

# Experimentally Minimized Contaminative Condition of Carbonaceous Artifacts in Transmission Electron Microscope

Young-Min Kim, Joo-Hyoung Choi, Kyung Song,  
Yang-Soo Kim and Youn-Joong Kim\*

Korea Basic Science Institute (KBSI),  
52 Eoeun-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-333, Korea

(Received February 9, 2009; Accepted March 12, 2009)

**ABSTRACT** : Contaminative artifacts such as carbonaceous materials on carbon-coated microgrids are unavoidable, which is induced by electron beam exposure inside electron microscopes. This phenomenon raise a source to produce confusing information to the samples investigated by analytical TEM, which should be alleviated as much as possible. As experimental precautions for reducing this unwanted effect, the use of LN<sub>2</sub> cooled anti-contaminator and pre-illumination of electron beam at low magnification can be helpful. Nevertheless, we should be cautious to set an illumination condition for microanalysis because the contaminative effect is dependent with the types of irradiation situations, which is well known to be a decisive factor for causing the carbonaceous artifacts. Accordingly, it is necessary that optimal illumination to minimize the contaminative effect should be selected for improving the accuracy of microanalysis. In this paper, we introduce the practical method to determine the optimal illumination condition by evaluating the contaminative effect as a function of instrumental spot size, which is directly linked with electron current density. (김영민, 최주형, 송경, 김양수, 김윤중: 투과전자현미경에서 탄소질 불순물의 오염 최소화를 위한 실험 조건)

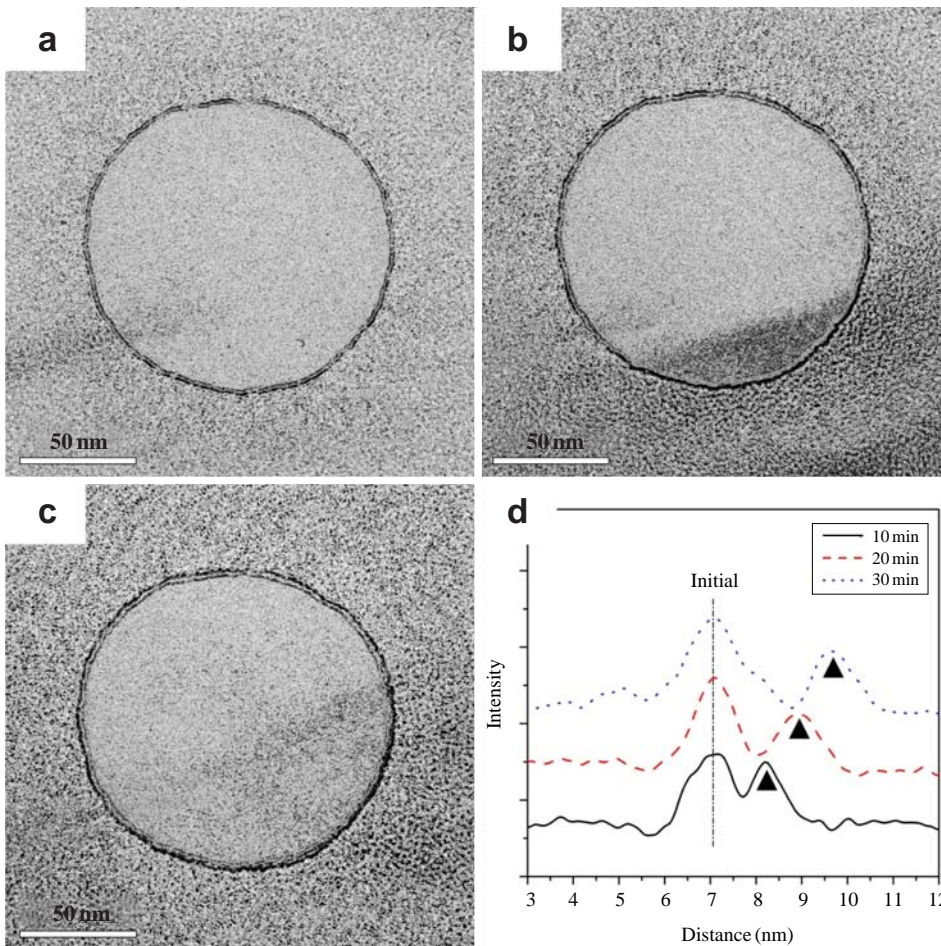
**Keywords** : Contamination, Carbonaceous artefacts, TEM

