

El abc de la formación de imágenes en un microscopio electrónico

A. Huanosta-Tera

*Instituto de Investigaciones en Materiales, Universidad Nacional Autónoma de México
Apartado postal 70-360, 04510, México D.F., México*

Recibido el 14 de mayo de 1999; aceptado el 22 de septiembre de 1999

El advenimiento de la microscopía electrónica ha cambiado nuestra comprensión en torno a cómo está constituida la materia. Esto ha modificado profundamente el campo de la investigación en la ciencia de materiales, particularmente debido a la posibilidad de obtener fotografías del interior de la materia. Para interpretar algunas características de las imágenes de microscopía electrónica debemos tener al menos una idea rudimentaria de cómo se formaron éstas. En esta nota elemental usamos ideas familiares en óptica clásica para describir la formación de imágenes en los microscopios electrónicos. Nuestro interés está en hacer énfasis en aspectos físicos, cualitativamente, en el proceso de formación de imágenes particularmente en un microscopio electrónico de transmisión. Aunque se ha incluido buena cantidad de datos, esta nota está dirigida a quienes quieran conocer las ideas básicas del tema, más que a expertos en la materia.

Descriptores: Microscopio electrónico de transmisión; imagen; formación de imágenes; investigación en ciencia de materiales

The advent of electron microscopy has changed our understanding about how matter is constituted. It has deeply modified the field of materials science research, especially because the possibility of taking photographs from the interior of a material. However, in order to interpret some features in images taken with an electron microscope we must have at least an elementary idea about how that images were generated. It is especially true when we start to learn diffraction techniques. In this elementary note we use familiar ideas in classical optics to describe imaging formation in electron microscopes. Our interest lies in to emphasize qualitatively physical aspects particularly in the imaging process of a transmission electron microscope. Although we have included certain amount of useful data, this note is rather dedicated to no experienced people who want to know the basic ideas of the subject.

Keywords: Transmission electron microscope; image; image formation; materials science research

PACS: 87.64.Ee; 61.16.Bg

1. Introducción

Una de las funciones más importantes en nuestra actividad diaria consiste en establecer las diferencias que nos permitan asignar el uso adecuado a los objetos que nos rodean: un automóvil, una computadora, una flor, un pequeño artefacto de laboratorio, un microcircuito, etc.

Utilizamos nuestros sentidos en un primer intento para obtener información de o acerca de los objetos que están a nuestro alrededor. En este proceso cognoscitivo nuestros ojos juegan un papel estelar. Lo primero que hacemos es poner en nuestro campo visual el o los objetos de nuestro interés. Aunque seguramente no siempre nos preguntamos ¿qué es lo que ocurre cuando miramos u observamos un objeto? o ¿qué es lo que involucra el proceso de percibirse de que ahí hay un objeto con tales o cuales características?

Si nosotros observamos un objeto con nuestros ojos, en forma directa o ayudados con algún instrumento, lo que realmente vemos no es el objeto en sí mismo, sino lo que percibimos, es decir, lo que nuestro cerebro registra es una imagen de ese objeto [1]. De todos modos nadie podrá negar el valor descriptivo de una imagen, pues se dice que la imagen de un objeto frecuentemente supera, con mucho, cualquier descripción verbal o escrita del mismo.

Sería maravilloso poder obtener toda la información referente a un objeto usando únicamente nuestros sentidos. Sin

embargo, es un poco decepcionante reconocer que una imagen que debía contener toda la información que podríamos desear para poder formular juicios, o sacar conclusiones de lo que se observa, está lejos de contenerla. Si pensáramos que esto es lo que debía ocurrir estaríamos pasando por alto que la naturaleza de la imagen que observamos depende, naturalmente, del objeto que se está observando, de la longitud de onda de la radiación que se use para la observación, es decir, la iluminación y de la tecnología que se esté utilizando para la detección y despliegue de la información. Esto, obviamente, no es posible. Por ejemplo la utilización directa de nuestros ojos, en el intento de conocer las características microscópicas de las cosas, impone limitaciones. El ojo humano está limitado en cuanto a su poder de resolución, esto es, en su capacidad de separar visualmente puntos, líneas o detalles estructurales a distancias pequeñas. La resolución del ojo humano es aproximadamente de 0.1 a 0.2 mm, observando a una distancia de 30 cm, aproximadamente.

El ingenio del hombre, sin embargo, ha podido crear instrumentos capaces de superar ciertas limitaciones. Para mejorar la capacidad de resolución de nuestros ojos utilizamos lentes. Como sabemos, una lente no es otra cosa que un medio refractor, es decir, un medio capaz de desviar la trayectoria de un haz luminoso. Las lentes son los instrumentos ópticos más útiles en el proceso de formación de imágenes. Aunque todos tenemos una idea intuitiva de lo que significa la

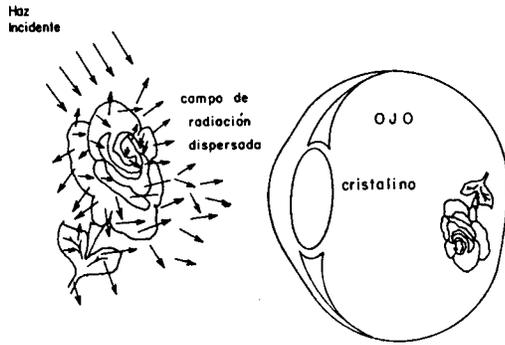


FIGURA 1. Formación de la imagen en la retina del ojo humano.

palabra imagen, vale la pena hacer notar que aquí la usamos en un sentido pictórico, en donde su carácter descriptivo es sensible a la presencia de colores, matices o claro-oscuros que puedan resaltar todas, o la mayor cantidad posible de las características de eso que llamamos imagen.

2. La microscopía óptica

2.1. La utilidad de la iluminación

¿Cómo nos damos cuenta de que algo está frente a nosotros? Probablemente el hecho cotidiano, con frecuencia descuidado, del uso de nuestros ojos hace que restemos importancia respecto al vehículo que usamos para “ver”. Conviene ser conscientes del proceso que implica el percibirse, a través de la vista, de la presencia de objetos. Es decir, la formación de imágenes en nuestro cerebro.

El ojo tiene una lente, el cristalino, que forma imágenes reales en una superficie sensible a la luz, la retina. El cristalino es una lente maravillosa, es flexible y puede cambiar su distancia focal a voluntad o por requerimiento externo, lo cual le permite enfocar casi instantáneamente los objetos. Su índice de refracción está en el intervalo 1.406–1.388. El ojo es sensible a longitudes de onda normalmente entre 390 nm y 780 nm, aunque se sabe que hay ojos que pueden captar longitudes de onda [2] desde 310nm hasta 1050nm.

Si hacemos la observación utilizando simplemente la luz solar, entonces la energía luminosa que incide sobre el objeto es dispersada en todas direcciones formando un complejo campo de radiación, cuya distribución espacial contendrá toda la información acerca del objeto (Fig. 1). Se puede decir que la radiación luminosa dispersada transfiere, en forma codificada, la información del objeto hacia la imagen que se ha de formar en nuestra retina. Esto significa que aunque el patrón de radiación dispersada pueda ser muy complicado realmente no es caótico ni azaroso, puesto que la distribución de intensidad dispersada está estrictamente determinada por el objeto. Entonces, el proceso de percepción visual, o la posibilidad de formar la imagen de un objeto mediante algún dispositivo, trae atada principalmente la cuestión: ¿cómo se transfiere la información de un objeto a su imagen?

