærm (se figur 4). Da elektroner er negativt ladede, kan man bruge spoler, kaldet elektro-

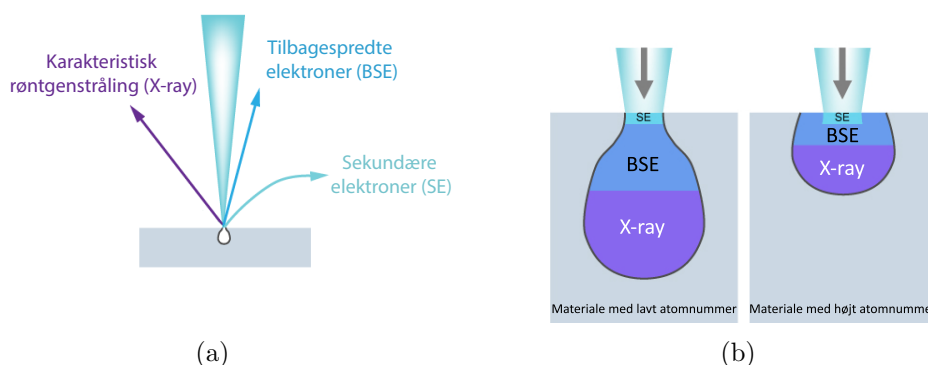


Figur 4: Opbygningen af et skanningelektronmikroskop (SEM). Illustrationen er fra AMMRF [1].

magnetiske linser, til at afbøje og samle elektronstrålen til en endnu tyndere stråle (se figur 4). Når elektronerne har forladt elektronkanonen, passerer de først igennem nogle samlelinser, som styrer bredden af elektronstrålen. Dernæst passerer de igennem nogle skannespoler, som styrer retningen af elektronstrålen og det område, der skannes henover. Til sidst passerer elektronstrålen igennem objektivlinsen, som fokuserer elektronstrålen på prøven. Elektronkanonen, linserne og prøven er alle lukket inde i det man kalder en kolonne, hvor der er vakuum. Hvis ikke der er vakuum i kolonnen, vil elektronerne blive reflekteret og bremset af gasmolekyler, inden de når frem til prøven. Normalt er der højvakuum (HV, meget lavt tryk) i kolonnen, hvilket svarer til trykket $p = 1 \cdot 10^{-2}$ Pa. Skal man undersøge ikke-elektrisk ledende prøver, kan det dog være en fordel at skanne i lavvakuum (LV), hvor trykket er $p \approx 20$ Pa.

3.3 Signaler fra prøven

Når elektronstrålen rammer en prøve, vekselvirker elektronerne med prøvens atomer og genererer signaler, der giver forskellige informationer om prøven. De signaler man oftest opfanger er: sekundære elektroner, tilbagespredte elektroner og karakteristisk røntgenstråling (se figur 5(a)). I materialer der indeholder grundstoffer med højt atomnummer Z , kolliderer elektronerne oftere med atomerne (se figur 5(b)), og de tilbagespredes derfor i højere grad, hvilket resulterer i et mindre vekselvirkningsvolumen.

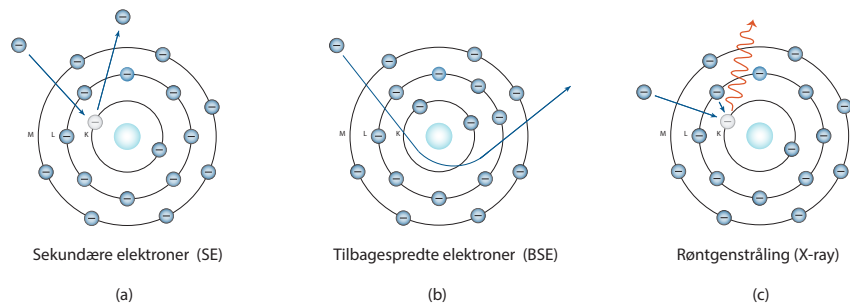


Figur 5: (a) Signaler genereret når elektronstrålen rammer en prøve. Der er kun vist de signaler, der udnyttes i øvelsen. (b) Forskellen på vekselvirkningsvolumenet i prøver med højt og lavt atomnummer. Illustrationerne er fra AMMRF [1].

