



Universitätsklinikum Essen

Standard Benutzungsanweisung

M12-051_D

Bedienung des Zeiss Crossbeam 540

Rasterelektronenmikroskops

Seite 1 von 21

Version: 22.4.2020

zuletzt geändert von: Holger

1. Ziel

Dieses Protokoll erklärt wie man das REM benutzt. Es erläutert die Grundlagen für die Nutzung und ist von allen Nutzern des Zeiss Crossbeam 540 Rasterelektronenmikroskops (REM) zu befolgen. Hier wird nur die Standardnutzung für den normalen "Tagesbetrieb" beschrieben. Auf spezielle Kalibrierungsschritte, die ausschließlich von den für das Gerät zuständigen EMU Mitarbeitern regelmäßig durchgeführt werden, wird hier **nicht** eingegangen. Auch wird hier NICHT auf die an diesem Gerät ebenfalls möglichen FIB-SEM und die Kryo-SEM Untersuchungen eingegangen.

Generell gilt:

Im Falle Sie irgendwelche Fragen oder Probleme mit dem Gerät haben sollten, wenden Sie sich bitte an die zuständigen Betreuer (Operatoren) der EMU: Bernd Walkenfort (4387) oder Sylvia Voortmann (6079). Bevor jemand am REM alleine arbeiten darf, wird er von uns an mindestens 2 Schulungsterminen gründlich unterwiesen und am Gerät praktisch angeleitet. Der erste Schritt ist jedoch das gründliche Studium der nun folgenden Anleitung.

2. Referenzen

1. **offizielles**, nur in Englisch verfügbares " **SmartSEM® V05.09 Operating software for Scanning Electron Microscopes**" **Manual** des Herstellers Zeiss

→ Das entsprechende pdf mit dem Namen „SM_SmartSEM_V05_09_en01.pdf“ ist auf unserem Server im Verzeichnis X:\EMU\Geräte\Zeiss - Crossbeam 540\Infomaterial zu finden

→ Eine ausgedruckte Version ist im Hängeschränk im REM Raum

2. **Handbuch für die Rasterelektronenmikroskope SUPRA(VP) und ULTRA (SmartSEM V 05.00)** ältere aber dafür **DEUTSCHE** Anleitung des Herstellers Zeiss

→ Das entsprechende pdf mit dem Namen

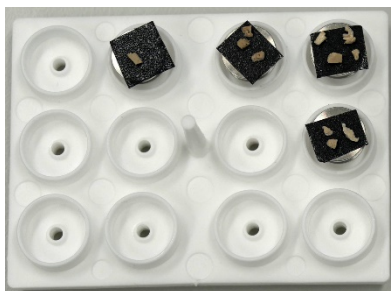
„Handbuch_SUPRA_ULTRA_SmartSEM_V5_00.pdf“ ist auf unserem Server im Verzeichnis X:\EMU\Geräte\Zeiss - Crossbeam 540\Infomaterial zu finden

→ Eine ausgedruckte Version ist im Hängeschränk im REM Raum

3. weitere spezielle Anleitungen für das Gerät finden sich ebenfalls im Serververzeichnis X:\EMU\Geräte\Zeiss - Crossbeam 540\Infomaterial. Verfügbar sind:

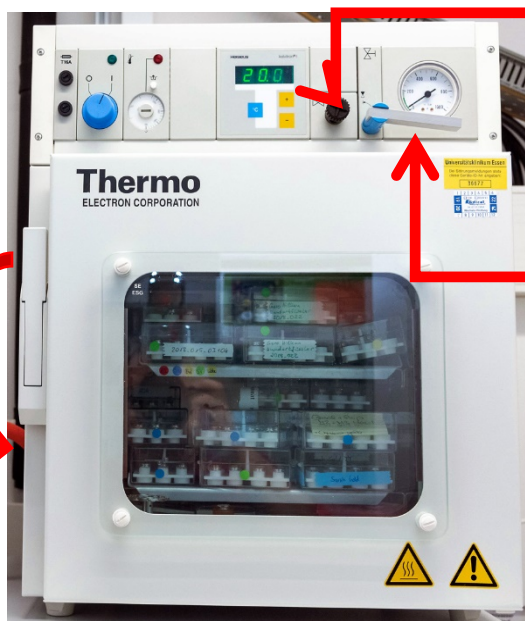
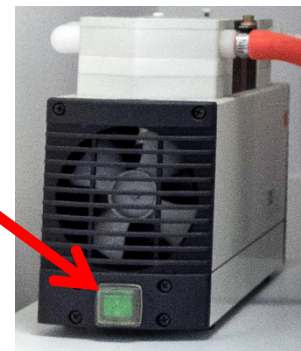
- ATLAS 3D User Guide.pdf und ATLAS User Guide.pdf
- Betriebsanleitung_Ladungskompensator_de01.pdf
- IM_Instruction_Manual_STEM_detector_en02.pdf
- NPVE Installation Guide.pdf und NPVE User Guide.pdf
- Probenhalterkatalog-Stand2014.pdf
- Software+Manual+SmartFIB+v1.3.pdf

3. Proben



Bringen Sie Ihre eigenen Kritisch-Punkt getrockneten und besputterten Proben auf den REM Stubs mit. Falls die Proben bei uns im Vakuumschrank in einer Box aufbewahrt werden, bitte diese dort entnehmen.

Dazu zuerst die Pumpe links neben dem Gerät am Kippschalter ausschalten.



Dann das schwarze Rad des Ventils am Schank vorsichtig nach links drehen bis es zischt und so lange in dieser Stellung halten, bis das Zischen aufhört. Dabei kann man sehen, wie sich der Zeiger der Druckanzeige aus dem grünen Bereich im Uhrzeigersinn bis auf den Raumdruck (1000 mbar) bewegt. Nun den Hebel unter dieser Anzeige nach oben bewegen.

Jetzt kann man mit dem Hebel links am Gerät die Tür öffnen, dann die Innentür aus Glas öffnen und die REM Probenbox entnehmen.

Danach umgekehrtes Procedere um den Schrank wieder unter Vakuum zu setzen: Innenglastür schließen, Hebel an der Tür wieder nach oben stellen und dabei die Tür fest andrücken, den

Hebel unter der Druckanzeige waagrecht stellen, das Belüftungsventil (schwarzes Drehrad) wieder senkrecht stellen und die Vakuumpumpe links neben dem Schrank wieder einschalten. Dann die Druckanzeige beobachten → warten bis der grüne Bereich im Manometer wieder erreicht wird.

4. Benötigte Werkzeuge:

Die gezeigten Werkzeuge finden Sie auf dem Schreibtisch am Gerät bzw. in dessen Schubladen. Legen Sie sich diese vor dem Arbeiten zurecht:

1. Spezialpinzette zum Halten + Nehmen der Stubs:

Bitte ausschließlich diese Pinzette verwenden, um Stubs umzusetzen!



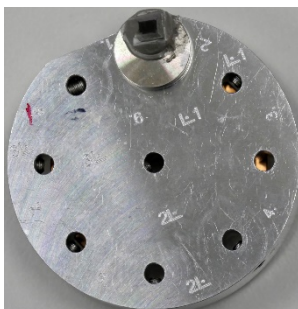
2. Sechskantdreher:

Diesen Sechskantdreher (Imbusdreher) benötigen Sie, um die Stubs auf dem Probenteller festzudrehen.



