



Das Elektronen-Mikroskop (Raster- und Transmissionsmikroskopie)

Christfried-Alexander Kurz, SS 04; Anne Lorenz, SS 16

Gliederung

1	Elektronen-Mikroskopie	2
2	Das Transmissionselektronen-Mikroskop (TEM)	3
3	Das Rasterelektronen-Mikroskop (REM)	5
4	Materialanalytische Anwendungen der Elektronen-Mikroskopie	7
4.1	Energiedispersive Spektroskopie (EDS/EDX)	7
4.2	Elektronenenergieverlust-Spektroskopie (EELS)	8

Einstieg: „Der Mensch erscheint nun in Bezug auf die Ausbildung seiner Sinne keineswegs als das vollkommenste und höchstentwickelte Wirbeltier. Das Auge der Vögel ist viel schärfer und unterscheidet kleine Gegenstände auf weite Entfernung viel deutlicher als das menschliche Auge.“ Ernst Haeckel

Die Meditationen Haeckels beziehen sich auf die unerreichbare Ferne. Für die Weite sind das Fernrohr oder die modernen Refraktoren geschaffen. Die Überlegungen Haeckels treffen aber auch auf die nicht ertastbare enge Nähe zu. Hierfür existieren Mikroskope, nämlich das Licht-Mikroskop (LM) und das Elektronen-Mikroskop (EM).

Betrachtet man lichtmikroskopische und eine elektronenmikroskopische Aufnahmen, so stellt man fest, dass bei der LM-Aufnahme, bei der dünne Schnitte der Probe angefertigt werden müssen, auch bei oberer Vergrößerungsgrenze (4000x) kaum Details erkennbar sind (Abb. 1). Dagegen erhält man bei der EM-Aufnahme bei gleicher Vergrößerung eine viel höhere Auflösung und die typische Oberflächenstrukturen werden sichtbar (Abb. 2).



Abb. 1: Lichtmikroskopische Aufnahme von Zellen von *Trichodidema occidentale* (Epidermis und anschließendes Gewebe) [9]

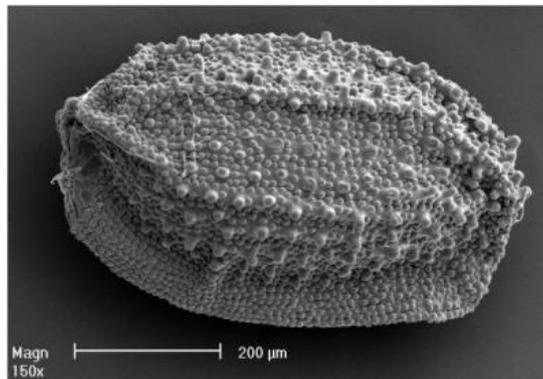


Abb. 2: Elektronenmikroskopische Aufnahme des Samens von *Saxifraga rosacea* (Rasen-Steinbrech) [9]

Neben einer höheren Auflösung besitzen Elektronen-Mikroskope außerdem einen breiteren und höheren Vergrößerungsbereich als Licht-Mikroskope, sodass ein einzelner Samen des Rasen-Steinbrechs auch bei höherer Vergrößerung noch gut aufgelöst abgebildet werden kann und die Strukturen der Oberflächen sichtbar werden (Abb. 3). Wie es möglich ist, so feine Details abzubilden, wird im Folgenden geklärt.