Si queremos saber cómo es realmente el objeto debemos descubrir o entender tan exactamente como sea posible el proceso de transferencia de la información, del objeto hacia su imagen, libre de interferencias indeseables [3].

2.2. El contraste

Un parámetro útil para evaluar el comportamiento de un sistema formador de imágenes es el contraste. El término “contraste” se refiere a la diferencia en intensidad que hace que una parte de la imagen sea distinguible de la intensidad de fondo. Las regiones que se aprecian más claras, o brillantes, de un objeto que esté siendo irradiado con luz natural, simplemente reflejan el hecho de que, desde esa posición, el observador está apreciando mayor cantidad de fotones dispersados en esas regiones. En cambio aquellas zonas del objeto que no se aprecien o que se vean francamente oscuras, reflejan el hecho de que la luz que llega a esas regiones se dispersa en otras direcciones o es absorbida por el objeto. Éste es el origen del contraste. Por otra parte, si el observador cambia de posición, entonces cambia el ángulo de observación y seguramente cambiarán las características de la imagen observada, simplemente porque será otra la distribución de intensidad dispersada y/o absorbida que se pueda apreciar desde su nueva posición. En esta última acción el observador estaría eligiendo qué información recibir y cuál no.

Es bueno reconocer que siempre será necesario usar algún tipo de instrumento para detectar una imagen, aun en el caso del ojo humano. Finalmente, la retina del ojo es un instrumento de detección. Otros componentes ópticos también pueden ser considerados como importantes en el proceso de formación de imágenes: el cristalino, lentes, espejos, prismas, etc.

Desde luego que, en un intento de análisis completo del proceso de formación de imágenes, resultará de suma utilidad descubrir y comprender los efectos que tendrán estos componentes ópticos en el proceso de transferencia de información del objeto a la imagen. Hablamos, desde luego, de pérdidas de energía luminosa, procesamiento “defectuoso” de la información, que podría resultar en adición, presencia espuria o, también, pérdida de información.

La teoría moderna de funciones de transferencia, en el proceso de formación de imágenes y sistemas formadores de las mismas, funciona bajo la idea de transferencia de información del objeto hacia su imagen y de cómo se puede distorsionar el contenido de la información en el proceso de transferencia. Se puede decir que una función de transferencia es una descripción matemática de la forma en la cual la información es modificada como energía radiante y es transferida del objeto a la imagen [3].

2.3. La luz y la óptica clásica

La luz posee naturaleza electromagnética y se comporta con carácter de onda-partícula. Esta admirable dualidad ha sido el

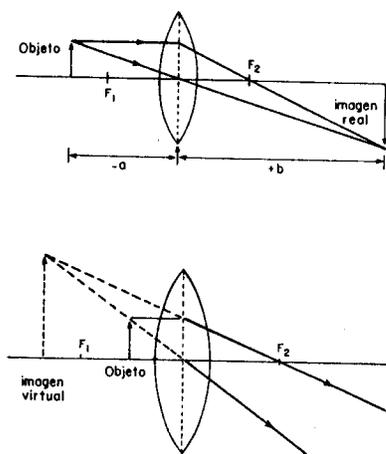


FIGURA 2. Formación de imágenes, real y virtual, con una lente clásica positiva.

el objeto de amplísimas investigaciones desde finales del siglo XIX. Aunque aquí no se discutirán estos aspectos, sí diremos que la manifestación ondulatoria está presente en la óptica clásica de manera insistente. Manejamos como óptica clásica geométrica aquella que utiliza en todo su formalismo únicamente haces de luz común, formada por fotones, cuyo movimiento ondulatorio asociado oscila a frecuencias de 0.4×10^{15} a 1×10^{15} Hz. Otras características bien conocidas de la luz son: que su velocidad es una de las constantes universales más conspicuas, 3×10^{10} cm/seg, y que las ondas que la forman obedecen el principio de superposición. La idea que encierra este principio es, por una parte, que las ondas que viajan en cualquier medio interactúan entre ellas. Por otra parte, que en cualquier experimento de interferencia ondulatoria la onda resultante en un punto del espacio es la suma de los movimientos ondulatorios individuales de las ondas interactuantes en ese punto [4].

El carácter de partícula de la luz se manifiesta cuando la onda interactúa con algún objeto.

No hay discusión en cuanto a los beneficios que se han obtenido a través del tiempo, y que aún se pueden obtener, del uso de una lente, o de sistemas de lentes. Éstos han sido y siguen siendo utilizados para coleccionar y cambiar la forma de un frente de ondas, generalmente con la intención de analizar información difundida a través de alguna región del espacio. Sabemos que la forma más común de percibir la "acción" de una lente es formando imágenes, bien sobre una pantalla o bien directamente en la retina del ojo humano. En la Fig. 2 se ilustra la obtención clásica de imágenes reales y virtuales por lentes convergentes.

Como se ha mencionado antes, una lente puede resultar un instrumento defectuoso en el proceso de formación de imágenes, lo cual perjudicaría el poder de resolución. Los defectos en las lentes se conocen como aberraciones. La corrección de defectos es un asunto difícil y frecuentemente se resuelve por ensayo y error, combinando efectos opuestos hasta obtener el resultado que se desea [5].

Una medida del poder colector de una lente, o de un sistema de ellas, lo proporciona el cuadrado de la apertura numérica, AN. Este número define el máximo cono de luz que una lente puede alcanzar, desde un punto, en una muestra. $AN = n \sin \alpha$, donde α es la apertura angular, la cual es un medio del máximo ángulo posible de la lente, es decir, el ángulo para el cual los rayos más divergentes pasan por la lente para formar imágenes, n es el índice de refracción de la lente. En un microscopio óptico (MO) clásico α puede alcanzar valores de $\sim 70^\circ$. El número AN aparece, generalmente, como el segundo número en los tubos objetivos de los microscopios ópticos. Este va de 0.007, para lentes objetivas de baja potencia, hasta 1.4, para objetivos de alta potencia, como un 100X. Para el aire $AN = 1$.

Fue Ernest Abbe (1840-1905), quien reconoció que la distancia transversal mínima entre dos puntos del objeto que se observa, o que puede resolverse en una imagen, es decir, el poder de resolución (PR), varía directamente con λ e inversamente con AN, $PR = 0.61 \lambda / AN$. En realidad, el PR determina la calidad de un instrumento óptico. Un microscopio de luz visible puede poseer un PR del orden de 200 nm. Con luz ultravioleta el PR puede ser hasta de 100 nm.

2.4. ¿Es la energía de las ondas de luz una limitante?

En el desarrollo de la ciencia, la óptica clásica ha tenido un papel protagónico. Habrá que reconocer, sin embargo, las limitaciones de la óptica clásica en diversos campos de la investigación científica actual, especialmente en las últimas décadas, en que se ha vuelto particularmente importante estudiar características estructurales "íntimas" de la materia. Observar una imagen del interior de un material tendría la fascinación de que ésta pertenecería a otro mundo, un mundo que está fuera de nuestra experiencia cotidiana. De la misma forma que podríamos maravillarnos imágenes de galaxias a millones de años luz.

La investigación básica en el área de la ciencia de materiales está interesada en caracterizar microestructuralmente a los materiales, en especial aquellos de nueva síntesis. Es importante tener una idea clara de los arreglos atómicos que forman la materia. En los materiales cristalinos esto requiere, con frecuencia, conocer las coordenadas de los átomos que forman las celdas unitarias de las estructuras cristalinas.