3. Probenteller

Hier werden die Stubs festgedreht (ggf. muß der Teller erst aus dem Gerät geholt werden Vorgehen dazu siehe unten)



5. Vorgehensweise

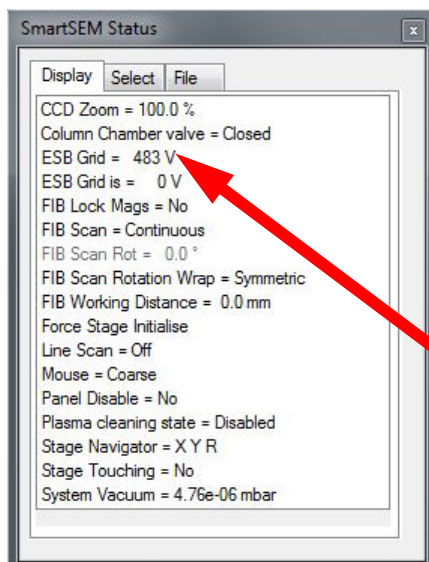
1. Zuerst das Stickstoff-Ventil an der Wand hinter dem Raster-EM aufdrehen so, dass die grüne Markierung oben zu sehen ist



2. Prüfen ob das REM eingeschaltet ist, bzw. einschalten „On“ muß grün leuchten – falls nicht darauf drücken.



3. PC (links unter dem Tisch am REM Arbeitsplatz) anschalten (normalerweise NICHT erforderlich, da der PC im Standby-Modus verlassen werden soll) Anmelden mit Benutzernamen „SEM“ & Passwort „SEM“. Dann auf dem Desktop das Icon Smart SEM anklicken und das nun angezeigte Fenster genau beobachten. Hier zeigt die Software an, welches Teilsystem gerade hochgefahren wird. Dabei darauf achten, ob rote Texte in dem Fenster erscheinen. Falls dies der Fall sein sollte, bitte NICHT weitermachen und einem Operator Bescheid sagen



was rot angezeigt wurde. Die rote Anzeige „FiB Run Down“ kann dabei jedoch ignoriert werden.

Nach einiger Zeit erscheint das Anmeldefenster der Software

➔ Anmelden als User: „fibb“ mit Passwort „fibb“

Im SEM Status Fenster auf dem rechten Monitor jetzt das für Standarduntersuchungen nicht benötigte ESB Grid auf 0 Volt setzen, um es zu schonen. Dazu in dem Fenster auf die entsprechende Stelle klicken und 0 statt der hier gezeigten 483 hinschreiben.



Auf der Tastatur den „Exchange“ Knopf drücken.



Nun sieht man im Kamerafenster der Software die Stage auf die Austauschposition fahren. Danach sieht man ein Blinken an der Schleuse bei „Stage Ready“.

Als nächstes nun auf die „Transfer“ Taste drücken

→ Die „Tür“ zwischen Kammer und Schleuse geht auf.

Wenn dies abgeschlossen ist (Diode leuchtet), drückt man

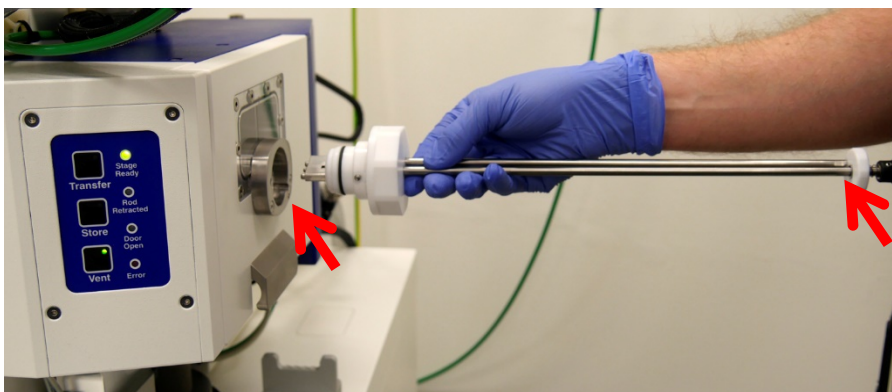
„Store“, um die „Tür“ wieder zu schließen und die Schleuse zu evakuieren.

Ist dies beendet (Diode leuchtet), drückt man

„Vent“, um die Schleuse zu belüften.

WICHTIG: die Tasten immer in dieser Reihenfolge drücken!

JETZT HANDSCHUHE ANZIEHEN!



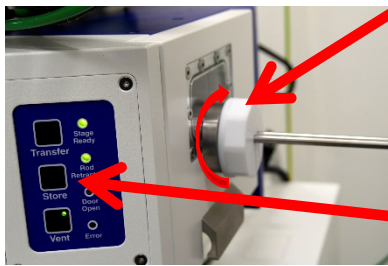
Als nächstes wird der Blindstopfen rechts aus der Schleuse gezogen und stattdessen der lange Metallstab in die dabei entstandene Öffnung gesteckt. Dabei wird der Stab gerade gehalten, so,



Bedienung des Zeiss Crossbeam 540 Rasterelektronenmikroskops



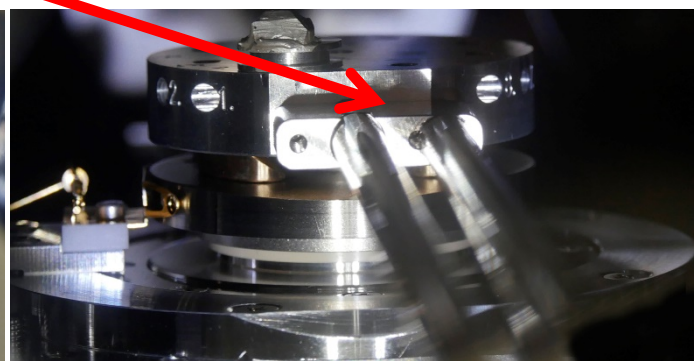
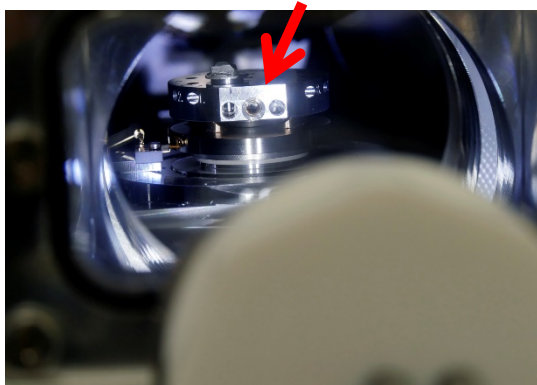
daß die Metallnoppen an der Seite in die Vertiefungen der Einführöffnung gelangen (siehe Pfeile auf dem vorangehenden Bild).



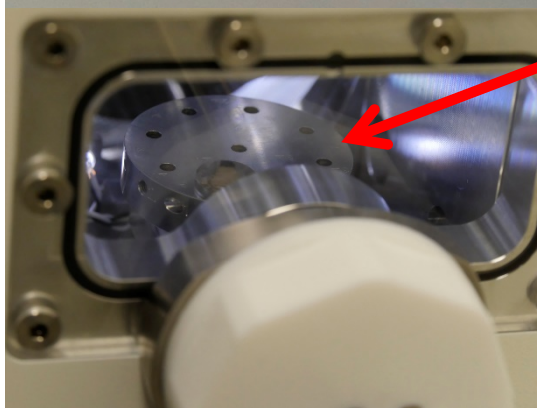
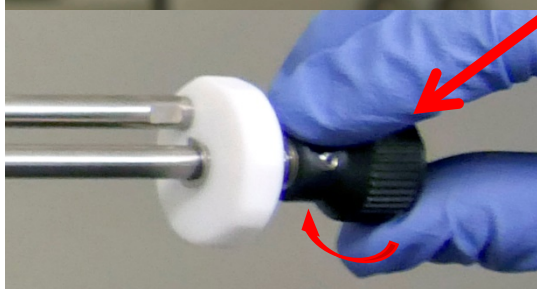
Dann den weißen Ring außen nach rechts so drehen, daß die Andockposition erreicht wird.
So sieht es aus, wenn der Stab richtig in der Andockposition ist.