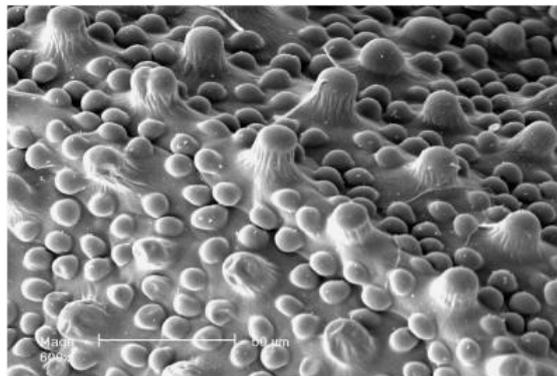


Abb. 3: Die mit einem Elektronen-Mikroskop vergrößerte Oberfläche des Samens von *Saxifraga rosacea* (Rasen-Steinbrech) [9]

1 Elektronen-Mikroskopie

In einem Elektronen-Mikroskop werden anstelle von Licht Elektronen zur Abbildung verwendet. De Broglie definierte die Wellennatur der Elektronen in folgender Formel:

$$\lambda = \frac{h}{m \cdot v}$$

λ = Wellenlänge, h = Plank'sches Wirkungsquantum, m = Masse des Teilchens, v = Geschwindigkeit des Teilchens

Aufgrund dieser Gleichung ist es leicht ersichtlich, dass eine Erhöhung der Geschwindigkeit der Elektronen zu einer kürzeren Wellenlänge führt und somit auch zu einer höheren Auflösung. Letzteres wird auch in der Gleichung von Ernst Abbe deutlich:

$$d = 0,61 \cdot \frac{\lambda}{n \cdot \sin \alpha} = 0,61 \cdot \frac{\lambda}{NA}$$

d = Auflösungsvermögen, λ = Wellenlänge, $n \sin \alpha$ = numerische Apertur (NA)

Je kleiner der Wert der Wert von „d“ wird, umso feinere Strukturen können aufgelöst werden. Da Elektronen wesentlich kürzere Wellenlängen besitzen als sichtbares Licht, können sie auch wesentlich kleinere Strukturen auflösen. Die ursprünglich erhaltenen Bilder sind schwarz-weiß, da Elektronen anstatt von Licht zur Abbildung verwendet werden.

Zuerst muss jedoch erst einmal ein Elektronenstrahl erzeugt werden. Hierfür verwendet man eine Haarnadel-Kathode (z. B. aus Wolfram), die im glühenden Zustand Elektronen erzeugt, welche durch einen sogenannten Wehnelt-Zylinder gebündelt und in Richtung Anode auf sehr hohe Geschwindigkeiten beschleunigt werden (Abb. 4, Beschleunigungsspannung ca. zwischen 20 und 100 kV). Da allerdings die Anwesenheit reaktiver Gase (Luft-Sauerstoff) zu Wechselwirkungen mit dem aufgeheizten Elektronen-Emitter führen und der Wolfram-Faden infolge dessen durchbrennen würde, wird im EM ein Vakuum benötigt. Nun muss der Elektronen-Strahl noch gelenkt und gebündelt werden. Dies erfolgt mit Hilfe inhomogener magnetischer Felder (Linsen).

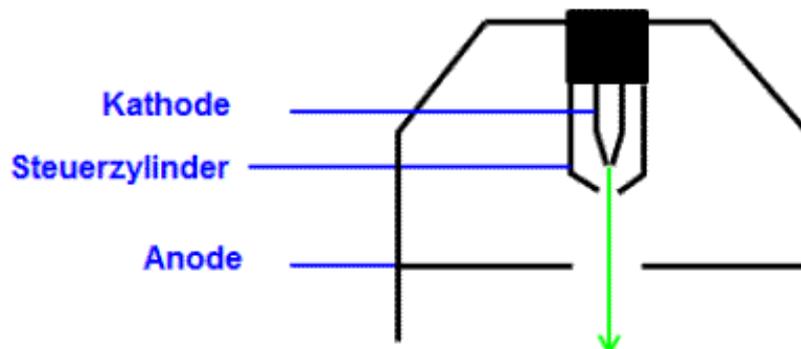


Abb. 4: Elektronenstrahl-Erzeugung in einem Elektronen-Mikroskop [10]

Es existieren zwei Grundtypen von Elektronen-Mikroskopen, das Transmissions- und das Rasterelektronen-Mikroskop, die in den nächsten beiden Kapiteln noch näher betrachtet werden (Abb. 5).