전자현미경 관찰에서 시편 표면에 대한 탄소질 불순물의 오염 현상은 잘 알려진 사실이며 전자 빔 조사 조건에 의해 오염 양상이 달라진다(Reimer, 1993). 이러한 물리적 현상을 재료과학에서는 EBID (electron-beam-induced deposition) 공정 기술로 응용하여 시편의 국소 영역에 대한 화합물 증착 기술로 활용하기도 한다(Wei et al., 2008). 그러나 분석 정밀

도를 떨어뜨리는 이러한 오염 현상은 시편 분석에 있어선 가능하면 배제하거나 최소화하여야 할 실험적 오차요인이다. 시료에 대한 불순물 표면 오염 현상은 시편 준비과정에서 발생하는 hydrocarbon 분자의 시료 표면 흡착, 탄소 지지막의 사용, 현미경 경통의 진공도, 진공 그리스의 사용, 시료 온도 및 보관 상태, 전자빔 조사 조건 등에 따라 발생 정도가 달라진다(Reimer and Wächter, 1978; Reimer, 1993). EELS (electron energy loss spectroscopy)나 EDXS (energy dispersive x-ray spectroscopy)와 같은 화학 분석과 분광 영상 분석 그리고 생물 시편의 cryo-EM 분석 시엔 특히 이들 실험적 오류 요인들을 신중하게 점검하고 그 효과를 최소화하려는 노력들이 필요하다(Diociaiuti, 2005; Cheng et al., 2006). 불순물 증착 효과를 최소화하기 위한 대안으로서 먼저 장치 상으로는 액체질소 냉각 anti-contaminator (혹은 cold-finger)를 경통에 장착하는 방법이 있는데 요즘의 전자현미경에선 이들 장치가 모두 부착되어 생산된다. 작업자의 수준에서는 시료의 준비 및 보관에 전조기를 활용하고 이동 시엔 메탄올에 침지된 상태로 취급하여 공기 중 표면 오염을 최소화하여야 한다. 또한 시료 홀더의 진공 그리스를 과다 도포하지 말아야 하며 맨손으로 홀더의 경통 장입부를 취급하지 않는 것이 좋다. 이러한 실험적 주변 상황들이 정착되면 시료 오염의 결정적 역할을 하는 것은 시료에 대한 전자 빔의 조사 조건 즉 조사 영역과 전류밀도의 설정이다. 시료 분석 전 저배율에서 낮은 전자 밀도로 사전 조사를 10~30분 범위에서 실시하면 이 후의 분석에서 시료 표면에 발생하는 hydrocarbon 불순물의 오염 현상뿐만 아니라 시료 charging 및 유동 현상을 감소시킬 수 있다(Kim, 2007). 이러한 효과는 시료 표면에 흡착된 hydrocarbon 분자들과 H<sub>2</sub>O, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> 분자들이 전자 빔에 의해 교차연결(cross-linking) 반응을 하여 시료 표면에 얇은 carbon-rich 고분자 중합 필름이 형성되기 때문으로 알려져 있다(Reimer, 1993). 분석 전에 형성된 carbon-rich 고분자 중합 필름은 이후 시료 분석 시 강한 빔을 사용하더라도 탄소질 불순물이 조사 영역으로 표면 확산하

본 연구는 교육과학기술부 기초기술연구회의 2008년 협동연구과제의 재정 지원을 받아 수행하였습니다.

\* Correspondence should be addressed to Dr. Youn-Joong Kim, Division of Electron Microscopic Research, Korea Basic Science Institute, 52 Eoeun-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-333, Korea. Ph.: (042) 865-3596, Fax: (042) 865-3939, E-mail: y-jkim@kbsi.re.kr