Nanotekets SEM'er har hver tre typer af detektorer til at opfange disse signaler, hhv. tilbagespredningselektrondetektor (*backscatter* elektrondetektor), sekundær-elektrondetektor samt energidispersiv røntgenspektrometer (EDS).

3.3.1 Sekundære elektroner

Sekundære elektroner (SE) er elektroner, der har været løst bundet til atomer i prøven, og som er blevet slået ud af deres skaller af elektronstrålen (se figur 6(a)). En enkelt elektron fra elektronstrålen kan godt slå flere løst bundne elektroner ud af deres skaller. Man benytter sekundære elektroner til at danne billeder af prøvens overflade (se figur 7(a)).

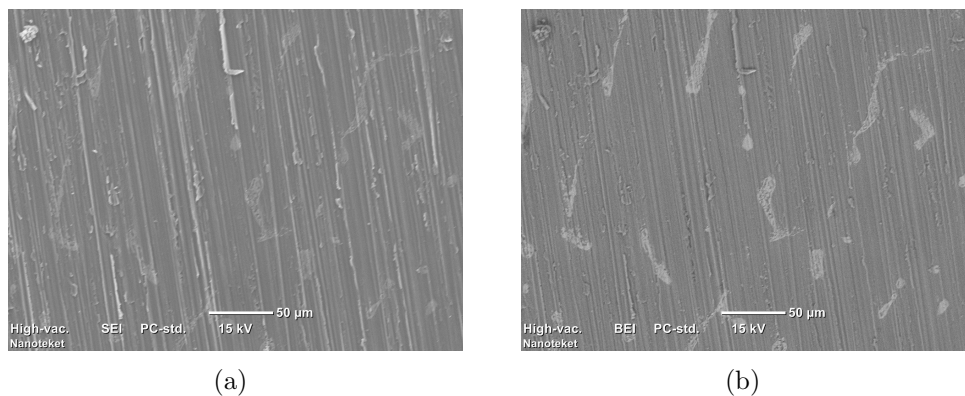


Figur 6: Dannelse af (a) sekundære elektroner (SE), (b) tilbagespredte elektroner (BSE) og (c) karakteristisk røntgenstråling (X-ray).

3.3.2 Tilbagespredte elektroner

Tilbagespredte elektroner (*backscattered electrons*, BSE) er elektroner fra elektronstrålen, der har kollideret elastisk med atomkerner i prøven, således at de tilbagespredes med en stor vinkel og forlader prøven igen (se figur 6(b)). Da grundstoffer med højt atomnummer Z oftere tilbagespreder elektroner fra atomstrålen, er tilbagespredningselektronsignalet større fra tungere grundstoffer. Antallet af BSE kan aldrig overstige antallet af elektroner fra elektronstrålen.

Tilbagespredte elektroner bruges også til at danne billeder af prøvens overflade, og ud fra kontrasten i billedet kan man se, om overfladen består af grundstoffer med forskellige Z (se figur 7(b)). Man kan desuden se dybere i prøven ved at detektere BSE end SE.



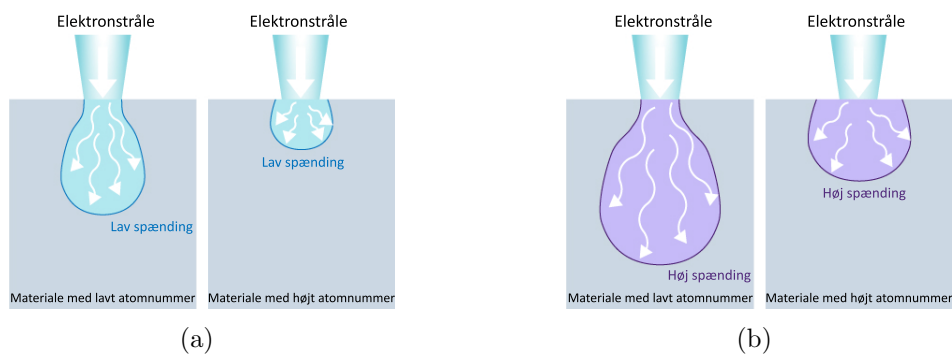
Figur 7: Metallisk prøve der består af 93% Al, 4% Cu og 3% O. (a) Sekundært-elektronbillede, (b) tilbagespredningselektronbillede.

