

Estimation of Electron Dose Rate using CCD Camera

Jin-Gyu Kim^{1,3}, Young-Min Kim¹, Youn-Joong Kim¹,
Sang-Hee Lee², Kimin Hong³ and Sang Ho Oh^{1,*}

¹Korea Basic Science Institute (KBSI),
52 Eoeun-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-333, Korea
²Department of Biological Science, Korea Advanced
Institute of Science and Technology (KAIST),
335 Gwahangno, Yuseong-gu, Daejeon 305-701, Korea
³Department of Physics, Chungnam National University,
220 Gungdong, Daejeon 305-764, Korea

(Received March 9, 2009; Accepted March 18, 2009)

ABSTRACT : We report a useful method to estimate the electron dose rate which may be a decisive factor to characterize sample properties. Even though most microscopes have their own exposure meters, there are several practical concerns when such exposure meters are used to measure the electron dose rate: 1) Specimen should be avoided within the entire area of exposure meter; 2) beam current has to be always recorded whenever the operation mode is changed; 3) the electron dose rate can not be calculated for the beam current beyond the detectable range. To overcome these limitations, we suggest a useful method which utilize a CCD (charge coupled device) camera which is now a popular detector to obtain the final electron micrographs. We have evaluated the CCD sensitivity using the linear relationship between electron current on the exposure meter and counter ratio on the CCD camera which are built in KBSI-HVEM (high voltage electron microscope). Applying the new method, we obtained the CCD sensitivity which are approximately 0.039 counts/e⁻ and 1.37 counts/e⁻ for the Top-TV and the HV-GIF CCD cameras, respectively. (김진규, 김영민, 김윤중, 이상희, 홍기민, 오상호: CCD 카메라를 이용한 전자빔 조사량의 예측)

Keywords : TEM, Electron Dose Rate, CCD

투과전자현미경 (Transmission Electron Microscope (TEM))은 물질의 미시적인 구조 및 화학적 특성을 연구하는 데 가장 유용한 도구로 활용되고 있다. 하지만, TEM은 전자빔을 이용하기 때문에 시료의 특성을 정량적으로 분석함에 있어

서 전자빔에 대한 영향이 필수적으로 고려되어야 한다. 특히, TEM 내에서의 직접 가열 실험은 온도변화에 따른 재료의 물리·화학적 특성을 역동적으로 분석하기 위해 수행되고 있지만(Saka et al., 2008), 항상 전자빔에 대한 영향도 함께 수반된다는 사실을 간과하면 안 된다. 전자빔 조사 효과는 물질에 따라 그 양상이 다르게 나타난다. 극단적인 경우에는 시료의 구조를 파괴하거나 상변화를 유발시킨다. 이러한 이유로 전자빔 조사 환경에서 물질 구조의 변화를 독립적으로 연구하고 이를 활용한 응용 연구도 수행되고 있다(Egerton & Rauf, 1999; Kim et al., 2008). 또한 의생물 시료와 같이 빔에 의한 손상을 입기 쉬운 시료를 관찰하기 위한 Cryo-EM을 수행할 경우에는 전자빔의 조사량의 제어에 더욱 세심한 주의가 필수적이다. 각각의 물질에 대해 임계 전자빔 조사량이 존재하며, 이에 따른 실제 주입된 전자선 조사량의 제시는 실험결과의 신뢰도에 가장 중요한 영향을 미치는 변수를 정의하는 것이다(James et al., 2008).

단위 시간당 시료에 조사된 전자밀도의 의미로 정의되는 전자선 조사량은 시료에 조사된 빔 전류를 측정하여 계산할 수 있으며, 아래와 같이 몇 가지 방법이 제시되어 있다(Williams & Carter, 1996): 1) 시료 홀더에 장착된 Faraday cup을 이용하는 방법; 2) 경통 내에 장착된 pico-ammeter를 이용하는 방법; 3) 초점 스크린 또는 형광 스크린에 장착된 exposure meter를 이용하는 방법; 4) EELS spectrometer의 shield current를 측정하는 방법 등이 있다. Faraday cup이 장착된 시료 홀더 또는 pico-ammeter를 이용하는 방법은 높은 정확도를 확보할 수 있으나, 항상 이용할 수 있는 방법이 아니기 때문에 대부분의 경우, exposure meter를 이용하여 전자선 조사량을 계산하고 있다.