Nach dem Einrasten Store drücken und warten, bis nichts mehr blinkt.

Danach Transfer drücken und warten, bis die Tür zur Kammer ganz geöffnet ist. Nun den Stab vorschieben bis sein Vorderende den in der Kammer befindlichen Probenhalter erreicht.



Nun ganz hinten am Stab das schwarze Gewinde im Uhrzeigersinn drehen, bis es leicht fest ist, wodurch vorne eine Schraube in den Teller gedreht wird, die diesen dann am Stab festhält. Danach Stab zurückziehen bis zum Anschlag, wodurch der Teller in die entsprechende Halterung in der Schleuse gezogen wird.



Dies kann man hier durchs Sichtfenster sehen.

Nun „Store“ Taste drücken, damit sich die „Tür“ zur Kammer wieder schließt.

Sobald die Lampe nicht mehr brennt auf „Vent“ drücken



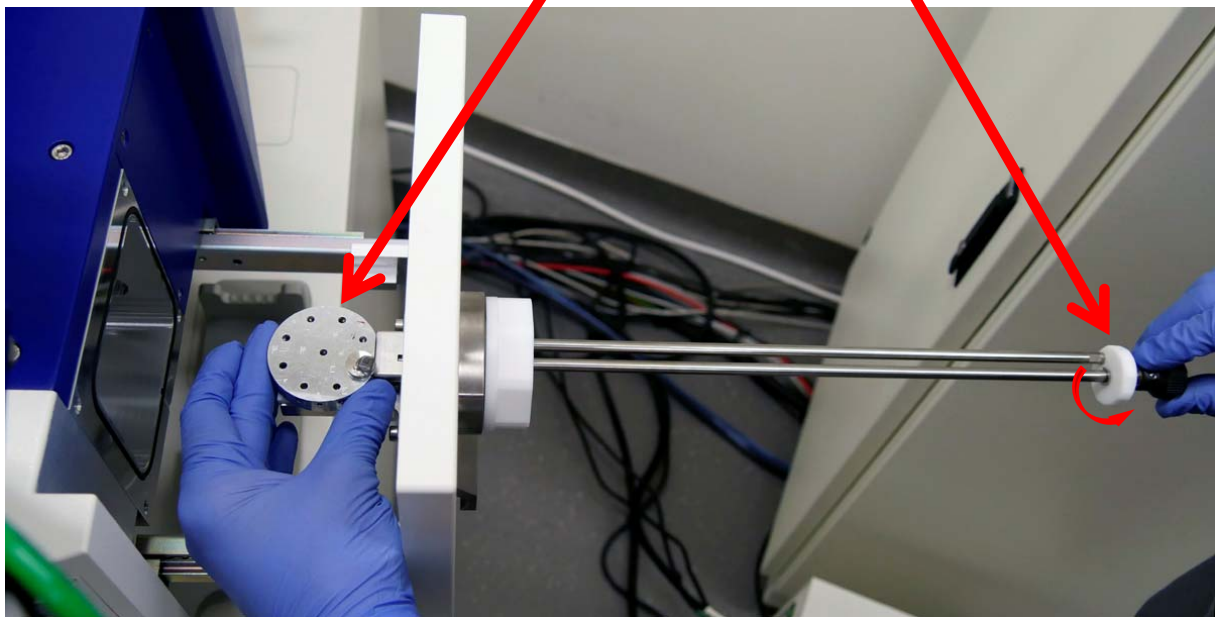
Standard Benutzungsanweisung M12-051_D Bedienung des Zeiss Crossbeam 540 Rasterelektronenmikroskops

Universitätsklinikum Essen

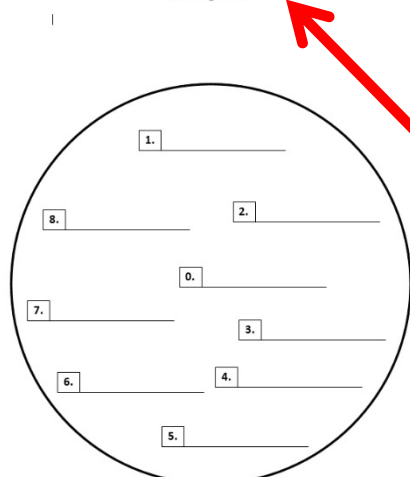
Seite 7 von 21
Version: 22.4.2020
zuletzt geändert von: Holger



Der Metallgriff an der Tür lockert sich. Mit HANDSCHUHEN Tür öffnen und den Teller festhalten während man den Stab gegen den Uhrzeigersinn abdrehet.



Probenteller SEM
Änderungsdatum:
Änderungsdatum:
Änderungsdatum:
Änderungsdatum:



