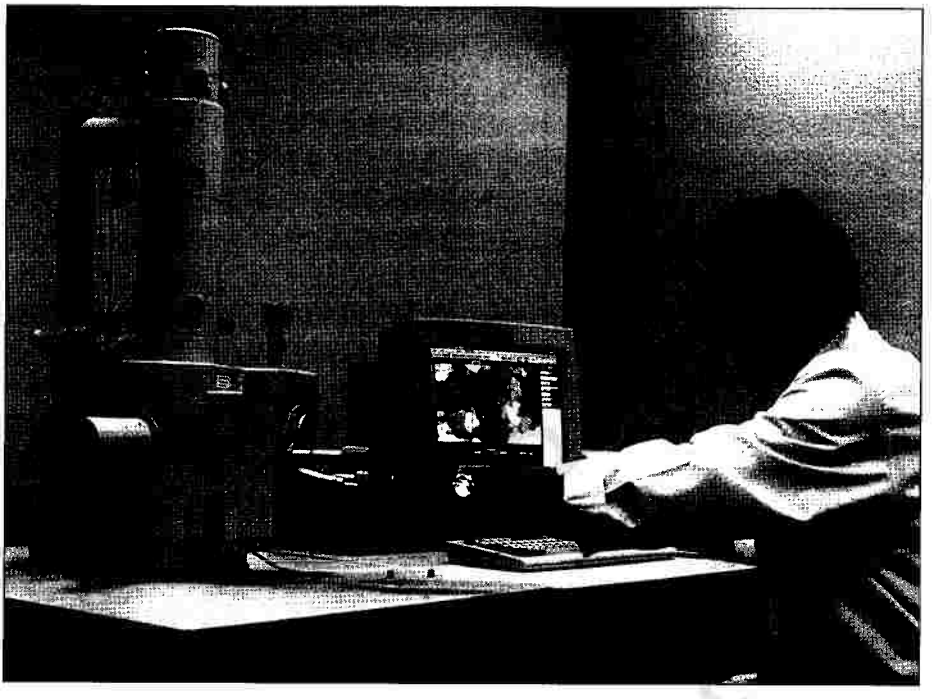
الفصل الثاني:

المجهر الإلكتروني الماسح
SCANNING ELECTRON MICROSCOPE -SEM-



- أنواع المجاهر الإلكترونية الماسحة.
- المجهر الإلكتروني الماسح ذو التفريغ العالي.
- المجهر الإلكتروني الماسح بنظام التجميد.
- المجهر الإلكتروني الماسح بنظام التفريغ المنخفض.

obeikandl.com

أنواع المجاهر الإلكترونية الماسحة
KINDS OF SCANNING ELECTRON MICROSCOPES

في المجهر الإلكتروني النافذ تخترق الإلكترونات العينة وتتكون صورة للتراكيب الداخلية الدقيقة للخلايا على الشاشة الفلورسينية. أما في المجهر الإلكتروني الماسح فإن شعاع الإلكترونات يتحرك على سطح العينة ويمسحها يميناً ويساراً، وتنعكس الإلكترونات من العينة – فيما تعرف بالإلكترونات الثانوية – بكثافات مختلفة حسب النقاط الممسوحة من سطح تلك العينة، فيتكون نتيجة ذلك خيال للعينة بمساعدة المجمع collector الذي يتصل في النهاية بشاشة فحص monitor. وبذلك فإن المجهر الإلكتروني الماسح يستخدم في فحص سطوح العينات أياً كانت بيولوجية أو جيولوجية وهو يعتبر مكملاً لعمل المجهر الإلكتروني النافذ.

المجهر الإلكتروني الماسح الأكثر شيوعاً واستخداماً وخاصة في فحص العينات التي تتحمل المعاملات الكيميائية والتجفيف ووظروف التفريغ العالي يمكن أن نطلق عليه: **المجهر الإلكتروني الماسح ذو التفريغ العالي High-vacuum SEM.**

وقد تم إنتاج مجاهر إلكترونية ماسحة تستخدم خاصة لفحص العينات التي تتميز بمحتواها العالي من الماء Water-containing specimens SEM. حيث تزود هذه المجاهر بنظام تجميد أو تفريغ منخفض لتفحص بها العينات السائلة وتلك التي تتأثر بالمعاملات الكيميائية أو بالتفريغ العالي. وأشهر نوعين من هذه المجاهر:

١. مجهر إلكتروني ماسح بنظام التجميد Cryo-SEM.

٢. مجهر إلكتروني ماسح بنظام التفريغ المنخفض Low vacuum SEM.

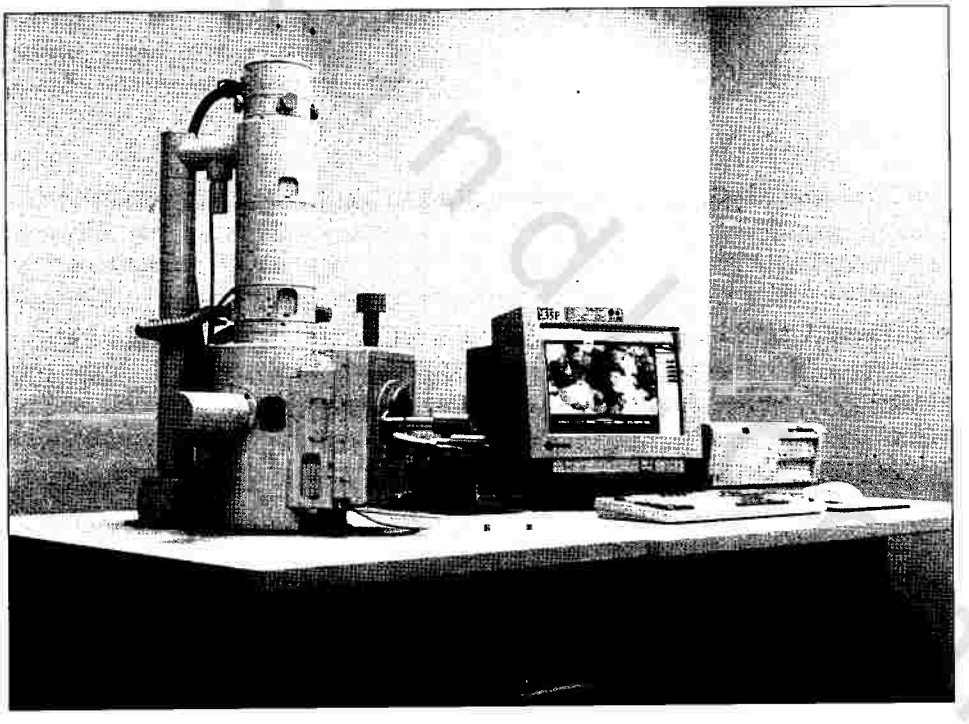
obeikandl.com

المجهر الإلكتروني الماسح ذو التفريغ العالي
HIGH- VACUUM –SEM-

يتركب المجهر الإلكتروني الماسح ذو التفريغ العالي (شكل ٣٩) من عمود مفرغ مثل ذلك الموجود في المجهر الإلكتروني النافذ ولكنه أبسط ويحتوي على الأدوات المنتجة لأشعة الإلكترونات المستعملة في مسح العينة المراد فحصها. وهذه الأدوات والأدوات المكملة لها عبارة عن:

