

Rainer H. Lange · Jochen Blödorn

# Das Elektronenmikroskop TEM+REM

Leitfaden für Biologen und Mediziner

157 Abbildungen in 298 Einzeldarstellungen

FACHBEREICH BIOLOGIE (10)  
der Technischen Universität Darmstadt  
- Bibliothek -  
D - 6100 Darmstadt / B. R. D.  
Schlitzbahnstraße

Inv.-Nr. 9352

H 12. 33

BB TU Darmstadt



52554462



1981

Georg Thieme Verlag Stuttgart · New York

# Inhaltsverzeichnis

|           |                                                                                             |           |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1.</b> | <b>Einführung .....</b>                                                                     | <b>1</b>  |
| <b>2.</b> | <b>Vakuum-Technik .....</b>                                                                 | <b>4</b>  |
| 2.1.      | Allgemeines .....                                                                           | 4         |
| 2.2.      | Vakuumpumpen .....                                                                          | 6         |
| 2.3.      | Vakuummessung .....                                                                         | 17        |
| 2.4.      | Hochvakuumpumpe .....                                                                       | 22        |
| <b>3.</b> | <b>Elektronenstrahlerzeugung .....</b>                                                      | <b>27</b> |
| 3.1.      | Kathode .....                                                                               | 27        |
| 3.1.1.    | Thermische Anregung .....                                                                   | 27        |
| 3.1.1.1.  | Direkt geheizte Kathoden .....                                                              | 27        |
| 3.1.1.2.  | Indirekt geheizte Kathoden .....                                                            | 29        |
| 3.1.2.    | Andere Formen der Anregungsenergie .....                                                    | 29        |
| 3.1.2.1.  | Feldemissionskathoden .....                                                                 | 31        |
| 3.2.      | Anode .....                                                                                 | 31        |
| 3.3.      | Wehnelt-Zylinder als Steuerelektrode und elektro-<br>nische Linse .....                     | 32        |
| 3.3.1.    | Cross-over .....                                                                            | 33        |
| 3.3.2.    | Betriebsarten des thermischen Richtstrahlers .....                                          | 34        |
| 3.3.2.1.  | Sättigungsbetrieb .....                                                                     | 34        |
| 3.3.2.2.  | Raumladungsbetrieb .....                                                                    | 36        |
| 3.3.2.3.  | Übergangs- oder Hohlstrahlbetrieb .....                                                     | 36        |
| 3.4.      | Leistungscharakterisierung des Richtstrahlers .....                                         | 37        |
| 3.4.1.    | Richtstrahlwert .....                                                                       | 37        |
| 3.4.2.    | Leistungsvergleich verschiedener Kathodentypen .....                                        | 37        |
| 3.5.      | Stabilität der Beschleunigungsspannung .....                                                | 38        |
| <b>4.</b> | <b>Wechselwirkung zwischen Elektronen und<br/>Materie .....</b>                             | <b>39</b> |
| 4.1.      | Streuung der Elektronen in der Probe .....                                                  | 39        |
| 4.1.1.    | Elastische Streuung .....                                                                   | 39        |
| 4.1.2.    | Inelastische Streuung .....                                                                 | 40        |
| 4.1.3.    | Differentieller Wirkungsquerschnitt .....                                                   | 41        |
| 4.2.      | Streuung in der Transmissionselektronenmikroskopie .....                                    | 42        |
| 4.2.1.    | Streuung als Grundlage der Bilderzeugung in der<br>Transmissionselektronenmikroskopie ..... | 42        |
| 4.2.2.    | Inelastische Streuung als Ursache für Objektverände-<br>rungen .....                        | 43        |