1. _____

8. _____ 2. _____

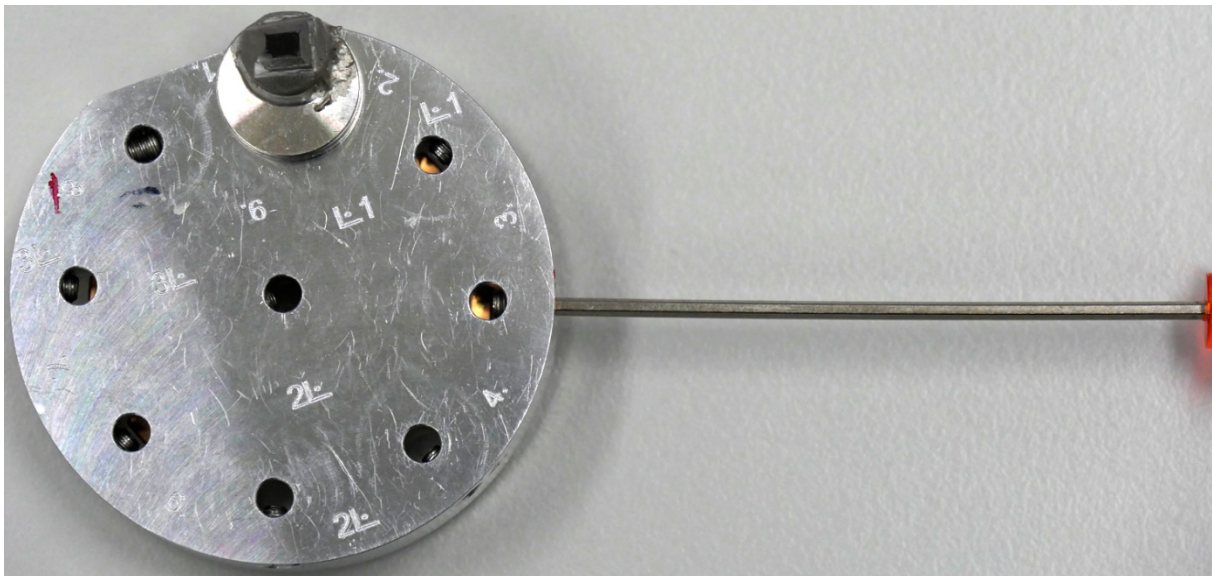
0. _____

7. _____ 3. _____

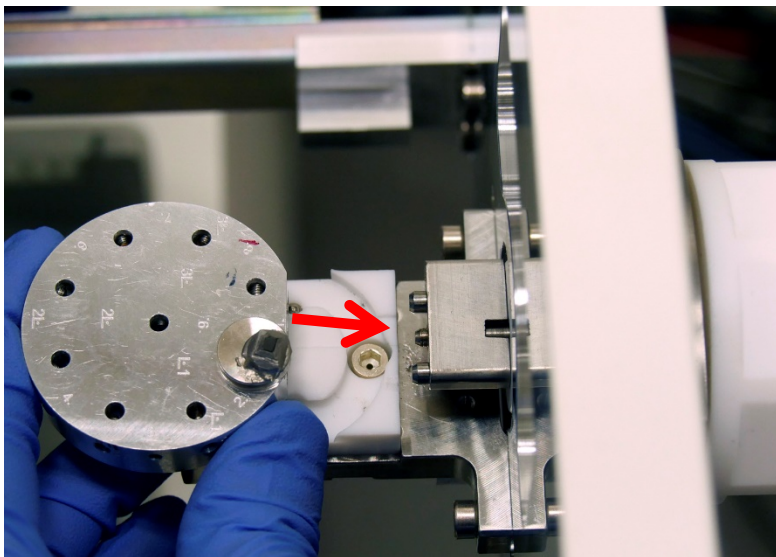
6. _____ 4. _____

5. _____

Teller zum Gerät hin schieben aus der Halterung nehmen und auf den Tisch stellen. Übersicht mit den dort aufgebrachten Proben aus der oberen Schreibtischschublade nehmen bzw. neue erstellen. Dabei immer das Datum aktualisieren und die Probenbezeichnungen an den entsprechenden Positionen angeben und auch den eigenen Namen falls die Proben nach der Untersuchung belassen werden sollten, damit der /die Nachfolgende weiß an wen man sich wenden kann.



Bei den zu entfernenden Proben mit dem Sechskantdreher die seitlich im Probenhalter eingebrachten Schrauben gegen den Uhrzeigersinn leicht aufdrehen. Auch an den Stellen, an denen neue Stubs eingebracht werden sollen die Schrauben aufdrehen, damit dies möglich ist. Dann die Proben mit der Spezialpinzette umgreifen und nach oben aus dem Halter ziehen und dann in die richtige Aufbewahrungsbox transferieren.



Eigene Proben aus der Aufbewahrungsbox nehmen und in den Teller einsetzen dann im Uhrzeigersinn die Schrauben nur LEICHT fest ziehen. Den Teller mit der geraden Kante nach außen (= vom Gerät weg) drehen und wieder in die Halterung in der Schleuse einsetzen, indem er von links bis zum Anschlag eingeschoben wird. Dann den

schwarzen Drehknopf am Ende der Halterstange gegen den Uhrzeigersinn drehen, damit der Teller wieder mit dem Halter fest verbunden ist.



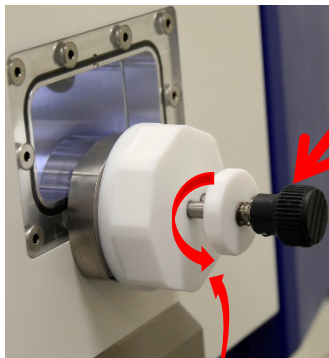
Die Schleuse wieder schließen, d.h. ans REM vorschieben.

Dann an der Schleuse erst „Store“ drücken und warten.

Dann „Transfer“ drücken.

Nun den Stab in die Kammer mit dem Probenhalter vorschieben bis zum Ende damit er sicher auf der Halterung sitzt.

Dann den Stab gegen den Uhrzeigersinn drehen und zurückziehen soweit es geht.



Darauf wieder „Store“ drücken – warten und „Vent“ drücken.

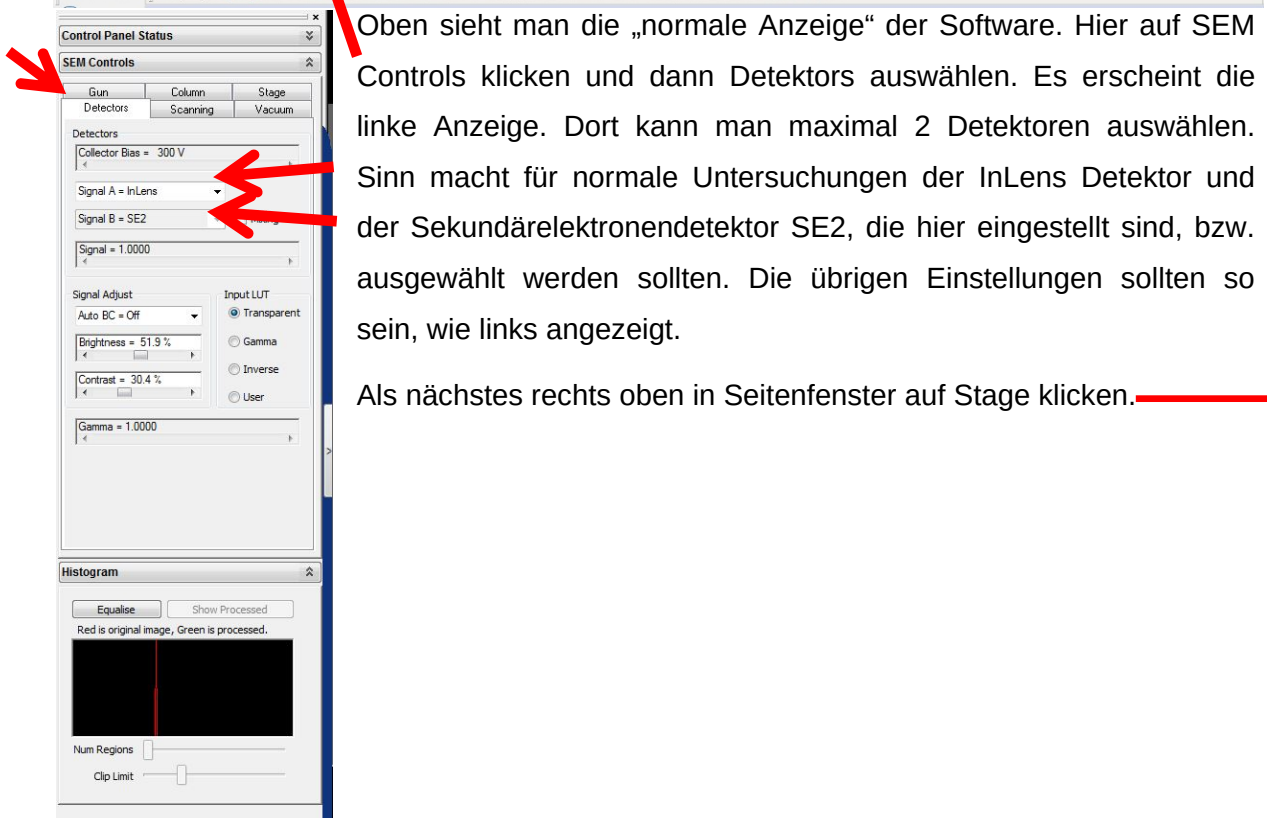
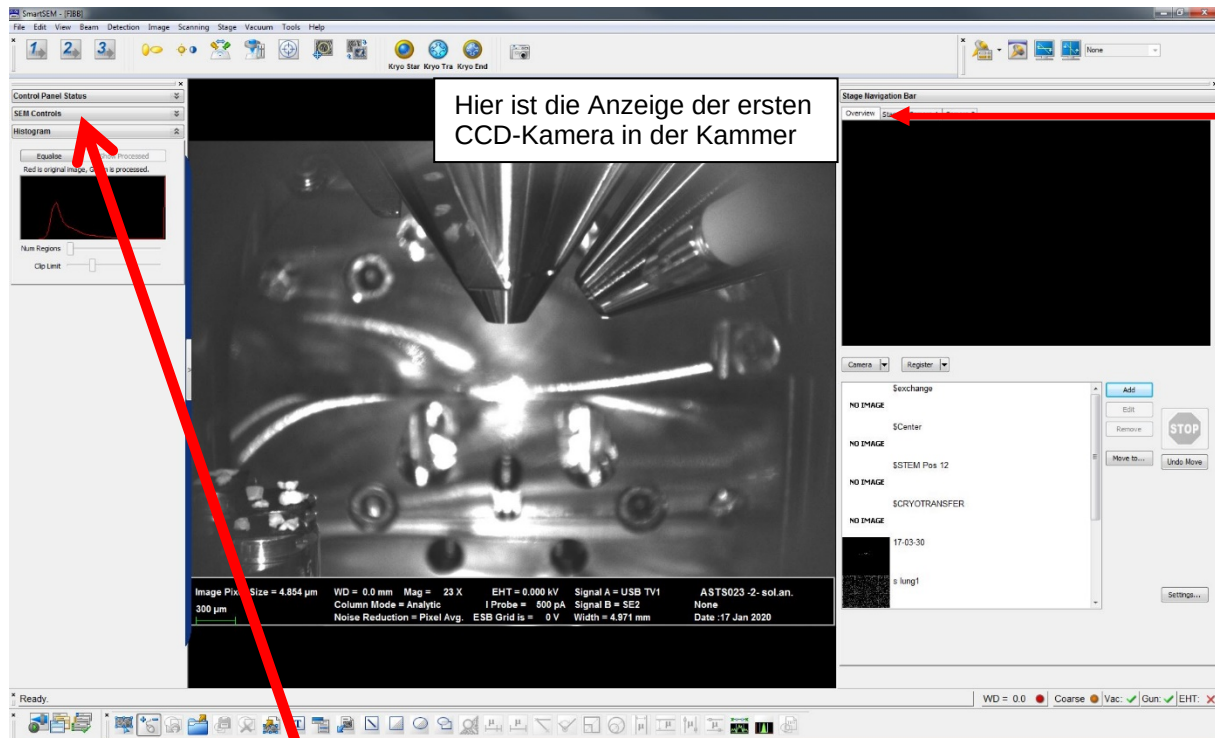
Wenn das Licht nicht mehr leuchtet den Stab abdrehen und mit Handschuhen in den Halter dafür legen und den Stopfen auf die Schleusenöffnung setzen und zum Abschluß wieder auf „Store“ drücken.