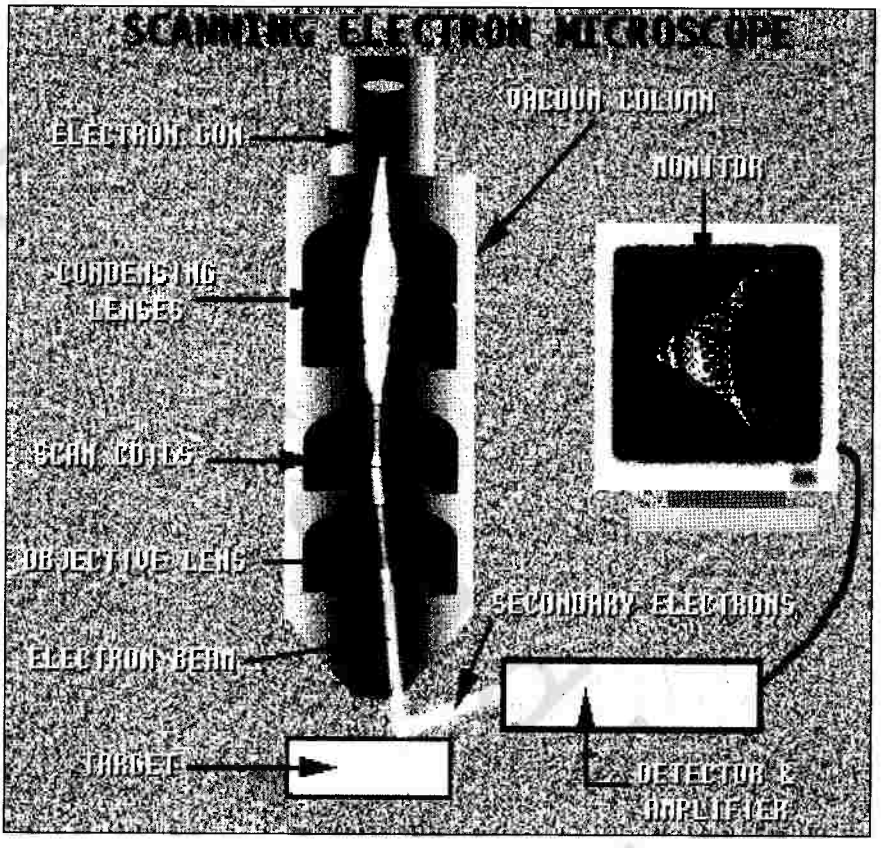
- مدفعة الإلكترونات electron gun.
- عدسات كهرومغناطيسية electromagnetic lenses وهي تتمثل في العدسات المكثفة للإلكترونات والتي تقوم بتكوين حزمة ضيقة من الإلكترونات يصل قطرها عند بقعة المسح الإلكتروني حوالي 5 nm (شكل ٤٣).
- ملفات حارفة deflecting coils وهي تسمى أيضاً ملفات المسح scan coils حيث يتم التحكم من خلالها في تحريك الحزمة الإلكترونية يميناً ويساراً، وبالتالي يتم التحكم في معدل مسح الإلكترونات للجزء المفحوص من العينة (لكل واحد سنتيمتر).
- مسرح العينة specimen stage وملحقاته من أجهزة تحريك وإمالة tilting العينة. وهذا المسرح يوجد في غرفة specimen chamber عند قاعدة عمود المجهر.

- المجمع collector وهو يتكون من قفص يعرف بقفص فاراداي faraday cage عبارة عن كأس معدني ذات شحنة كهربية موجبة تنجذب إليه الإلكترونات الثانوية المنعكسة من العينة. وبداخل هذا القفص جهاز وماض scintillator يحول الطاقة الحركية kinetic energy للإلكترونات إلى ضوء مرئي.
- مضاعف ضوئي photo-amplifier يحول الضوء المرئي إلى تيار كهربائي. وهذا التيار يكون متغيرا تبعا لكثافة الإلكترونات الثانوية المنعكسة من النقاط المفحوصة من العينة. وبالتالي تظهر هذه المناطق متباينة الإضاءة على شاشة الفحص monitor.



(شكل ٤٢)

صورة للمجهر الإلكتروني الماسح ذي التفريغ العالي (JEOL 5500)



(شكل ٤٣)

قطاع طولي في المجهر الإلكتروني الماسح يبين مسار شعاع الإلكترونات داخل العمود المفرغ وتحويله إلى تيار كهربي يتغير تبعاً لكثافة الإلكترونات الثانوية المنعكسة من العينة ويحولها إلى صورة (خيال) على شاشة الفحص

هناك عدة نقاط تتميز بخصوصيتها للمجهر الإلكتروني الماسح، من أهم هذه النقاط:

١. لأن الأشعة الإلكترونية تمسح فقط سطح العينة دون اختراقها، فلا يلزم عمل قطاعات رقيقة من العينة كما هو الحال بالنسبة للمجهر الإلكتروني النافذ.

٢. يتميز المجهر الإلكتروني الماسح بقدرته على توضيح الصورة من ثلاث اتجاهات أي أنه يكون صورة ثلاثية الأبعاد للعينة المفحوصة.

٣. قوة التمييز للمجهر الإلكتروني الماسح تبلغ 100Å بينما تبلغ 5 Å فقط في المجهر الإلكتروني النافذ، وهذا يعني أن قوة تمييز المجهر الماسح أقل من قوة تمييز المجهر النافذ بعشرين مرة.

٤. تعتمد قوة التمييز للمجهر الإلكتروني الماسح على:

أ - حجم نقطة أشعة الإلكترونات التي تمسح العينة.

ب - طبيعة العينة المفحوصة والطريقة التي تداخل فيها أشعة الإلكترونات.

ت - سرعة مسح الحزمة الإلكترونية للعينة.

ث - عدد الخطوط في الخيال المتكون (كثافة الصورة).

ويمكن تحديد نقاط الاختلاف في خصائص المجهرين النافذ والماسح في الجدول التالي:

الخاصية	المجهر الإلكتروني النافذ	المجهر الإلكتروني الماسح
قوة التمييز	5Å	100 Å
العينة المفحوصة	يلزم عمل قطاعات رقيقة جداً من العينة	لا يلزم عمل قطاعات
الهدف من الفحص	دراسة التراكيب الخلوية الدقيقة وفحص بعض الكائنات الدقيقة مثل البكتيريا والفيروسات	دراسة سطوح العينات البيولوجية وإعطاء فكرة بسيطة عن تركيبها الداخلي وكذلك دراسة السطوح الصلبة
الصورة	لا يمكن الحصول على صورة ثلاثية الأبعاد	الصورة المتكونة تكون ثلاثية الأبعاد

طرق تحضير العينات للفحص بالمجهر الإلكتروني الماسح ذي التفريغ العالي:

قبل الخوض في طرق تحضير العينات يجب أخذ النقاط التالية في الاعتبار:

- يجب أن تكون العينة المفحوصة جافة؛ لأن عمود المجهر يكون مفرغاً تماماً اثناء عملية الفحص.
- العينات التي تتميز بقلة محتواها المائي مثل حبوب اللقاح والحفريات الدقيقة وجدار جسم الحشرات تحتاج فقط إلى تحضير بسيط وذلك لعدم تأثرها بعملية التفريغ.
- العينات اللينة أو بعض التراكيب الداخلية تحتاج إلى طرق تحضير خاصة، وتعتمد طريقة التحضير على نوع العينة.

