

DU VÉGÉTAL AU MINÉRAL:

Le MEB EDS tout terrain en plateforme

- **Unité d'appui et de recherche du CNRS.** Plateforme d'imagerie autonome.
- En soutien à la recherche **académique et privée** dans les domaines de la **biologie, biomatériaux, polymères.**
- Missions de **prestation de service, de formation, de développements technologiques.**
- Composé de 3 axes:
 - *Photonique,*
 - *Végétal,*
 - **Electronique**

GN Meba 5 – 6 décembre 2025



Plateforme d'imagerie électronique : 5 personnels techniques

- Equipements de préparation pour la **MET** et la **MEB** (chimique conventionnelle & cryo préparation)
- 2 MET : **Thermofisher 200kV / Hitachi 120kV**
- 2 MEB : **Zeiss FEG / Cryo FIB SEM en cours d'achat**

I. Le MEB FEG

Zeiss - Gemini SEM 300

3 « modes d'extraction » :
Imaging, Normal, Analytic.
7 tailles de diaphragme : de
7,5 μ m à 120 μ m.
2 modes de vide : HV; VP /Nano
VP (de 5 Pa à 500Pa).

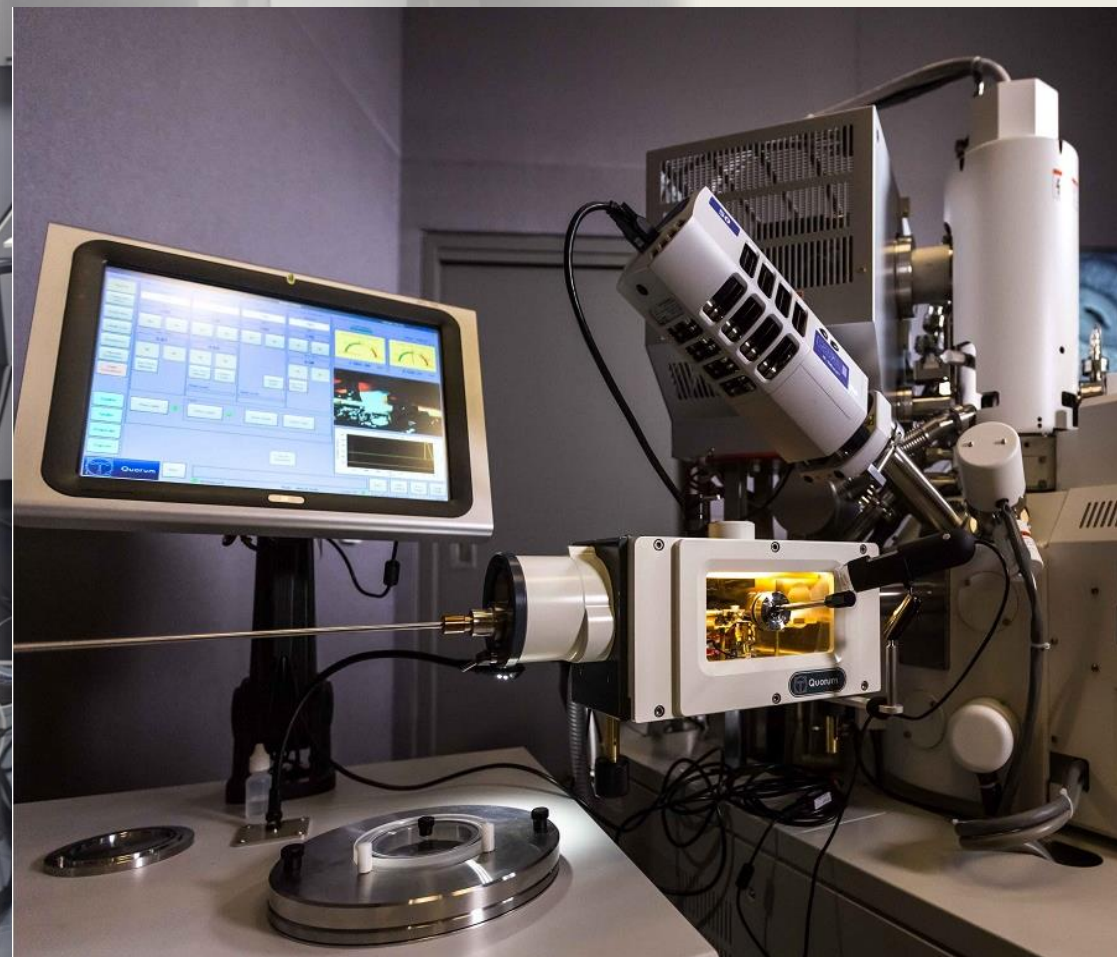


GEMINI SEM 300

II. Les équipements annexes

Module Cryo (PP 3010T Quorum)

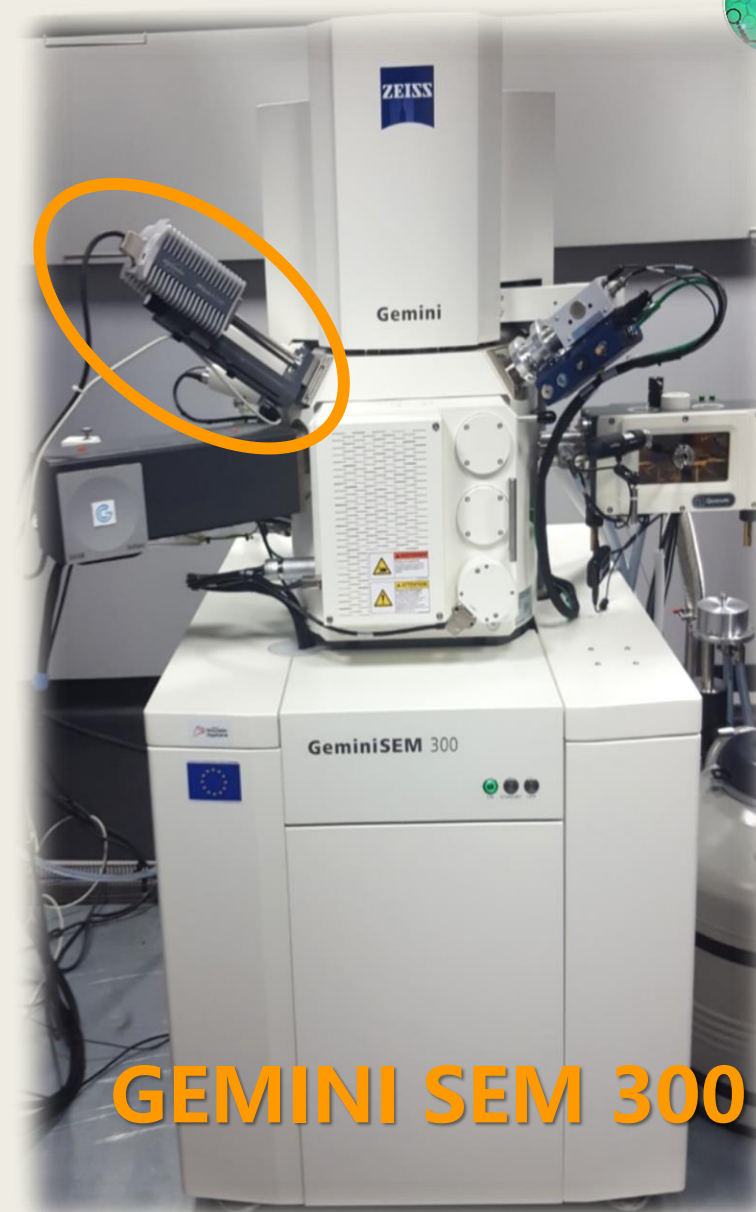
- un système de cryo transfert : mini chambre de transfert de l'échantillon depuis un milieu refroidi et sous vide.
- une chambre de préparation : sublimation, fracture, métallisation.
- une platine cryo : dans la chambre du MEB, pour