En el caso de los llamados biomateriales es importante conocer la estructura molecular de los componentes de un sistema, de suerte que una imagen de las formas geométricas de las moléculas pueden ser una buena guía para tener una idea del tipo de interacciones que se podrían esperar entre los diversos componentes.

Con la tecnología generada en torno a la óptica de luz visible, fue posible hacer una gran contribución al conocimiento estructural de la materia. Pero este logro estuvo basado, fundamentalmente, en observaciones de la topografía de los materiales y en razonamientos deductivos muy destacados. Por desgracia, utilizando haces de fotones no es posible escudriñar la constitución estructural interna de la materia,

debido principalmente a que las ondas que forman la luz no son lo suficientemente energéticas. La longitud de onda de la luz natural está en el intervalo $0.5 \mu\text{m} - 1 \mu\text{m}$. Se estima que la profundidad de penetración de un haz de fotones no es mayor que $0.002 \text{ nm} - 0.005 \text{ nm}$ [6]. La energía de un fotón es apenas del orden de un electrón volt.

3. La microscopía electrónica

3.1. Iluminando el interior de la materia

El concepto de iluminación, desde luego, no es privativo de la radiación formada por fotones. Otros tipos de radiación han sido implementados como medios de iluminación. Aunque, como haremos notar, su origen y efecto tendrán implicaciones que escapan a nuestra experiencia diaria.

De la misma forma que la dispersión de la luz natural sirve como vehículo para que el hombre perciba la presencia de objetos, a través de sus ojos, de esa misma forma podría ser utilizada otra forma de iluminación, capaz de penetrar la materia, para tener un panorama visual de la estructura atómica de las cosas. Entonces, para incursionar en el mundo íntimo de la materia requerimos un vehículo que nos permita extraer la información a escala atómica y molecular. Aun cuando esto implique la creación de una óptica de partículas aceleradas.

La utilización de haces de partículas, tales como electrones, previamente acelerados por una diferencia de potencial elevada, puede proporcionar el camino para obtener la información, vía fenómenos de dispersión e interferencia ondulatoria.

Si un haz de electrones se está moviendo bajo la influencia de una diferencia de potencial aceleradora V , entonces la longitud de onda [7] asociada al movimiento de las partículas viene dada por

$$\lambda = \frac{12.26 \text{ \AA}}{V^{1/2}(1 + 0.978 \times 10^{-6}V)^{1/2}},$$

V en volts. Es evidente que la longitud de onda asociada al movimiento del electrón depende sólo del potencial acelerador. Si, por ejemplo, se utilizara un potencial acelerador de 100 kV , encontraríamos que $\lambda = 0.037 \text{ \AA}$. Un valor pequeño comparado con las dimensiones interatómicas en un cristal. Con esta λ asociada, un electrón será capaz de penetrar la materia.

3.2. Un nuevo tipo de lente

Los electrones en movimiento poseen el atributo de comportarse como partículas cargadas y como ondas o paquetes de ondas viajando en la misma dirección que las partículas cuyas trayectorias están descritas por la amplitud de probabilidad de sus ondas asociadas. Es decir, éstos también poseen el carácter dual onda-partícula que tiene la luz natural.

Una partícula o un haz de partículas cargadas moviéndose en un campo eléctrico o magnético cambian su trayectoria,

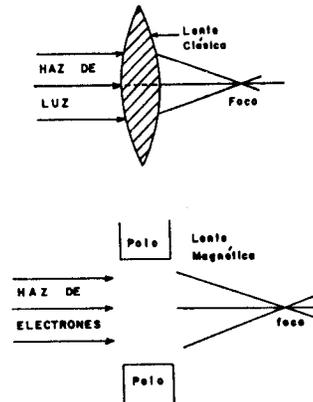


FIGURA 3. Comparación esquemática entre una lente clásica y una lente magnética.

dependiendo de la dirección de la velocidad y de la dirección del vector de campo eléctrico o magnético al cual estén sujetas las cargas. Aprovechando esta característica es posible diseñar dispositivos, eléctricos o magnéticos, que desempeñen la función de una lente [8]. En este caso el medio refractor estaría constituido por el campo eléctrico o magnético. En la Fig. 3 se muestra esquemáticamente una lente clásica y una lente magnética.

Una lente clásica tiene un índice de refracción constante en todo el espacio que ocupa. En el nuevo tipo de lente, el índice de refracción dependerá de la magnitud instantánea del campo en cada punto. Ciertamente los electrones no seguirán trayectorias rectilíneas cuando estén cruzando el campo, pero en el momento que abandonen las regiones del espacio en que los campos actúen entonces seguirán su viaje en línea recta.

De aquí se desprende que, en el esquema de la óptica de electrones, el problema del diseño de lentes, por medio de campos eléctricos o magnéticos, es crear distribuciones de campo tales que un haz de electrones pueda ser guiado hacia un punto específico del espacio. De hecho el desarrollo y la comprensión de la óptica de electrones han llevado a la creación de sistemas ópticos altamente sofisticados; los microscopios electrónicos. El uso de estos instrumentos ha permitido comprender muchos aspectos de la constitución interna de la materia [9].

Ahora, todos los tipos de radiación usados para formar imágenes tienen la característica unificadora de poder ser estudiados, entendidos y aun modelados en términos de movimientos ondulatorios. Por otra parte, dado el hecho notablemente afortunado de que los esquemas teóricos utilizados en óptica clásica son, en general, válidos en la llamada óptica de electrones, ambas circunstancias facilitan la comprensión y aplicación de conceptos ya conocidos; dos de ellos importantísimos. Uno es que, igual que lo hacen las lentes clásicas, éste nuevo tipo de lentes también forma patrones de difracción de Fraunhofer de un objeto a una distancia finita de la lente. El segundo es que pueden formar una imagen del objeto, en una relación uno a uno, entre los puntos que forman el objeto y los de la imagen [10].

3.3. Los microscopios electrónicos

La diferencia de potencial que utilizan los microscopios electrónicos modernos para acelerar electrones, y convertirlos en haces de partículas moviéndose a velocidades del orden de la mitad de la velocidad de la luz, es muy variada pero siempre está en el orden de kilo electrón volts (keV). Por ejemplo, a 100 keV, $v_{e^-} = 1.64 \times 10^8$ m/seg. Una clasificación a *grosso* modo sería la siguiente: de 0 a 1000 electrón volts (eV) para electrones de baja energía, de 1 a 20 keV para electrones de energía media y de 20 keV a 2 MeV para electrones de alta energía [6].

Mientras que un microscopio óptico funciona con sus lentes inmersas en atmósfera normal, un microscopio electrónico (ME) requiere que el espacio en que se van a mover los haces de electrones esté libre de partículas que pudieran interactuar con los electrones. Esto se logra creando regiones confinadas, con alto vacío ($\sim 10^{-7}$ torr), para la trayectoria de los electrones.

La tecnología actual ofrece dos grandes vertientes en cuanto a microscopios electrónicos: el microscopio electrónico de transmisión (MET) y el microscopio electrónico de barrido (MEB).

Una diferencia fundamental entre uno y otro radica en el tipo de muestra susceptible de ser estudiada en cada equipo. En el de transmisión un haz de electrones acelerados incide en la superficie de una muestra y sale por la cara opuesta de ella. Esto tiene una implicación seria en cuanto al tipo de muestras que pueden ser sujeto de observación en este tipo de microscopio. El poder de penetración que un haz de electrones puede tener no alcanza los 0.05 mm. En realidad, una muestra para este microscopio que garantice la transmisión de electrones debe tener un espesor menor a 1000 Å. Ésto puede lograrse con técnicas de bombardeo iónico, por ataque químico o electroquímico [7].

