

Elektronenmikroskopie

Definition:

„Ein Elektronenmikroskop ist ein Mikroskop, das anstelle von Licht gebündelte, durch Hochspannung beschleunigte Elektronen im Vakuum zur Abbildung und hohen Auflösung des Inneren oder der Oberfläche kleinster Objekte verwendet wird.“

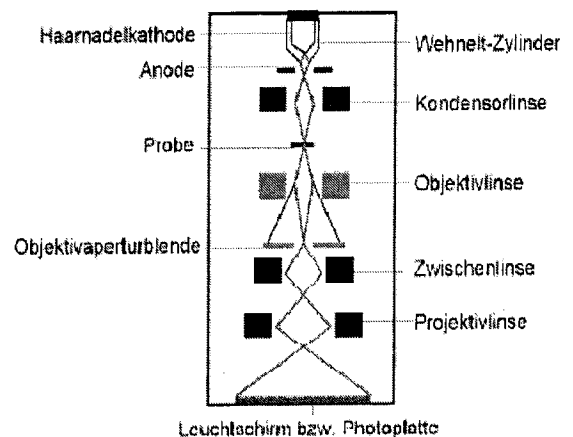
Schnelle Elektronen haben eine sehr viel kleinere Wellenlänge als sichtbares Licht, daher kann man mit einem Elektronenmikroskop eine deutlich höhere Auflösung erzielen, als mit einem Lichtmikroskop. (nach Ernst Abbe und Louis de Broglie)

1. Allgemeiner Aufbau und Funktion (TEM/REM)

- Elektronenkanone (Wolfram, LaB₆-Kathoden) erzeugt Elektronenstrahl Richtung Anode; zwischen Kathode und Anode besteht eine Hochspannung (bis zu 3MV) wodurch die Elektronen beschleunigt werden
- Vorgang findet im Vakuum statt, damit die Elektronenquelle effizienter arbeiten kann und da es ansonsten zu Wechselwirkungen mit Gasteilchen kommen kann
- Elektronenlinsen (elektromagnetische Spulen), die die Flugbahn der Elektronen durch ein magnetisches Feld ablenken können, bündeln den Elektronenstrahl und lenken ihn ggf. über die Probe
- Probenhalterung, die die Probe stabilisiert
- Detektoren, die die Elektronen selbst oder sekundäre Signale registrieren

2. TEM (Transmissionselektronenmikroskop = Durchstrahlungsmikroskop)

- Ähnliches Prinzip wie bei dem Lichtmikroskop; Elektronen statt Photonen
- Ausrichtung des Elektronenstrahls durch Kondensorlinse, dieser tritt durch Objekt hindurch, an dem es partiell abgelenkt wird
- Elektronenstrahl trifft auf mehrere hintereinander geschaltete vergrößernde Linsen (Objektivlinse, Zwischenlinse, Projektivlinse); Die Projektivlinse wirft das Zwischenbild vergrößert auf einen Detektor (z. B. fluoreszierenden Leuchtschirm)



2.1 Probenvorbereitung:

Chemische Präparation biologischer Proben:

- Fixierung der Probe mit z. B. schwachprozentigen (1-5 %) Glutaraldehyd, anschließend mit Osmiumsäure zur Lipidfixierung- und Färbung (starke Kontrastierung)
- Alternativ Cryofixierung: Probe wird mit Ethan unter -135°C schockgefroren; Wasser bildet glasartiges Eis, geringste Artefaktbildung (Verfälschung des Bildes), allerdings geringer Kontrast
- Dehydrierung: Wasser wird schrittweise durch Ethanol oder Aceton ersetzt
- Einbettung: zur Sektionierung der Gewebe; meist durch Nutzung von Acrylharzen
- Sektionierung: Ultradünne Probeschnitte, höchstens 100nm dick; kann durch Ultra-Mikrotomie oder Ionenätzverfahren hergestellt werden
- Färbung: da Atome mit einer höheren Ordnungszahl Elektronen stärker streuen, als Atome mit einer niedrigeren Ordnungszahl, kommt es zu einer Kontrasterhöhung