II. Les équipements annexes

EDS Bruker X Flash 60 :

- 60mm²
- WD optimale comprise entre 7- 9mm
- Tension appliquée 2,5 à 3X la valeur de l'élément recherché pour obtenir sa raie K.



GEMINI SEM 300

Associer imagerie MEB et
localisation d'éléments
chimiques sur des échantillons
variés et non conventionnels.

A quoi ressemblent nos
échantillons ?

- Non plans *vs* topographie accidentée (effets de charge = perturbation faisceau)
- Peu ou pas conducteurs *vs* ne pouvant/devant être métallisé (effets de charge et perturbation faisceau)
- Fortement hydratés (fixation chimique peut perturber / modifier l'organisation native)

Quels moyens a le BIC pour répondre à des demandes
d'analyse chimique au MEB ?

Nos réponses

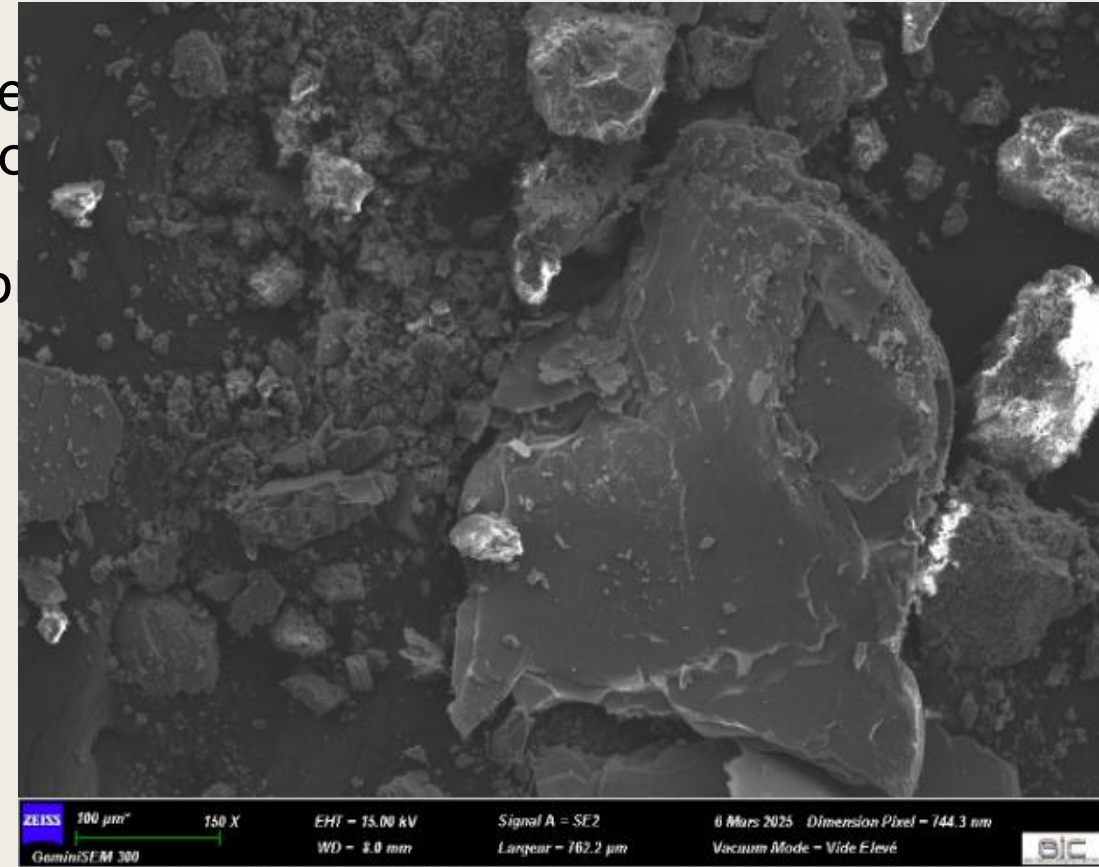
I. Préparation « conventionnelle »

Préparation « conventionnelle » chimique adaptée à la nature des échantillons et aux objectifs attendus :

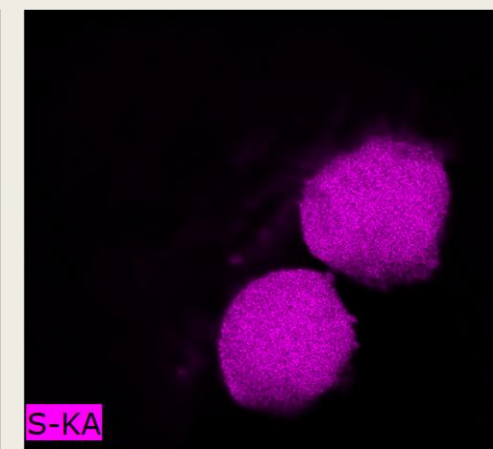
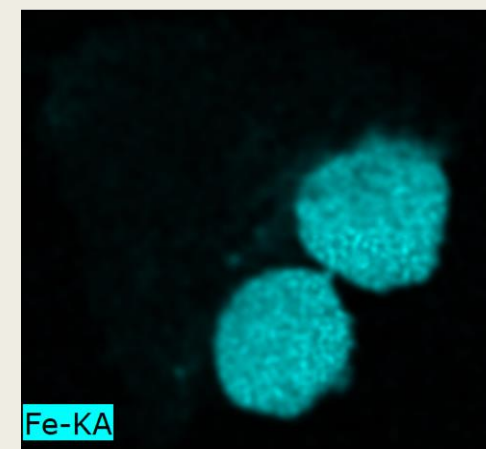
- 1) **Fixation chimique** (Aldéhydes) pour immobiliser l'ensemble des structures.
- 2) **Déshydratation** par bains successifs à concentrations progressives de solvant (Ethanol, Acétone).
- 3) **Dessiccation** (par contournement du point critique CO₂, ou chimiquement avec l'HMDS, acétone..).
- 4) **Métallisation** (Platine).