3.3.3 Karakteristisk røntgenstråling

Når elektroner fra de indre skaller i prøvens atomer slås ud af deres skaller, fordi elektronstrålens elektroner kolliderer med dem, vil elektroner fra yderligere skaller hoppe hen i de skaller, hvor de andre elektroner plejede at være. Herved afgives den overskydende energi i form af røntgenstråling (se figur 6(c)). Energien af røntgenstrålingen er karakteristisk for det grundstof, som strålingen afgives fra. Man kan derfor analysere den afgivne røntgenstråling med EDS, og bestemme hvilke grundstoffer ens prøve består af.

3.4 Accelerationsspænding

Accelerationsspændingen U_0 er spændingen (typisk målt i kilovolt) mellem katoden (glødetråden) og anoden i elektronkanonen. Jo højere accelerationsspændingen er, desto længere ned i prøven trænger elektronerne ind, og jo større bliver vekselvirkningsvoluminet (se figur 8(a) og 8(b)). I praksis betyder det, at når man skanner en prøve ved lave accelerationsspændinger (≤ 5 kV), får man et detaljeret billede af overfladestrukturen af prøven, mens ved højere accelerationsspændinger får man et billede af strukturen dybere inde i prøven. Størrelsen af vekselvirkningsvoluminet afhænger derfor både af accelerationsspændingen U_0 og atomnummeret Z .



Figur 8: Elektronstrålens vekselvirkningsvolumen i materialer med forskelligt atomnummer ved (a) lav accelerationsspænding og (b) høj accelerationsspænding. Illustrationerne er fra AMMRF [1].

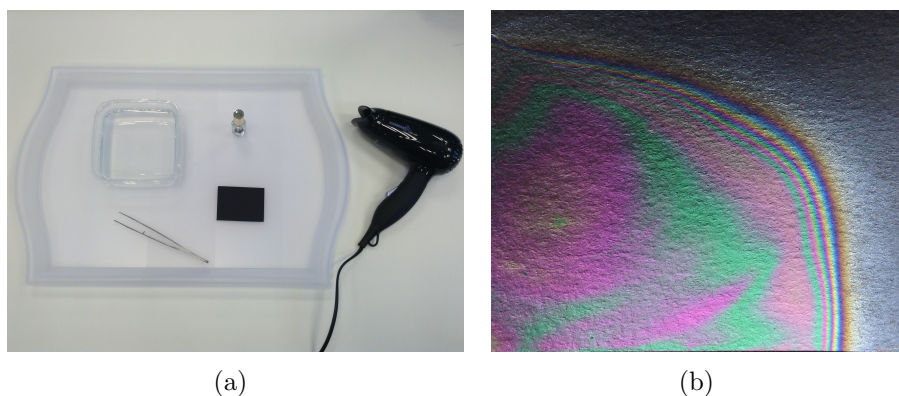
4 Eksperimentel øvelse

4.1 Fremstilling af tyndfilm og strukturelle farver

For at få en bedre fornemmelse af, hvad tyndfilmsinterferens er, skal I selv fremstille tyndfilm, der danner strukturelle farver.

Fremgangsmåde

1. Fyld vand i et kar, ca. 2 cm højde, se figur 9(a), og placer karet på en bakke.
2. Nedsenk et stykke sort karton (ca. 5 cm x 5 cm) i vandet, så det ikke rører vandoverfladen.
3. Dryp en enkelt dråbe gennemsigtig neglelak ned på vandoverfladen fra ca. 5 centimeters højde, så der dannes en tyndfilm på vandoverfladen.
4. Træk forsigtigt det sorte karton op med en pincet, således at tyndfilmen lægger sig på overfladen af kartonen, se figur 9(b).
5. Læg kartonen på en serviet for at opsuge det meste vand og brug derefter en hårtørrer til at tørre kartonen helt.