Abb. 5: Ein Rasterelektronen-Mikroskop der Universität Bayreuth [7]

2 Das Transmissionselektronen-Mikroskop (TEM)

Im Aufbau ist das TEM einem Licht-Mikroskop nachempfunden, d. h. es besteht aus hintereinander geschalteten vergrößernden Linsen. Das TEM erzeugt ein Durchlicht-Elektronenbild mit einer 100 bis 500.000fachen Vergrößerung und einem Auflösungsvermögen von etwa 0,2 nm. So lassen sich beispielsweise die verschiedenen Schichten eines Schicht-Silikats abbilden (Abb. 6).

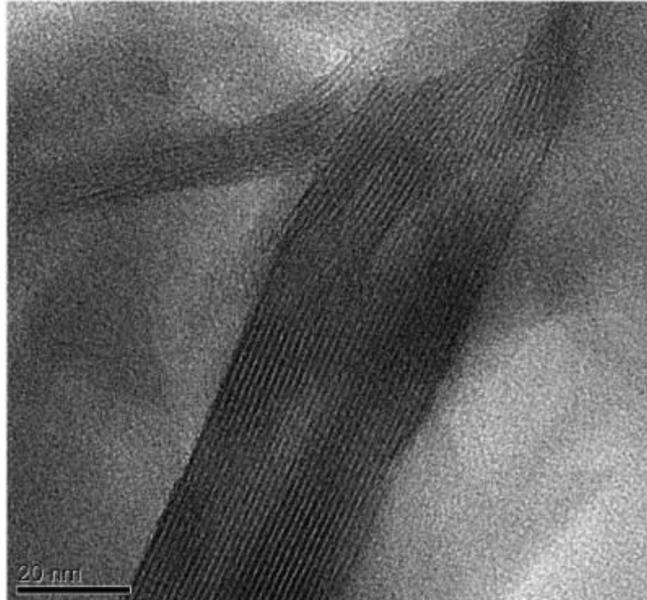


Abb. 6: Schicht-Silikat [8]

Der Elektronenstrahl wird wie oben beschrieben erzeugt. Als nächstes passiert er die Kondensator-Linsen, durch die der Elektronenstrahl verdichtet und auf die Probenebene projiziert wird (vgl. Abb. 7).

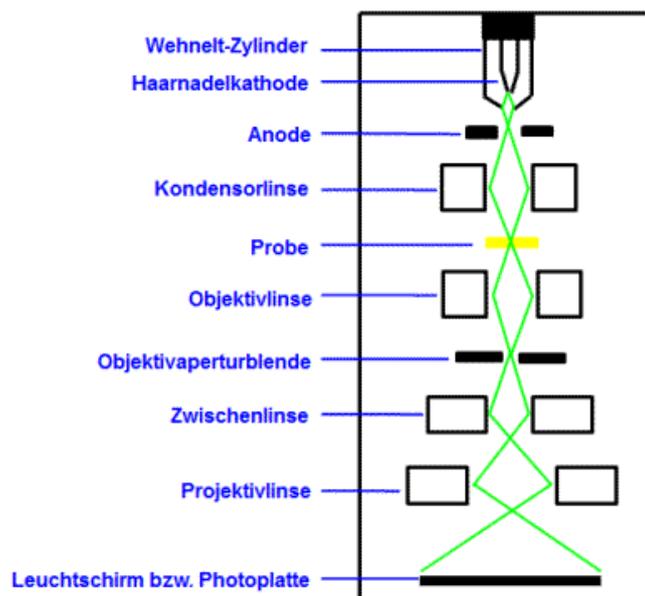


Abb. 7: Strahlengang in einem Transmissionselektronen-Mikroskop [10]

Beim Auftreffen der Elektronen auf die Proben-Atome kann es zu folgenden Wechselwirkungen kommen:

- Strahl-Elektronen durchdringen die Probe ungehindert
- Strahl-Elektronen werden durch einen positiv geladenen Kern abgelenkt, verlieren dabei aber nur wenig oder keine Energie (elastische Streuung)
- Strahl-Elektronen treffen auf Elektronen in einer Kernhülle; die getroffenen Elektronen sind durch einen Energie-Verlust und einer lediglich geringen Abweichung aus ihrer Bahn charakterisiert (unelastische Streuung).