Jetzt ist der Teller mit den Proben im REM und alle weiteren Steuerungen erfolgen über die Software am PC, daher kann man nun die Handschuhe ausziehen.



Zum Speichern Netzlaufwerk und Server wählen hier kann man unter X:\EMU\Allgemeines\EM Training einen Ordner erstellen und Bilder speichern. Ansonsten kann man die Daten lokal auf D:/users/...

speichern und später nach der Untersuchung auf seinen eigenen Sciebo-Account verschieben.



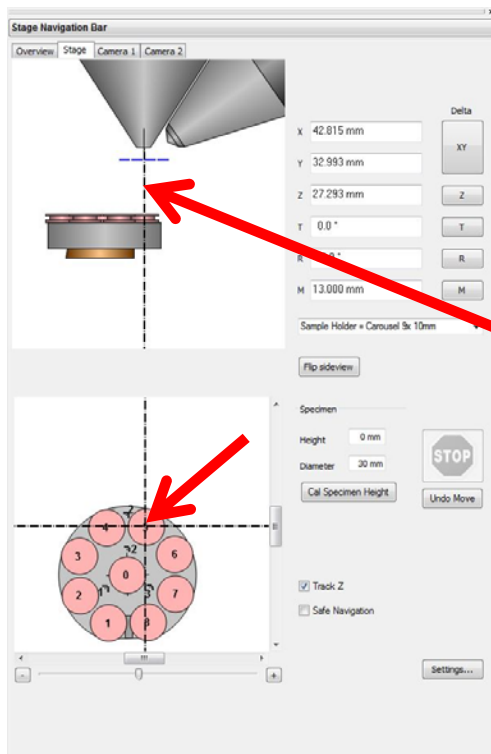
Standard Benutzungsanweisung

M12-051_D

Bedienung des Zeiss Crossbeam 540

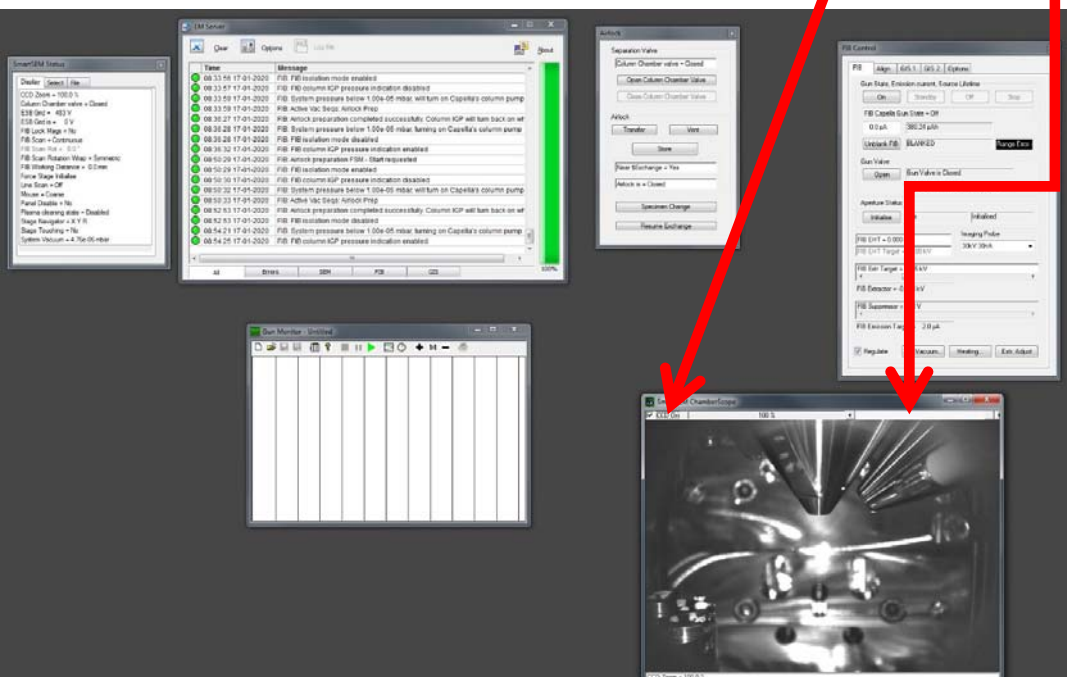
Rasterelektronenmikroskops

Seite 11 von 21
Version: 22.4.2020
zuletzt geändert von: Holger



Damit die folgende Anzeige erscheint, die die Position der Proben zur Säule anzeigt. Klickt man mit der Maus, wie hier gezeigt auf die Mitte der Probe 5, so wird der Probenhalter so verschoben, dass der Elektronenstrahl genau dorthin gelenkt wird. Außerdem kann man abschätzen, wie weit die Spitze der „Gun“ von der Probe entfernt ist, was sehr wichtig ist, damit diese nicht beschädigt wird. Dazu nutzt man auch die beiden in der Säule eingebauten Kameras, die aus verschiedenen Winkeln darauf „blicken“.