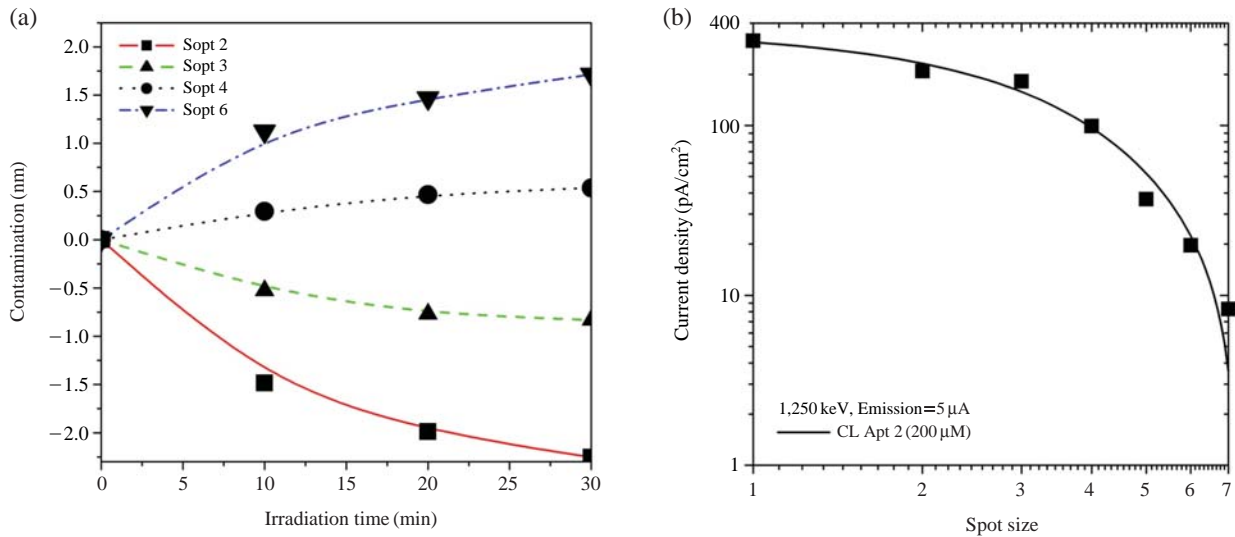
**Fig. 1.** Examples of estimation of contaminative phenomenon using holey carbon support film: The difference of radius of hole area in carbon support film before and after electron beam irradiation were measured by contrast difference of the images as shown in (a to c), which were created by superimposing initial image on the image taken at each interval of electron beam irradiation, 10, 20, 30 min, respectively. The graphical display to show progressive changes of the hole size as a function of the irradiation time is represented in (d).

는 것을 억제하여 오염 및 증착 효과를 감소시킨다. 이것은 전자 빔에 의한 오염 증착과 식각(etching)의 상호 경쟁 상황에서 지배적인 인자가 현상적으로 나타나는 것이므로 시료 온도, 전자 빔 조사 조건 등에 의해 그 오염 경향성과 정도가 달리 나타난다(Hren, 1989).

나노 소재의 분석에 있어 탄소 지지막이 증착된 그리드의 활용은 필수적이다. 따라서 탄소질 불순물의 오염은 열거한 대안들을 고려하더라도 분석하는 시료 자체에 탄소 공급원을 포함하고 있기 때문에 시료 내 전자 빔 조사 조건이 실험적으로 최적화되지 않으면 이를 최소화할 수 없다. 본 연구에서는 탄소 지지막을 사용하는 시료 분석에서 탄소 지지막과 전자 빔과의 상호 작용에 의해 나타나는 탄소질 불순물의 오염 및 식각 효과를 조사 조건의 설정에 따라 추적하고 시료 표면의 오염과 식각을 최소화하는 실험 조건을 탐색하였다.

분석 시료로는 일정한 크기의 carbon holey film이 입혀진 Cu 그리드(QUANTIFOIL Micro Tools GmbH, Germany)를

사용하였다. 사용한 투과전자현미경은 초고전압 투과전자현미경(HVEM, ARM1300S, Jeol Ltd.)으로 관찰 가속전압은 1,250 keV였다. 높은 전자 가속 전압으로 인해 knock-on damage나 surface sputtering 효과가 일반 전자현미경의 경우보다 강하기 때문에 오염과 식각의 상호 경쟁 양상은 다르게 나타날 수 있으나(Egerton, 2004), 본 연구에서 제안된 실험적 방법은 관찰에 사용되는 전자현미경의 종류에 관계없이 해당 전자현미경의 분석 환경 하에서 탄소 불순물의 오염 효과 평가에 적용가능하다. 시료에 대한 전자 빔 조사 모드는 HVEM이 평행 빔 조건만 가능하기 때문에 3  $\mu\text{m}$ 의 일정한 조사 영역에 대해 전자 빔의 집속 밀도를 변화시켜 가면서 일정한 크기로 뚫린 탄소 지지막의 구멍 영역에서 일어나는 탄소질 불순물의 오염 및 식각 효과를 관찰하였다. 전자 빔의 집속 밀도는 집속 렌즈의 전류 변화로 얻어지는 빔 spot의 크기 설정 변화로 바꾸어 주었고, 집속렌즈 조리개는 HVEM의 일반 분석 환경 하에서 주로 사용하는 가장 큰 200  $\mu\text{m}$ 의 조리개(수렴반각으로서 0.5 mrad)를 사