한국기초과학지원연구원에 설치, 운영되고 있는 초고전압 투과전자현미경 (HVEM)의 초점·형광 스크린에 장착된 exposure meter의 검출한계 범위는 대략 0.5~500 pA/cm²이다. Exposure meter를 이용할 경우, 검출기 전체 또는 일부분에 해당하는 영역이 시료가 없는 상태를 유지하여야 하고, 배율이나 운영 모드 변경에 따른 빔 전류를 항상 기록해야 되는 번거로움이 있다. 또한 검출한계를 벗어난 빔 전류에

본 연구는 기초기술연구회 협동과제 "GaN 박막의 미세구조 및 특성평가(PG8059)"의 지원을 받아 수행하였습니다.

* Correspondence should be addressed to Dr. Sang Ho Oh, Division of Electron Microscopic Research, Korea Basic Science Institute, 52 Eoeun-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-333, Korea. Ph.: (042) 865-3948, Fax: (042) 865-3939, E-mail: shoh@kbsi.re.kr

Table 1. Magnification calibration for various beam current detectors. The indicated values are the relative magnification with respect to the magnification on the film plane

Detectors	Relative mag.
Film plane	1
Full screen	0.997
Small screen	0.899
TOP-TV CCD	0.268
HV-GIF CCD	22.168

대해서는 이용할 수 없다는 단점이 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 CCD 카메라를 이용하여 보다 쉽게 전자선 조사량을 계산하는 방법을 보고하고자 한다.

본 연구를 통한 정량적인 전자선 조사량을 계산하기 위해서, 단위면적에 해당하는 배율의 보정이 우선적으로 수행이 되어야 한다. 일반적으로 TEM의 배율(제조사에 의해 보정된 배율)은 시료의 위치와 필름이 장착된 위치를 고려하여 계산하기 때문에, 빔 전류를 측정하는 기준이 되는 형광스크린과 초점스크린, 전자빔의 count를 측정하는 Top-TV CCD 카메라(SP100W, Gatan)와 Bottom HV-GIF CCD 카메라(SP US1000 HV, Gatan)는 필름이 장착된 위치와 Z-축 방향으로 상대적인 투사렌즈의 영향을 고려하여 배율 보정이 필수적이다. 각각의 검출기에 대해서 표준시료인 Replica (2,160 lines/mm)를 사용하여 배율 보정을 수행하였고, 그 결과를 Table 1에 나타내었다.

다음으로 시료를 통과한 전자 빔이 대물렌즈 조리개에 의해서 일부가 손실되기 때문에 실제 exposure meter에 도달한 전류밀도의 측정값에 미치는 영향을 고려하였다. Fig. 1과 같이 대물렌즈 조리개를 삽입하지 않은 상태로 해서 동일한 조건으로 몇 가지 상황에 대하여 대물렌즈 조리개의 크기 (50, 30, 10 μm)를 변화시키면서 전자빔의 강도가 변하는 정도를 관찰하였다. 시료가 없는 상태, C-supporting film, 그리고 Au thin film의 3가지 경우에 대해서 대물렌즈 조리개의 크기를 변화시키면서 투과 전자빔의 강도를 측정하였다. 모든 경우에 대해서 대물렌즈 조리개의 크기가 작을수록 측정된 전자빔의 강도가 줄어들기 때문에, 스크린의 exposure meter로 측정된 전자빔의 전류밀도에 영향을 크게 미칠 수 있음을 알 수 있다. 하지만, 원칙적으로 시료에 조사되는 전류밀도를 측정할 때는 시료가 없는 영역을 선택하고 또한 가열실험을 통한 고분해능 상 분석이나 단백질 구조와 같이 Cryo-EM을 수행할 경우에는 phase contrast 기법을 이용하기 때문에 50 μm 의 큰 대물렌즈 조리개를 사용하는 것이 일반적이며, 이러한 경우에는 대물렌즈 조리개에 의한 투과빔의 강도 약화는 약 1% 밖에 일어나지 않기 때문에 무시할 수 있을 것으로 사료된다.