- من طرق التحضير المستخدمة حسب نوع العينات المراد فحصها بالمجهر الإلكتروني الماسح:

أ - بعض العينات يمكن تثبيتها بنجاح ومن ثم تجفيفها بالطرق الكيميائية. وهذه الطريقة مثل التي تستعمل في تحضير العينات للفحص بالمجهر الضوئي.

ب - عينات يمكن تحضيرها بالطمر في الشمع wax أو الراتنج resin.

ت - يمكن استعمال طريقة التجفيف والتجمد freezing-drying أو تحت المتجمدات freezing etching.

- بعد عمليات تثبيت وتجفيف العينة بأي من الطرق المذكورة لابد من تغطيتها coating بطبقة رقيقة من مادة موصلة للتيار الكهربي مثل الكربون أو الذهب. وتتمثل فائدة هذا الغطاء في منع تكون شحنات كهربية والحد من ارتفاع درجة حرارة العينة في أثناء عملية الفحص.

أما الطريقة التقليدية الشائعة الاستخدام في تحضير العينات للفحص بالمجهر الإلكتروني الماسح فيمكن إجراؤها باتباع الخطوات التالية:

١. استخدام حجم مناسب من العينة.
٢. تنظيف العينة.
٣. تثبيت العينة.
٤. إنكاز العينة.
٥. تحميل العينة.
٦. تغطية العينة بمواد موصلة كهربياً.
٧. الفحص.

حجم العينة The size of specimen:

العينات الكبيرة نسبيا تكون رديئة التوصيل الكهربي، وتحتاج إلى زمن أكبر للتثبيت، كما يصعب نزع سوائلها الداخلية خلال عملية التجفيف. ولهذه الأسباب مجتمعه يفضل أن يكون حجم العينة صغير نسبيا بما يتراوح بين $2\text{-}6mm^3$. ويمكن فحص بعض العينات الكاملة مثل الحشرات الصغيرة والفطريات وحبوب اللقاح والحفريات الدقيقة.

تنظيف العينة Specimen cleaning

قد تغطى سطوح معظم العينات سواء كانت صلبة أو ناعمة بمواد خارجية مثل المواد المخاطية والدم والليمف، أو السائل الخلوي والبقايا الخلوية، أو الصموغ والشموع، أو بعض السوائل البروتينية أو السكرية الأخرى.

هذه المواد تعتبر ملوثات (pollutant (contaminant، وهي قد تسبب تكون طبقة مائلة على سطح العينة أثناء الفحص بالمجهر الإلكتروني الماسح. وفي الواقع تزال نسبة من هذه المواد أثناء عمليات التثبيت والتجفيف والترويق، ولكن يفضل دائماً تنظيف العينات من هذه المواد قبل إجراء عملية التثبيت.

وتستخدم الطريقة المناسبة من طرق التنظيف (إزالة الملوثات decontamination) وذلك حسب نوع وطبيعة العينة كما يلي:

١. تغسل معظم العينات الحيوانية بمحلول منظم buffer solution مثل الفوسفات المنظم phosphate buffer وذلك بغمر العينة فيه لمدة مناسبة حسب حجم ومدى تلوث العينة، ويفضل أن تتم تلك العملية في درجة حرارة تعادل درجة حرارة جسم الحيوان.

٢. العينات المأخوذة من القلب والأوعية الدموية والأمعاء تحتوي على تجاويف ذات فراغات، ومن الضروري إزالة الملوثات من داخلها وذلك بغسلها في المحلول المنظم كما سبق.

٣. يمكن تنظيف سطوح العينات الجافة dry specimen مثل الأوراق النباتية والعظام والعينات الصلبة باستخدام الهواء والغاز.

٤. يمكن استخدام بعض الإنزيمات digestive enzymes مثل التريبسين trypsin ووالكيموتريبسين chemotrypsin والتي تتميز بقدرتها على هضم مثل هذه المواد الملوثة. وتستخدم هذه الطريقة خصوصاً لتنظيف العينات التي قد تتأثر بالمحاليل الكيميائية العادية.

٥. بعض العينات التي تتعرض دائما لملوثات جيلاتينية مثل الأهداب الحسية داخل قنوات الأذن يمكن تنظيفها بأحماض لها القدرة على إذابة هذه المواد مثل حمض الهيدروكلوريك Hcl.

ويجب اختيار الطريقة المناسبة للتنظيف مع الأخذ في الاعتبار عدم المغالاة في التركيزات المستخدمة لمحاليل التنظيف أو غمر العينات في تلك المحاليل لفترات أطول من اللازم وذلك لتفادي حدوث تغيرات في سطوح العينات.

التثبيت Fixation :

لا يوجد فارق بين المثبتات المستخدمة في تثبيت العينات التي تفحص بالمجهر الإلكتروني النافذ وتلك المثبتات المستخدمة لتثبيت العينات التي تفحص بالمجهر الإلكتروني الماسح، وكذلك لا يوجد فارق كبير في طريقة التثبيت. حيث يمكن التثبيت بأي من الجلوترالدهيد أو رابع أكسيد الأوزميوم أو كلاهما معا كما هو متبع في طريقة التثبيت المزدوج، وذلك

حسب نوع وطبيعة العينة المدروسة. وهنا يجب أن نذكر بالنقاط الواجب مراعاتها أثناء تثبيت العينات المدروسة بالمجهر الإلكتروني الماسح:

- يجب أن تتم عملية التثبيت للعينة مباشرة بعد فصلها من الكائن (إذا كانت العينة بيولوجية) وتنظيفها كما سبق.
- يجب ضبط حموضة محلول التثبيت pH ودرجة حرارته وضغطه الأسموزي ليكون في ظروف مشابهة لظروف حياة الكائن وهو حي، وبالتالي يمكن تجنب أي تغيرات في شكل وحجم العينة عن ما كانت عليه أثناء حياة الحيوان.
- أغلب العينات الصناعية أو العينات الصلبة لا تحتاج إلى عملية التثبيت ويمكن تحميلها على حوامل (مسطبات) الفحص stubs مباشرة بعد تنظيفها وتجفيفها.