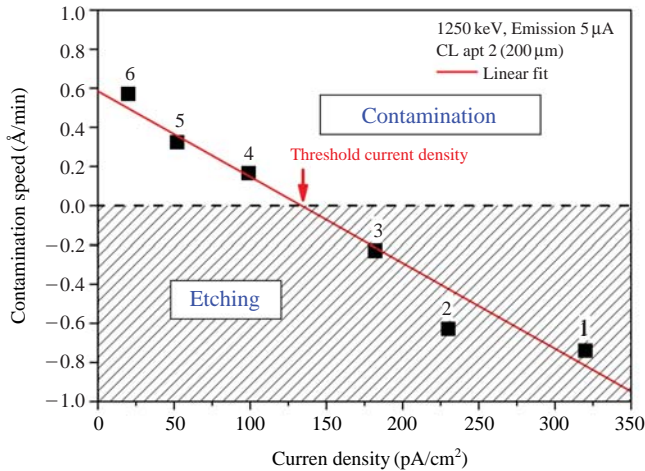
**Fig. 2.** (a) Variations of contamination thickness at a holey area of carbon support film as a function of electron beam irradiation time with different spot size. (b) Experimental relationship of current density as a function of the electron beam spot size.

용하였다. 집속렌즈 조리개의 크기에 따라 빔의 수렴각과 전류 밀도가 달라지기 때문에 이 또한 하나의 실험 변수이나 본 실험에서는 이의 효과는 고려하지 않았다. 그리고 gun-bias를 조정하여 전자총의 방출 전류는 5 μA로 고정하였다. 이때 실험에 사용된 carbon holey film은 전자 빔 조사 실험 이전에 최저 배율인 2,000배에서 20분간 10 pA/cm<sup>2</sup> 이하의 전류 밀도로 사전 조사하였다. 시료 자체에 영향을 미치지 않을 정도의 낮은 밀도로 전자 빔을 사전 조사하게 되면 (Kim, 2008), 이후의 고배율 관찰에서 필름의 유동 현상과 급작스런 강한 빔 조사에 의한 지지막의 파손을 방지할 수 있다. 실제로 Kim et al. (2007)은 STEM (scanning transmission electron microscopy) 탐침으로 지지막 위에 올려진 나노 입자를 분석할 때, 낮은 전자 빔을 활용한 사전 조사로 지지막과 시료 유동 안정도에 기여함을 보여주었다. 분석 자료는 전자 빔 조사 시간과 빔 spot의 크기에 따라 나타나는 탄소 지지막 구멍의 크기 변화를 100,000배의 배율에서 필름으로 기록하여 획득하였다.

Fig. 1에 전자 빔 조사 시 탄소 지지막의 구멍 영역에서 일어나는 오염과 식각 현상의 측정 예를 나타내었다. Fig. 1(a~c)의 자료는 빔 spot 크기를 2(전류 밀도로서 230 pA/cm<sup>2</sup>, 장비 기능상 spot 설정 번호가 클수록 빔의 크기와 전류 밀도가 작아진다)로 설정하고 조사 시간에 따라 기록된 구멍 영역의 영상들을 초기에 기록된 구멍 영상과 중첩한 뒤 영상 강도 값을 빼주어서 획득하였다. 그렇게 되면 초기와 조사 시간 이후에 나타난 구멍 크기의 변화를 Fig. 1의 (a~c)와 같이 확인할 수 있고 구멍 가장자리의 영상 강도 변화를 추적하여 Fig. 1의 (d)와 같이 도식적으로 변화상을 표현 할 수 있다. Fig. 1의 (d)의 결과로부터 빔 spot의 크기