En cambio, una muestra para un microscopio de barrido puede ser relativamente grande, desde unos milímetros hasta varios centímetros. En esta clase de microscopio los electrones que van a dar origen a una imagen salen por la misma cara de la muestra donde incidió el haz de electrones, como si fuera un microscopio de luz reflejada. La superficie de observación debe llenar condiciones de limpieza excepcionales.

Realmente en ambos casos (MET y MEB) es indispensable fabricar muestras libres de partículas que puedan interferir con la información que presumiblemente se obtendrá de la muestra. En la Fig. 4 se esquematizan los posibles fenómenos asociados cuando un haz de electrones incide sobre una muestra que permita la transmisión de electrones.

3.4. Algunas características del microscopio electrónico de transmisión

Es importante mencionar la gran profundidad de campo (P_c) y de foco [11] que tiene este microscopio. P_c se refiere a la distancia, a lo largo del eje de la lente, en el plano del objeto, en la cual se puede enfocar una imagen sin pérdida de claridad.

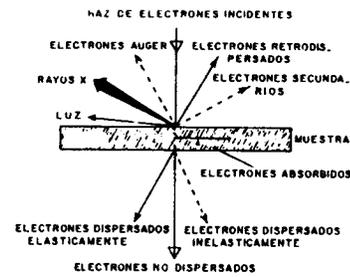


FIGURA 4. Haz de electrones incidiendo sobre una muestra delgada. Pueden ocurrir los procesos físicos que se mencionan aquí.

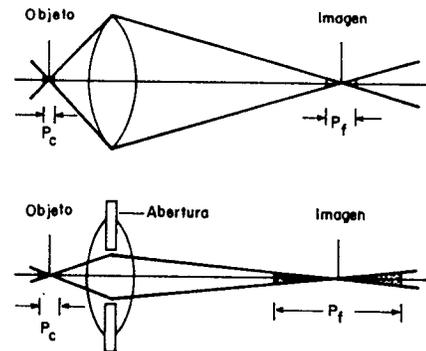


FIGURA 5. Se ilustra, esquemáticamente, la profundidad de campo y de foco en una lente de electrones.

dad (Fig. 5). Ésta es una magnitud ligada a λ y a la AN por $P_c = \lambda / (AN)^2$. En un MET esta distancia es más grande que el espesor de la muestra que se observa. Para una lente objetiva de un MET, con $AN = 10^{-3}$ rad y 1 kV de aceleración ($\lambda = 0.0039$ nm), $P_c = 3900$ nm. El poder de resolución naturalmente depende de λ y de AN, aunque éste es cien veces superior al PR del mejor MO. Un MET puede resolver 0.35 nm, punto a punto, y 0.14 nm, línea a línea.

La profundidad de foco (P_f) es la distancia, a lo largo del eje de la lente, en el plano de la imagen, en la cual la imagen puede enfocarse sin pérdida de claridad. P_f esta relacionada con la amplificación (A), con el PR y es inversamente proporcional a la AN, es decir, $P_f = A^2(\text{PR})/AN$.

Para un microscopio de transmisión con $\text{PR} = 0.2$ nm, $AN = 10^{-3}$ rad y $A = 1 \times 10^5$, $P_f = 2000$ m. Esto es lo que permite colocar una cámara fotográfica debajo de la pantalla del MET y poder tomar fotografías sin pérdida de claridad focal. Los valores tan pequeños de AN se deben a que la apertura angular (α) es del orden de unos décimos de grado, n es igual a uno.

El poder de resolución en un MET no depende sólo de la calidad y buen estado del instrumento sino también, y fuertemente, de la preparación de las muestras que se observan en él. Cosslett enunció una regla en relación con la resolución: ésta no puede ser mayor que un décimo del espesor de la muestra [6]. En la Fig. 6 se muestra la gran semejanza en el sistema óptico de un microscopio óptico con el de uno electrónico de transmisión.

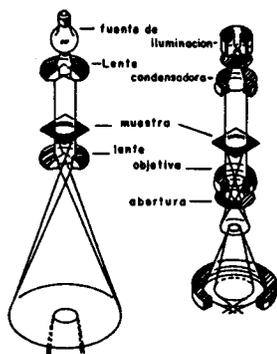


FIGURA 6. El sistema óptico de un microscopio clásico y un electrónico.

3.5. La interacción de electrones con la materia

Cuando un haz de electrones incide en un material éstos interactúan tanto elásticamente como inelásticamente con los átomos del material. En la Fig. 7 se ilustran estos eventos. En donde no se ve involucrada la expulsión de un electrón de los átomos del material, las trayectorias de los haces cambian de dirección muy poco. Estas trayectorias representan choques elásticos. Otras trayectorias de electrones cambian apreciablemente debido a que la interacción es inelástica. Se muestran también trayectorias que no se modifican, estas representan la fracción del haz de electrones que no sufre ninguna dispersión.

En el proceso de dispersión elástica los electrones interactúan principalmente con los campos de potencial electrostático de los núcleos de los átomos que constituyen el material. Este potencial es, en cualquier caso, inferior a 100 eV. La energía de los electrones incidentes no cambia apreciablemente en este caso. El momento de los electrones sí se modifica, produciendo una distribución angular de dispersión del haz incidente de electrones. Esta distribución angular es característica de cada material dispersor y sería de esperar que se manifestará en la distribución espacial de intensidad luminosa emergente. En este evento el objeto dispersor sufre un pequeño rechazo en la dirección opuesta al movimiento de los electrones, tal que la energía cedida de los electrones incidentes al objeto dispersor en realidad es despreciable (< 50 eV). Esto ocurre debido a la gran diferencia de masa entre las partículas incidentes y los átomos dispersores. La dispersión elástica proporciona uno de los mecanismos de interacción que contribuyen al contraste de una imagen de MET.

En el caso de dispersión elástica de electrones acelerados por una diferencia de potencial de 100 keV, la trayectoria libre media que un electrón puede viajar en un sólido constituido por átomos ligeros varía, desde unos pocos cientos de angstroms hasta unas decenas para materiales formados por átomos pesados. Para evitar complicaciones es recomendable tratar de construir muestras, para observar en el microscopio de transmisión, del orden de la trayectoria libre media.

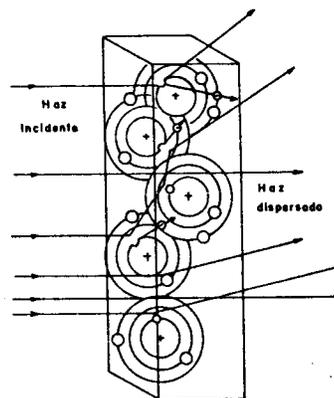


FIGURA 7. Un haz de electrones que sufre dispersión elástica e inelástica.

En términos comparativos con la óptica clásica el problema puede describirse como sigue: En el caso de haces de luz común, una onda que viaja en un medio con índice de refracción diferente de la unidad sufre un cambio de fase, comparado con un haz de luz que viaja en el vacío. Un haz de electrones que viaje en el interior de un sólido también cambiará la dirección de su trayectoria inicial debido a un cambio en el índice de refracción del medio. El índice de refracción cambia cuando las ondas de electrones penetran a una región de diferente potencial electrostático debido a los átomos que forman el sólido, éste les cambia la velocidad y por consiguiente la longitud de onda [12]. En el caso de electrones, el ángulo de dispersión es tan pequeño que en su viaje a través de una muestra delgada, del orden de 100 Å de espesor, sufre un desplazamiento lateral de alrededor de 1 Å. Por ejemplo, en el caso de electrones acelerados por una diferencia de potencial de 100 keV, los ángulos de dispersión andan del orden de 10 miliradianes. Por esta razón, como primera aproximación, se puede suponer que una onda de electrones atravesando una muestra delgada sufre un cambio de fase que depende de la distribución de potencial a lo largo de una línea recta que atraviesa el material.