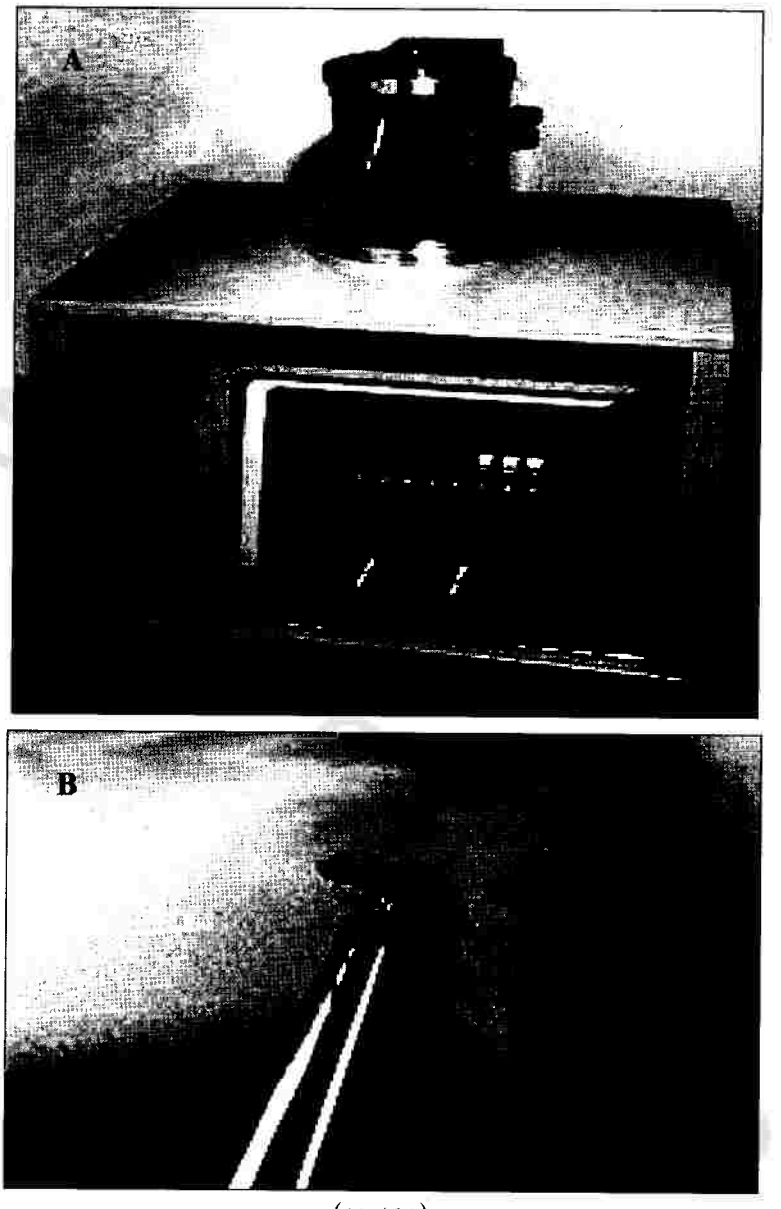
الإنكاز Dehydration:

الإنكاز أو تجفيف العينات التي تفحص بالمجهر الإلكتروني الماسح يتم بتمرير العينات أولا في تركيزات تصاعدية من الكحول الإيثيلي ethanol تبدء من 50% ثم 70% ثم 90% وأخيرا 100% ولمدة 10 min في كل تركيز ماعدا التركيز الأخير (الكحول المطلق) يجب أن تترك العينة فيه من نصف ساعة إلى ساعة، وهذه الطريقة هي طريقة كيميائية للتجفيف. وبعد الانتهاء من تمرير العينات في الكحول يتم تجفيفها بطريقة فيزيائية يطلق عليها طريقة التجفيف للنقطة الحرجة critical point method.

طريقة التجفيف للنقطة الحرجة (شكل ٤٤):

يتم إجراء هذه الطريقة بوضع العينة – بما فيها من كمية قليلة من الكحول – داخل غرفة التجفيف في جهاز التجفيف للنقطة الحرجة، حيث يتحول ثاني أكسيد الكربون السائل الموصل بالجهاز إلى غاز عند 31°c وتحت ضغط 1500 رطل/بوصة مربعة. حينئذ يتم إحلال الكحول الموجود داخل خلايا العينة بهذا الغاز بعد تعريضها له لفترة تتراوح بين 25-30 min وبالتالي يكتمل تجفيف العينة. علما بأن ثاني أكسيد الكربون يتحول إلى غاز داخل غرفة التجفيف نتيجة لتسخين هذه الغرفة بتيار من ماء صنبور ساخن تتراوح درجة حرارته من 40-45°c.

ومن النقاط الهامة الواجب مراعاتها أنه قبل إخراج العينة من غرفة التجفيف يجب فتح صمام التفريغ تدريجياً حتى ينخفض الضغط بطريقة تدريجية أيضا وبالتالي نتفادى تهشم العينة.



(شكل ٤٤)

A جهاز التجفيف للنقطة الحرجة

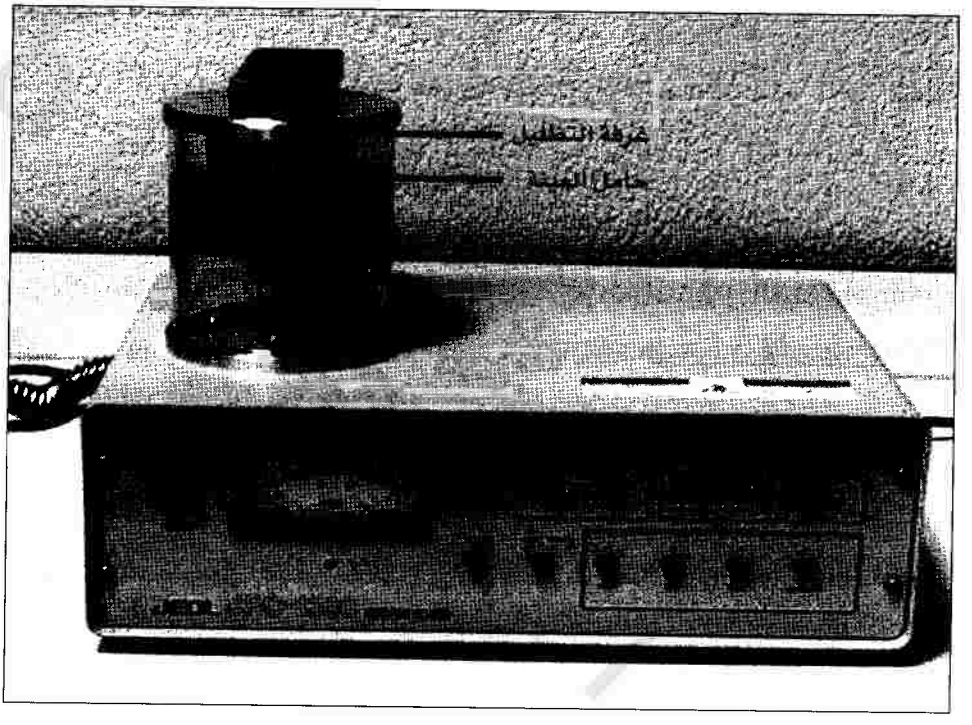
B العينة تعرض لغاز ثاني أكسيد الكربون داخل غرفة التجفيف

التحميل والتظليل Mounting and Coating

بعد الانتهاء من عملية التجفيف تحمل العينات على حوامل معدنية خاصة تسمى مسطبات stubs ويتم تثبيتها على هذه الحوامل بشريط بلاستيكي لاصق ثنائي الوجه double-side sticky tape أو بطلاء الفضة الموصل.

بعد التحميل تجري عملية التظليل وذلك بتغليف (طلاء) العينة بطبقة رقيقة من مادة موصلة كهربيا مثل الذهب أو الكربون بحيث تتراوح سمك هذه الطبقة من 10–30nm ، ويتمثل الهدف من هذه العملية في زيادة التوصيل الكهربي increasing of electrical conductivity لسطح العينة ومنع تكون شحنات كهربية عليه، وأيضاً يحد من ارتفاع درجة حرارة العينة أثناء عملية الفحص والتي قد تستغرق بعض الوقت تكون العينة خلاله معرضة للشعاع الإلكتروني ذي الضغط العالي.