를 2로 설정하게 되면 초기 구멍의 크기를 기준으로 구멍의 크기가 전자 빔의 조사 시간에 따라 증가한다는 것을 알 수 있다. 즉 본 조사 조건에서는 상온에서 전자 빔 조사에 의해서 탄소 지지막의 식각 현상이 일어나는 것이다. 이것은 고 가속전압을 사용하는 HVEM의 전형적인 특징으로 일반 중/저전압 TEM들과는 대비되는 특성이다. 시료의 오염 현상뿐만 아니라 시료에 대한 식각 현상도 미소화학분석에 오차 요인으로 작용하기 때문에 이들 양자의 현상이 최소화되는 조사 조건을 탐색하여 실험 분석에 고려하여야 한다. Reimer (1978, 1993)와 Cairney et al. (2003)들은 가속 전압이 200 keV 이하 중/저전압 TEM에서 hydrocarbon 오염의 정도는 빔의 전류밀도가 증가할수록 또는 조사 영역이 작을수록 증가하고, 시료를 LN<sub>2</sub> cooling 홀더로 냉각하였을 때는 전자 빔 조사 조건에 관계없이 식각 현상이 일어난다는 것을 보였다. 또 이러한 식각 현상은 LN<sub>2</sub> 냉각 anti-contaminator를 사용하여 현미경 경통의 시료 주변부를 냉각해 주면 감소한다는 실험적인 제안도 하였다(Hren, 1989). 그러나 1,250 keV의 전자 빔을 사용하게 되면 이러한 중/저전압 TEM에서 나타나는 일반적인 양상과 다르게 나타나는 데 이에 대한 결과는 Fig. 2에 나타내었다.

Fig. 2의 (a)는 전자 빔 조사 시간에 따라 Fig. 1에 제시된 방법으로 측정된 구멍 영역에서의 오염 변화상을 빔 spot 크기의 변화에 따라 측정된 결과이고, Fig. 2의 (b)는 빔 spot 크기 변화에 따라 측정되는 전류 밀도 값이다. 빔의 전류 밀도는 빔 spot의 크기가 작아질수록 (spot 크기를 나타내는 지정 숫자가 클수록) 지수함수적으로 감소하는 경향을 보인다. Reimer (1978, 1993)의 결과에 의하면 빔 크기가 작아지고 전류 밀도가 감소할수록 시료의 오염 현상이 줄어들어



**Fig. 3.** Contaminative behavior by the electron beam irradiation in the microscope with respect to the electron beam spot size. The label numbers in the diagram indicate instrumental spot sizes, whose corresponding current densities have been used as the values of x-axis.

야 하나, 오히려 HVEM 내에선 오염 경향성 (positive contamination)이 증가하고 빔의 전류 밀도가 클수록 식각 경향성 (negative contamination)이 커지는 양상이 관찰되었다. 앞서 기술한 바와 같이 전자현미경 내에서 일어나는 오염 현상과 식각 현상은 이들의 상호 경쟁관계에서 지배적인 인자가 현상적으로 발현되는 것인데, HVEM 내에선 고에너지 전자의 집속 밀도가 클수록 빔과 증착 분자간의 충돌 확률이 증가하고, 일단 상호작용이 일어나게 되면 momentum 전달 효과가 커지기 때문에 knock-on damage나 surface sputtering 효과로 바로 발현되어 나타나서 임계 전류 밀도를 기준으로 이 값을 상회하는 전류 밀도에서는 식각 현상이 나타나는 것으로 사료된다. Fig. 1의 (a)에 나타난 측정 결과는 빔 spot 크기가 큰 영역 (spot 번호로 1-3)의 범위에서는 식각 현상이 발생하고 이 보다 작은 영역 (spot 번호로 4-7)에서는 오염이 발생한다는 것을 보여준다.