Die Objektivapertur-Blende der Objektiv-Linse ist häufig so eingestellt, dass die nicht gestreuten und die meisten unelastisch gestreuten Elektronen passieren können (Abb. 8). Dies führt zu einer Kontrast-Steigerung.

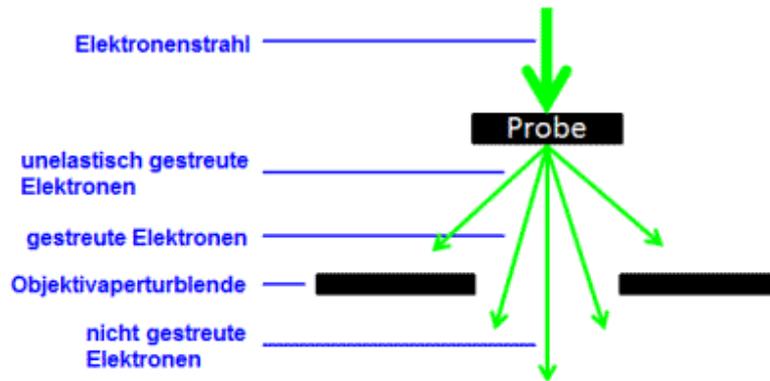


Abb. 8: Kontrast-Steigerung mit der Objektivapertur-Blende [10]

Die Vergrößerung des Endbildes im TEM ist schließlich das Produkt der Vergrößerungen aller vergrößernden Linsen, nämlich der Objektiv-Linse, der Beugungslinse, der Zwischen-Linse und der Projektiv-Linse. Das Endbild wird auf einem Leuchtschirm oder eine Photoplatte projiziert. So lassen sich Bilder von Bakterien wiedergeben (Abb. 9). Transmissionselektronen-Mikroskope finden beispielsweise Verwendung in der Medizin zur Identifikation von Viren und Bakterien, in der Biologie zum Sichtbarmachen von Zell-Strukturen (DNA) und in den Werkstoff-Wissenschaften zur Untersuchung der Feinstruktur von Polymeren.

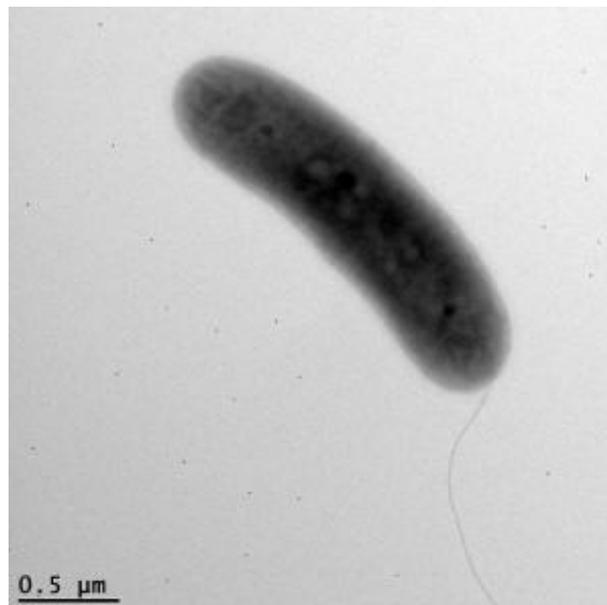


Abb. 9: TEM-Bild eines Bakteriums [8]

Ein Nachteil der Transmissionselektronen-Mikroskopie ist sicherlich die aufwendige Proben-Präparation. So muss die Probe isoliert, chemisch fixiert und entwässert oder schockgefroren (Kryofixierung), falls der Wasser-Gehalt erhalten bleiben soll, in Kunstharz getränkt und eingebettet werden. Anschließend müssen mit einem Diamant-Messer Ultradünnschnitte hergestellt werden, bevor eine Behandlung mit einem Kontrastierungsmittel erfolgt.