1- Métallisation + Observation en Haut vide

- Projet : Etude sur Poudres de roche et recherche sulfures de fer (pyrites framboïdales ou autre forme)
- Contraintes : Effets de charge dus à la topographie des échantillons
- Mise en œuvre :
 - Dépôt des poudres sur stub,
 - Métallisation (Pt),
 - Observation à 15 kV, mode normal,
 - WD 8,6mm,
 - Diaph 30 + hc,
 - Temps d'acquisition 5 mn,
 - Imagerie en SE en chambre (topographie)

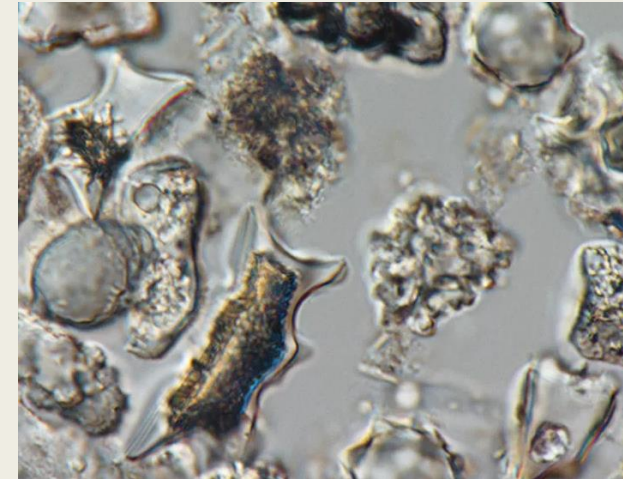


MP Isaure



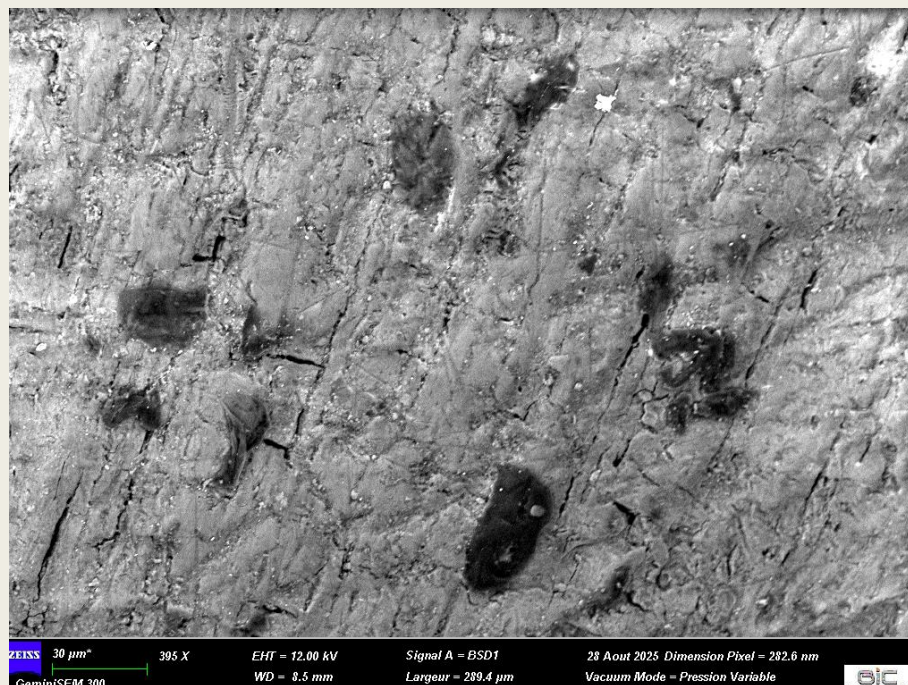
2- Pas de préparation + VP (29 Pa)

- **Projet :**
Confirmation par cartographie X de présence de phytolithes sur dents d'un site archéologique de Charentes. Ils servent de marqueurs dans un contexte archéologique pour étudier les pratiques agricoles et les environnements.
- **Contraintes :**
Echantillon de grande taille, (ne doit pas être modifié), peu conducteur
pas de métallisation possible, retour au musée.
- **Mise en œuvre :**
 - Montage sur stub à vis (galère !!)
 - 12 kV, mode normal
 - WD : 8,5mm
 - Diaph 60 + hc
 - Temps d'acquisition 5mn
 - Observation en BSD (en chambre)