- 2.2 Wechselwirkungen und Bilderzeugung

Wechselwirkungen die zur Bilderzeugung beitragen:

Elastische Streuung: WW der Elektronen mit Atomkernen; je näher das Elektron dem Kern kommt, je langsamer es ist und je höher die Kernladungszahl ist, desto größer ist die Ablenkung

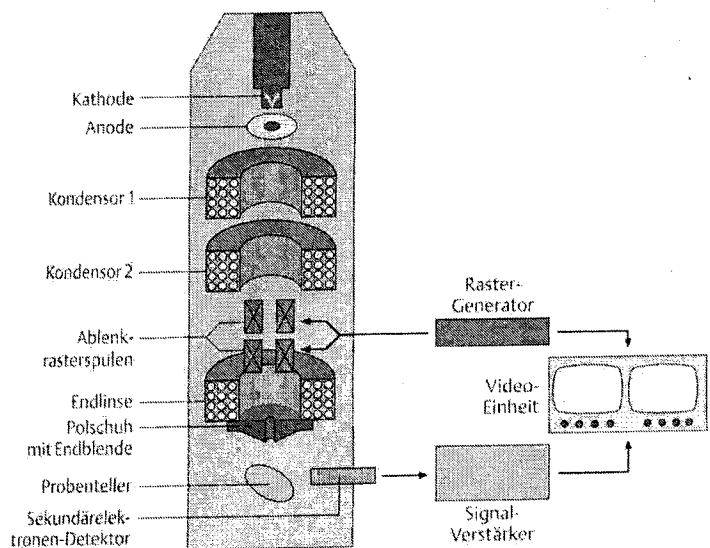
Unelastische Streuung: WW der Elektronen mit Schalelektronen; da gleiche Masse der Elektronen, kommt es zu einem Geschwindigkeitsverlust des Strahlelektrons und es kann zu Effekten wie Ionisation, Röntgenstrahlung und Anregung von Schwingungszuständen kommen

Ungestreuete Elektronen: passieren die Probe ungehindert

Bilderzeugung: durch Ausblendung der gestreuten Elektronen entsteht ein kontrastreiches Bild auf dem Leuchtschirm

3. Rasterelektronenmikroskop

- Objektoberfläche wird durch den primären Elektronen-Strahl Punkt für Punkt abgetastet was zur Freisetzung von Sekundärelektronen (Intensität ist von Neigungswinkel der Objektoberfläche abhängig); rückgestreute Elektronen, Auger-Elektronen, Röntgenstrahlung und in manchen Fällen auch Licht führt.
- Detektoren fangen die Signale auf und verstärken sie elektronisch
- Vergrößerungsbild erscheint auf einem Kathoden- bzw. Fernsehbildschirm



3.1 Probenvorbereitung

- Probe wird mit Aceton oder Alkohol dehydriert (um Wasserdampf im Vakuum zu vermeiden)
- Nichtleitende Proben werden mit einer dünnen Edelmetallschicht (Sputtern) oder mit Kohlenstoff bedampft, um eine leitende Schicht zu erhalten und elektrostatische Aufladung zu vermeiden

3.2 Bildentstehung

Mit Hilfe von geeigneten Detektoren lassen sich die Signale elektronisch weiterverarbeiten. Die Abbildung der Oberfläche entsteht aufgrund der Topografiekontraste (Sekundärelektronen), des Materialkontrastes (rückgestreute Elektronen) und der chemischen Zusammensetzung (Auger- und Röntgenstrahlen). Dadurch werden Strukturen in unterschiedlicher Helligkeit abgebildet.

4. Vergleich der beiden Elektronenmikroskope

Transmissionselektronenmikroskop	Rasterelektronenmikroskop
Probe wird durchstrahlt Aufwendige Präparation (Schnitte), Artefaktbildung möglich Auflösung bis zu 0,05 nm (TEAM)	Oberfläche der Probe wird abgerastert Einfachere Probenvorbereitung, als bei TEM Auflösung bis zu 1 nm

Nachteil beider Elektronenmikroskope:
Beide können die Proben nur in schwarz- weiß abbilden!
Keine Untersuchung an lebenden Objekten möglich!