3 Das Rasterelektronen-Mikroskop (REM)

Für REM-Proben sind die meisten Präparationsverfahren beträchtlich einfacher als die für TEM-Proben, da im REM ganze Proben und keine Ultradünnschnitte untersucht werden. Im Vergleich zur Licht-Mikroskopie ist die Präparation aber trotzdem aufwendiger. Die meisten Proben müssen elektrisch leitend gemacht werden, indem sie beispielsweise mit Gold bedampft werden.

Die Rasterelektronen-Mikroskope verfügen über einen ca. 30 bis 500.000fachen Vergrößerungsbereich und besitzen ein Auflösungsvermögen zwischen 2 und 6 nm. Besonders geeignet ist diese Art von Elektronen-Mikroskop, um die Oberfläche eines Gegenstandes plastisch und dreidimensional abzubilden (vgl. Abb. 10 und Abb. 11).

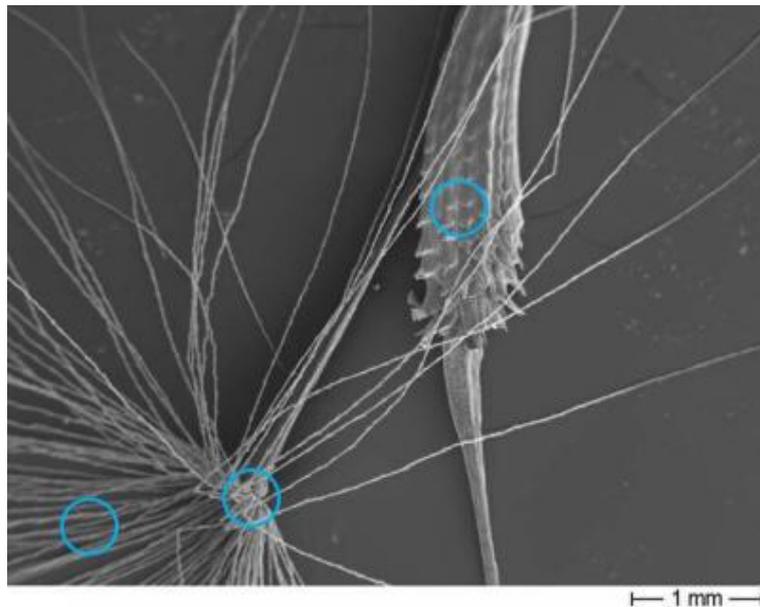


Abb. 10: Frucht des Löwenzahns (*Taraxacum officinale*; Pappus, Schnabel und Achäne) [6]

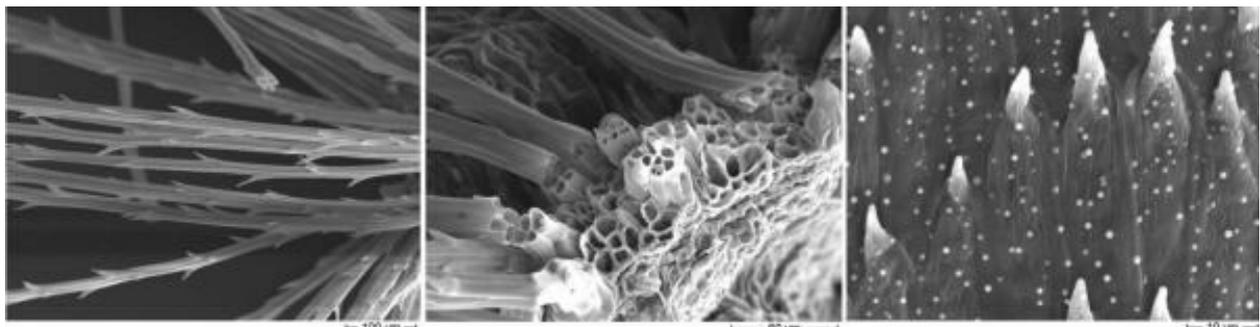


Abb. 11: Vergrößerung einzelner Strukturen des Löwenzahns (*Taraxacum officinale*) [6]