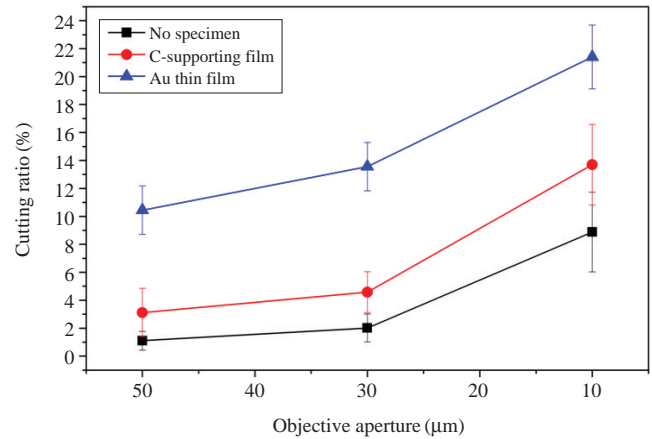


Fig. 1. Cut-off effects of electron beam by objective apertures.

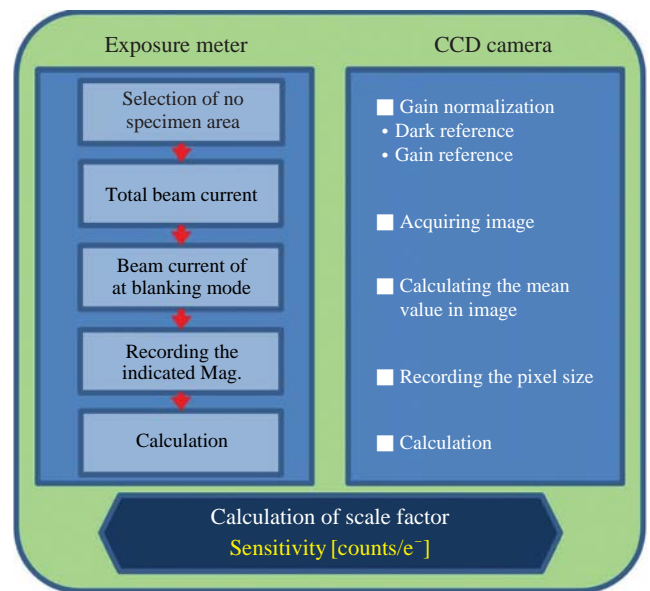


Fig. 2. General procedures for the calculation of electron dose rate using CCD camera.

Fig. 2에는 exposure meter를 이용한 빔 전류 측정과 CCD 카메라를 이용한 전자선 조사량의 계산 과정을 나타내었다. Exposure meter를 이용하여 빔 전류를 측정할 때는 반드시 시편이 없는 상태에서 측정을 해야 하고, 형광스크린 또는 초점 스크린을 완전히 채울 수 있도록 빔을 충분히 펼쳐야 한다. 그렇지 않은 경우에는 추가적으로 스크린에 조사된 빔의 면적을 정확하게 측정해야 되는 불편함이 있다. 이러한 이유로 검출기의 면적이 작은 초점 스크린의 exposure meter를 사용하는 것이 편리하다. 추가적으로 exposure meter에 따라서 빔 전류가 조사되지 않은 blanking mode에서도

약간의 beam current가 측정이 되는 오차가 발생하기 때문에 추후 전자선 조사량을 계산할 때 이에 대한 영향을 고려해야 한다. 본원의 HVEM의 경우, blanking mode에서도 약 $1 \sim 2 \text{ pA/cm}^2$ 의 beam current가 측정이 되기 때문에 실제 측정된 전자빔의 전류밀도는 측정된 전류밀도에서 blanking mode에서 측정된 전류밀도를 감하여 계산을 하였다.