وتجري عملية التغليف بنقل المسطبات وما عليها من عينات إلى داخل جهاز يسمى جهاز تظليل (طلي) العينات specimen coater، وقد يسمى حسب نظرية عمله بجهاز التبخير بالتفريغ vacuum evaporator (شكل ٤٥).



(شكل ٤٥)

جهاز تظليل العينات specimen coater بالمعادن الثقيلة

الفحص Examination :

هكذا تكون العينة جاهزة للفحص بالمجهر الإلكتروني الماسح. ولإجراء عملية الفحص يتم اتباع الخطوات التالية والتي يتم إجراؤها بمساعدة شاشة التحكم monitor الملحقة بالمجهر:

١. لأن عمود المجهر يكون مفرغا من الهواء لا يمكن فتح غرفة العينة specimen chamber، فيتم إدخال الهواء مرة أخرى لهذه الغرفة فقط لتوفير الوقت، وتسمى هذه العملية التهوية ventillatin.

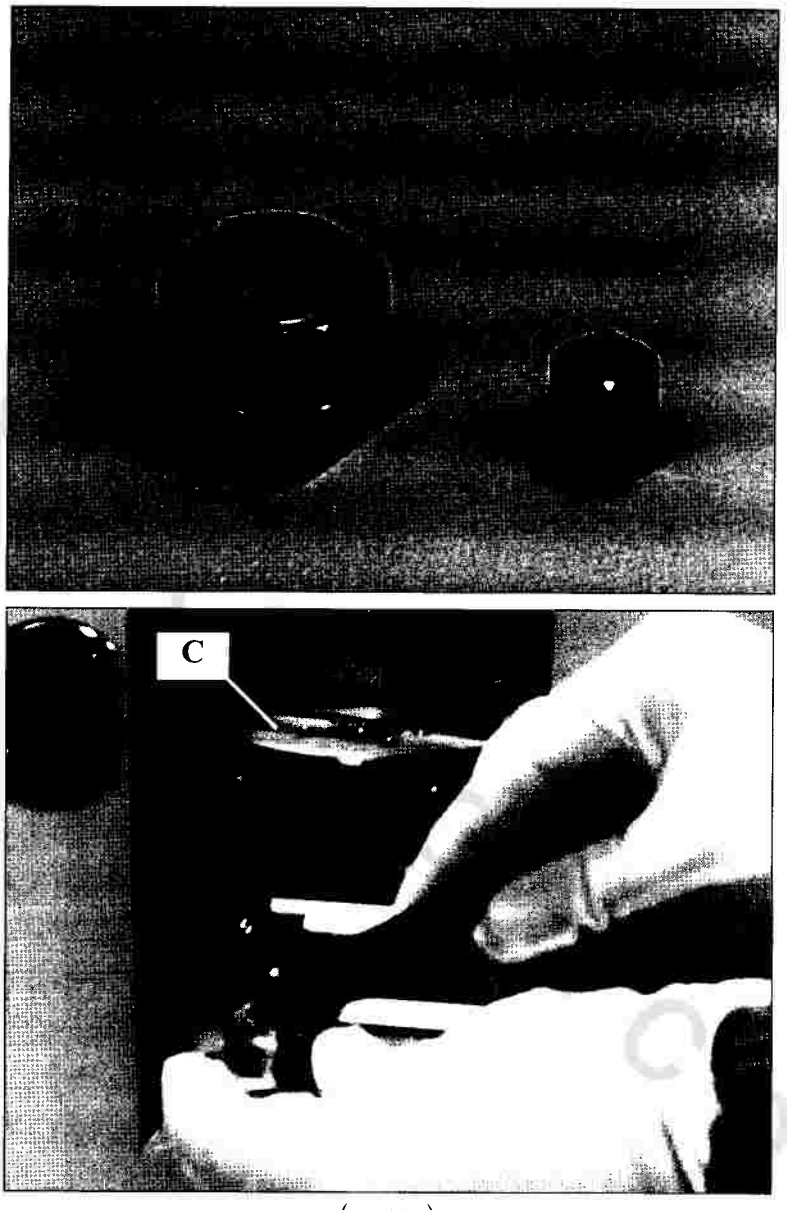
٢. تفتح غرفة الفحص بجذب بابها باليد ثم يتم استبدال العينة specimen exchange بوضع المسطبة التي تحمل العينة الجديدة في مكانها على مسرح العينة specimen stage (شكل ٤٦).

٣. تغلق غرفة العينة مرة أخرى ونعيد عملية التفريغ evacuation.

٤. يتم تشغيل التيار الكهربي ذي الفولت العالي high tension باختيار الوضع on.

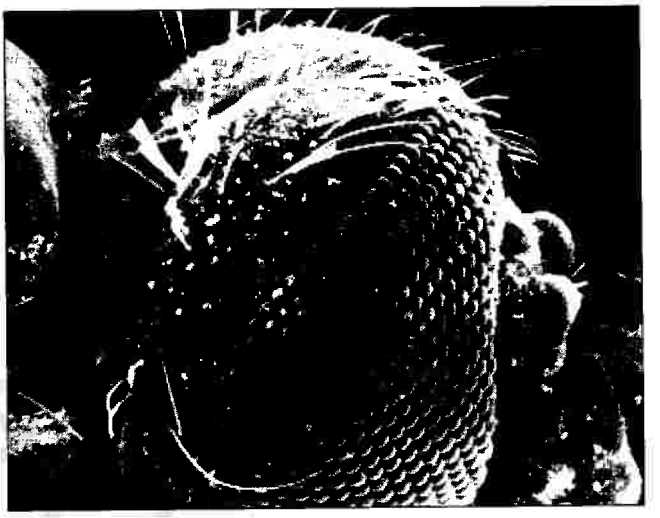
٥. بواسطة أذرع التحكم والشاشة يتم تحديد الجزء المراد فحصة من العينة ثم تبدأ عملية التكبير تدريجيا حتى نحصل على التكبير المناسب.

٦. يتم التحكم في جودة الصورة المتكونة من حيث التباين contrast والإضاءة brightness ثم يتم حفظها بملفات في الكمبيوتر أو طبعها مباشرة بواسطة كاميرا Polaroid camera على أفلام مثل تلك المستخدمة في صور الأشعة.



(شكل ٤٦)

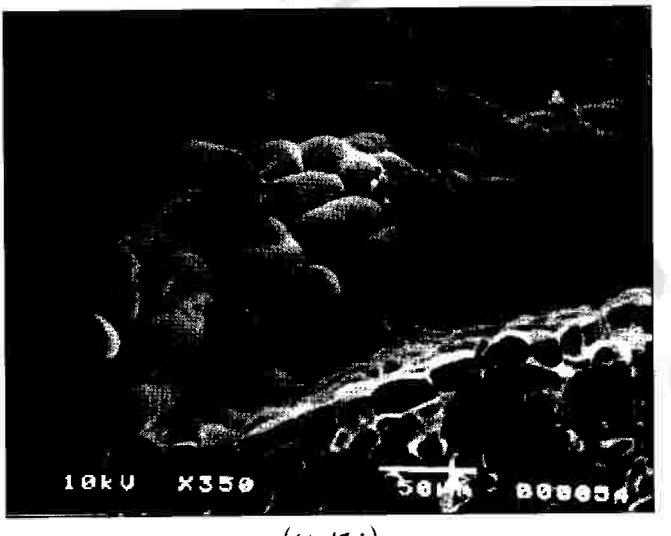
توضع المسطبة stube (A) التي تحمل العينة على الحامل الخاص بها (B) والذي يثبت بعد ذلك في مكانه على مسرح الفحص (C) داخل المجهر الإلكتروني الماسح



(شكل ٤٧)

صورة بالمجهر الإلكتروني الماسح لرأس الذبابة المنزلية تبين العين المركبة التي تتكون من العديد من العدسات الدقيقة

The mosquito's head is mostly eye. The eyes of most insects are compound eyes, made up of many tiny lenses.