HVEM 내에서 전자 빔 조사 조건에 의해 일어나는 시료의 오염과 식각 현상을 결정하는 기준은 임계 전류 밀도이다. 본 연구에서 제시한 실험적 측정 방법으로부터 해당 값을 가늠할 수 있으며, 바로 이 전류 밀도 값이 시료의 오염과 식각 현상을 최소화하는 조건이 된다. 이의 결과를 Fig. 3에 도식적으로 나타내었다. 여기서 오염 속도의 평가는 탄소 지지막의 구멍 영역에 30분 동안 전자 빔을 조사 한 후 측정된 오염이나 식각 두께로부터 계산하였다. Fig. 3의 도표는 본 연구에서 최종적으로 얻고자 하는 실험적 참조 자료이다. 해당 도표를 활용하면 EELS나 EDXS와 같은 분석 전자현미경기술을 활용하는데 전자 빔 조사에 의해 발생하는 artifact를 최소화하는 조사 조건을 바로 확인할 수 있기 때문이다. 결과에 의하면 HVEM의 경우 임계 전류 밀도

값은  $130 \text{ pA/cm}^2$ 로서, 이 값을 전 후로 하여 시료의 오염과 식각 현상이 선택적으로 발현되어 나타난다는 것을 확인할 수 있다. 따라서 탄소지지막 위에 올려져서 분석이 이뤄지는 나노소재나 의생물 시료의 오염이나 식각을 최소화하기 위한 전자 빔 조사 조건은 상온에서 빔 spot의 크기 설정을 3이나 4로 설정하고 gun bias를 미세 조정하여 임계 전류 밀도 값으로 설정해 주는 것이다. 본 실험에서 실험 변수로 고려하지 않은 집속렌즈 조리개의 크기 변화, 시료 온도 변화 등의 효과를 고려하여 상기에 기술한 바와 같은 간단한 측정들을 수행하면 보다 정밀한 전자 빔 조사 조건 설정을 위한 실험 참조 도표를 획득할 수 있다. 한 가지 주지하여야 할 것은 본 실험에서 탄소질 불순물의 오염 증착 평가에 활용한 탄소 지지막의 구멍 영역은 빈 공간이기 때문에 실제 시료의 표면에서 일어나는 현상과는 달리, 구멍 가장자리에서 전자빔의 impact에 의해 탈리된 분자들이 시료 표면으로 재 증착될 기회가 사라져 버린다는 것이다. 따라서 이러한 전자 빔 impact와 탄소 지지막 시료와의 geometry 효과에 의해 구멍 영역에서의 식각 효과는 과대평가될 수 있으며 오염 증착 효과는 과소평가될 우려가 있다. 그러나 본 실험 방법이 실제 시료에서 나타나는 물리적 상황을 정확하게 반영하지는 않더라도 오염과 식각 현상의 실질적인 실험 상황을 판단하는 기준을 제공해주므로 작업자의 수준에선 이의 효과를 최소화 할 수 있는 실험 설계를 위해 매우 유용한 정보로 활용 할 수 있다.

## 참 고 문 헌

- Cairney JM, Munroe PR: Redeposition effects in transmission electron microscope specimens of FeAl-WC composites prepared using a focused ion beam. *Micron* 34 : 97-107, 2003.
- Cheng A, Fellmann D, Pulokas J, Potter CS, Carragher B: Does contamination buildup limit throughput for automated cryoEM? *J Struct Bio* 154 : 303-311, 2006.
- Diociaiuti M: Electron energy loss spectroscopy microanalysis and imaging in the transmission electron microscope: example of biological applications. *J Electron Spect Rel Phenom* 143 : 189-203, 2005.
- Egerton RF, Malac PLM: Radiation damage in the TEM and SEM. *Micron* 35 : 399-409, 2004.
- Hren JJ: Barriers of AEM : Contamination and etching. In: Joy DC, Romig AD, Goldstein JI, eds, *Principles of Analytical Electron Microscopy*. pp. 353-392, Plenum New York, 1989.
- Kim YM, Kang JS, Kim JS, Jeung JM, Lee JY, Kim YJ: Ultrathin carbon support films for high-resolution electron microscopy of nanoparticles. *Microsc Microanal* 13 : 285-290, 2007.
- Kim YM, Lee S, Kim YS, Oh SH, Kim YJ, Lee JY: Electron-beam-induced transition aluminas from aluminum trihydroxide. *Scripta*

- Mater 59 : 1022-1025, 2008.
- Reimer L, Wächter M: Contribution to the contamination problem in transmission electron microscopy. *Ultramicroscopy* 3 : 169, 1978.
- Reimer L: *Transmission Electron Microscopy-Physics of Image Formation and Microanalysis*. 3rd edit. Springer-Verlag, pp. 457-463, 1993.
- Wei XL, Liu Y, Chen Q, Peng LM: Controlling electron-beam-induced carbon deposition on carbon nanotubes by Joule heating. *Nanotech* 19 : 355304, 2008.