CCD 카메라를 이용하여 전자빔 조사량을 측정하기 위해서는 상기와 같이 측정된 전류밀도에 대해 선형적으로 보정이 가능한 CCD 카메라의 sensitivity를 계산하는 것이 필수적이다. CCD 카메라의 sensitivity는 primary electron에 해당하는 counts 수를 의미하며, 주로 CCD 카메라의 electron gain, linearity, dynamic range, detection quantum efficiency (DQE)에 의존을 많이 하기 때문에 CCD 카메라 자체의 특성평가가 정량적으로 이루어져야 한다. CCD 카메라 자체의 특성을 정량적으로 평가하는 방법은 여러 연구자들에 의해 자세히 제시 (Fan & Ellisman, 1993, 2000; Ishizuka, 1993; Kim et al., 2008)가 되었기 때문에 본 논문에서는 간단히 논의를 할 것이다. 첫째로 입사된 전자빔 조사량과 CCD 카메라로 측정된 강도와 linearity가 보장이 되어야 한다. Film의 경우, 아주 좁은 범위의 전자선 조사량에 대해서만 linearity가 보장이 된다. 반면 일반적으로 CCD 카메라의 linearity는 CCD 카메라의 저장용량(full well capacity)에 의존을 하게 되며, 최근에 개발된 CCD 카메라의 경우에는 아주 우수한 저장용량($> 250,000 e^-$)을 가지고 있기 때문에 아주 낮은 강도 또는 포화강도 근처의 경우를 제외하고는 linearity는 거의 완벽하게 구현한다고 볼 수 있다. 두 번째로 점검해야 할 요소는 CCD 카메라의 자체 특성에 의해 발생하는 noise 수준 이상에서 포화강도까지의 범위를 나타내는 dynamic range이다. 이것은 일반적으로 SNR (singal-to-noise ratio)로 측정될 수 있으며, dynamic range가 넓을수록 exposure meter를 이용하여 측정이 불가능한 범위에 대해서도 전자선 조사량을 측정할 수 있기 때문에 14 bit 또는 16 bit 이상의 dynamic range를 가지는 CCD 카메라를 이용하는 것이 좋다. 마지막으로 DQE 인자에 대한 평가가 이루어져야 한다. DQE는 CCD 카메라의 noise 특성을 나타내는 것으로, 입사된 빔의 SNR과 출력된 SNR의 비율의 계산을 통해서 평가가 가능하다. DQE가 낮은 경우에는 CCD 카메라의 noise 신호강도와 전자계수의 값의 구분이 모호해지기 때문에 전자빔의 조사량의 측정결과 신뢰도가 떨어지게 된다. 다시 말해서 DQE는 전자빔 조사량에 의존하는 함수이기 때문에 대략 1 픽셀에 10개 이하의 전자가 입사될 정도의 적은 전자빔 조사 조건에서는 CCD의 noise 강도에 의해 DQE가 급격히 감소되는 경향을 보이게 되기 때문에 DQE가 최소 0.5 이상이 되는 조건에서 측정이 되어야 할 것이다.

본 연구에서는 CCD 카메라의 sensitivity를 평가하기 위

해서 우선 CCD의 noise 강도의 영향을 최소화하기 위해서 gain normalization을 배율에 따른 결상계의 특정 구간마다 수행하였다. CCD 카메라의 획득 조건은 binning은 '1', frame sum '1'로 설정하였다. CCD의 binning 또는 frame sum과 같은 기능은 CCD 자체내에서 전자적인 conversion 과정을 거치게 되므로 추가적인 영향을 줄 수 있기 때문에 주의할 하여야 한다. 이와 같이 모든 측정조건을 세심히 점검한 후, exposure meter를 이용하여 빔 전류를 측정한 동일한 전자빔 조사량의 조건을 설정하여 Top-TV CCD (12 bit dynamic range)와 HV-GIF CCD (16 bit dynamic range)를 이용하여 신호강도(counts)를 수집하였다. CCD 카메라를 통하여 수행한 결과와 실제 시료에 조사된 전자선 조사량의 기준이 되는 exposure meter의 결과와 비교하여 CCD 카메라의 scale factor를 구하면 추후, 직접 CCD 카메라를 이용하여 전자선 조사량을 측정할 수 있다.