Die Elektronenstrahl-Erzeugung erfolgt wie oben beschrieben. Der Elektronenstrahl wird durch eine Kondensor-Linse gebündelt und durch eine Objektiv-Linse als sehr kleiner Punkt auf die Proben-Oberfläche fokussiert. Im REM wird die Probe nicht durchstrahlt, sondern die Oberfläche wird durch Ablenkspulen Punkt für Punkt und Zeile für Zeile vom gebündelten Elektronenstrahl abgetastet („abgerastert“). Wenn der Elektronenstrahl auf die Probe trifft, treten eine Reihe komplexer Wechselwirkungen auf, die zu Sekundär-Elektronen aus der Probe führen. Diese Sekundär-Elektronen werden von einem Detektor gesammelt. Die Anzahl der detektierten Elektronen bestimmt dann die Intensität der Lichtpunkte auf dem Bildschirm. Will man rückgestreute Elektronen effizient nachweisen, z. B. um die Alge des Kontrastierungsmittels sichtbar zu machen, ist noch ein zusätzlicher Detektor oberhalb der Probe notwendig.

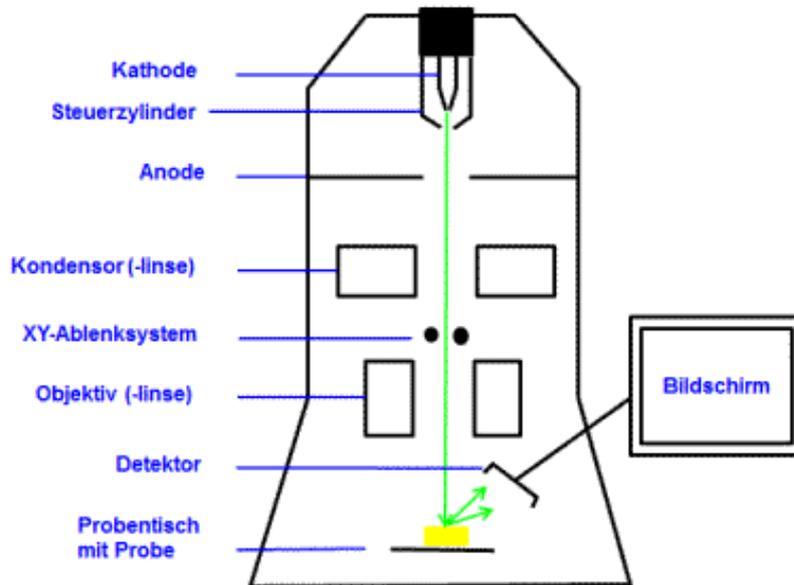


Abb. 12: Aufbau eines Rasterelektronen-Mikroskop [10]

4 Materialanalytische Anwendungen der Elektronen-Mikroskopie

Bisher wurden die Elektronen-Mikroskope hier nur unter dem Verwendungszweck der Betrachtung angeschaut. Elektronen-Mikroskope sind jedoch auch in der Materialanalytik wichtig, wobei sich vor allem zwei Techniken bewährt haben, nämlich die energiedisper-sive Spektroskopie und die Elektronenenergieverlust-Spektroskopie. Hierbei macht man sich jeweils die unelastische Streuung des Primär-Elektronenstrahls zunutze.