(شكل ٤٨)

صورة بالمجهر الإلكتروني الماسح تبين التركيب الأنبوبي للعرق الوسطي في ورقة نبات.

(شكل ٤٩)

صورة بالمجهر الإلكتروني الماسح توضح مرض هشاشة العظام

oberkandl.com

مجاهر فحص العينات ذات المحتوى العالي من الماء
Water-containing specimens –SEM-

يمكن فحص السوائل أو العينات ذات المحتوى العالي من الماء باستخدام مجاهر إلكترونية ماسحة تزود بنظم تجميد أو تفريغ منخفض. وتبعاً للنظام المستخدم يتم فحص العينات بهذه المجاهر بطريقتين هما:

١. طريقة المجهر الماسح بنظام التجميد Cryo- SEM method.

٢. طريقة المجهر الماسح بنظام التفريغ المنخفض Low vacuum SEM.

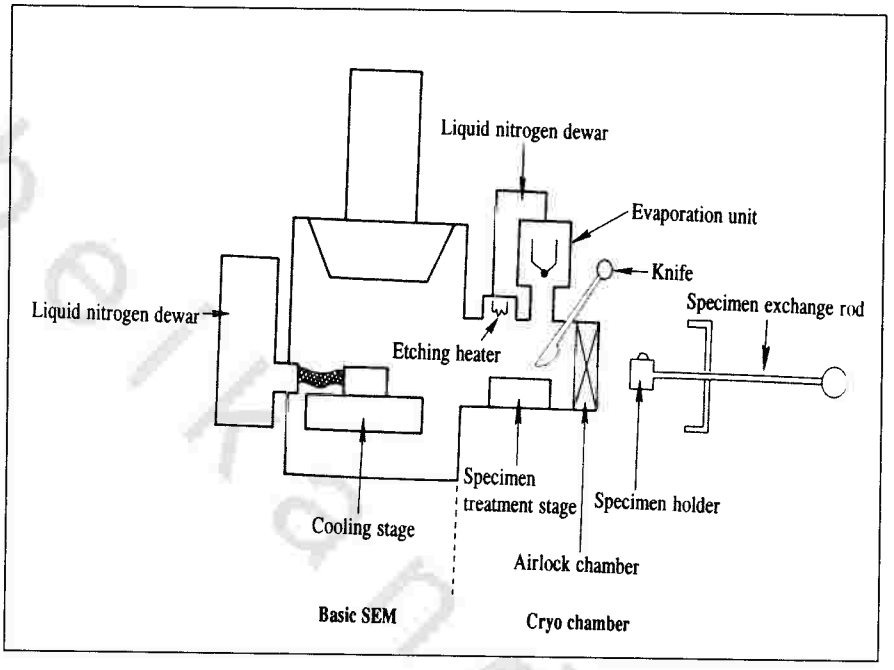
طريقة المجهر الماسح بنظام التجميد Cryo-SEM method:

هذه الطريقة يطلق عليها البعض طريقة نحت المتجمدات - freeze etching، وهي طريقة لتثبيت الماء فيزيقيا physically fix water بمعنى تحويل الماء إلى ثلج. وهي تناسب فحص السوائل مثل المستحلبات emulsions أو العينات البيولوجية ذات المحتوى العالي من الماء مثل بعض الأنسجة النباتية plant tissues وذلك بعد تجميدها.

المجهر الماسح الذي يعمل بنظام التجميد Cryo-SEM كما هو موضح بشكل ٤٧ يستعمل فيه النيتروجين السائل كوسيلة تبريد وتجميد، وتعامل العينة المراد فحصها على مرحلتين داخل هذا المجهر:

- مرحلة معاملة العينة specimen treatment stage وهي تتم داخل غرفة التجميد cryo- chamber المزودة بالجهاز.

- مرحلة التبريد Cooling stage وهي تتم داخل غرفة العينة بالمجهر ذاته (غرفة الفحص) SEM specimen chamber.



(شكل ٥٠)

شكل يوضح تركيب المجهر الماسح بنظام التجميد

خطوات فحص العينة (شكل ٥١):

a) ثبت حوالي $1\ mm^3$ من العينة على مسطبة العينة stub باستخدام لاصق.

b) ضع المسطبة وما عليها من عينة على ماسك العينة specimen holder ثم عرضها للتجميد في النيتروجين السائل.

c) ثبت قضيب تغير العينة specimen exchange rod في ماسك العينة.

d) ضع الماسك في غرفة التجميد.

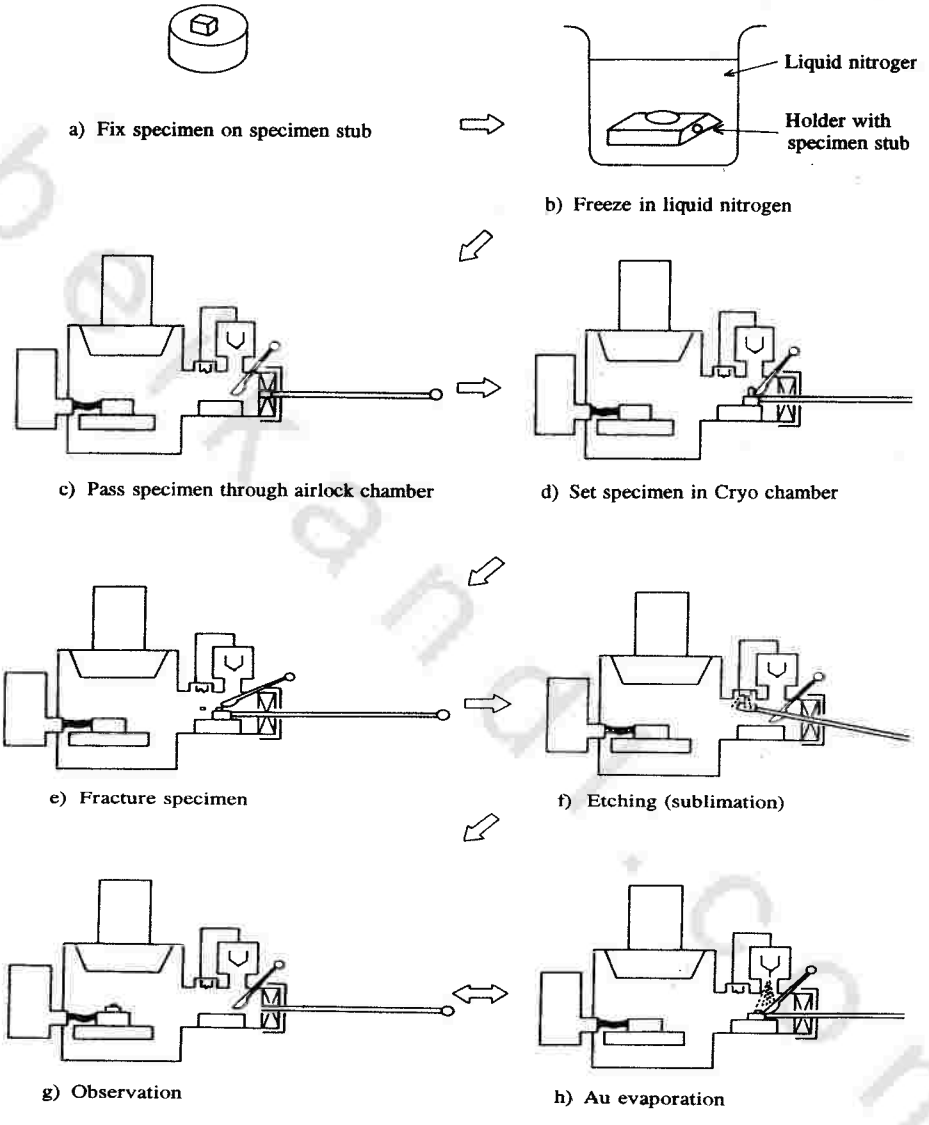
e) قطع العينة بالسكين.