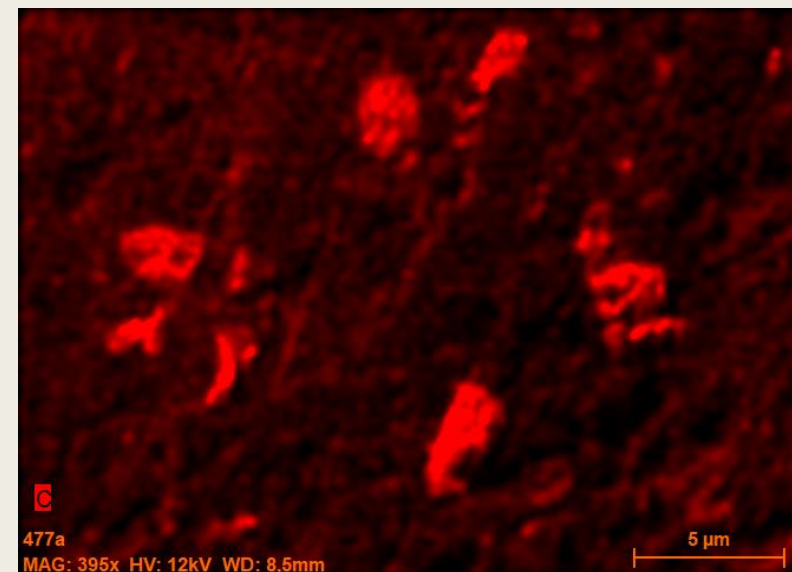


Si O + P
issus
de tissus de plantes

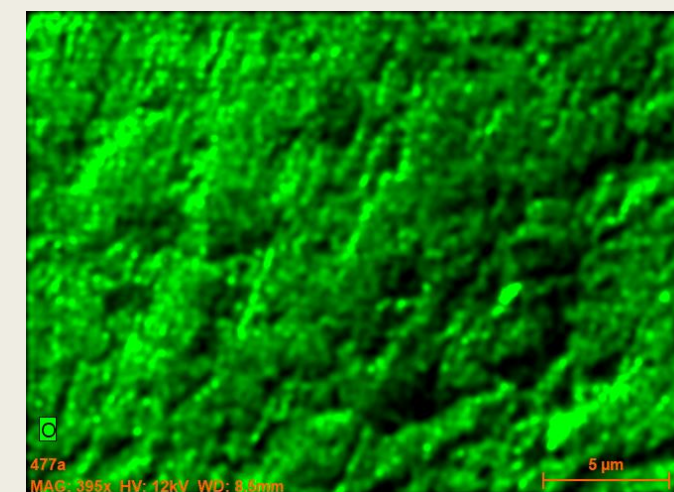
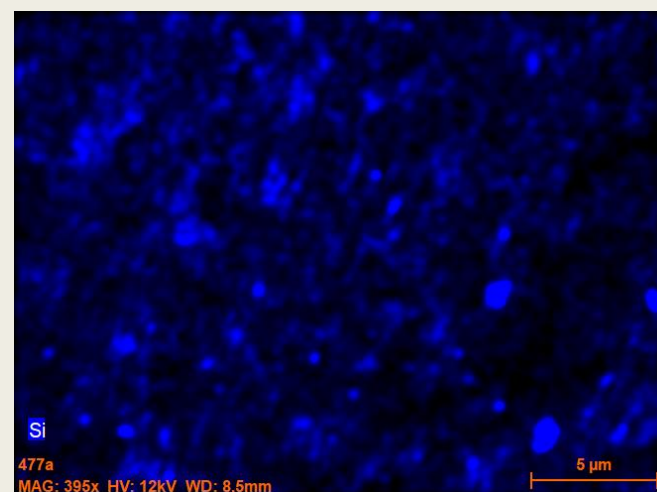
GN Meba 5 – 6 décembre 2025



G . Colmont

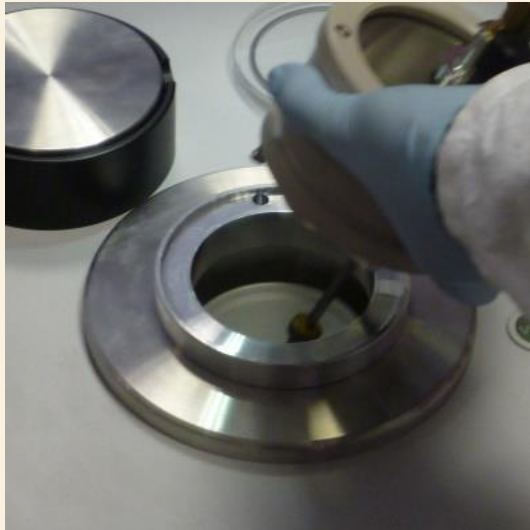


Résidus de
phytolithes
ou
contaminatio
ns de
matières
organiques ?



Nos réponses

II. Préparation par Cryo fixation



La cryo fixation
sur échantillon frais.



1) **Congélation en vapeurs d'azote** (Adaptation sur le système Quorum)

- pour les échantillons risquant d'être dégradés lors du contact avec l'azote liquide.

3. Cryo Préparation en vapeurs d'azote + cryo obsverction

- Projet :

Localisation par cartographie X de Si, Ca, C. Trois éléments qui interviennent dans la production de tissus végétaux (Ca), croissance et respiration (C) et renforcement contre les stress biotiques et abiotiques (Si).

- Contraintes :

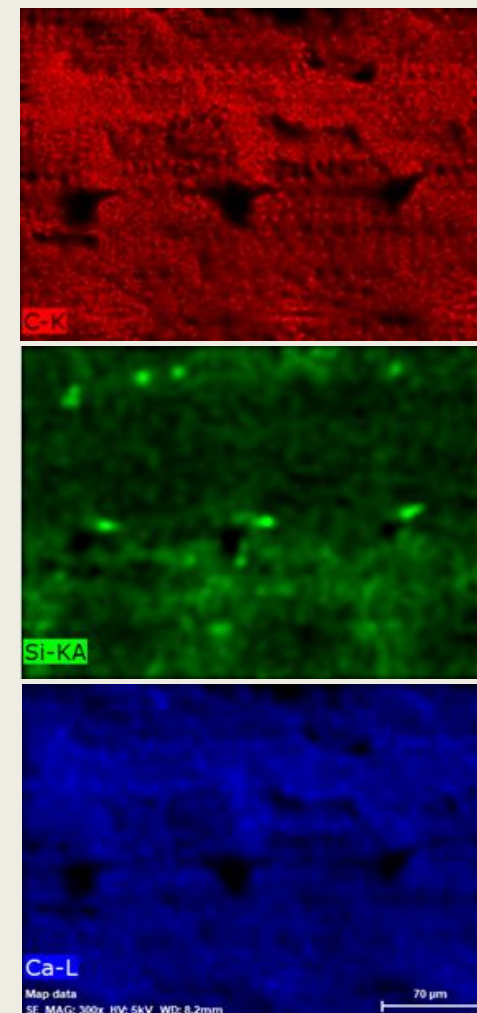
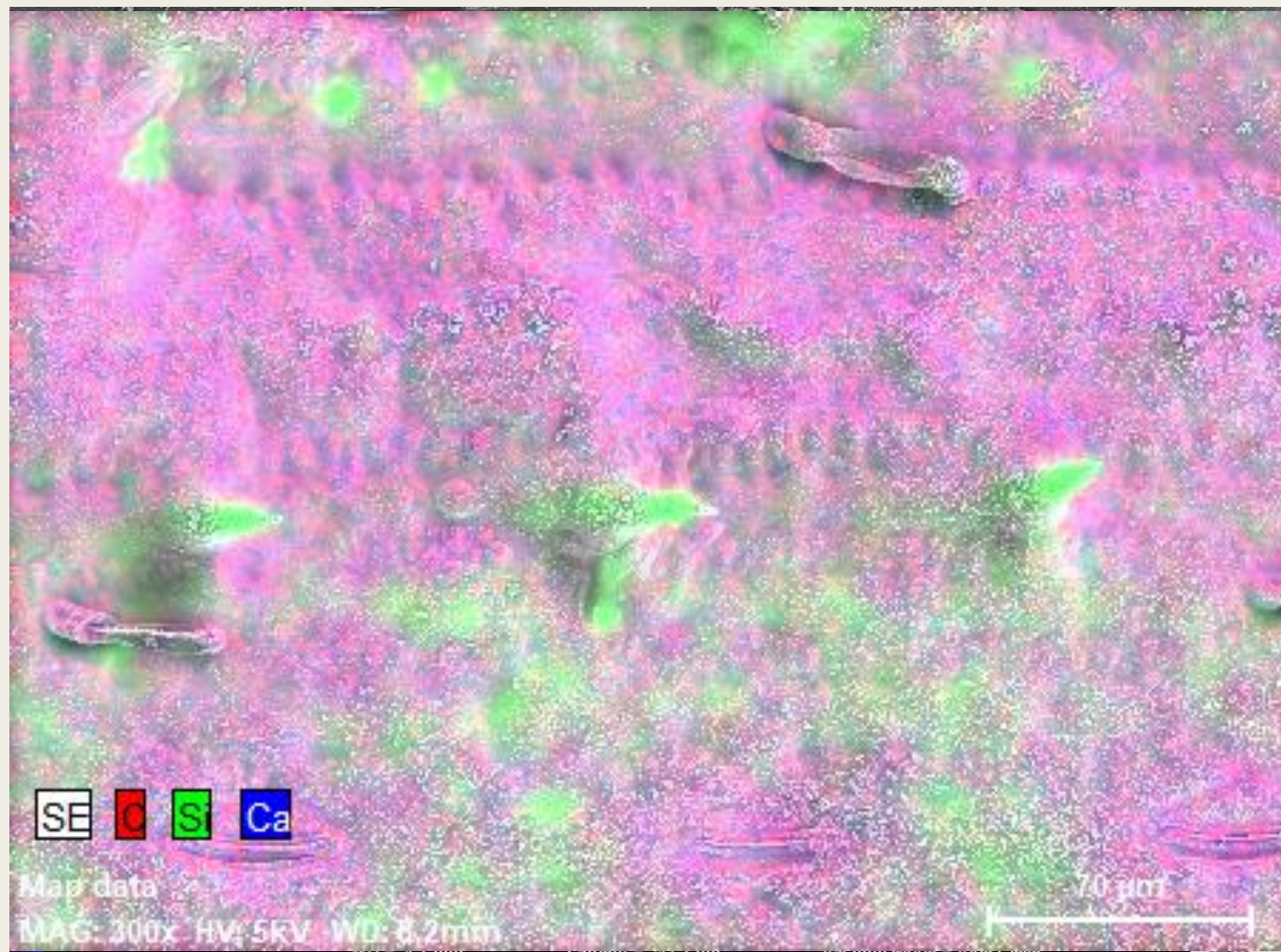
Echantillon frais, fragile = Travail à basse tension.