Klickt man auf dem unten gezeigten Bild des rechten Monitors bei Chamber Scope auf „CCD On“ kann man live die Situation betrachten. Man kann die Helligkeit der Kameras rechts regulieren



Es gibt in der Kammer 2 verschiedene CCD Kameras, die erste ist seitlich etwas tiefer als die Spitze der Gun, die andere steht mehr oben schräg dazu. Mit Hilfe der Bilder beider Kameras ist es sehr gut möglich den Abstand zwischen Probe und Spitze der Objektivlinse (Gun) abzuschätzen – er darf keinesfalls unter 2 mm liegen!



Mit Hilfe der Joysticksteuerung kann man den Probenteller bewegen und damit auch die Stellung der Probe beeinflussen:

der rechte Hebel für Achsenbewegungen x (rechts - links) – y (hoch – runter) und Drehen des Knopfes für Drehungen

der linke Joystick ist

links – rechts für Kippbewegungen und

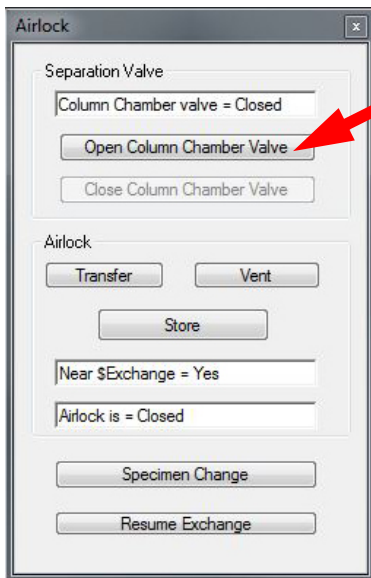
hoch - runter für die Höhenverstellung.

Wenn man hier aus Versehen gegen kommt, kann dies zur Kollision der Probe mit der Gun-Spitze und deren Beschädigung führen! daher ist nach der ersten Grundeinstellung anzuraten den umgekehrt auf dem Joystick

positionierten Becher als Schutz hiervor zu belassen.

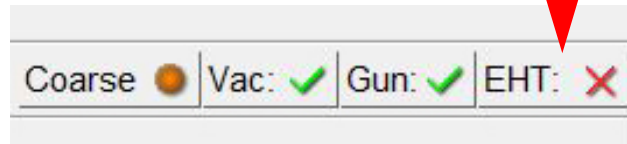
Zu Beginn ist es aber sinnvoll die oben beschriebene Methode über die Stage Steuerung zu benutzen, da man hier schnell erst mal die Grundposition und die gewünschte Probe anfahren kann. Die weitere Feinsteuerung macht man dann mit der Joysticksteuerung.

Unter Sichtkontrolle über die beiden Kameras sollte man jetzt die Probe bis auf ca. 5mm Abstand an die Gunspitze heranfahren.



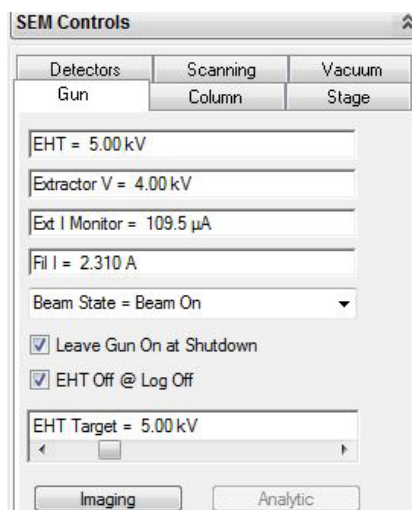
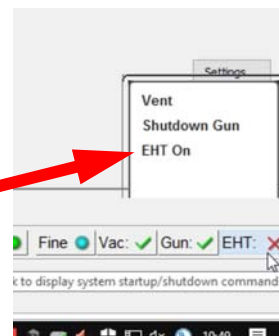
Jetzt im Airlock Fenster auf dem rechten Monitor auf Open Column Chamber Valve klicken.

Um den Elektronenstrahl einzuschalten, nun unten rechts im Smart SEM Fenster auf dem linken Monitor auf EHT klicken, wo momentan noch ein rotes X anzeigt, dass die Hochspannung aus ist.



Es erscheint ein kleines Fenster. Hier AUF KEINEN FALL Vent + Shutdown Gun drücken!

Sondern auf EHT On klicken



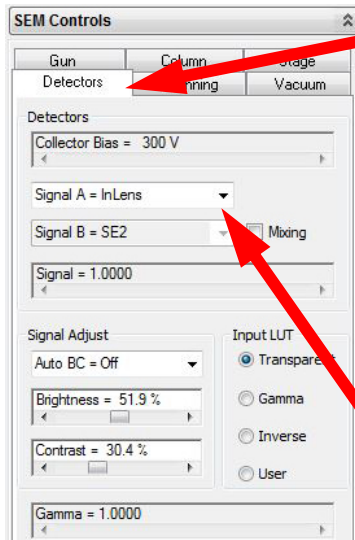
Nun das Gun Menü unter SEM Controls links im Smart SEM Fenster auf dem linken Monitor öffnen

Und für den Anfang eine Hochspannung von 5 KV einstellen, wie es hier gezeigt ist (ggf. angezeigten anderen Wert anklicken und über die Tastatur korrigieren).

Die übrigen Einstellungen in diesem Fenster sollen so, wie gezeigt sein.

Je höher die Spannung desto tiefer dringen die Elektronen ins Präparat ein.

Bedienung des Zeiss Crossbeam 540 Rasterelektronenmikroskops



Nun auf das Feld Detectors wechseln.

Hier prüfen, ob der Collector Bias auf 300 V steht (ansonsten anklicken und korrigieren). Dann Signal A und B auswählen:

Der InLens Detektor schaut von oben auf die Probe und erfordert einen Probenabstand von unter 10 mm.

Der SE2 Detektor für seitlich abgestrahlte Sekundärelektronen wird mit höheren Abstand betrieben und eignet sich zum Beginn. Durch Anklicken des Dreiecks kann er als Signal A Detektor gewählt werden.

