

Sur l'utilisation des films-support de carbone en microscopie électronique

Autor(en): **Botta, A. / Marcovici, I.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles**

Band (Jahr): **66 (1954-1957)**

Heft 295

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-274737>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Sur l'utilisation des films-support de carbone en microscopie électronique

PAR

A. BOTTA et I. MARCOVICI

(Séance du 13 mars 1957)

La préparation des échantillons pour l'examen en microscopie électronique par transmission est, on le sait, fort critique.

Les films nécessaires pour supporter les échantillons posent un problème plus simple, mais il est délicat et très important, puisque la membrane-support conditionne, elle aussi, la réussite de l'observation : son « ombre » se superpose, en effet, à « l'image » de l'objet.

Les électrons pénétrant peu dans la matière, non seulement l'objet doit être très mince, mais à plus forte raison, le support doit avoir une épaisseur réduite au minimum. Les autres qualités plus importantes demandées à cette membrane-support sont les suivantes : elle ne devrait pas altérer le pouvoir de résolution, ni présenter une texture appréciable; elle ne doit pas céder sous l'action du rayonnement électronique ou à une cause mécanique, comme par exemple, le poids de l'échantillon.

Les films-support sont souvent faits en collodion ou en formvar; ces matières plastiques se prêtent facilement à la confection rapide de pellicules répondant à certaines des conditions énoncées. Cependant, les membranes faites en collodion ou en formvar présentent quelques inconvénients :

leur structure est facilement observable;

elles ne résistent pas aux effets du rayonnement électronique si leur épaisseur est inférieure à 100 Å;

pendant l'observation au microscope électronique, elles se déchirent parfois comme une lame d'eau de savon en emportant, naturellement, l'échantillon;

ces pellicules manquent de stabilité;

elles constituent un substrat assez favorable à la croissance de certains microorganismes parasites.

D'autres substances ont été utilisées pour la préparation des films-support. Citons, parmi les plus usitées : le monoxyde de silicium, le béryllium et le carbone.

Les films de béryllium (élément toxique) et de carbone ont une résistance exceptionnelle et suffisante même quand leur épaisseur est réduite à 30-50 Å.

Par rapport aux pellicules en plastique, les membranes de carbone ont un désavantage : elles manquent d'élasticité. Elles peuvent, par conséquent, se casser si les grilles qui les supportent se déforment. Mais une petite rupture n'altère en rien la stabilité de la membrane (v. fig. 5).

Cette propriété est d'ailleurs exploitée dans la préparation de films-support de carbone percés de trous d'un diamètre de l'ordre du micron, à travers lesquels les électrons n'interfèrent plus, en principe, qu'avec la matière examinée (1). L'image est ainsi délivrée de l'ombre apportée par la membrane-support. Cette technique reste, pour le moment, un instrument de recherche. Des observations récentes indiquent d'ailleurs qu'on devine généralement sur les pores de quelques $m\mu$ de diamètre, une pellicule (éventuellement monomoléculaire) de lipides qui se forment sans doute sur la membrane au cours de la préparation.

Le carbone a une densité supérieure à celle du collodion ou du formvar, ce qui le rend, à épaisseur égale, moins transparent aux électrons. La différence de densité est toutefois largement compensée par la possibilité d'obtenir des membranes de carbone extrêmement minces donnant non seulement un meilleur éclairage, mais aussi un pouvoir de résolution plus élevé.

Des essais très intéressants sur le comportement des films de carbone au point de vue thermique et chimique en particulier, ont été effectués à l'Institut Français du Pétrole, en 1950 déjà (2) :

les films de carbone sont détruits (à l'abri de l'oxygène) à partir d'une température de 500° C environ ;

tous les acides usuels, même à chaud, n'attaquent pas les films de carbone, à l'exception de l'acide nitrique ;

l'action des solvants organiques sur les films de carbone est nulle : on peut, par conséquent, préparer des échantillons par évaporation du solvant dans lequel est dissoute la matière à examiner.

L'observateur en microscopie électronique par transmission a tendance à préférer, à l'heure actuelle, les films-support de

carbone qui lui offrent les avantages cités. De plus, le carbone lui est précieux dans la préparation de répliques et dans la recherche non biologique (3 à 14).