3. Cryo Préparation en vapeurs d'azote + cryo obsvertion

- Mise en œuvre :
 - Mise sous vide primaire d'un gobelet en polystyrène rempli d'azote liquide. Rupture du vide, obtention d'une mixture d'azote solide et liquide. Insertion de l'échantillon dans l'enceinte, sans immersion, puis transfert dans la chambre de préparation. Sublimation à -95°C , métallisation 20s, transfert dans la chambre du MEB.
 - 5kV, mode normal
 - WD : 8,2mm
 - Diaph 30, acquisition 2mn

GN Meba 5 – 6 décembre 2025

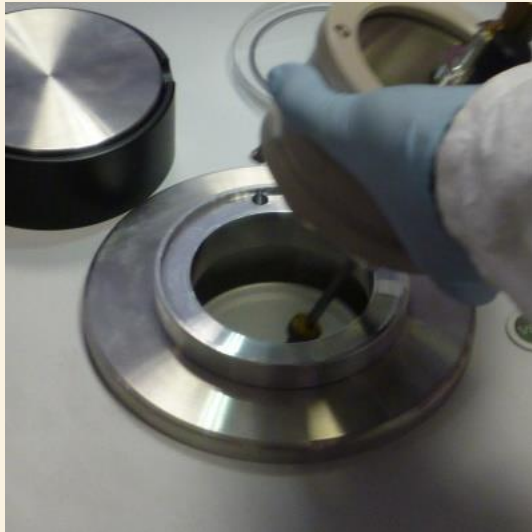
C. Delville



GN Meba 5 – 6 décembre 2025

Nos réponses

II. Cryo fixation par Slush freezing



La Cryo fixation
(sur échantillon frais et /ou
fortement hydraté)

**2) Congélation par Azote en surfusion
/«pâteux ».** Mise sous vide primaire de
l'enceinte dans laquelle l'échantillon sera
plongé dans l'azote.

4. Cryo préparation par slush freezing + Cryo observation

- **Projet :**

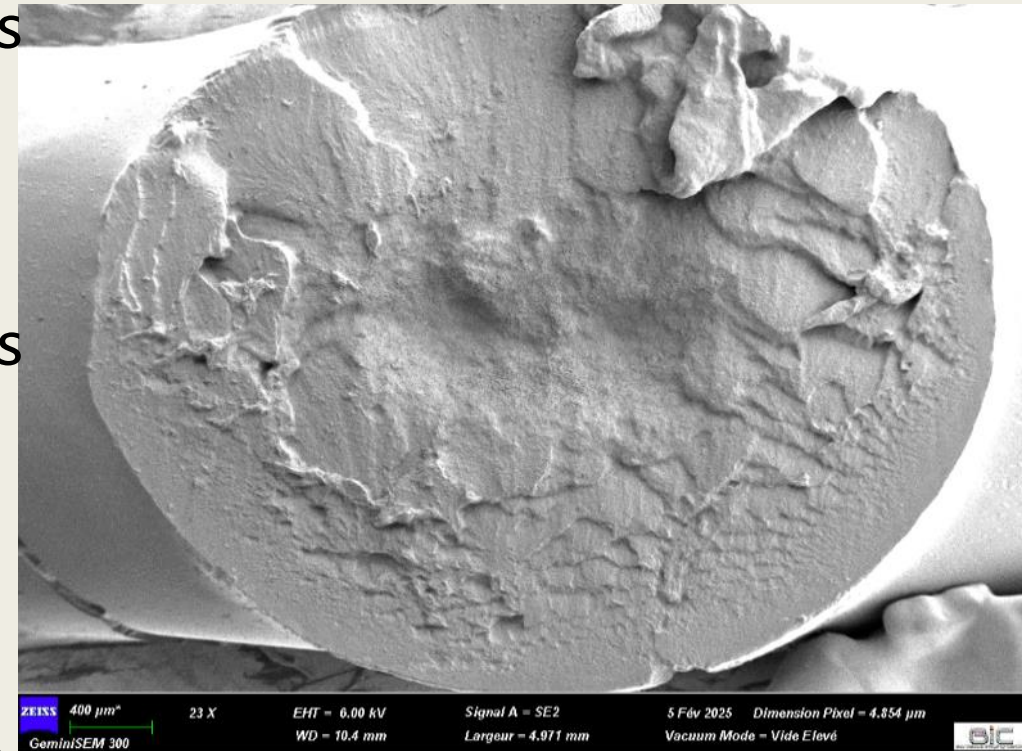
Dépollution d'eaux contaminées par des métaux

grâce à l'utilisation de billes d'alginate (PVA),
localisation par cartographie X de Fe dans une bille.