f) عندما يبدأ الثلج المتكون في العينة يتبخر تجرى عملية النحت etching باستخدام سخان النحت etching heater، وهذه الخطوة هي عملية تصعيد (تسامي) sublimation حيث يتحول فيها الثلج إلى بخار مباشرة.

g) انقل العينة إلى مرحلة التبريد ثم افحصها.

h) تعرض العينة لعملية التصعيد مرة أخرى إذا تطلب الأمر ذلك.

بهذه الطريقة يمكن دراسة توزيع أي من الماء water distribution أو المكونات المغمورة فيه structures hidden in water. ولنأخذ المستحلبات كمثال يوضح الغرض من استخدام هذه الطريقة (شكل ٥٢).



(شكل ٥١)

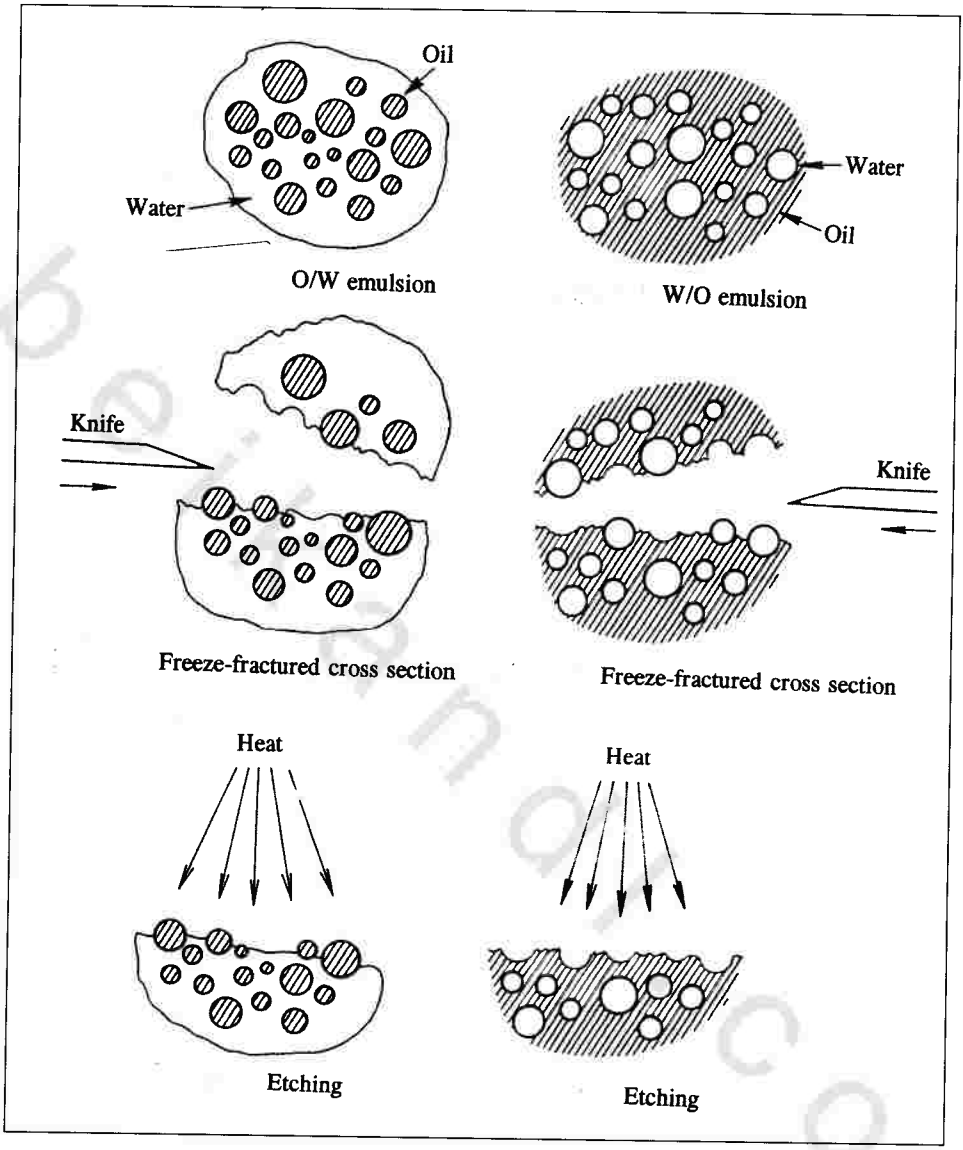
خطوات فحص العينة بالمجهر الإلكتروني الماسح بنظام التجميد

هناك حالتان للمستحلبات emulsions، فهي إما تكون في صورة ماء يحتوي بعض قطرات من زيت oil droplets (O / W)، أو تكون في صورة زيت يحتوي بعض قطرات من الماء water droplets (W / O).

هاتان الحالتان للمستحلب لا يمكن التمييز بينهما بعد عملية التجميد أو حتى بعد قطعهما بالسكين. ولكن يمكن التمييز بينهما وملاحظة توزيع الماء بعد عملية النحت التي تتم بتبخير الثلج.

عيوب طريقة التجميد:

أهم عيوب هذه الطريقة والتي تظهر خاصة عند فحص العينات غير السائلة يتمثل في زيادة حجم الماء عندما يتجمد ويتحول إلى بلورات ثلج مما يؤثر على النسيج المحيط بالإزاحة أو التهشم، وتظهر الصورة المتكونة بالمجهر كتراكيب إسفنجية. ويمكن تلافي هذا العيب بإجراء عملية التجميد بأسرع ما يمكن أو استخدام مواد مانعة للتبلور (تكوين الأشكال الإبرية) مثل الجليسرين أو الكحول.