Le Centre de Microscopie électronique de l'Université de Lausanne a adopté, à son tour, les films-support de carbone. Cette amélioration nous est d'autant plus utile que nous possédons un microscope électronique à lentilles électrostatiques, appareil dont le pouvoir séparateur décroît plus rapidement, avec l'augmentation de l'épaisseur de l'échantillon, que celui d'un microscope à lentilles magnétiques.

Nous avons complété notre appareil d'ombrage métallique « Edwards, modèle 6 ES »¹ en vue de la préparation des films-support de carbone par évaporation sous vide.

La technique est celle généralement utilisée depuis une année ou deux (3, 9); sa mise en œuvre ne peut différer que sur des points de détail. Elle consiste à faire passer un fort courant électrique à travers deux baguettes de charbon graphite pur en contact entre elles par leurs pointes très fines. Les tiges sont maintenues l'une contre l'autre par une légère pression mécanique et sont placées dans une enceinte où règne une basse pression. C'est dans la zone de contact entre les charbons, où la section est très faible, que le processus d'évaporation a lieu à cause de l'élévation de température due à la chaleur dégagée par effet Joule.

Il faut cependant relever que notre appareil, de petites dimensions, nous a obligés à effectuer les essais d'évaporation avec de faibles puissances de chauffage. Nous obtenons couramment des membranes de carbone d'une qualité très satisfaisante avec une puissance de chauffage des charbons n'excédant pas 100 à 150 W. Toutefois, cela exige des pointes très fines, coniques ou cylindriques, que nous avons quelques difficultés à préparer.

En général, pour recueillir une pellicule de carbone sur des grilles métalliques, nous procédons ainsi :

Dans l'enceinte maintenue sous très basse pression, les grilles recouvertes d'un film de collodion sont placées aussi loin que possible de la zone d'évaporation. Nous préférons les mettre au-dessus des baguettes de charbon, face collodionnée vers le bas.

Après l'évaporation, on dissout la pellicule de collodion de manière à ce que la membrane de carbone vienne reposer sur les treillis métalliques.

¹ de la Maison Edwards High Vacuum Ltd. (Londres), représentée en Suisse par N. Zivy & Cie, Bâle.

Nos meilleurs résultats ont été obtenus avec des sous-couches de collodion faites à partir d'une solution à 0,2 % ; des baguettes de charbon spectroscopique RW I et RW II de la « Ringsdorff-Werke GMBH » ; des pointes de formes diverses, taillées par nous-mêmes ; une dissolution de la pellicule de collodion par immersion pendant deux minutes dans un mélange 1 : 1 éther et acétate d'amyle technique.

La pression dans l'enceinte *pendant* l'évaporation a été mesurée à différentes reprises et est de l'ordre de 10^{-4} mm Hg.

Nous avons examiné par diffraction électronique la structure du charbon spectroscopique des baguettes et celle des dépôts de carbone. Tandis que dans le premier cas la structure graphitique est manifestement présente, elle disparaît dans les diagrammes obtenus avec les membranes. Ces films ne montrent donc pas de recristallisation appréciable.

*Laboratoire de Physique de l'Ecole polytechnique
et Centre de Microscopie électronique
de l'Université de Lausanne.*

LEGENDES DES FIGURES

(Hors-texte)

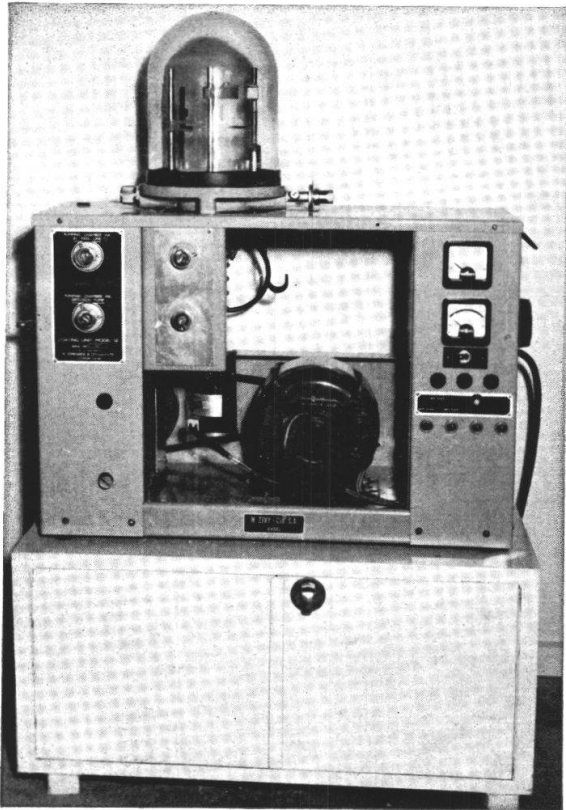
1. Appareil « Edwards, type 6 ES » modifié.
2. Montage pour l'ombrage métallique.
3. Montage pour la vaporisation du carbone : pointes coniques.
4. Montage pour la vaporisation du carbone : pointe cylindrique ($\varnothing = 0,5$ mm) butant contre une baguette à pointe en tronc de cône.
5. Micrographie électronique d'une membrane de carbone qui, malgré une déchirure, reste parfaitement stable pendant le temps de pose de 3 secondes. On remarque des traces de formvar insuffisamment dissous (gr. 3000 \times).

