

# Wie kommt die Pflanze ins Mikroskop ?

Im Poster über die Funktionsweise eines „normalen“ Rasterelektronenmikroskopes wurde schon angesprochen, daß das Präparat vakuumtauglich und im Normalfall elektrisch leitend sein muß. Wie wird nun aus einer grünen, wasserhaltigen Pflanze ein wasserfreies Präparat, das nach der Fixierung und Entwässerung einen möglichst guten Strukturerhalt zeigt? Dies soll anhand eines Olivenblattes und einer Olivenblüte gezeigt werden...



Die Präparation beginnt mit einem grünen Blatt bzw. der Blüte eines Olivenbaumes. Meist wird das Ausgangsmaterial in kleine Stücke zerschnitten, das erleichtert den Prozess.



Die Probe wird zuerst in einer Glutaraldehyd-Lösung fixiert. Dies dient dem Strukturerhalt. Dann beginnt eine Entwässerungsreihe mit steigenden Prozentzahlen Wasser / Alkohol.



Nach ca. 6-10 Einzelschritten ist das Präparat in 100%igen Alkohol wasserfrei. Meist hat es seine Farbe an das Entwässerungsmedium verloren.



Um auch den Alkohol aus der Zellstruktur zu entfernen, wird das Präparat vorsichtig und immer, um Austrocknung zu vermeiden, unter Flüssigkeit in einen kleinen Korb umgesetzt.



In diesem „Kritisch-Punkt-Trockner“ wird der Alkohol gegen flüssige Kohlendensäure ausgetauscht, bei einem Druck von ca. 50 bar. In das kleine Druckgefäß in der Mitte wird das Körbchen mit dem Präparat in Alkohol eingesetzt. Der Alkohol wird mehrmals gegen Kohlendensäure ausgetauscht. Danach wird das Gefäß durch eine Heizung erwärmt.



Die flüssige Kohlendensäure wird erhitzt und erreicht bei 31°C und 73,8 bar ihren „kritischen Punkt“, sie geht vom flüssigen Zustand ohne Phasengrenze in den gasförmigen über. Dadurch wird der Strukturerhalt gesichert. Das Gas wird langsam abgelassen.



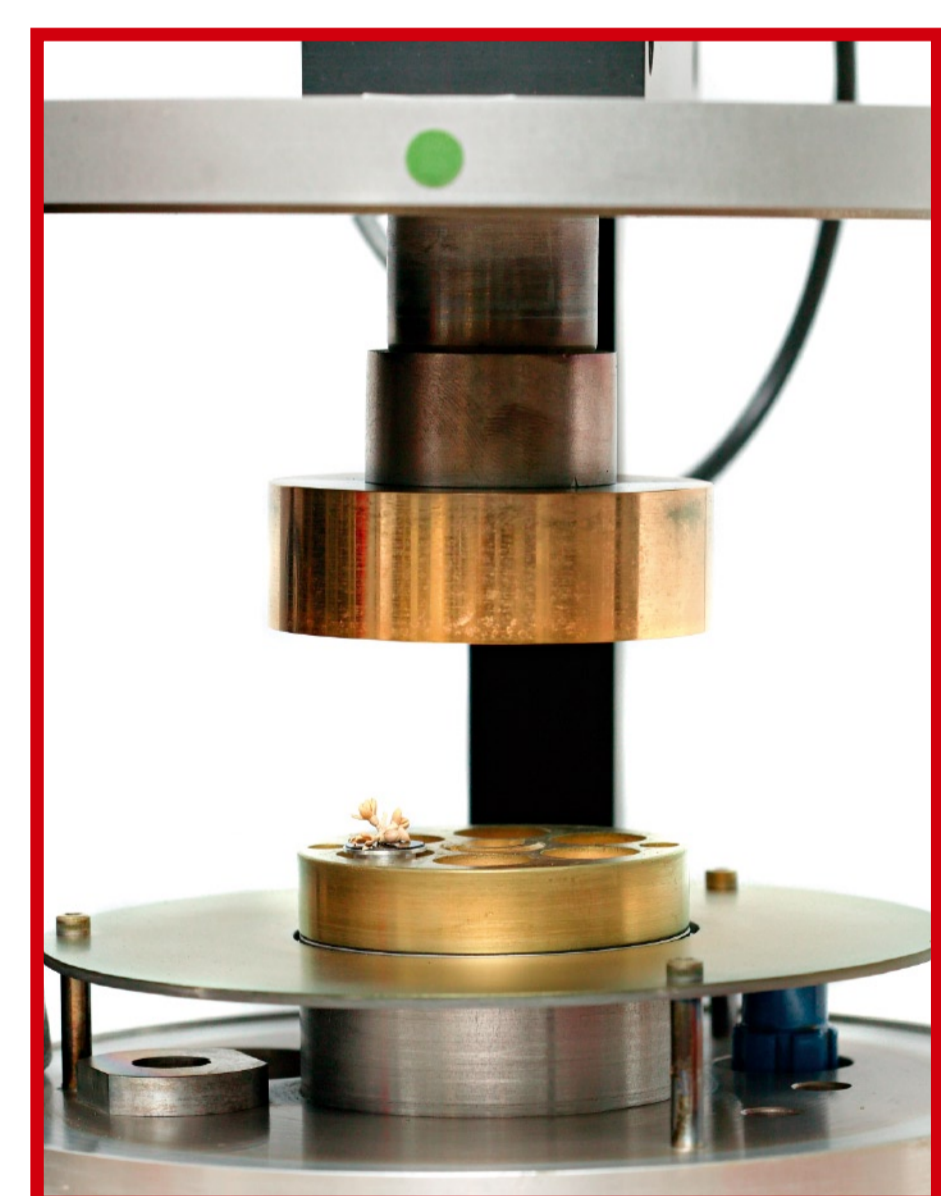
Unter einem Stereomikroskop wird das trockene und sehr zerbrechliche Präparat schnellstmöglich (es ist ja sehr hygroskopisch) in der gewünschten Orientierung auf einen Objektträger geklebt.



