

Conférence 7 :
Atelier au Choix

"Cabinet de Curiosité : le microscope électronique à balayage"

Alain Couté, MNHN

Nadia Améziane, MNHN

Catherine Perrette-Gallet, MNHN

Quelques définitions :

Le microscope électronique à balayage (MEB) permet observer des détails optiquement invisibles (car trop petits).

La résolution, c'est la capacité à distinguer 2 points très proches l'un de l'autre (voir qu'il y en a deux...)

L'œil humain a une résolution de 0,2mm

Avec un microscope optique, on a une résolution de 0,2µm

Deux points proches sont visibles si l'intervalle est supérieur à la longueur d'onde lumineuse.

La plage d'ondes visibles va du bleu (446 nm) au rouge (700nm)

La longueur d'onde électronique est d'environ 0,000 001µm

Soit une résolution pratique de 0,0002µm

100 000x moindre que celle des photos.

On a donc un pouvoir séparateur important.

Historique :

(les liens sont proposés par H Limouzin, en complément de la conférence.

Il convient bien sûr de consulter plusieurs sources pour éviter toute erreur)

[Anthony Van LEEUWENHOEK](#) (époque Louis XIV)

a inventé le premier microscope optique (grossissement de x500)

[Ernst RUSKA](#) : en 1931, il définit le principe du MEB (il obtient le prix Nobel de physique en 1986)

[Max KNOLL](#) : 1935 / première publication

[Manfred Von ARDENNE](#) : 1937 – premier prototype de MEB, premières images

ZWORYKIN, HILLIER, SNYDER : 1945 – grossissement x8000

Cambridge SI : 1965 – 1^{ère} commercialisation (dans le domaine de la métallurgie)

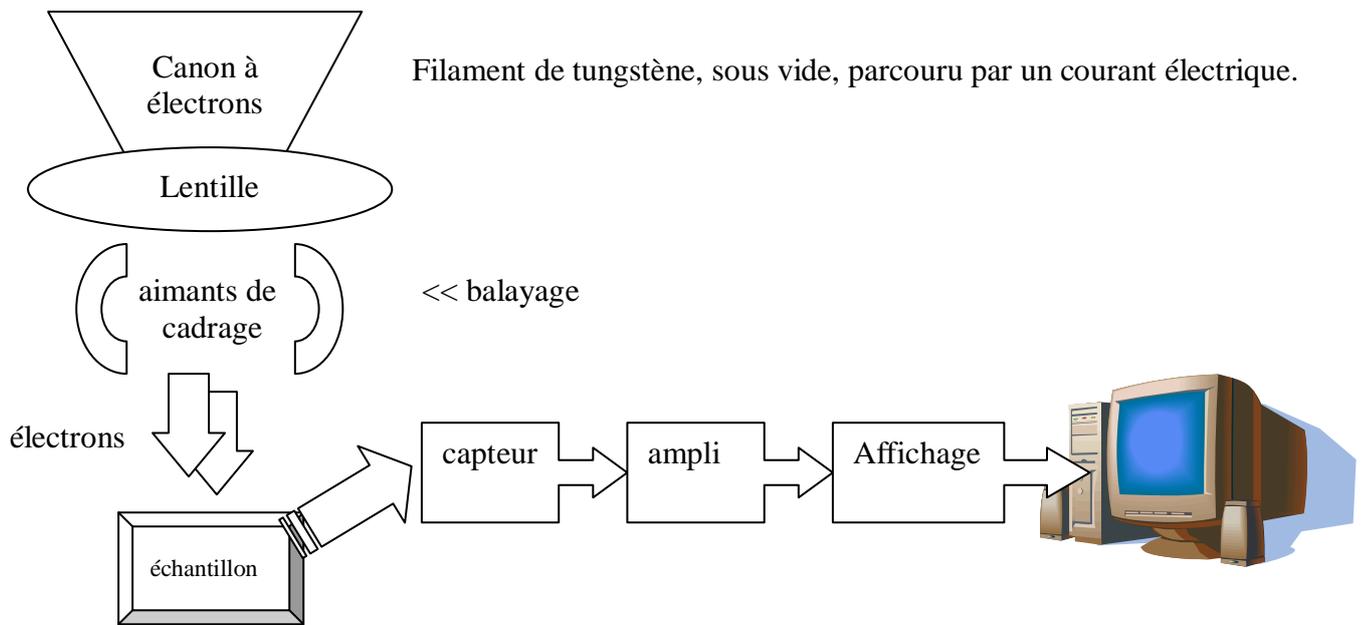
Philips : 1975 – grossissement x80 000

Journées du Muséum - 16 et 17 janvier 2010

"Découverte et protection du milieu marin en plongée"