측정된 빔 전류로부터 전자선 조사량을 계산하는 방법을 다음과 같이 간단히 언급한다. Exposure meter로 측정된 빔 전류의 단위는 pA/cm^2 이며, 전자선 조사량의 단위는 $e^-/\text{\AA}^2$ 이기 때문에 단위 변환이 우선 필요하다. 1 pA는 쿨롱의 개념을 도입하여 $6.25 \times 10^6 e^-/s$ 로 나타낼 수 있고, 단위면적 cm^{-2} 는 $10^{-16} \cdot \text{\AA}^{-2}$ 로 변환할 수 있다. 변환과정에서 도출된 상수 값에 대하여 간소화를 수행하면 초점 스크린의 exposure meter로부터 측정된 전류에 대한 전자선 조사량은 다음과 같이 간편화된 식을 이용하여 계산할 수 있다.

$$D = j \times \frac{M^2}{1.6 \times 10^9}$$

여기서, D는 단위면적 · 단위시간당 조사량 [$e^-/\text{\AA}^2 \cdot s$]이고, j는 측정된 전류밀도 [pA/cm^2]이며, M는 사용된 exposure meter의 보정배율 즉, 조사면적의 계산을 위한 상수값에 해당된다. 이와 같은 방법으로 얻어진 전자선 조사량을 기준으로 삼고, CCD 카메라를 통하여 얻은 강도와 배율에 따른 pixel의 크기를 고려하여 상대적인 scale factor를 구하면 다음과 같은 식을 얻을 수 있으며, 아래의 공식을 이용하여 전자선 조사량을 보다 쉽게 추정할 수 있다.

$$D = \frac{S \times I_{av}}{P^2 \times t}$$

여기서, S는 scale factor를 의미하며 각각의 CCD 카메라에 대한 sensitivity의 역수 (25.64 for Top-TV, 0.73 for HV-GIF)로 표현되며, I_{av} 는 CCD 이미지상의 시료가 없는 부분의 평균 강도(counts)이며, P는 해당배율에서 1 pixel 차지하고 있는 실제 크기(\AA)를 의미하고, t는 CCD 카메라의 이미지 획득시간을 나타낸다. 이와 같은 방법으로 CCD의 sensitivity의 평균치를 구한 결과, Top-TV의 sensitivity는 대략 0.039 counts/ e^- 이고 HV-GIF의 경우에는 1.37 counts/ e^- 이었

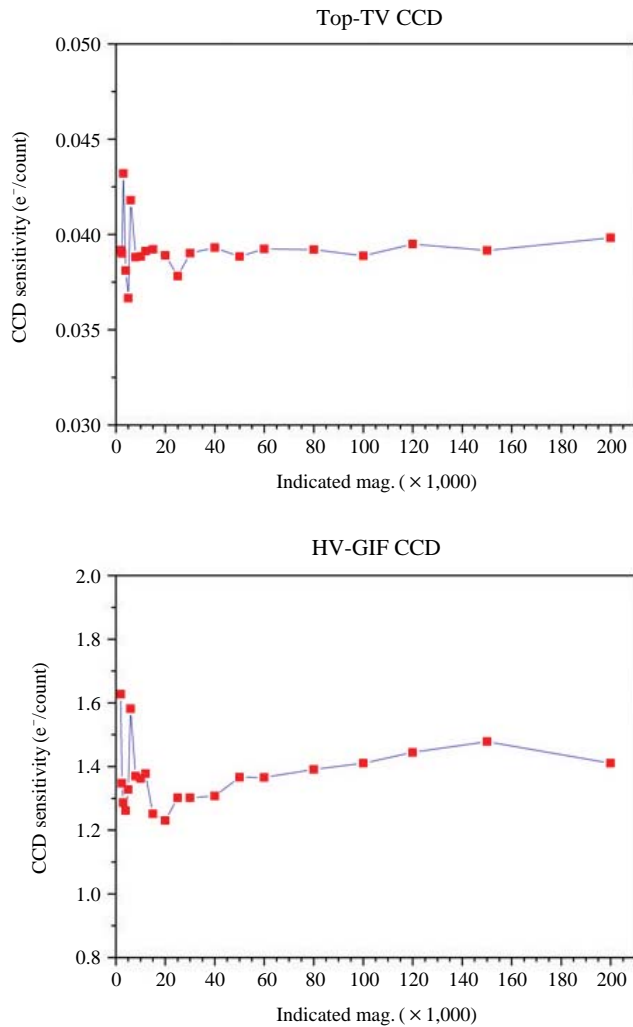


Fig. 3. Calibration of CCD sensitivity of the Top-TV and the HV-GIF which are attached to the KBSI-HVEM.