Figur 9: (a) Materialer til fremstilling af strukturelle farver. (b) Tyndfilm fremstillet med gennemsigtig neglelak.

4.2 Undersøgelse af tyndfilm med spektrofotometer

Tyndfilmens farver skal nu undersøges nærmere ved at måle farvespektret.

Fremgangsmåde

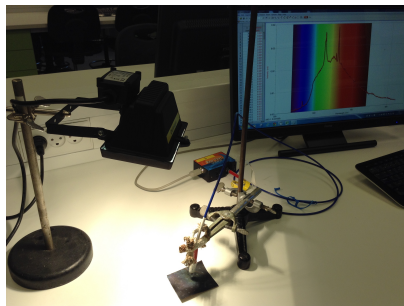
1. Sluk for loftslýset og brug en halogenlampe som lyskilde.
2. Mål spektret (intensitet vs. bølgelængde) af et ubrugt stykke sort karton med et spektrofotometer og programmet Logger Pro (se figur 10). Kopier dataene til Excel.
3. Mål spektret af forskellige farvede områder på kartonen, f.eks. der hvor farverne rød, gul, grøn og blå er, og kopier dataene til Excel.
4. I Excel træk kolonnen med intensitet af det sorte karton fra kolonnen med intensiteten af de farvede områder, således at bidraget fra den sorte baggrund trækkes fra. Noter bølgelængden hvor intensiteten er størst for hver farve i tabel 1.
5. Lav en samlet graf over intensiteten som funktion af bølgelængden λ med hver af målingerne, hhv. det røde, gule, grønne og blå område.

Spørgsmål

- Hvordan kan gennemsigtig neglelak danne mange forskellige farver?

Strukturel farve	Rød	Gul	Grøn	Blå
Målt bølgelængde λ [nm]				

Tabel 1



Figur 10: Opstilling til måling af farvespektret med spektrofotometer.

4.3 Undersøgelse af sommerfuglevinger og kunstige strukturer med spektrofotometer

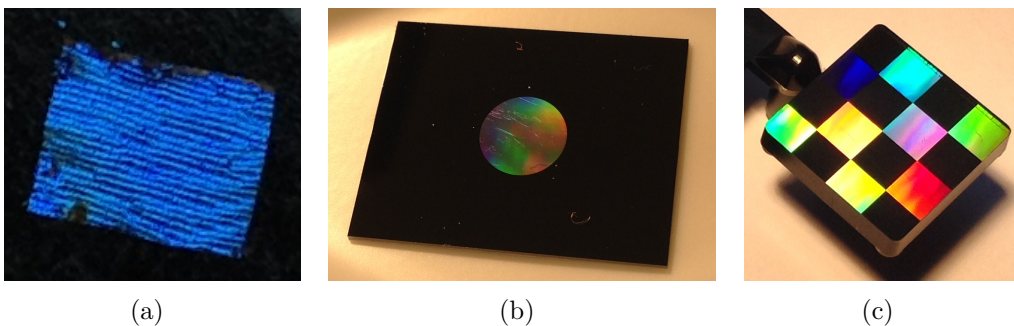
I skal nu undersøge *Morpho didius* sommerfuglens farver samt se forskellige farvede strukturer, der er kunstigt fremstillede.

Fremgangsmåde

1. Placer rammen med sommerfuglen fladt på bordet med oversiden af vingerne opad. Hvilken farve har vingerne?
2. Hold sommerfuglen op mod lyset. Hvilken farve har vingerne nu? Er det et tegn på, at den blå farve stammer fra pigment eller strukturer?
3. Brug spektrofotometeret til at måle farvespektret af vingerne (se figur 11(a)). Noter bølgelængden hvor intensiteten er størst.
4. Mål også spektret af de kunstigt fremstillede prøver (se figur 11(b) og figur 11(c)).