Etude par diffraction électronique de la structure du graphite au microscope électronique Trüb Täuber & Cie, type KM 4 (fig. 6 et 7) :

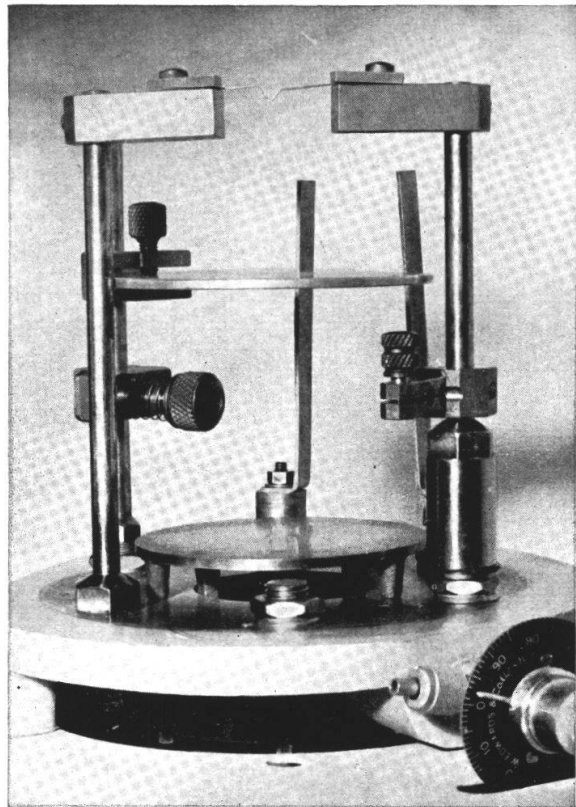
6. Membrane de carbone : pas de structure cristalline.
7. Poudre de graphite utilisée pour la fabrication des baguettes.

Cette étude a été complétée par un examen au diffractographe électronique que M. F. Jobin de la Maison Trüb Täuber & Cie a bien voulu nous faire (fig. 8, 9 et 10) :

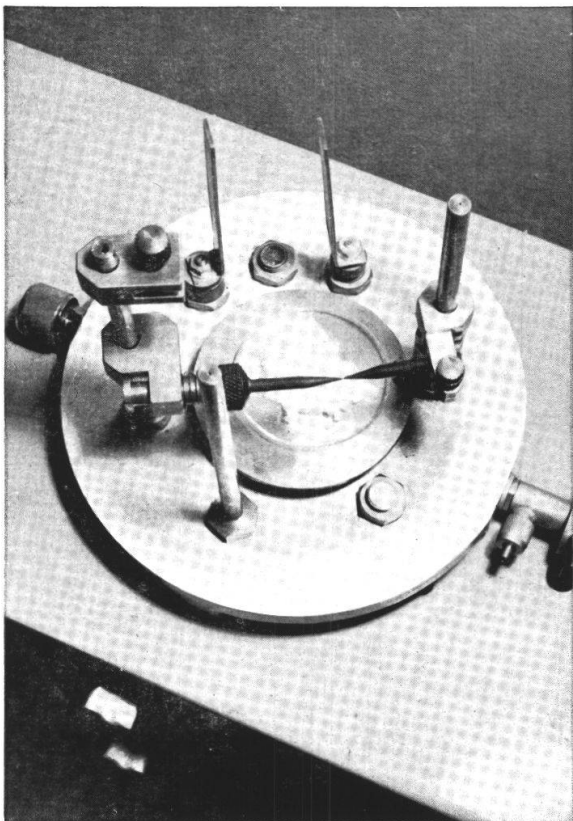
8. Membrane de carbone.
9. Poudre de graphite : focalisation dans le plan de la plaque photographique.
10. Poudre de graphite : focalisation dans le plan de la préparation.