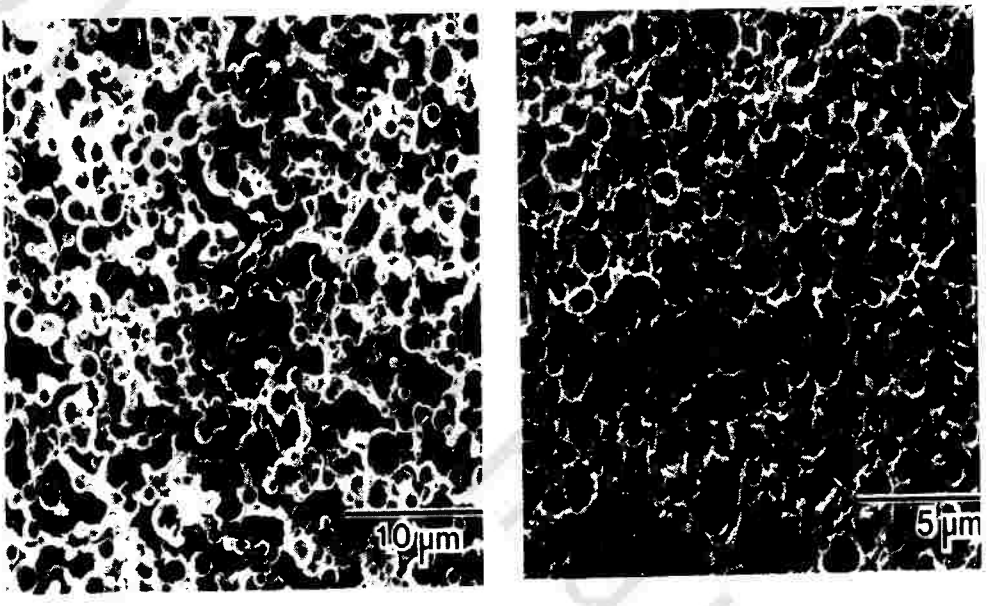


(شكل ٥٢)

شكل يوضح استخدام طريقة نحت المتجمدات للتمييز بين مستحلب ماء في زيت w/o ومستحلب زيت في ماء o/w

مستحلب ماء في زيت W/O

مستحلب زيت في ماء O/W



Freeze-fractured surface (after etching)

(شكل ٥٣)

صورة ل بالمجهر الماسح Cryo-SEM تبين الفرق بين نوعي المستحلب

طريقة المجهر الماسح بنظام التفريغ المنخفض SEM (LV-SEM) method Low vacuum:

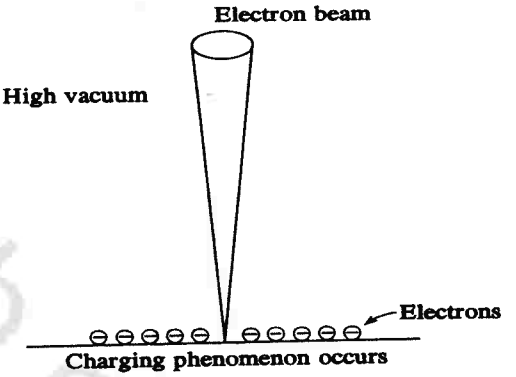
يستخدم المجهر الماسح الذي يعمل بنظام التفريغ المنخفض لفحص العينات التي تحتوي نسب متفاوتة من الماء وخاصة تلك التي لا تتحمل التفريغ العالي أو تتطلب قوة تكبير أقل مثل الأنسجة البيولوجية biological tissues وبقايا الطعام food stuff والأدوية pharmaceuticals.

هذا المجهر لا يختلف كثيراً عن المجهر الإلكتروني الماسح التقليدي الذي يعمل بالتفريغ العالي والذي يصل التفريغ فيه إلى 10^{-4} pa. أما هذا المجهر فقد صمم ليكون التفريغ التي تتعرض له العينة في غرفة الفحص داخله منخفضا ويتراوح بين 1-130 pa.

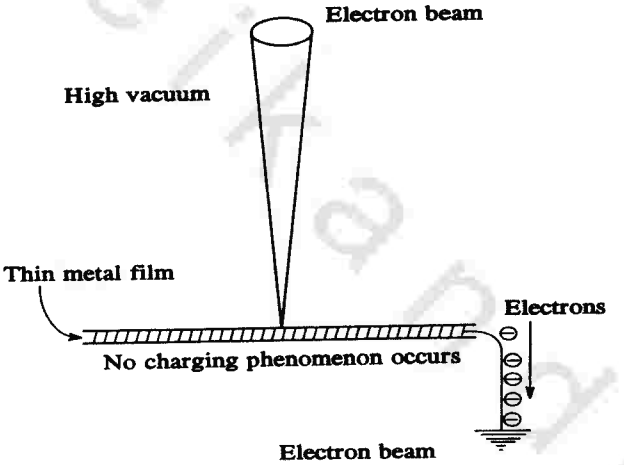
والغرض من تخفيض قوة التفريغ بالجهاز هو تفادي ظاهرة تراكم الشحنات (الإلكترونات) على العينات غير الموصلة كهربياً non-conductive specimen عند تعرضها لحزمة الإلكترونات في تفريغ عالي وتعرف هذه الظاهرة بظاهرة التشحن charging phenomenon (شكل ٥٤) كما يحدث في المجهر التقليدي وينتج عنه صورة مشوهة صعبة الفحص.

أما التفريغ المنخفض فهو يبقي على بعض جزيئات من الغازات residual gases لتظل داخل غرفة العينة. هذه الغازات تتأين بالحزمة الإلكترونية فتعادل الشحنات السالبة للإلكترونات على سطح العينة، وبالتالي فلا يكون هناك حاجة لتظليل العينات بالمعادن الثقيلة الموصلة كهربيا.

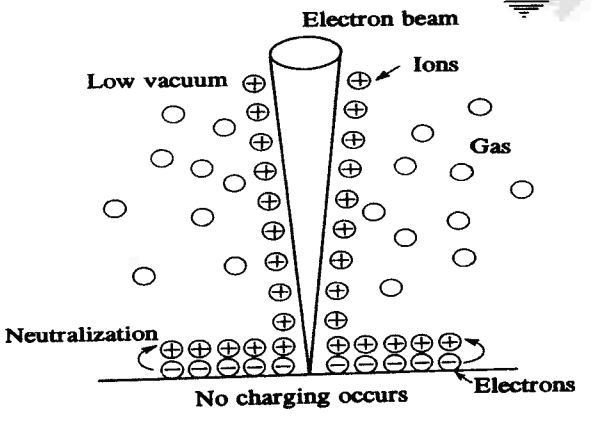
الجدير بالذكر أن المجهر الماسح ذا التفريغ العالي يفحص الإلكترونات الثانوية المنبعثة من العينة بينما المجهر الماسح ذو التفريغ المنخفض يفحص الإلكترونات المشتتة للخلف backscattered electrons من العينة والتي تتميز بطاقة عالية.



عند فحص عينة غير موصلة كهربيا بمجهر التفريغ العالي تتراكم الإلكترونات على سطح العينة وتتكون ظاهرة التشحن



يمكن منع ظاهرة التشحن بطلاء سطح العينة بمعدن موصل كهربياً مثل الذهب



في مجهر التفريغ المنخفض يقوم كل من غاز الأكسوجين والنيتروجين المتأين بمعادلة الإلكترونات على سطح العينة مما يمنع تكون ظاهرة التشحن

(شكل ٥٤)

شكل يوضح ظاهرة التشحن charging وكيف يمكن تلافيها