Beschleunigungsspannung (EHT)

Standardanwendung:

Übersichtsvergrößerung:

(abhängig vom Arbeitsabstand)

Hochauflösung:

nicht leitfähige Proben (unbeschichtet):

nicht leitfähige Proben (beschichtet):

strahlsensitive Proben:

leitfähige Proben:

Inlens- Detektor:

SE2- Detektor:

VPSE- Detektor:

RE- Detektor:

EsB- Detektor:

Arbeitsabstand (WD)

Standardanwendung:

Übersichtsvergrößerung:

Hochauflösung:

Inlens- Detektor:

SE2- Detektor:

VPSE- Detektor:

RE- Detektor:

EsB- Detektor:

Sondenstrom (Aperture Size)

Standardanwendung:

Übersichtsvergrößerung:

Hochauflösung:

nicht leitfähige Proben (unbeschichtet):

nicht leitfähige Proben (beschichtet):

strahlsensitive Proben:

leitfähige Proben:

Inlens- Detektor:

SE2- Detektor:

VPSE- Detektor:

RE- Detektor:

EsB- Detektor:

5 – 20 kV

5 – 15 kV

15 kV

0,1 – 3 kV

5 – 10 kV

0,1 – 2 kV

3 – 20 kV

0,1 – 20 kV

1 – 30 kV

7 – 25 kV

5 – 30 kV

0,5 – 10 kV

ca. 8 mm

~20 mm

2 – 5 mm

≤10 mm

4 – 20 mm

8 – 20 mm

ca. 9 mm

2– 5 mm

30 µm

30 – 120 µm

10 – 30 µm

7,5 – 30 µm

20 – 60 µm

7,5 – 30 µm

20 – 60 µm

7,5 – 30 µm

20 – 120 µm

30 – 60 µm

30 – 120 µm

20 – 60 µm

Es gibt noch einen energieselektiven Restelektronen = EsB Detektor, der auch in der Säule lokalisiert ist, aber nur die hochenergetischen Elektronen detektiert. Er ist nur für spezielle Untersuchungen geeignet.

Generell gilt für alle Detektoren ein unterschiedlicher sinnvoller Arbeitsabstand. Auch die Beschleunigungsspannung und der Sondenstrom sollten je nach Ziel der Untersuchung bzw. Detektor angepasst werden, um optimale Bilder zu gewinnen.

Dabei kann die Tabelle links helfen, die eine gekürzte Version der von Zeiss in der Anleitung publizierten darstellt.

Wenn man unten bei Signal Adjust das unterste beim Dreieck anklickt, kann man Auto BC auf ON setzen, Dann erst die Brightness danach den Kontrast über die Drehregler der Tastatur einstellen.

Bedienung des Zeiss Crossbeam 540 Rasterelektronenmikroskops

Wenn nun nur ein schwarzes Bild im Monitor mittig im linken Bildschirm erscheint, muß man noch weiter an Brightness (9) und Kontrast (10) auf der Tastatur drehen. Auch sollte das Bild nicht eingefroren sein, was man durch Drücken der Freeze Taste (14) machen bzw. wieder aufheben kann. Hier die Tastatur mit den wesentlichen Bedienelementen:



Belegung der Potentiometer:

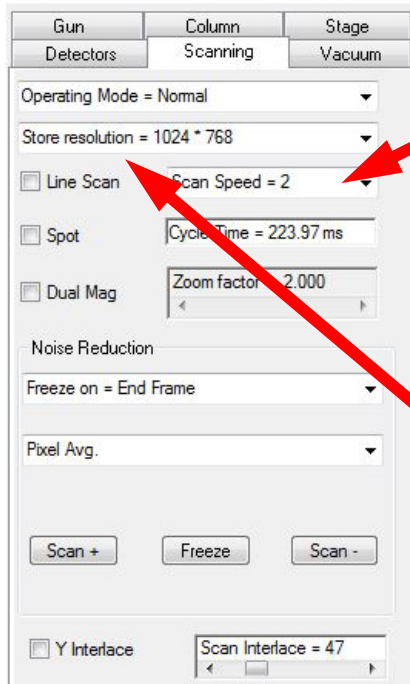
- | | |
|-----------------------|----------------------------|
| 1 - Vergrößerung | 7 - Bildfeldverschiebung X |
| 2 - Stigmation X | 8 - Bildfeldverschiebung Y |
| 3 - Stigmation Y | 9 - Helligkeit |
| 4 - Blendenabgleich X | 10 - Kontrast |
| 5 - Blendenabgleich Y | 11 - Fokus |
| 6 - Bildfelddrehung | |

Belegung der Taster:

- | | |
|--|--|
| 12 - schaltet das reduzierte Raster ein bzw. aus | 16 - ruft das Standardmakro <i>resume exchange</i> * auf |
| 13 - schaltet den Focus Wobble ein bzw. aus | 17 - schaltet die CCD- Kamera ein bzw. aus |
| 14 - friert das Bild ein bzw. taut es auf | 18 - erhöht die Abtastrate um eins |
| 15 - ruft das Standardmakro <i>Specimen Change</i> * auf | 19 - erniedrigt die Abtastrate um eins |

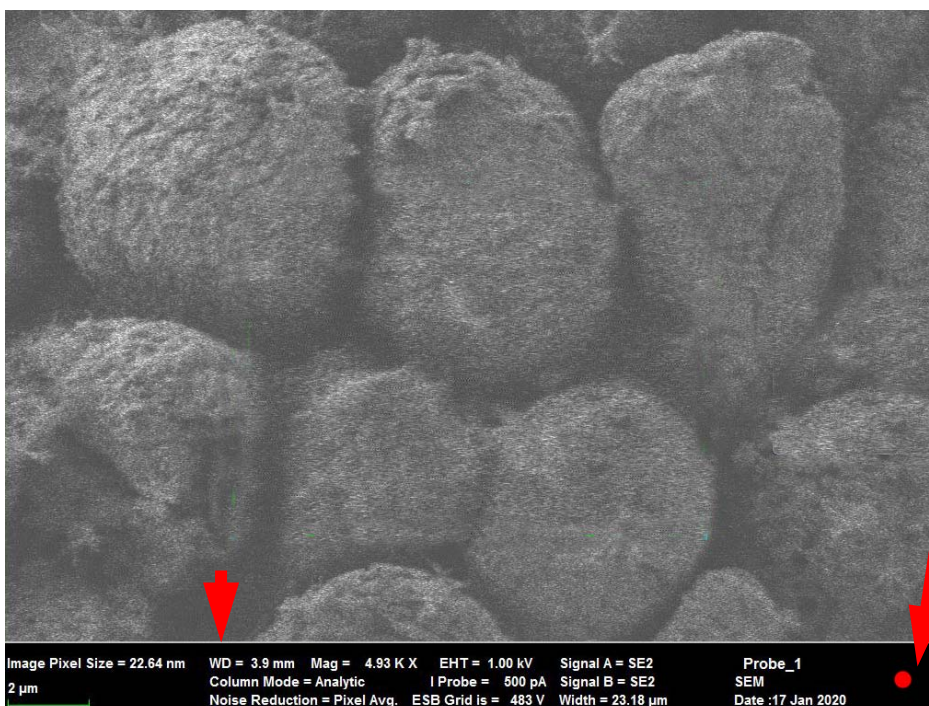
* Diese Makros befinden sich im Verzeichnis C:\Program Files\Carl Zeiss SMT Ltd\SmartSEM\DISTRIB. Sie können von dort geladen, editiert und danach in die aktuelle Makrobibliothek implementiert oder als Common- Makro gespeichert werden.

Die Vergrößerung (Rad 1) sollte auf sehr niedrig sein und mit dem Focus Rad (11) kann man scharf stellen. Wenn man Tab und Ctrl gleichzeitig drückt, und dann eine Stelle auf der Anzeige anklickt, wird diese genau mittig angefahren. Durch Drücken der Tab Taste am linken Rand der Tasten (blauer Pfeil) kann man zwischen Grob- und Feineinstellung wechseln.