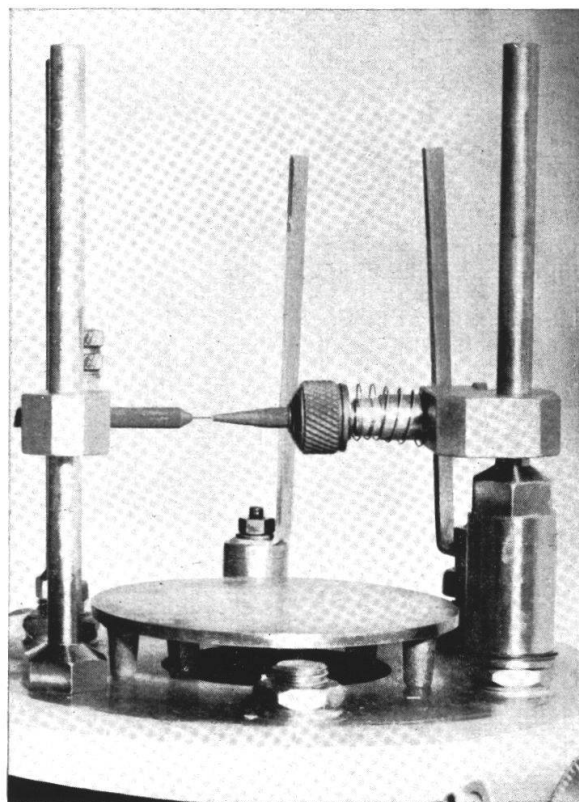
1



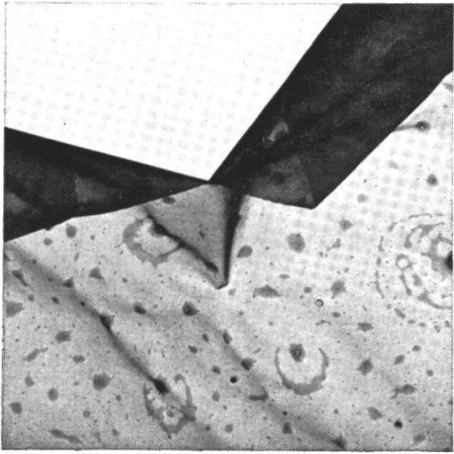
2



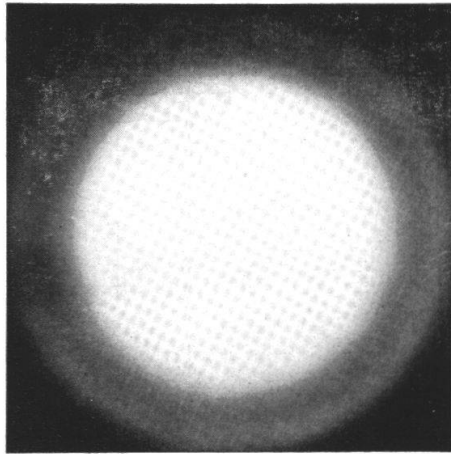
3



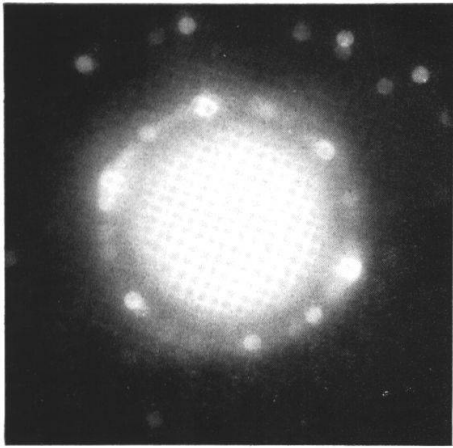
4



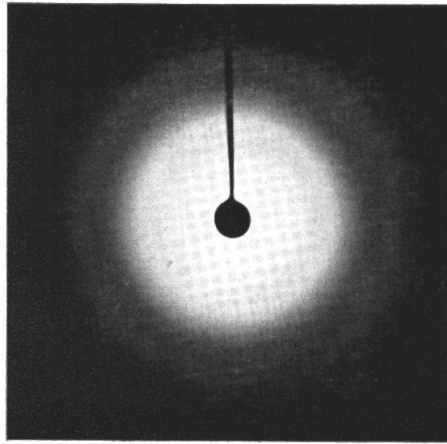
5



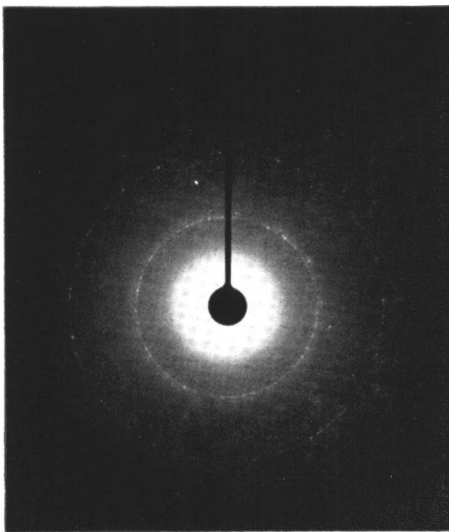
6



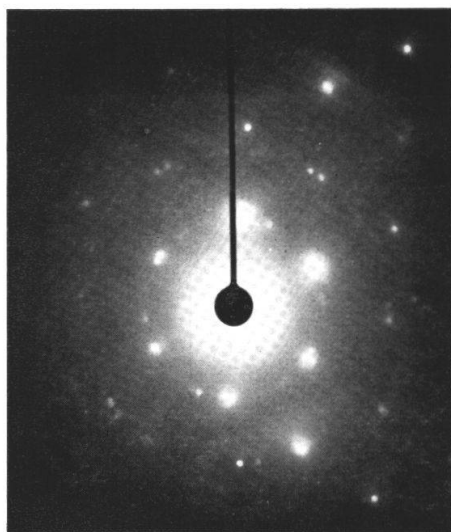
7



8



9



10

BIBLIOGRAPHIE

1. WATSON, M.-L. — Carbon films and specimen stability. *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, 2, suppl., 31-35, 1956.
2. ROBERT L., BUSSOT J., BUZON J. — Utilisation de films de graphite en microscopie électronique. *C. R. du 1^{er} Congrès International de M. E.*, Paris 1950, 528-531.
3. BRADLEY D.-E. — Evaporated carbon films for use in electron microscopy. *Brit. J. Appl. Phys.*, 5, 65-66, 1954.
4. — An evaporated replica technique for use with the electron microscope and its application to the study of photographic grains. *Brit. J. Appl. Phys.*, 5, 96-97, 1954.
5. — Progressive etching effects on a selected area of pearlitic steel revealed by the electron microscope. *Metallurgia*, 203-204, 1955.
6. HARRIS K., BRADLEY D.-E. — Electron microscopy of *Synura* scales. *Discovery*, 17, 1955.