- **Contraintes :**

Echantillon frais, de grande taille (5mm),

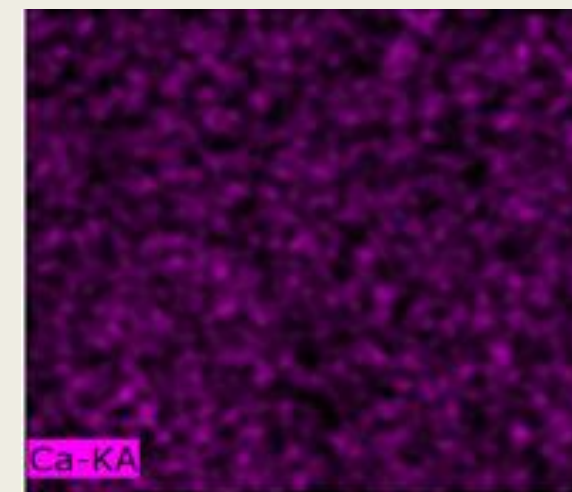
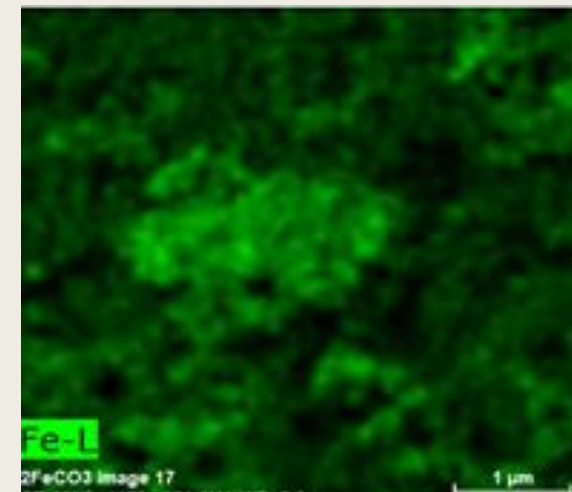
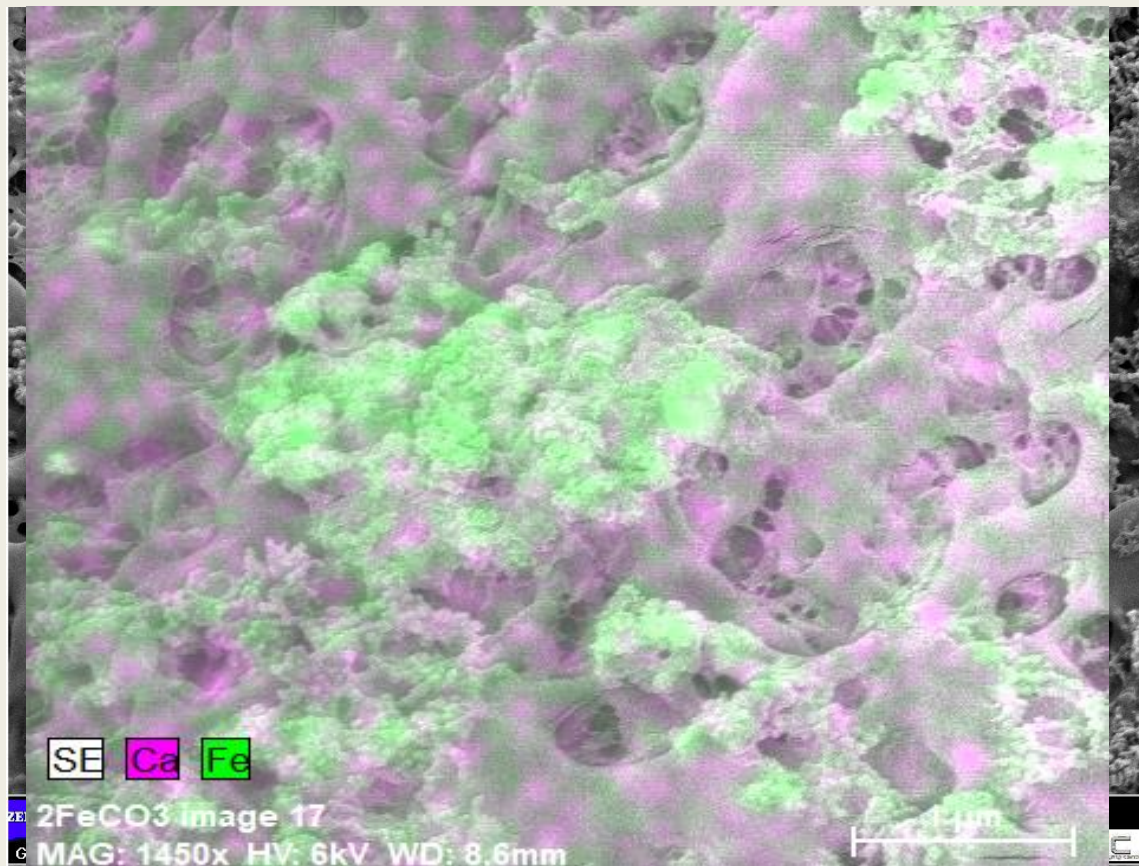
fragile



4. Cryo préparation par slush freezing + Cryo observation

- Montage d'une demi bille dans un stub cryo. Mise sous vide d'un gobelet en polystyrène rempli d'azote liquide. Rupture du vide et obtention d'une mixture d'azote solide et liquide. Immersion de l'échantillon dans cet azote « pâteux ». Transfert dans la chambre de préparation (- 140°C). Sublimation -95°C. Métallisation au platine 20s. Transfert dans la chambre du MEB.
- 6kV, mode normal
- Diaph 30 + hc
- WD : 8,6mm
- Temps d'acquisition 2mn

C. Sergeant



Mauvaise congélation ou artéfacts de métallisation ?

GN Meba 5 – 6 décembre 2025

Nos réponses

II. La cryo fixation par Haute pression



EM ICE

La Cryo fixation (sur échantillon frais et /ou fortement hydraté)

3) Congélation par Haute Pression pour des échantillons fortement hydratés.

Congélation avec l'azote liquide (-196°C) sous une pression de 2000 bars *via* un automate afin d'obtenir une glace amorphe.

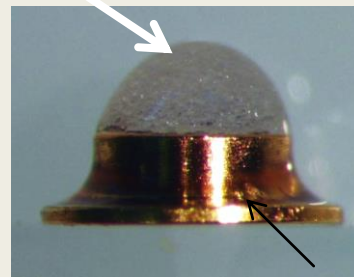
Cette technique permet de vitrifier des échantillons hydratés jusqu'à une épaisseur de $200\mu\text{m}$.

5. Cryo préparation par HPF + Cryo observation

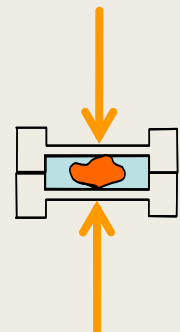
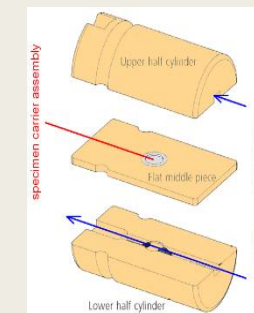
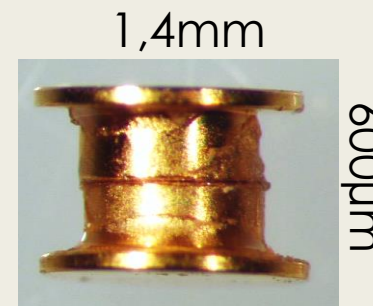
- **Projet :** algue (*Tetra selmis*)
Localisation et vérification par cartographie X de présence carbonates de calcium.
- Les cryo méthodes s'avèrent indispensables car ces précipités disparaissent avec une fixation chimique classique.
- **Contraintes :**
Echantillon frais/fragile, en milieu de culture = Travail à basse tension.
- **Mise en œuvre :**