Spørgsmål

- a. Overvej om der er måder, hvorpå man kan ændre sommerfuglens farver?
- b. Se videoen `Video_sprit_paa_sommerfuglevinge.mp4` og find ud af, hvad der sker, når der hældes en dråbe ethanol på en sommerfuglevinge. Hvilken materialeparameter forårsager ændringen?



Figur 11: (a) Et vingestykke fra en *Morpho didius* sommerfugl, og kunstigt fremstillede strukturelle farver (b) fremstillet i DTU's rentrum og (c) fremstillet af NIL Technology.

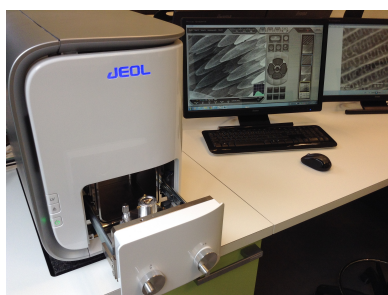
4.4 Visualisering af strukturer med SEM

Nu da strukturernes farver er undersøgt, skal I undersøge strukturernes opbygning med et SEM (se figur 12(a)).

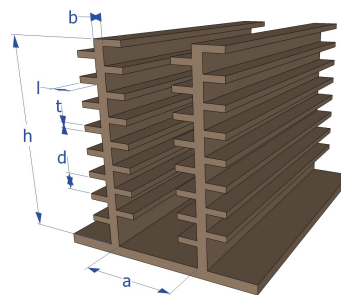
Fremgangsmåde

Brugervejledningerne til SEM og EDS findes ved mikroskoperne i *Nanoteket*. Et SEM er et dyrt og følsomt instrument. I skal derfor følge vejledningerne nøje og være forsigtige, når I betjener det.

1. Følg guiden "Brugermanual til JEOL JCM-6000" for at bruge SEM'et.
2. Undersøg sommerfuglevingsens overfladestruktur med sekundær-elektrondetektoren (SEI) ved forskellige accelerationsspændinger og forskellige forstørrelser. Hvilken betydning har accelerationsspændingen for den information, vi får fra de forskellige billeder?
3. Identificer grundskæl og dækskæl. Har de samme struktur?
4. Mål længden og bredden af et vingskæl.
5. Brug EDS til at finde ud af hvilke grundstoffer, der er i sommerfuglevingen. Følg guiden "Brugermanual til JEOL EDS".
6. Undersøg vingens tværsnit både med SEI og tilbagespredningselektrondetektoren (BSEI). Mål grundskæl-parametrene angivet på figur 12(b).
7. Undersøg de kunstigt fremstillede strukturer og mål størrelserne.



(a)



(b)

Figur 12: (a) SEM og (b) skitse af lamelstrukturen, hvor h og b er højden og bredden af strukturen, a er afstanden mellem to rækker, t og l er tykkelsen og længden af lamellerne og d er distancen mellem to lameller.

5 Regneopgaver

Opgave 1

En tyndfilm af gennemsigtig neglelak med brydningsindeks $n_{\text{neglelak}} = 1,42$ er spredt ud på en vandoverflade med brydningsindeks $n_{\text{vand}} = 1,33$. Tyndfilmen belyses ovenfra med hvidt lys, hvormed der ses et flot farvemønster. Luftens brydningsindeks er $n_{\text{luft}} = 1,0$.

- Tegn en skitse af problemet.
- Forekommer der faseskift pga. materialernes brydningsindeks?
- Hvis et område af tyndfilmen kun kraftigt reflekterer hhv. rødt, gult, grønt eller blått lys, hvilken minimum tykkelse d har tyndfilmen så? Brug bølgelængderne fra tabel 2 i beregningerne og noter resultaterne for d i tabellen.

Strukturel farve	Rød	Gul	Grøn	Blå
Bølgelængde λ [nm]	700	580	530	450
Beregnet tykkelse d [nm]				

Tabel 2

Opgave 2

Et tankskib har spildt olie til søs, og en helikopter sendes derfor afsted for at inspicere skadens omfang. Det viser sig, at oliepoolen har et grønligt skær ($\lambda = 530$ nm), og det vurderes, at oliepoolen er omkring 200 m i diameter. Brydningsindeks af olie, vand og luft er hhv. $n_{\text{olie}} = 1,5$, $n_{\text{vand}} = 1,33$ og $n_{\text{luft}} = 1,0$. Beregn hvor mange liter olie, der minimum er spildt.