3.6. Formación de la imagen

Como ya se ha mencionado antes, si tratamos de descubrir "cómo es realmente el objeto", en este caso la microestructura interna del material donde incidió la radiación que usamos como iluminación, entonces debemos recurrir a la información contenida en la imagen, cualquier cosa que esto pueda significar. Es decir, nuestro interés se enfocará en el proceso de transferencia de información, vía el campo de radiación proveniente del interior del sistema físico, a su correspondiente imagen.

Cuando se bombardea con electrones un material delgado, los electrones que salen continuarán su viaje, con una distribución de valores de fase, relativos a la fase de la onda incidente. Esta distribución de fases dependerá de los valores del campo de potencial (o sus variaciones) a través del cual

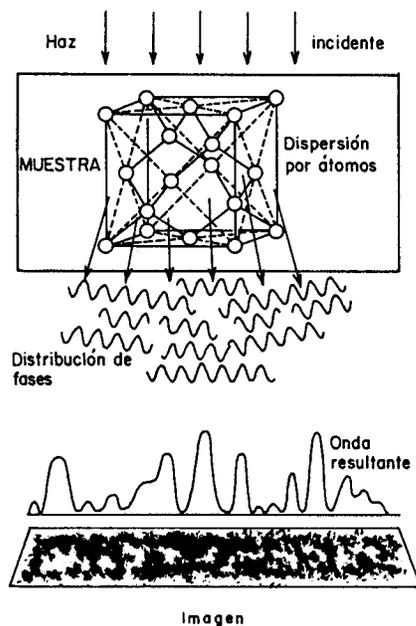


FIGURA 8. Esquema del proceso de formación de imágenes en un microscopio electrónico de transmisión.

pasó cada electrón (Fig. 8). Muchos de estos electrones también habrán experimentado un pequeño cambio en la amplitud de onda asociada a ellos, debido a procesos de dispersión tanto inelástica como elástica.

La distribución angular de intensidad de electrones salientes, es decir, la densidad de electrones susceptibles de ser detectados a una cierta distancia de la muestra vendría dada por la distribución de intensidad luminosa, cuyas variaciones producen el contraste. Este parámetro es, en realidad, la principal observable en el proceso físico. Si esta observable puede detectarse, digamos sobre una pantalla fluorescente, seguramente se formará una distribución de regiones claras y oscuras, es decir, una imagen, como se ve en la Fig. 8.

La garantía de que un átomo, o un grupo de ellos, puede hacer "sentir" su presencia en una imagen de microscopía electrónica de transmisión MET radica en que un solo átomo puede dispersar un número suficiente de electrones detectables en una pantalla fluorescente o una placa fotográfica.

La radiación dispersada podrá formar, probablemente, un patrón muy complejo de campo de radiación, pero la forma de este campo deberá ser, necesariamente, una función bien definida del arreglo interno de las partículas que formen el sólido. Si cambiáramos de objeto, o la distribución de los arreglos atómicos, la forma del campo de radiación emergente daría origen a una imagen diferente.

También en este caso, el patrón de campo de radiación, que transporta y codifica la información, no será una función solamente del arreglo atómico o molecular existente en el sistema, sino también dependerá de factores ajenos al sistema físico que se analice.

Podemos imaginar que el microscopio de transmisión transforma puntos, o regiones microscópicas del interior de

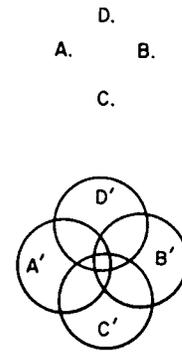


FIGURA 9. Los puntos A, B, C, D, tienen asociada una "imagen ampliada" A', B', C', D'.

una muestra, en regiones "amplificadas" en la imagen. El punto A produce la región A', B→B', etc., en la Fig. 9 se ilustra esta idea. Aquí se hace notar que la manera en que se forma la imagen final es mediante una combinación de contribuciones de la dispersión proveniente de muchísimos centros dispersores de la muestra. Esto, por otra parte, sugiere la posibilidad de obtener imágenes de alta resolución de las redes cristalinas, lo cual involucra distancias del orden de fracción de nanómetros. Aunque para este tipo de trabajo se requiere un MET con aditamentos adecuados, principalmente una pieza polar de alta resolución.

Dependiendo de cómo interactúen las fases de las ondas que salen de la muestra, será el tipo de contraste que se observará finalmente en la imagen. Es decir, el corrimiento relativo de las fases de ondas vecinas determinará si la presencia de un átomo, o conjunto de ellos, se va a manifestar en contraste claro u oscuro. En el caso de microscopía de alta resolución se dice que el contraste es positivo si los átomos aparecen oscuros en fondo claro y será negativo si aquellos aparecen brillantes en fondo oscuro [13].

3.7. ¿Podemos ver la imagen?

El problema es que la distribución espacial de electrones, a una cierta distancia de la superficie de salida de la muestra, está restringida a una región microscópica. De poco nos serviría intentar trabajar con una imagen de dimensiones microscópicas. Es indispensable utilizar un sistema amplificador que nos permita tener una imagen de dimensiones razonables para su manipulación y para algún cálculo que se quiera realizar. El sistema óptico [13] del MET es el encargado de resolver este problema. El mecanismo de formación de imágenes por medio de lentes de electrones es semejante al de la óptica clásica. Si la muestra es cristalina el proceso de dispersión ocurrirá, satisfaciendo las condiciones de Laue, o siguiendo la ley de Bragg, como se prefiera ver. Esto significa que, en un cierto número ($m - 1$) de direcciones se deben satisfacer las condiciones de Bragg, lo cual significa que el haz que llega a la muestra se va a "fragmentar" en m haces que llevan información específica. De manera que una región del espacio se llena con "puntos" de intensidad electrónica, dis-

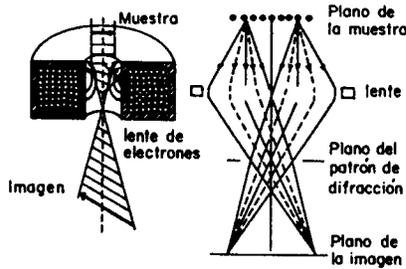


FIGURA 10. Esquema de la formación de patrón de difracción e imagen de una muestra cristalina.

distribuidos regular y periódicamente en el espacio tridimensional. Una sección transversal de esta región del espacio es lo que conocemos como patrón de difracción de electrones. En una placa fotográfica los puntos oscuros que forman el patrón se distribuyen en arreglos geométricos definidos. La parte del haz que no contabiliza en términos de condiciones de Bragg es la parte del haz que no sufre desviación respecto al haz incidente. En la literatura especializada se le llama al haz transmitido.

Obviamente, en cada una de estas direcciones se podrá detectar una distribución de intensidad que puede formar imagen, aunque seguramente con características diferentes en cada dirección. Enseguida cada haz es retomado por la lente objetiva para enfocarlo en el plano focal posterior de la lente, a continuación se forma la imagen correspondiente.