다(Fig. 3). 앞서서 논의 바와 같이 12 bit의 동적 범위를 가지는 Top-TV의 경우, CCD의 sensitivity가 현저히 떨어지게 되므로, HV-GIF와 같은 넓은 동적 범위를 가지는 CCD 카메라를 이용하는 것이 보다 바람직하다. Fig. 3에서 보여진 바와 같이 저배율에서는 CCD의 sensitivity의 측정에서 있어서 편차가 크게 발생하는 것을 알 수 있다. 전자빔 조사량은 전류밀도가 측정된 면적의 제곱에 비례하므로, 저배율에서는 보다 정밀한 배율 보정의 수행을 통하여 pixel 당 차지하는 실제 크기의 보정이 추가적으로 필요하다.

마지막으로, Fig. 4에는 실제 시료에 대한 이미지를 획득한 후, 전자선 조사량을 계산한 예를 나타내었다. Fig. 4a는 PRAM 메모리 소자로 활용되고 있는 GST 시료에 대하여 역동적 가열 실험을 통하여 특정한 온도 및 시간에 따른 결정구조의 전이에 대한 연구 자료이다. 이미 서론에서도 언급을 했듯이 시편의 구조 전이 및 결함의 결과는 가열온도

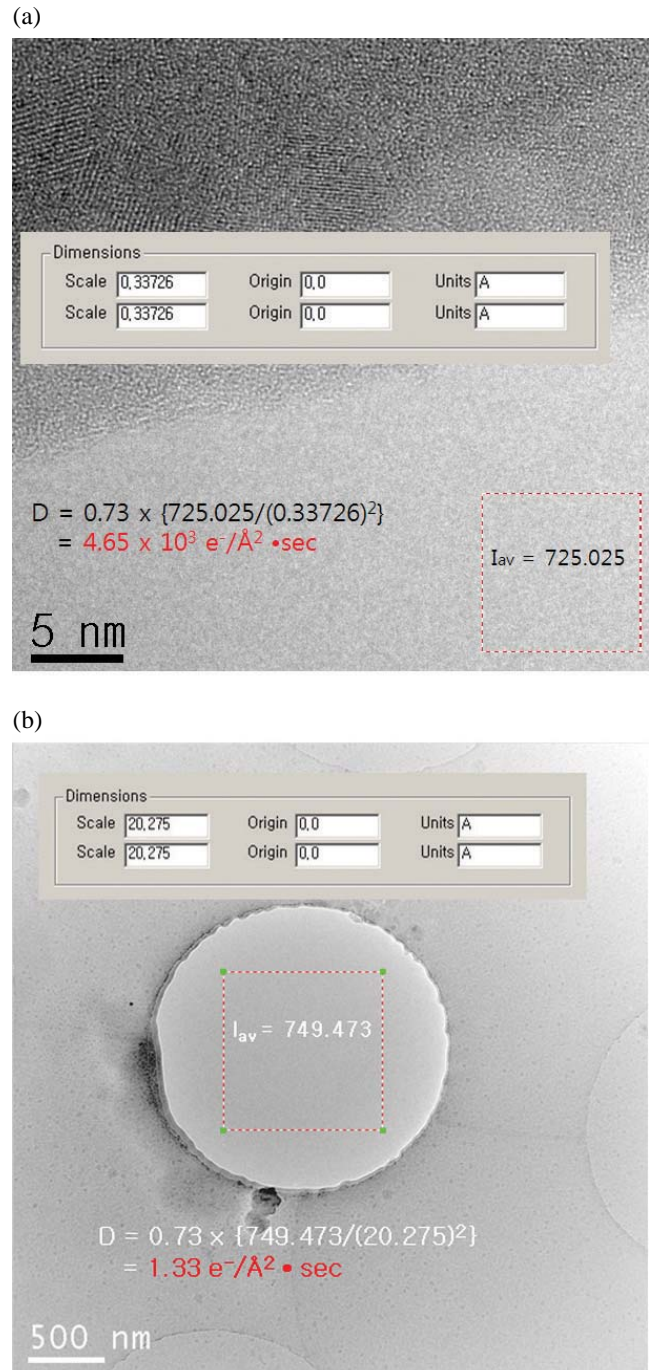


Fig. 4. Examples for the calculation of electron dose rate on CCD. (a) In-situ observation of phase transition of GST memory device by in-situ heating and high energy beam irradiation. (b) Application to single particle analysis under low dose condition using cryo-EM.

뿐만 아니라, 전자선 조사량에도 의존하게 된다. 그러므로 실험 조건에 전자선 조사량($\sim 4.65 \times 10^3 e^-/\text{Å}^2 \cdot \text{sec}$)의 제시 는 보다 정밀한 실험 결과의 근거 제시가 될 수 있다. 한편, Fig. 4b는 Cryo-EM의 실험시 자주 이용하는 QUANTIFOIL

R 2/2 (Quantifoil Micro Tools GmbH, Germany) 그리드에 대한 이미지이다. 빔 손상에 예민한 시료의 경우, 비정질 얼음막으로 시료를 포매한 후 시료를 관찰하기 때문에 일정하게 균일한 구멍을 가지는 quantifoil의 그리드를 많이 사용한다. 특히, 이와 같은 Cryo-EM의 경우에는 시료의 관찰에도 세심한 주의가 필요하기 때문에 전자선 조사량을 지속적으로 기록하는데 어려움이 있다. 