Specimen carriers
- Gold plated copper
- Dome-shaped indentation



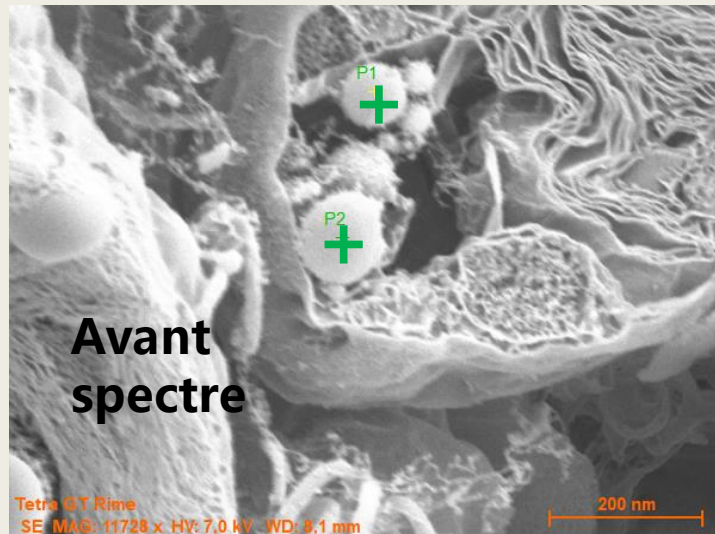
Support Echantillon



5. Cryo préparation par HPF + Cryo

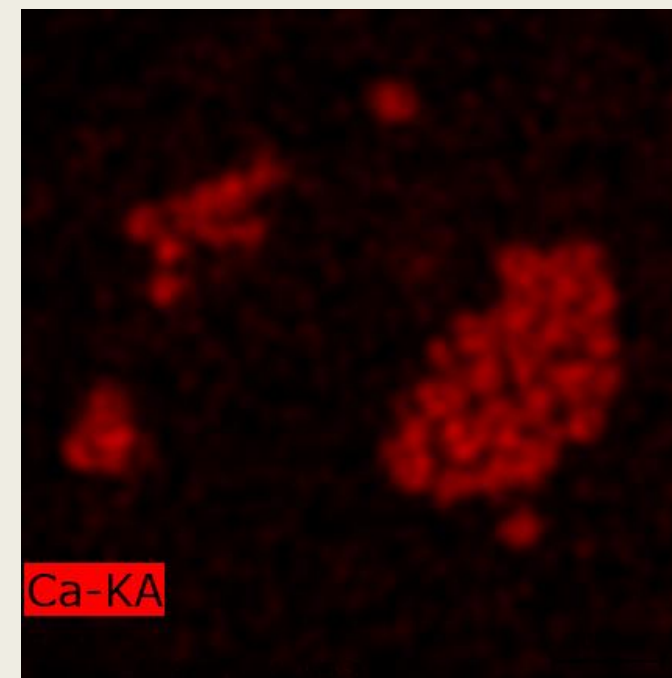
Observation

- Transfert de l'échantillon dans la chambre de préparation. Fracture afin de séparer les deux cupules, Sublimation à -95°C , Métallisation au platine 30s. Transfert dans la chambre du MEB.
- Observation à 7 kV, mode normal
- WD : 8,3mm
- Diaph 30 +hc, acquisition: 3mn



Exemple de dégradation de l'échantillon





Conclusions

I. Retours d'expériences

- Etat des lieux :
Obtenir un maximum d'informations sur :
Composition de l'échantillon,
Objectifs de l'utilisateur,
 - *Optimisation de la préparation des échantillons.*
 - *Adaptation de la mise en œuvre en fonction de la nature de l'échantillon.*
 - *Utilisation de toutes les options possibles de nos équipements.*