|           |                                                                                           |           |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.3.      | Bilderzeugung im Rasterelektronenmikroskop als Folge der Streuprozesse .....              | 44        |
| 4.3.1.    | Abbildung durch Elektronennachweis .....                                                  | 45        |
| 4.3.1.1.  | Rückstreuelektronen .....                                                                 | 47        |
| 4.3.1.2.  | Sekundärelektronen .....                                                                  | 48        |
| 4.3.2.    | Röntgenstrahlung .....                                                                    | 50        |
| 4.3.3.    | Kathodolumineszenz .....                                                                  | 52        |
| 4.3.4.-   | Probenstrom .....                                                                         | 54        |
| 4.4.      | Kontrastmechanismen im Rasterelektronenmikroskop .....                                    | 54        |
| 4.4.1.    | Allgemeines .....                                                                         | 54        |
| 4.4.2.    | Kontrastentstehung des Sekundärelektronen-(SE)-Bildes .....                               | 56        |
| 4.4.2.1.  | Flächenneigungskontrast .....                                                             | 57        |
| 4.4.2.1.  | Abschattungskontrast .....                                                                | 57        |
| 4.4.2.3.  | Kantenkontrast .....                                                                      | 59        |
| 4.4.3.    | Kontrastentstehung des Rückstreuelektronen-Bildes ..                                      | 59        |
| 4.4.3.1.  | Topographischer Kontrast .....                                                            | 61        |
| 4.4.3.2.  | Material-(Z)-Kontrast .....                                                               | 63        |
| 4.4.3.3.  | Andere Kontrastmechanismen .....                                                          | 63        |
| <b>5.</b> | <b>Elektronenlinse .....</b>                                                              | <b>66</b> |
| 5.1.      | Vorbemerkungen zur Elektronenoptik, geometrischen und physikalischen Optik .....          | 66        |
| 5.2.      | Elektronenbahnen in elektromagnetischen Linsen, Bilddrehung .....                         | 69        |
| 5.3.      | Hysteresiseffekt, Einstellung der Brennweite .....                                        | 73        |
| 5.4.      | Zur Übertragungsfunktion einer elektromagnetischen Linse .....                            | 76        |
| 5.5.      | Linienfehler bei elektromagnetischen Linsen .....                                         | 79        |
| 5.5.1.    | Öffnungsfehler (sphärische Aberration) .....                                              | 80        |
| 5.5.2.    | Beugungsunschärfe .....                                                                   | 83        |
| 5.5.3.    | Farbfehler (chromatische Aberration) .....                                                | 83        |
| 5.5.4.    | Axialer Astigmatismus .....                                                               | 85        |
| 5.5.5.    | Verzeichnung .....                                                                        | 91        |
| <b>6.</b> | <b>Das Transmissionselektronenmikroskop ...</b>                                           | <b>92</b> |
| 6.1.      | Allgemeiner Aufbau .....                                                                  | 92        |
| 6.2.      | Kondensorteil .....                                                                       | 94        |
| 6.2.1.    | Bestrahlungsintensität, Leuchtfleckgröße (spot size), Bestrahlungsapertur, Kohärenz ..... | 95        |
| 6.2.2.    | Beziehung der Bestrahlung zur Abbildung durch das Objektiv, Dunkelfeld .....              | 98        |
| 6.3.      | Bestrahlungsteil als Ganzes .....                                                         | 100       |