Hier sieht man die 12mm durchmessenden Aluminium-Objektträger. Das Objekt, die Blüte eines Olivenbaumes, ist mit einem leitfähigen Doppelklebetab befestigt und muss noch mit Gold oder Platin besputtert, d.h. leitfähig gemacht werden.



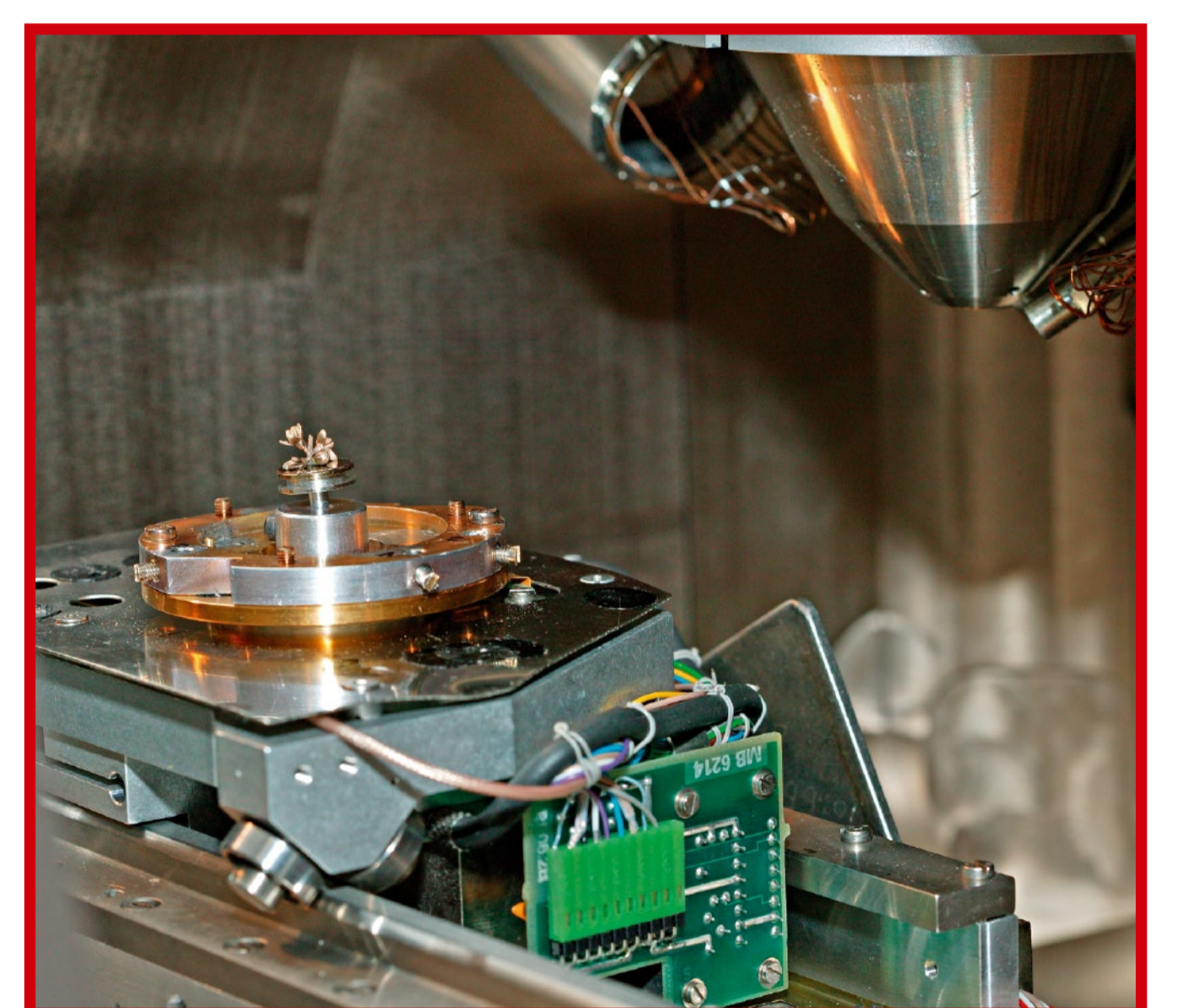
In einem „Sputtercoater“ werden mit Hilfe einer Gasentladung in einer Argon-Atmosphäre Edelmetall-Atome in einer Stärke von wenigen Nanometern auf das Präparat „kalt aufgedampft“.



So sieht es im normalerweise geschlossenen Glasgefäß aus: das Präparat liegt unten, darüber das von einem Ringmagnet umgebene Edelmetall-Target (in diesem Fall Gold).



Nach 3 bis 5 Minuten „sputtern“ kann das Präparat entnommen werden. Es ist sehr feuchtigkeitsempfindlich und wird, falls es nicht sofort ins Mikroskop kommt, in einem kleinen luftdichten Behälter aufbewahrt.



Das Präparat ist nun auf dem kipp-, dreh- und X-Y-Z verschiebbaren Objektisch befestigt. Im Hintergrund sichtbar links ein SE-Detektor, die konische Endlinse des Elektronenmikroskops und ein kleiner BSE-Detektor.



...und dann das Mikroskop anschalten, den Scan starten und nach vorher „Unsichtbarem“ wie dieser kleinen Olivenblüte suchen...