하지만, 본 연구에서 제시한 방법을 이용할 경우, 시료의 관찰 도중 또는 후에 구멍이 비정질 ice로 채워지지 않은 미소 영역에 대해서 이미지를 획득하면 exposure meter를 이용하지 않고도 간접적으로 전자선 조사량($\sim 1.33 \text{ e}^-/\text{\AA}^2 \cdot \text{sec}$)을 계산할 수 있으며, exposure meter의 측정 범위를 벗어난 전류밀도에 대해서도 전자선 조사량을 계산할 수 있다는 장점이 있어 많은 TEM 연구자에게 실질적인 도움이 될 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Egerton RF, Rauf I: Dose-rate dependence of electron-induced mass loss from organic specimens. *Ultramicroscopy* 80 : 247-254, 1999.
- Fan GY, Ellisman MH: High-sensitivity lens-coupled slow-scan CCD camera for transmission electron microscopy, *Ultramicroscopy* 52 : 21-29, 1993.
- Fan GY, Ellisman MH: Digital imaging in transmission electron microscopy. *Journal of Microscopy* 200 : 1-13, 2000.
- Ishizuka K: Analysis of electron image detection efficiency of slow-scan CCD cameras. *Ultramicroscopy* 52 : 7-20, 1993.
- James ZC, Carsten S, Chen Xu, Mielke T, Christian MTS, Nikolaus G: A dose-rate effect in single-particle electron microscopy. *J Structural Biology* 161 : 92-100, 2008.
- Kim YM, Lee S, Kim YS, Oh SH, Kim YJ, Lee JY: Electron-beam-induced transition aluminas from aluminum trihydroxide. *Scripta Materialia* 59 : 1022-1025, 2008.
- Kim YM, Lee JY, Moonen D, Jang KI, Kim YJ: Quantitative evaluations of a high-voltage multiscan CCD camera. *J Electron Microscopy* 56 : 217-224, 2007.
- Williams DB, Carter CB: *Transmission Electron Microscopy-A Textbook for Materials Science*, Plenum Press, New York and London, 1996.
- Saka H, Kamino T, Arai S, Sasaki K: In situ heating transmission electron microscopy. *MRS Bulletin* 33 : 93-100, 2008.