Como se ve en la Fig. 10, la imagen está invertida y puede pensarse que fue originada por la interacción de onditas de Huygens generadas por fuentes puntuales situadas en cada punto del patrón de difracción. Esta imagen es retomada por otro juego de lentes, conocidas como proyectoras, que finalmente formarán la imagen en la pantalla del MET. El patrón de difracción completo puede, a su vez, considerarse como una imagen de la red y se localiza en un espacio formado por coordenadas construidas con los valores recíprocos de las distancias en el espacio real. Es decir, es una medida de la frecuencia espacial, dada por $1/x$, donde x es la distancia a la que están colocados los centros dispersores distribuidos sobre planos imaginarios. De aquí su nombre de espacio recíproco.

3.8. El aspecto formal

En términos formales, el proceso de formación de imágenes en el microscopio de transmisión quedaría representado por dos transformadas de Fourier sucesivas, es decir, la transición de la función de onda que emerge de la muestra, Ψ_d , a la transformada de Fourier Ψ_F y de "regreso" a la función imagen Ψ_I . Ψ_F queda localizada en el plano del patrón de difracción y se genera por interferencia, a una distancia "infinita", de las ondas generadas en la muestra.

Cuando se trata de un cristal y dado que éste es un objeto integrado por componentes de Fourier, la forma en la cual sus componentes armónicos son transformados por el sistema óptico en los correspondientes componentes armónicos de la imagen es la parte medular del proceso de formación de

imágenes. La función que realiza esta tarea es lo que se conoce como función de transferencia óptica, ésta es una función compleja, dependiente de la frecuencia espacial, cuyo módulo es la función de transferencia de modulación y cuya fase es la función de transferencia de fase. La función de transferencia de modulación es una medida de la reducción en el contraste, del objeto a la imagen, sobre todo el espectro de frecuencias. La función de transferencia de fase representa el corrimiento relativo de las fases, que puede ser medido [14].

Cabe aquí una observación: cuando la teoría se presenta en términos de fases y amplitudes de campos de ondas, entonces pierde sentido hablar de trayectorias de electrones o distinguir entre haces individuales.

4. El contraste en el microscopio electrónico de transmisión

La interpretación del contraste en las imágenes obtenidas con un MET es determinante en la investigación científica. En la microscopía óptica la mayor fuente de contraste es la absorción de luz. En este tipo de microscopio la absorción no contribuye significativamente al contraste de la imagen; en este caso el contraste puede ser debido a tres posibles mecanismos: a) contraste de fase, b) contraste por difracción y c) contraste por espesor-masa. Estos mecanismos de contraste podrían operar uno a uno o mezclados.

4.1. Contraste de fase

En microscopía óptica es posible limitar la sección transversal del haz de luz utilizando colimadores o aberturas. En un MET también se utiliza este mecanismo. Una de las aberturas más importantes en este microscopio es la apertura objetiva, su posición puede verse en la Fig. 6. Usando esta apertura se puede aumentar la profundidad de foco, como se ilustra en la Fig. 5.

Si el haz transmitido y los haces difractados pasan a través de la apertura objetiva interactuarán entre ellos, como se ha hecho ver en secciones anteriores. Ahora, puesto que las ondas de los electrones difractados habrán sufrido un corrimiento de fase con respecto a los que forman el haz transmitido, entonces se formará un patrón de interferencia, en el plano de la imagen, que estará influido de manera importante por las diferencias de fase que traen las ondas que lo forman [15]. La imagen formada de esta manera se conoce como imagen por contraste de fase y se formará cualquiera que sea el tipo de muestra. Si la muestra es amorfa su imagen se verá en la pantalla como "moteada", no formará ningún tipo de patrón regular. Pero en el caso de una muestra cristalina, su imagen por contraste de fase contendrá franjas provenientes de la interferencia de los haces que pasaron por la apertura objetiva. A tal tipo de imagen se le conoce como imagen de la red cuando son sólo dos los haces que contribuyen a su formación. Si intervienen varios haces, a la imagen se le conoce más comúnmente como imagen de estructura. En

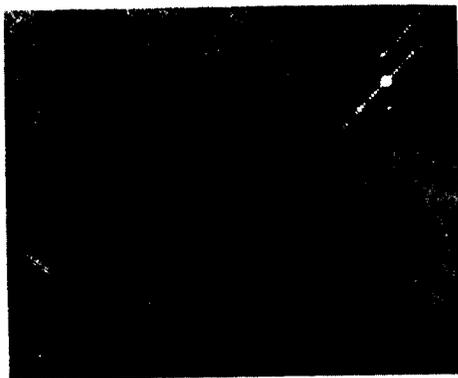


FIGURA 11. Imagen de la red cristalina del compuesto cerámico $\text{Ca}_{2.1}\text{Bi}_4\text{Ti}_{5.1}\text{O}_{18.3}$. El contraste oscuro proviene de capas de Bi_2O_2 , en tanto que el claro corresponde a capas de perovskita intercaladas. El Voltaje de aceleración utilizado fue 200 kV, amplificación $1.8 \times 10^6 \times$. La orientación cristalográfica es cercana a $[011]$ de una red cristalina ortorrómbica.

En la Fig. 11 se muestra la imagen de estructura de franjas de un compuesto cerámico ($\text{Ca}_{2.1}\text{Bi}_4\text{Ti}_{5.1}\text{O}_{18.3}$). La estructura cristalina de este compuesto es ortorrómbica. El contraste claro-oscuro indica la existencia de una estructura de capas de Bi_2O_2 (oscuras) y de perovskita (claras), cada una de las cuales tiene un espesor de aproximadamente 5 \AA . El material fue observado en el MET en forma de polvos microcristalinos, soportados en una rejilla de Cu cubierta con una película de polímero reforzado con película de carbón evaporado. En la fotografía se observa un contraste oscuro de forma circular que corresponde a cúmulos de átomos del carbón evaporado. Si se forma imagen sólo con el haz transmitido no se observarán franjas de la red.

La resolución posible en una imagen por contraste de fase, está limitada por las aberraciones, en especial la esférica, presentes en el sistema óptico del MET y por el tamaño de la abertura objetiva, ya que ésta selecciona la región del espacio recíproco que contribuirá a la formación de la imagen. Si no se usa abertura alguna, la resolución quedará limitada por las aberraciones.

4.2. Contraste por difracción

El contraste por difracción [16] de muestras cristalinas surge cuando la abertura objetiva se inserta para dejar pasar solamente el haz transmitido. De suerte que aquellas regiones de la muestra que difractaron intensamente aparecerán oscuras en la imagen, en tanto que aquellas regiones que dispersaron pobremente aparecerán brillantes. A este tipo de imagen se le conoce como de "campo claro", puesto que si no hubiera muestra la pantalla se vería clara, o sea brillante. Es posible inclinar la trayectoria del haz de electrones hasta que uno de los haces difractados pase por la abertura objetiva, quedando bloqueado el haz transmitido. A la imagen observada por este método se le conoce como imagen de "campo oscuro". El nombre es porque si no hubiera muestra interpuesta al haz de electrones, la pantalla del microscopio aparecería oscura.



(a)



(b)

FIGURA 12. Campo claro (a), en la orientación cristalográfica $[001]$, y campo oscuro (b) de una aleación del sistema Cu-Al contaminada con Be. La amplificación en ambos casos es $4 \times 10^4 \times$, el campo oscuro se hizo utilizando el punto que se indica en el patrón de difracción. El MET se operó a 100 kV.

En la Fig. 12a se muestra una imagen de campo claro de una aleación del sistema Cu-Al contaminada con Be. La estructura cristalina es cúbica y la microfotografía se tomó en la orientación $[001]$. Una imagen de campo oscuro de la misma muestra se puede ver en la Fig. 12b. Esta última se hizo utilizando el punto que se indica en el patrón de difracción.