4.1 Energiedisper-sive Spektroskopie (EDS/EDX)

EDX ist die englische Abkürzung für energy-dispersive x-ray spectroscopy, wobei x-ray für Röntgen-Strahlung steht. Röntgen-Strahlen sind ein Ergebnis der unelastischen Streuung der Strahlelektronen mit den Elektronen der Proben-Atome. Wenn ein Elektron durch ein Strahlelektron aus einem Proben-Atom herausgeschlagen wird, entsteht dabei eine Lücke in einer inneren Schale der Elektronen-Hülle, die durch ein Elektron aus einer Schale höherer Energie aufgefüllt wird. Die Energie-Differenz zwischen den Schalen kann dann in Form von Röntgen-Strahlung emittiert werden. Der Nachweis und die Analyse der Röntgen-Strahlung erlaubt es, die Existenz, die Menge und die Verteilung von Elementen in der Probe zu bestimmen. Ein EDS-Detektor, der an eine REM-Säule angeschlossen ist, erfasst die einfallende Röntgen-Strahlung.

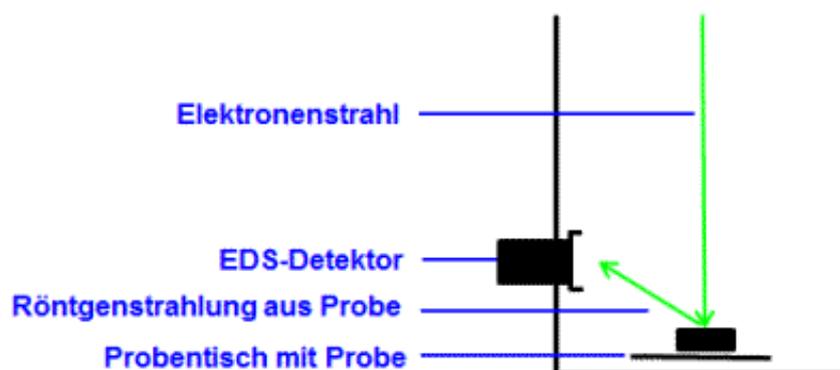


Abb. 13: EDS-Detektor in einem Rasterelektronen-Mikroskop [10]

Die gemessene Energie der erzeugten Röntgen-Strahlung ist dabei für ein Element charakteristisch. In einem Spektrum können so alle in dem untersuchten Bereich auftretenden Elemente bestimmt werden. Das folgende EDS-Spektrum zeigt Peaks für Sauerstoff (O), Magnesium (Mg), Silicium (Si) und Palladium (Pd).