Compte-rendu rédigé par Hervé LIMOUZIN - Association PLONGEZ BIO !

Principe de fonctionnement :



Le filament de tungstène est parcouru d'une tension de 20000 à 30000 Volts.

Il y a émission d'électrons primaires.

Ces électrons viennent heurter (impact) l'objet à étudier : il faut impérativement recouvrir l'échantillon de métal non oxydable (platine ou or).

Il y a émission de rayons X >> nécessité de porter des protections.

Les électrons secondaires et électrons rétrodiffusés sont utilisés/détectés sur le capteur pour recréer l'image.

Avec un microscope optique on voit les couleurs.

Avec un microscope électronique, les images sont en noir et blanc mais on voit les détails.

(les images "couleur" publiées dans les magazines sont des images retravaillées et colorisées)

* Les organismes étudiés doivent :

- Supporter le vide
- Résister au bombardement d'électrons
- Sont tués et fixés (la fixation doit assurer une conservation proche de la forme vitale)

Différents fixateurs sont utilisés : formol, glutaraldéhyde ou tétroxyde d'osmium – ces deux derniers étant extrêmement toxiques !

Il faut une préparation très méticuleuse :

- Tri préliminaire, pour isoler les échantillons (phase à réaliser sous microscope optique)
- Déshydrater : pour éliminer toute l'eau.
l'alcool est remplacé par du dioxyde de carbone liquide.
>> pas d'effet de traction (pas de déformation)
>> séchage quasi instantané
>> chauffer jusqu'à vidage du gaz

Journées du Muséum - 16 et 17 janvier 2010

"Découverte et protection du milieu marin en plongée"

Compte-rendu rédigé par Hervé LIMOUZIN - Association PLONGEZ BIO !

- Mettre les cellules sur le porte objet :
 - >> découpe du tube pour récupérer les cellules
 - >> à la loupe binoculaire, "pecher" les cellules une par une et les positionner pour la photo.
- Métalisation : à l'or ou au palladium.
l'opération se passe dans un plasma d'argon (quasi sous vide)
- Introduction dans le MEB (observation / possibilité de faire tourner-pivoter le porte objet)
Observations avec une très grande profondeur de champ.
- Les objets étudiés doivent avoir une taille maxi de 2cm.

Les échinodermes au MEB : (par Nadia Améziane)

OURSINS :

Avec de l'eau de javel, il faut dissoudre les tissus /séparer les plaques.

Le but est de confirmer (ou améliorer) l'étude de la systématique des espèces.

On peut également étudier l'implantation des muscles.

L'observation de la section transversale des piquants permet de déterminer l'âge du piquant. Il permet aussi de déterminer des familles.

Avec le MEB, on arrive à voir les points d'insertion des muscles.

On étudie également les valves des pédicellaires : c'est un critère de détermination.

(pédicellaires globulaires –défense- ou trifoliés -nettoyages)

CRINOIDES :

Les études portent actuellement sur les articulations des "tiges" des crinoïdes profondes (prélèvements par environ 1000m de profondeur –robots et/ou sous-marins habités)

> les articulations ne sont pas toutes semblables, selon leur position dans la tige (+/- proche de la base) et leur rôle (lien simple ou articulation)

Pour aller plus loin...

<http://www.culture.gouv.fr/culture/conservation/fr/methodes/meb.htm>

http://pagesperso-orange.fr/MATEIS-tEpicier/contenu/public_FR.html

Journées du Muséum - 16 et 17 janvier 2010

"Découverte et protection du milieu marin en plongée"

Compte-rendu rédigé par Hervé LIMOUZIN - Association PLONGEZ BIO !