4.3. Contraste por espesor-masa

El contraste por espesor-masa de cualquier tipo de muestra se forma de la misma manera que en el caso anterior, es decir formando la imagen con un solo haz. Su origen es, principalmente, por dispersión elástica incoherente [13]. La intensidad de dispersión de una muestra amorfa y las componentes inelásticas de dispersión de un cristal decaen rápidamente como función del ángulo de Bragg, es decir, para ángulos grandes la intensidad de la dispersión disminuye bruscamente. Átomos con número atómico alto dispersarán mayores cantidades de electrones que átomos con número atómico pequeño, debido a que poseen diferente sección transversal de dispersión y el número de eventos de dispersión es diferente. Eso significa que solamente pocos electrones, provenientes de esa regiones de una muestra donde existan átomos pesados, pasarán por la abertura para formar la imagen, esa región aparecerá más oscura en la pantalla del microscopio electrónico de transmisión.

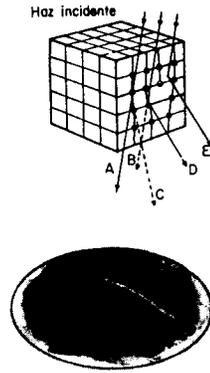


FIGURA 13. Imagen esquemática de una dislocación de borde.

En la práctica este mecanismo se usa para mejorar el contraste de la imagen. Obviamente este mecanismo de formación de contraste no permite la ocurrencia de franjas de la red cristalina. De modo que, el hecho de mejorar el contraste por difracción nos conduce a perder la información contenida en el contraste de fase.

4.4. Otros ejemplos

Es común que en un material cristalino existan desarreglos atómicos (defectos) en la estructura; fallas de apilamiento, dislocaciones, etc. La distribución de intensidades debe revelar la presencia y el carácter de los defectos. El campo de esfuerzos que, generalmente, existe en la vecindad del defecto ejerce influencia en el proceso de dispersión, principalmente obligando a los átomos a ocupar posiciones que no les corresponden. Lo cual, naturalmente, se debe reflejar en el tipo de contraste que aparezca en la imagen [17]. En la Fig. 13 se esquematiza la imagen de MET de una dislocación. Los haces A y B son transmitidos, C, D y E son difractados con diferente intensidad. La imagen destaca en la pantalla del MET como un gusanillo brillante en un fondo de intensidad homogénea.

Pero, en este punto es donde la maravilla de tener una imagen del interior de la materia se convierte en un posible problema. Éste está representado por la dificultad de no reconocer contrastes que correspondan a imágenes con las que podamos establecer correspondencias inmediatas. Otro ejemplo se ve en la Fig. 14, la cual corresponde a una frontera de grano en un cristal en forma de cuña. Su imagen se ve en la pantalla como una cuña que penetra una distribución de franjas claras y oscuras (franjas de espesor). En ambos lados de la frontera operan condiciones de difracción específicas (dinámicas).

Habría que considerar un proceso de re-educación asociativa que nos permita crear un nuevo archivo mental que nos ayude a interpretar las fotografías de un MET. Éste es un campo de gran actividad, en el cual la simulación de imágenes [18] está jugando un papel muy importante. La técnica consiste en comparar imágenes generadas, vía pode-

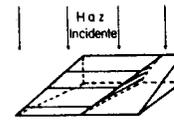


FIGURA 14. Esquema de la formación de imagen de una frontera de grano en un cristal en forma de cuña.

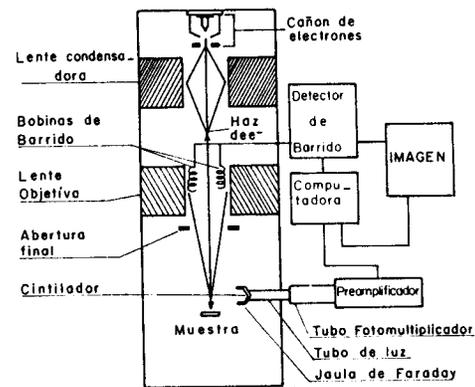


FIGURA 15. Esquema de un microscopio electrónico de barrido.

derosos programas de computo, con aquellas obtenidas en un MET. Esta comparación y el conocimiento previo que tengamos del material proporcionan el código que permite un camino para formular juicios acerca de la constitución interna de la materia. El procesamiento de imágenes también está siendo explotado para mejorar la apariencia de las imágenes, aunque también para realizar el cálculo de algún parámetro involucrado.

5. El microscopio electrónico de barrido

En este tipo de equipos se ha desarrollado una amplia variedad de microscopías [19] por electrones secundarios, retrodispersados, Auger, etc. En estos equipos puede hacerse análisis químico y, actualmente cuentan con dispositivos para hacer difracción de electrones. Aquí se comentarán sólo algunas características de las imágenes formadas por electrones secundarios.

En el microscopio electrónico de barrido un haz de electrones incide en una muestra generando una serie de interacciones, elásticas e inelásticas, un producto de estas últimas

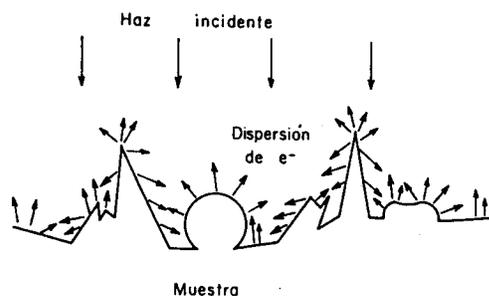


FIGURA 16. Haz de electrones incidiendo sobre la superficie de una muestra en el interior de un microscopio de barrido.

son los electrones secundarios, cuyas energías son del orden de 3–5 eV. Estos electrones son recolectados por un detector [6] de Everhart-Thornley que consta de una caja de Faraday, un tubo de luz, etc., (Fig. 15), cuyas funciones no se describirán aquí. Los electrones secundarios son convertidos en una diferencia de potencial, cuya magnitud (amplificada) es una medida de la cantidad de partículas dispersadas en cada región de la muestra. De manera que aquellas regiones en forma de protuberancias favorecerán valores "altos" de voltaje, en tanto que las depresiones producirán voltajes muy pequeños (Fig. 16). Mediante los dispositivos electrónicos del microscopio se logra que las variaciones de voltaje detectadas se transformen en puntos brillantes en la pantalla fluorescente de un tubo de rayos catódicos. La modulación en la intensidad de los puntos dependerá de la magnitud del voltaje detectado formando claro-oscuros que llenan la pantalla. Todo el conjunto de puntos de diferente intensidad es lo que constituye la imagen de microscopía electrónica de barrido. Esto pone de manifiesto que en la MEB no existe una relación trayectoria de electrones-imagen, como en el caso del MET. De aquí que la imagen no sea una "verdadera imagen" sino un mapa topográfico de la superficie. La microscopía electrónica tiene un potencial extraordinariamente amplio en el campo de la investigación científica, aunque es la microscopía electrónica de barrido la que a la fecha se ha convertido en una técnica más popular que la de transmisión y que la óptica. Entre las razones que la hacen útil y preferida, se pueden contar las siguientes. Tiene una gran profundidad de campo, más de 400 veces la de un microscopio óptico. Tiene gran versatilidad en el manejo de ampliificaciones ($10X \rightarrow 10^5X$), mayor resolución (3–6 nm) y la preparación de muestras es relativamente fácil. El nivel de interacción de los electrones incidentes está determinado por la energía de los electrones que chocan y por el tipo de átomo que exista en la muestra. El haz puede penetrar entre 0.003–1 mm, dependiendo del voltaje utilizado y del número atómico de los átomos de la muestra. Debemos anotar, sin embargo, que estas especificaciones serían llenadas por un MEB funcionando en óptimas condiciones.