7. BRADLEY D.-E. — Ein einfaches einstufiges Kohleaufdampfverfahren für Oberflächenabbildung im Elektronenmikroskop. *Naturwissenschaften*, 43, 126, 1956.
8. — A carbon replica technique for microbiological specimens applied to the study of the division of « *Saccharomyces cerevisiae* » with the electron microscope. *Journ. R. Micr. Soc.*, 75, 254-261, 1956.
9. — Uses of carbon replicas in electron microscopy. *J. Appl. Phys.*, 27, 1399-1412, 1956.
10. FUKAMI A. — Evaporated carbon film for use in extraction replica technique. *J. Electronmicroscopy*, 4, 31-35, 1956.
11. FUKAMI A., YOTSUMOTO H. — On the vacuum vaporization technique of carbon and the characteristics of evaporated carbon film and its application. *J. Electronmicroscopy*, 4, 166-173, 1956.
12. WATSON M.-L. — The use of carbon films to support tissue sections for electron microscopy. *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, 1, 183-184, 1955.
13. — Further notes on the preparation of carbon films for use in electron microscopy. (Note complémentaire à l'article précédent).
14. WYCKOFF R.-W.-G., LABAW L.-W. — On the structure of macromolecular crystals. *Exp. Cell Research*, suppl. 3, 395-401, 1955.