|           |                                                                                                                                                |            |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 6.4.      | Objektteil (Objekthalter, Objektmanipulationsvorrichtung, Objektraumkühlung) .....                                                             | 101        |
| 6.5.      | Objektiv .....                                                                                                                                 | 104        |
| 6.6.      | Projektivteil .....                                                                                                                            | 105        |
| 6.7.      | Kamerateil .....                                                                                                                               | 105        |
| 6.8.      | Justierung .....                                                                                                                               | 108        |
| 6.9.      | Zur geschichtlichen Entwicklung des Transmissions-elektronenmikroskops .....                                                                   | 110        |
| <b>7.</b> | <b>Beugung</b> .....                                                                                                                           | <b>134</b> |
| 7.1.      | Einleitung .....                                                                                                                               | 134        |
| 7.2.      | Beugung am zweidimensionalen Objekt .....                                                                                                      | 135        |
| 7.2.1.    | Beugung ohne Linsen .....                                                                                                                      | 135        |
| 7.2.2.    | Beugung am zweidimensionalen Objekt mit Linsen ...                                                                                             | 137        |
| 7.2.3.    | Apparatur zur lichtoptischen Beugung (Laserbeugung) ..                                                                                         | 140        |
| 7.3.      | Beugung am dreidimensionalen Gitter .....                                                                                                      | 144        |
| 7.3.1.    | Raumgitter (Realraum) .....                                                                                                                    | 145        |
| 7.3.2.    | Gitterebenen .....                                                                                                                             | 145        |
| 7.3.3.    | Gittergeraden .....                                                                                                                            | 146        |
| 7.3.4.    | Reziprokes Gitter .....                                                                                                                        | 146        |
| 7.3.5.    | Beugung am Raumgitter .....                                                                                                                    | 147        |
| 7.3.6.    | Ewaldsche Kugelkonstruktion bei verschiedenen Wellenlängen (Elektronenstrahlen, Röntgenstrahlen) sowie Einkristall- und Pulverpräparaten ..... | 151        |
| 7.4.      | Elektronenbeugung in der biologisch-medizinischen Elektronenmikroskopie .....                                                                  | 153        |
| 7.4.1.    | Feinbereichselektronenbeugung .....                                                                                                            | 155        |
| 7.4.1.1.  | Effektive Kameralänge .....                                                                                                                    | 159        |
| 7.4.2.    | Alternative Beugungsverfahren .....                                                                                                            | 162        |
| 7.5.      | Anhang: Fresnel-Beugung .....                                                                                                                  | 163        |
| <b>8.</b> | <b>Morphologie und Strukturforschung im Mikrobereich</b> .....                                                                                 | <b>165</b> |
| 8.1.      | Begriffsbestimmung .....                                                                                                                       | 165        |
| 8.2.      | Erläuterungen von Begriffen und Betrachtungsweisen ..                                                                                          | 165        |
| 8.3.      | Allgemeines Strukturschema für das Assembly asymmetrischer Baueinheiten .....                                                                  | 169        |
| 8.3.1.    | Sonderfall Helix .....                                                                                                                         | 170        |
| 8.3.2.    | Sonderfall Ikosaeder .....                                                                                                                     | 178        |
| <b>9.</b> | <b>Transmissionselektronenmikroskopische Präparate</b> .....                                                                                   | <b>181</b> |
| 9.1.      | Partikelpräparate in der Transmissionselektronenmikroskopie .....                                                                              | 181        |