Opgave 3

Når hvidt lys rammer bagsiden af en DVD, reflekteres regnbuens farver pga. sporafstanden, som er afstanden mellem rækkerne med bits på DVD'en. Beregn sporafstanden når reflektionen af 1. orden af det røde lys med bølgelængde $\lambda = 700$ nm reflekteres med vinklen $\theta = 71^\circ$.

Opgave 4

Forklar hvorfor et SEM-billede af en overflade dannet ud fra sekundære elektroner og tilbagespredte elektroner ikke angives med forskellige farver, men kun gråtoner.

Opgave 5 (Fysik A-niveau)

Når en elektron med ladningen $q = -e$ bevæger sig med hastigheden \vec{v} i et homogent magnetfelt \vec{B} , påvirkes den af Lorentz-kraften $\vec{F} = q(\vec{v} \times \vec{B})$. Det antages at hastigheden \vec{v} og magnetfeltet \vec{B} er vinkelret på hinanden, så kraften kan udregnes som:

$$F = |q|vB = m\frac{v^2}{R} \quad (3)$$

hvor $B = 2 \text{ T}$ er magnetfeltet og $v = 50 \cdot 10^6 \text{ m/s}$ er hastigheden.

- (a) Beregn kraften F , som elektronen påvirkes med.
- (b) Bestem hvilken bane, elektronen bevæger sig i.
- (c) Udregn radius R af banen.

I et SEM påvirkes elektronerne af magnetfelter fra de elektromagnetiske linser i kolonnen. Disse magnetfelter er tilnærmelsesvis parallelle med elektronens bevægelse.

- (d) Hvilken bane vil elektronen bevæge sig i, hvis det antages at elektronen fra opgave (a)-(c) også påvirkes af en kraft, der er parallel med magnetfeltet (som det er tilfældet i et SEM)?

Litteratur

- [1] Billederne bruges med tilladelse fra AMMRF Australian Microscopy and Microanalysis Research Facility. Billederne er fra hjemmesiden: <http://www.ammrf.org.au/myscope/sem/practice/principles/>, dog ændret til dansk.
- [2] Jeppe S. Clausen, Emil Højlund-Nielsen, Alexander B. Christiansen, Sadegh Yazdi, Meir Grajower, Hesham Taha, Uriel Levy, Anders Kristensen, and N. Asger Mortensen. Plasmonic metasurfaces for coloration of plastic consumer products. *Nano Letters*, 14(8):4499–4504, 2014. PMID: 25003515.
- [3] S. Kinoshita, J. Miyazaki, and S. Yoshioka. Physics of structural colors. *Reports on Progress in Physics*, 71(7):–, 2008.
- [4] S. Kinoshita, S. Yoshioka, and J. Miyazaki. Physics of structural colors. *Reports on Progress in Physics*, 71(7):076401, 2008.
- [5] H. Young and R. Freedman. *University Physics: with modern physics*. Pearson, USA, 12. edition, 2008.

Læs mere om elektronmikroskoper og hvad forskere bruger dem til i bogen *Nanoteknologiske Horisonter*, Kapitel 2: *Nanoteknologi i billeder*, 2010, som kan læses på www.nano.dtu.dk/Nanoteknologiske-bog.

6 Sponsorere

Elektronmikroskopilaboratoriet i *Nanoteket* er et samarbejde mellem Institut for Fysik (DTU Fysik) og Center for elektronnanoskopi (DTU Cen), og projektet er støttet af VILLUM FONDEN, Otto Mønstedts Fond og Marie & M. B. Richters Fond.



Marie & M. B. Richters Fond

Tak til NIL Technology (www.nilt.com), Optofluidics gruppen på DTU Nanotech [2] og Thomas Pedersen fra DTU Nanotech for at levere farvestrålende prøver til øvelsen. Derudover tak til Paul Kempen fra DTU Nanotech for præparering af sommerfuglevingeprøver.