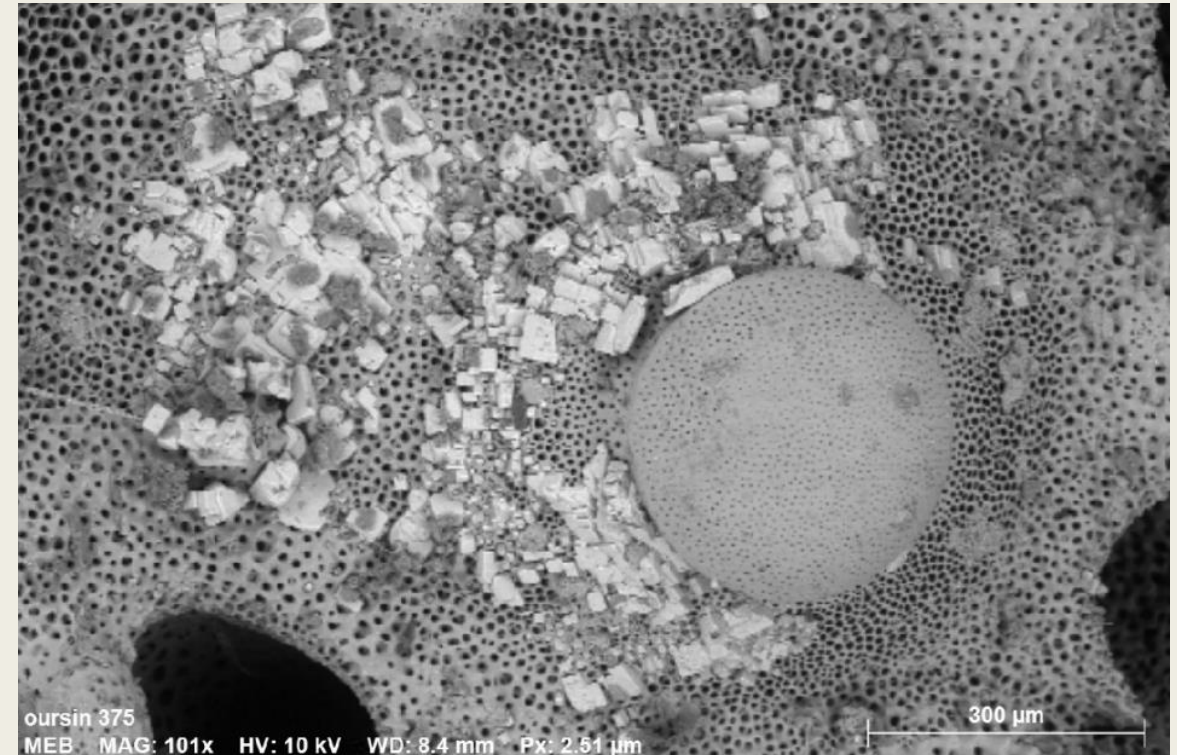
Conclusions

II. Perspectives

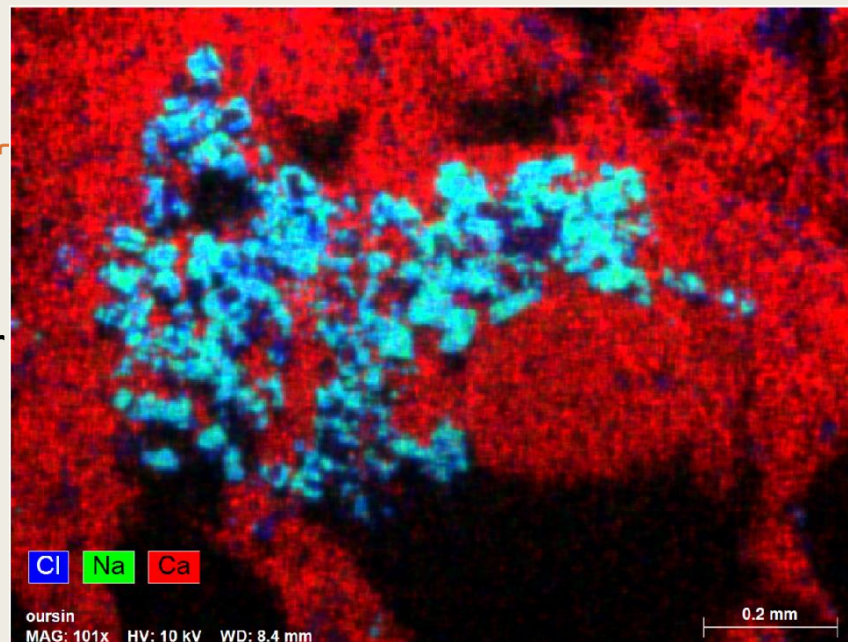
*Optimiser et développer
la cartographie X
en cryo observation.*

Double détection (2 détecteurs identiques).
Réduction de temps d'acquisition, disparition
des effets d'ombrage.

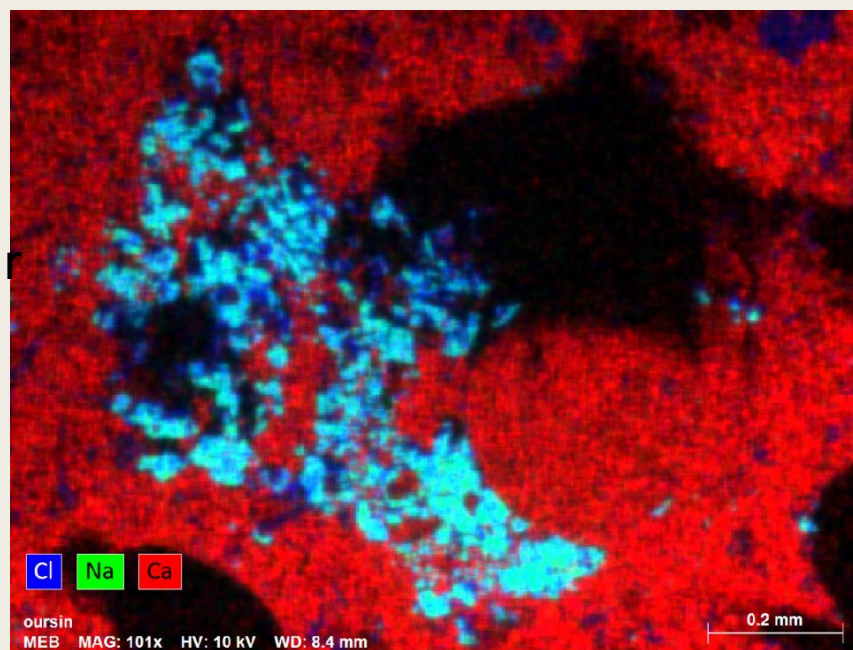
Coquille d'oursin



Détecteur
supérieur

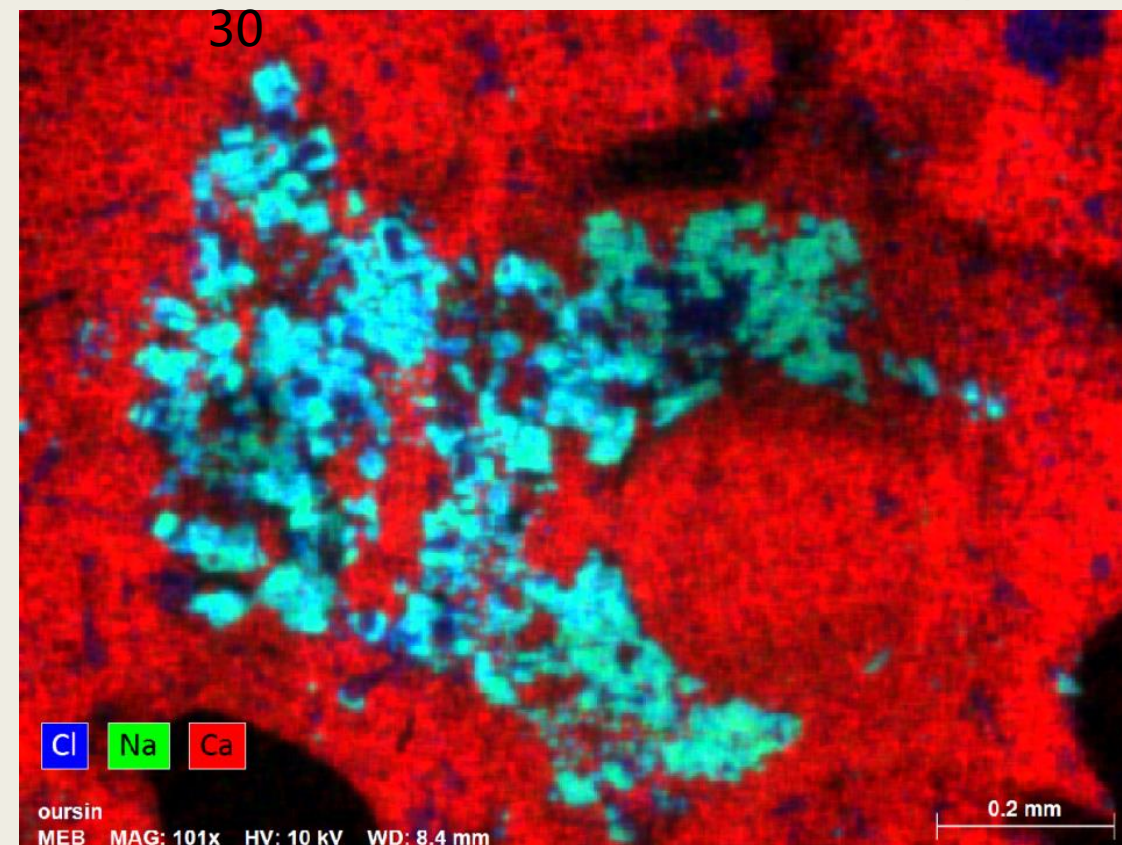


Détecteur
inférieur



Double détection: 2mn, 10kV diaph

30



GN Meba 5 – 6 décembre 2025

MERCI DE VOTRE ATTENTION