|            |                                                                                                                          |            |
|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 9.2.       | Dünnschnittmethodik . . . . .                                                                                            | 181        |
| 9.3.       | Gefrierverfahren . . . . .                                                                                               | 192        |
| 9.3.1.1.   | Gefrieren biologischer Gewebe . . . . .                                                                                  | 192        |
| 9.3.1.2.   | Gefriertechnik. . . . .                                                                                                  | 193        |
| 9.3.2.     | Gefriertrocknung und -substitution . . . . .                                                                             | 193        |
| 9.3.3.     | Gefrierbruch und Gefrierätzung . . . . .                                                                                 | 197        |
| 9.3.3.1.   | Prinzip und Nomenklatur . . . . .                                                                                        | 197        |
| 9.3.3.2.   | Technik von Gefrierbruch und -ätzung . . . . .                                                                           | 199        |
| 9.4.       | Histochemie und Tracer . . . . .                                                                                         | 201        |
| <b>10.</b> | <b>Rasterelektronenmikroskop . . . . .</b>                                                                               | <b>204</b> |
| 10.1.      | Prinzip der zeitsequentiellen Bildübertragung . . . . .                                                                  | 204        |
| 10.2.      | Anwendung der zeitsequentiellen Übertragung von<br>Objektinformationen bei der Rasterelektronenmikro-<br>skopie. . . . . | 206        |
| 10.3.      | Ablengeneratoren und -mittel zur Rastererzeugung . . . . .                                                               | 207        |
| 10.3.1.    | Allgemeines . . . . .                                                                                                    | 207        |
| 10.3.2.    | Kurvenform der Ablenkspannungen . . . . .                                                                                | 209        |
| 10.3.3.    | Abhängigkeit von Bild- und Zeilenablenkung . . . . .                                                                     | 211        |
| 10.3.4.    | Digitaler Rastergenerator . . . . .                                                                                      | 212        |
| 10.3.5.    | Slow Scan, Fast Scan und Standard-TV . . . . .                                                                           | 212        |
| 10.3.6.    | Rasterrotation . . . . .                                                                                                 | 213        |
| 10.3.7.    | Reduced Area – verkleinertes Rasterfeld . . . . .                                                                        | 213        |
| 10.3.8.    | Kompensative Rasterstauchung (tilt correction) . . . . .                                                                 | 214        |
| 10.3.9.    | Abtastarten „einzelne Zeile“ und „Punkt“ . . . . .                                                                       | 214        |
| 10.3.10.   | y-Modulation des Bildsignales. . . . .                                                                                   | 216        |
| 10.3.11.   | Anordnung der Ablenkspulen in der Mikroskopsäule. . . . .                                                                | 217        |
| 10.3.12.   | Projektion des Bildes und der Arbeitsabstand . . . . .                                                                   | 218        |
| 10.4.      | Besonderheiten bei der Strahlerzeugung in REM . . . . .                                                                  | 219        |
| 10.4.1.    | Elektronenstrahler . . . . .                                                                                             | 219        |
| 10.4.2.    | Kondensorsystem . . . . .                                                                                                | 220        |
| 10.4.3.    | Endlinse . . . . .                                                                                                       | 221        |
| 10.4.3.1.  | Arbeitsabstand und Vergrößerung. . . . .                                                                                 | 222        |
| 10.4.3.2.  | Wahl des Arbeitsabstandes . . . . .                                                                                      | 222        |
| 10.4.3.3.  | Aperturblende. . . . .                                                                                                   | 223        |
| 10.4.3.4.  | Schärfentiefe. . . . .                                                                                                   | 225        |
| 10.4.4.    | Monitor-Röhren. . . . .                                                                                                  | 227        |
| 10.4.5.    | Photoeinrichtung . . . . .                                                                                               | 229        |
| 10.5.      | Videosignal. . . . .                                                                                                     | 232        |
| 10.5.1.    | Allgemeine Definition . . . . .                                                                                          | 232        |
| 10.5.2.    | Verstärkung (gain) und Schwarzwert (black-level) . . . . .                                                               | 232        |
| 10.5.3.    | Rauschen . . . . .                                                                                                       | 237        |
| 10.5.4.    | Filter im Videosignalweg. . . . .                                                                                        | 239        |
| 10.5.5.    | Videosignalmonitor . . . . .                                                                                             | 242        |

|            |                                                                                                     |            |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 10.5.6.    | Graustufendiskriminierung (gray level) und Äquidensitendarstellung (contour mapping) .....          | 242        |
| 10.5.7.    | Elektronische Bildaufzeichnung. ....                                                                | 243        |
| 10.6.      | Detektoren .....                                                                                    | 244        |
| 10.6.1.    | Sekundärelektronendetektor (SED) .....                                                              | 244        |
| 10.6.2.    | Rückstreuielektronendetektor (SSD, solid state detector; BED) .....                                 | 248        |
| 10.6.3.    | Kathodolumineszenzdetektor (CLD) .....                                                              | 251        |
| 10.6.4.    | Röntgenstrahlungsdetektor .....                                                                     | 252        |
| 10.6.4.1.  | Halbleiterdetektoren in der energiedispersiven Analyse .....                                        | 252        |
| 10.6.4.2.  | Proportionalzählrohr und wellenlängendispersive Methode .....                                       | 254        |
| 10.6.5.    | Probenstromdetektor .....                                                                           | 254        |
| 10.7.      | Probenbühne .....                                                                                   | 255        |
| 10.7.1.    | Rotationsachsen i.w.S., Euzentrität .....                                                           | 256        |
| 10.7.1.1.  | Kippachsen .....                                                                                    | 256        |
| 10.7.1.2.  | Eigentliche Rotationsachse .....                                                                    | 258        |
| 10.7.2.    | Translationen (Verschiebungen) .....                                                                | 258        |
| 10.7.3.    | Konstruktionsmerkmale der Probenbühne .....                                                         | 259        |
| 10.7.4.    | Zubehör für verschiedene Untersuchungsverfahren ...                                                 | 261        |
| <b>11.</b> | <b>Präparationsverfahren für die Rasterelektronenmikroskopie</b> .....                              | <b>262</b> |
| 11.1.      | Trocknung nach der Critical-Point-Methode (CP-Trocknung) .....                                      | 262        |
| 11.2.      | Präparatmontage .....                                                                               | 263        |
| 11.3.      | Präparatbeschichtung durch Kathodenzerstäubung ...                                                  | 264        |
| <b>12.</b> | <b>Beispiele für die quantitative Erhebung von morphologischen Befunden</b> .....                   | <b>267</b> |
| 12.1.      | <i>Morphometrie</i> .....                                                                           | 267        |
| 12.1.1.    | Grundaufgaben der Stereologie .....                                                                 | 267        |
| 12.1.2.    | Bedeutung von Korrekturen .....                                                                     | 269        |
| 12.1.3.    | Meßwerterhebung .....                                                                               | 270        |
| 12.2.      | <i>Objektkippung im Transmissionselektronenmikroskop</i> .....                                      | 272        |
| 12.2.1.    | Definitionen .....                                                                                  | 272        |
| 12.2.2.    | Möglichkeiten zur Projektionsänderung .....                                                         | 274        |
| 12.2.3.    | Objektorientierte und blinde Kippung .....                                                          | 276        |
| 12.2.3.1.  | Vergleich transmissionselektronenmikroskopischer Kippeinrichtungen mit dem Reflexionsgoniometer ... | 277        |
| 12.2.3.2.  | Aus mangelhafter Objektjustierung resultierende Fehler .....                                        | 278        |