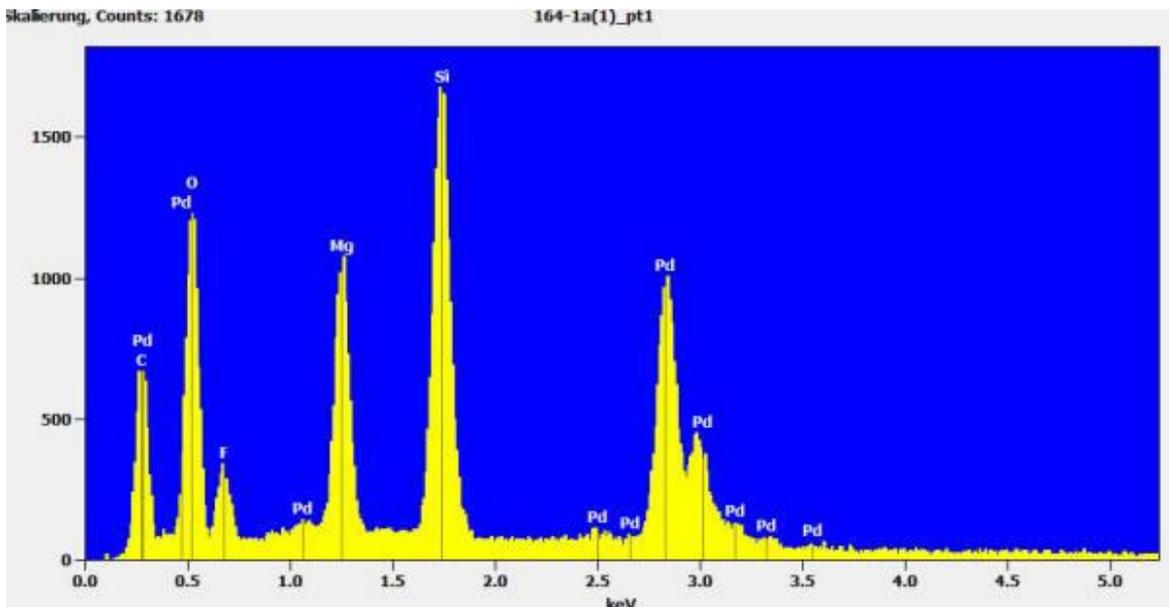


Abb. 14: EDS-Spektrum eines Schicht-Silikats mit Palladium [7]

4.2 Elektronenenergieverlust-Spektroskopie (EELS)

EELS steht für electron energy loss spectroscopy. Die unelastische Streuung des Primärelektronenstrahls mit den Elektronen der Proben-Atome verursacht einen Energie-Verlust der Primärelektronen. In einem TEM ist ein EELS-Detektor so platziert, dass er die unelastisch gestreuten Elektronen nach dem Passieren der Probe abfangen und zerstreuen kann. Hierbei werden alle Elektronen derselben Energie in demselben Punkt auf dem Detektor innerhalb eines definierten Einfall-Kegels fokussiert. Das EELS-Spektrum stellt dabei nichts Anderes wie eine Energie-Verteilung der eine dünne Probe passierenden Elektronen dar.

Zusammenfassung: Ein Elektronen-Mikroskop ist ein Mikroskop, das anstelle von Licht gebündelte, durch Hochspannung beschleunigte Elektronen im Vakuum zur Abbildung und hohen Auflösungen kleinster Objekte verwendet.

Es gibt zwei Grundtypen von Elektronen-Mikroskopen, nämlich das TEM und das REM. Während man beim TEM ein Durchlicht-Elektronenbild erhält, wird im REM ein dreidimensionales und plastisches Bild von Oberflächen erzeugt. Beide haben sowohl untereinander als auch gegenüber dem Licht-Mikroskop Vorteile und Nachteile. Wichtig für die Auswahl der Methode ist der Verwendungszweck.

Abschluss. Das beste Auflösungsvermögen bei modernen Licht-Mikroskopen beträgt bestenfalls 200 nm, beim REM 2 nm und beim TEM sogar 0,2 nm. Noch feinere Strukturen lassen sich mit dem Rastertunnel-Mikroskop und dem Rasterkraft-Mikroskop auflösen. Eine Forschergruppe aus Augsburg hat ein umgekehrtes Rasterkraft-Mikroskop entwickelt, mit dem Strukturen, die kleiner als ein Atom sind, sichtbar gemacht werden können.

Quellen:

1. Eckert, R.: Sehen heißt wissen, 1. Auflage, E. Kurz & Co., Stuttgart 1998.
2. Flegler, S.: Elektronenmikroskopie, 1. Auflage, Spektrum, Heidelberg 1995.
3. Heimendahl, M. v.: Einführung in die Elektronenmikroskopie, Vieweg, Braunschweig 1970.
4. Lange, R.: Das Elektronenmikroskop, Thieme, Stuttgart 1981.
5. Schulze, D.: Sehen, verstehen, gestalten, 1. Auflage, Werkstoff-Informations-gesellschaft, Frankfurt 1998.
6. Universität Bayreuth, Lehrstuhl Polymer Engineering
7. Universität Bayreuth, Bayerisches Polymerinstitut (BIP), Keylab 2 Electron & Optical Microscopy.
8. Universität Bayreuth, Laboratory for Soft Matter Electron Microscopy, Dr. Markus Drechsler
9. Universität Bayreuth, Lehrstuhl Pflanzensystematik, Dr. Ulrich Meve
10. Universität Bayreuth, Anne Lorenz, eigene Arbeit.