Las microfotografías de la Fig. 17 ilustran el trabajo que puede hacerse con MEB. La Fig. 17a contiene información acerca de la estructura de grano de un material ferroeléctrico (PZT). En tanto que la Fig. 17b es una ilustración de la apli-



(a)



(b)

FIGURA 17. a) Estructura de granos de un compuesto cerámico ferroeléctrico sinterizado, el compuesto pertenece a la familia PZT. La ampliificación es 3100X, el tamaño de grano está entre 1 y 10 μm , aproximadamente. b) Aquí se muestra un ejemplo de estudio de materiales orgánicos para aplicaciones en la ciencia médica. Amplificación 2500X. El MEB se operó a 20 kV en ambos casos.

cación de la microscopía electrónica en la investigación de biomateriales. Ésta es una fotografía de un hueso de rata. La estructura de poros de los huesos es de suma importancia en tratamientos regenerativos.

6. Comentarios finales

6.1. La lente objetiva, el corazón de un microscopio electrónico de transmisión

Al igual que en la óptica clásica, en la óptica de electrones se considera a la lente objetiva como el elemento más importante del sistema, esta lente es el corazón de un MET. La función de la lente objetiva es acortar la distancia a la cual se forma la imagen, como esto depende de la longitud focal, entonces cuanto más corta sea ésta más poderosa será la lente. Pero más que nada se le considera como una lente transformadora, puesto que la podemos imaginar como si fuera una computadora óptica capaz de generar transformadas de Fourier instantáneas.

La lente transformadora forma un patrón de difracción de Fraunhofer, de la red espacial, en el plano de la transformada de Fourier, o sea en el plano focal posterior. Enseguida las ondas se propagan y recombinan hasta llegar al plano imagen.

En otras palabras, la imagen surge de un proceso de doble difracción. Podemos imaginar que la onda incidente es

difractada por el objeto y la onda difractada resultante es difractada, una vez más, por la lente objetiva. Si la lente objetiva no estuviera colocada el patrón de difracción de la muestra cristalina aparecería en el plano de la imagen. En esta discusión se ha considerado que la lente es ideal. Es decir, que se trata de una lente sin aberraciones, la cual mapea el objeto-muestra en una correspondencia punto a punto en la imagen.

6.2. La utilidad de la microscopía electrónica

Un microscopio electrónico puede usarse en una gran variedad de áreas de investigación, bien para confirmar hipótesis o para realizar algún nuevo descubrimiento. En biología pueden estudiarse tejidos, huesos, morfología, virus, bacterias, células, proteínas, etc. En ciencia de materiales, para identificación de materiales geológicos, determinación de estructuras cristalinas, en materiales compuestos, películas delgadas. En materiales cerámicos y metales para localizar y estudiar defectos o para hacer análisis químico.

Aunque la información obtenida por medio de la microscopía electrónica pudiera no ser suficiente, sí es, con frecuencia, necesaria para entender la estructura interna de la materia, especialmente cristalina.

6.3. Advertencias

La posibilidad de equivocaciones a la hora de estar formulando juicios cuando se trabaja con un microscopio electrónico

no se pueden descartar. Esta posibilidad debe considerarse sobre todo cuando se hace trabajo de alta resolución, en cuyo caso es posible tener una imagen semejante para dos arreglos atómicos estructuralmente diferentes.

Otro posible inconveniente radica en las dificultades técnicas que a menudo se descuidan al operar un MET. Existe un buen número de parámetros sensibles a las condiciones del MET que podrían dificultar la toma de buenas y, sobre todo, confiables fotografías. A final de cuentas, que exista una relación unívoca entre las características del material analizado y la imagen depende del sistema óptico del MET. Han quedado puntos importantes sin mencionar respecto a este tema, por ejemplo, en el trabajo de microscopía electrónica puede ocasionarse daño por radiación a la muestra que se observa, puesto que los electrones incidentes pueden ionizar y/o desplazar átomos del material, y otros puntos que requieren mayor espacio para exponerse. Tampoco se ha hecho una separación precisa de la microscopía electrónica de transmisión de alta resolución respecto a la MET convencional. Es conveniente que el lector interesado se documente respecto a estos importantes aspectos.

Agradecimientos

El autor agradece las observaciones y comentarios del Dr. Gonzalo González Reyes.

1. R.P. Feynman, R.B. Leighton, and M. Sands, *The Feynman Lectures on Physics*, Second edition, (Addison-Wesley, Publishing Co., USA, 1966) Vol. 1.
2. E. Hecht and A. Zajac, *Optica*, (Fondo Educativo Interamericano, S.A., USA, 1977) Cap. 5.
3. "An Introduction to Imaging", *Imaging and Information*, (The Open University, United Kingdom, 1992).
4. F.S. Crawford, Jr., "Waves", *Berkeley Physics Course*, (McGraw-Hill Book Company, USA, 1968) Vol. 3.
5. M. Herzberger, *Handbook of Physics*, edited by E.U. Condon and H. Odishaw, (McGraw-Hill, USA, 1967) Chap. 2.
6. S.L. Flejler, J.W. Hecman, Jr., and K.L. Klomparens, *Scanning and Transmission Electron Microscope*, (An Introduction), (W.H. Freeman and Company, USA, 1993).
7. P.B. Hirsch *et al.*, *Electron Microscopy of Thin Crystals*, (Butterworth's, London, 1965) Chap. 4.
8. A.B. Elkareh and J.C.J. Elkareh, *Electron Beams, Lenses, and Optics*, (Academic Press, New York, 1970).
9. M. Isaacson, M. Ohtsuki, and M. Utlaut, *Introduction to Analytical Electron microscopy*, edited by J.J. Hren, J.I. Goldstein, and D.C. Joy, (Plenum Press, New York, 1979) Chap. 13.
10. J.M. Cowley, *Diffraction Physics*, (North Holland Publishing Co., Holland, 1975).
11. L. Reimer, "Transmission Electron Microscopy", *Physics of Image Formation and Microanalysis*, (Springer-Verlag, 1997) Chap. 4.
12. G. Thomas, *Transmission Electron Microscopy of Metals*, (Wiley, New York, 1962).
13. D.B. Williams and C. Barry Carter, "Transmission Electron Microscopy", *A textbook for Materials Science*, (1996) Chap. 9.
14. J.M. Cowley, *High Resolution Transmission Electron Microscopy and Associated Techniques*, edited by P.R. Buseck, J.M. Cowley, and L. Eyring, (1992) Chap. 1.
15. J.W. Edington, *Practical Electron Microscopy in Materials Science*, (Van Nostrand Reinhold, New York, 1975).
16. L.E. Murr, *Electron Optical Applications in Materials Science*, (Mc Graw-Hill Book Company, New York, 1970).
17. S. Amelinckx, R. Gevers, and J. Van Landuyt (eds.), *Diffraction and Imaging Techniques in Materials Science*, Second edition, (North-Holland Publishing Co., The Netherlands, 1978) Vol. II.
18. A.K. Head *et al.*, *Computed Electron Micrographs and Defect Identification*, Edited by S. Amelinckx, R. Gevers, and J. Ni-houl, (North-Holland publishing Co., The Netherlands, 1973).
19. D.E. Newbury *et al.*, *Advanced Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*, (Plenum Press, New York, 1986).