|            |                                                                                                                                                                                 |     |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 12.2.3.3.  | Euzentrizität .....                                                                                                                                                             | 281 |
| 12.2.3.4.  | Typische objektorientierte Kippoperationen .....                                                                                                                                | 283 |
| 12.2.4.    | Kommerzielle Kippeinrichtungen .....                                                                                                                                            | 285 |
| 12.2.5.    | Fehlermöglichkeiten bei quantitativer Objektkippung,<br>die aus Eigenschaften der Probe resultieren .....                                                                       | 286 |
| 12.2.6.    | Zusammenfassung der Fehlermöglichkeiten systemati-<br>scher Natur, die sich für die Bestimmung von Perioden<br>und Winkeln bei Benutzung von Kippeinrichtungen<br>ergeben. .... | 288 |
| 12.3.      | <i>Stereomethoden</i> .....                                                                                                                                                     | 288 |
| 12.3.1.    | Zentralperspektivische Projektion .....                                                                                                                                         | 289 |
| 12.3.2.    | Parallelprojektion .....                                                                                                                                                        | 290 |
| 12.3.3.    | Projektionsart des rasterelektronenmikroskopischen<br>Bildes .....                                                                                                              | 290 |
| 12.3.4.    | Projektionsart des transmissionselektronenmikrosko-<br>pischen Bildes .....                                                                                                     | 291 |
| 12.3.5.    | Grundlagen und Methoden zur Auswertung von nach<br>der Kippmethode aufgenommenen Stereobildpaaren ..                                                                            | 291 |
| 12.3.6.    | Methoden zur Anfertigung von Stereobildpaaren. ....                                                                                                                             | 294 |
| 12.4.      | <i>Vergrößerungsbestimmung</i> .....                                                                                                                                            | 300 |
| 12.4.1.    | Eichstandards .....                                                                                                                                                             | 302 |
| 12.4.2.    | Eichverfahren .....                                                                                                                                                             | 303 |
| <b>13.</b> | <b>Grundlegende elektronenmikroskopische<br/>Literatur</b> .....                                                                                                                | 304 |
| 13.1.      | Kongreßbände .....                                                                                                                                                              | 304 |
| 13.2.      | Wichtige neuere Monographien zur Methodik der bio-<br>logisch-medizinischen Elektronenmikroskopie .....                                                                         | 305 |
| 13.3.      | Elektronenmikroskopische Zeitschriften (mit besonde-<br>rer Berücksichtigung der Biowissenschaften) .....                                                                       | 306 |
| 13.4.      | Fortlaufend erscheinende Reihenwerke .....                                                                                                                                      | 306 |
| <b>14.</b> | <b>Zitierte Literatur</b> .....                                                                                                                                                 | 307 |
|            | <b>Sachverzeichnis</b> .....                                                                                                                                                    | 315 |