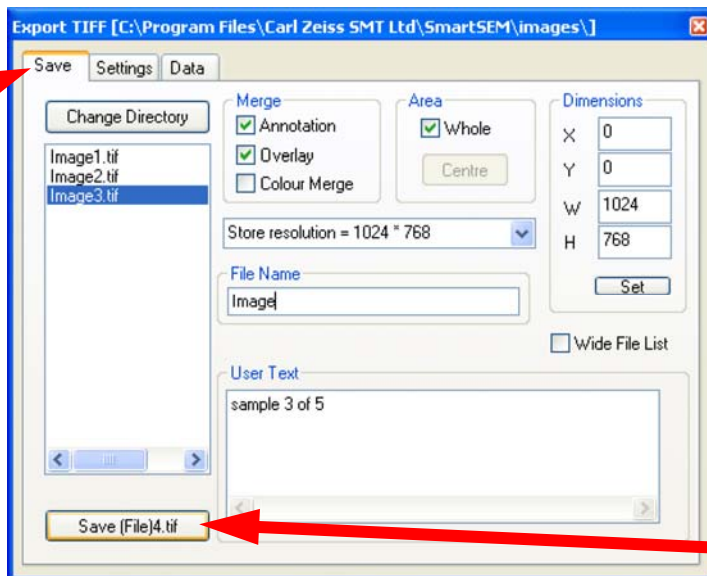
Nun kann man die Geschwindigkeit der Abtastung des Elektronenstrahls (Scan Speed) mit dem Detektor einstellen. Je langsamer sie ist, desto weniger Rauschen tritt auf und ein desto höherer Wert wird angezeigt. Jedoch können dann vermehrt Aufladungseffekte auftreten, die als helle Verwischungen im Bild erscheinen. Eine niedrigere KV Zahl kann diese wieder abnehmen lassen. Man kann hier auch die Auflösung des aufzunehmenden Bildes bei „Store resolution“ einstellen

Hat man nun ein gutes Bild, so kann man dieses aufnehmen. Dazu die „Freeze“ Taste drücken, warten bis rechts unten in der Bildanzeige ein roter Punkt erscheint (siehe unten) und dann im Bild einen Klick mit der rechten Maustaste machen.

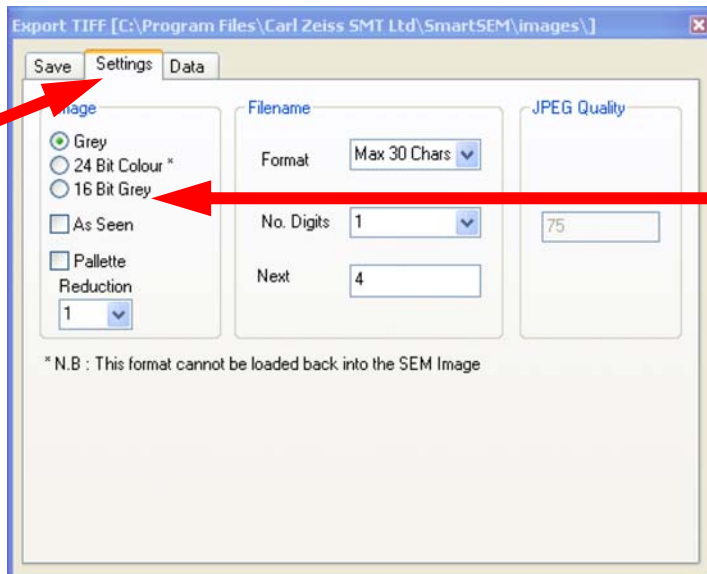


Erst, wenn der Fokus richtig eingestellt ist, ist die Anzeige der Working Distance (WD) zuverlässig

Bedienung des Zeiss Crossbeam 540 Rasterelektronenmikroskops



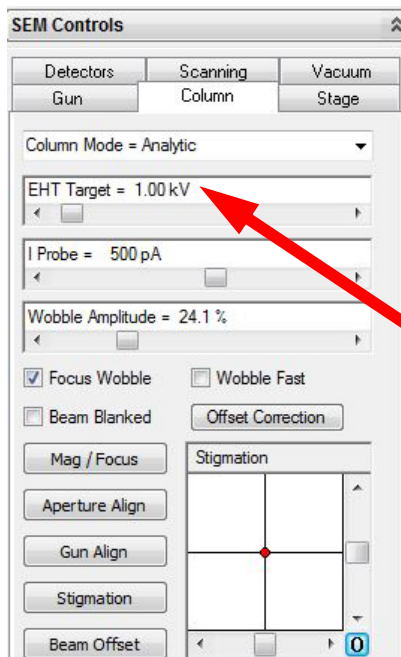
Nach dem Rechtsklick im eingefrorenen Bild erscheint das links gezeigte Speicherfenster. Hier bei File Name den Namen eingeben. Alle im Folgenden gemachten Bilder erhalten den Namen (hier Image) und werden weiter hoch gezählt. Daher sind die Namen der dann gespeicherten Dateien: Image1, Image2, Image3, ... Erst mit Klicken auf Save File wird die Speicherung ausgeführt.



Bei Klicken auf Settings sind noch weitere Einstellungen möglich wie z.B. Speicherung als 16 Bit Grauwert Bild (16 Bit Grey). Wenn man dies einstellt, darf man aber nach den Arbeiten nicht vergessen dies wieder auf 8 Bit (unseren Standardwert für alle User) zurückstellen!

Jetzt kann man mit dem eigentlichen Arbeiten beginnen. Zunächst am besten eine uninteressante Präparatestelle suchen, um noch notwendige Schärfe und Wobbler Einstellungen zu optimieren.

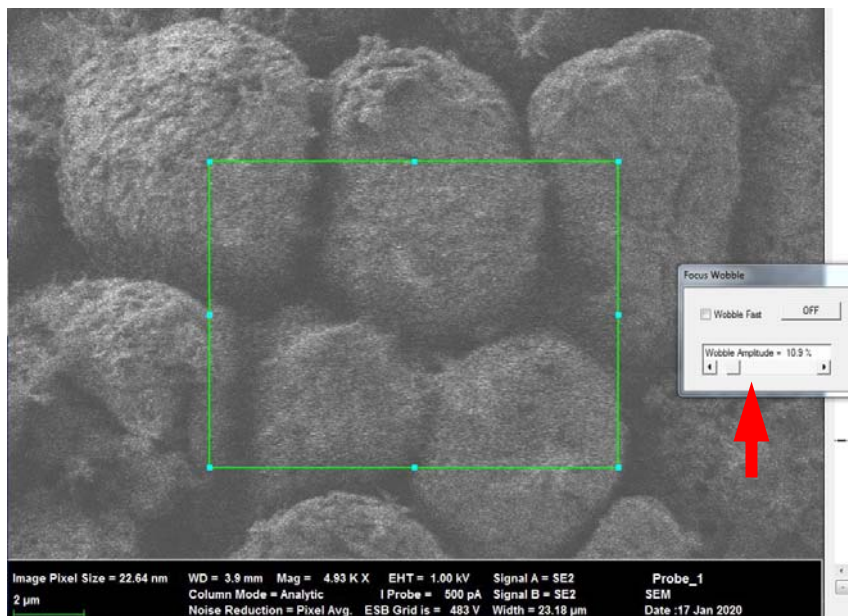
Bedienung des Zeiss Crossbeam 540 Rasterelektronenmikroskops



Das Column Menü unter SEM Controls am linken Monitor aufrufen und das EHT Target einstellen. Je niedriger die Spannung, desto besser ist der Kontrast, aber die Auflösung nimmt dabei ab. Je höher, desto besser die Auflösung aber desto niedriger auch der Kontrast. Die Spannung lässt sich aber nicht beliebig weit herunterstellen. Am besten am Anfang auf 1.00 kV, wie hier gezeigt, einstellen.

Jetzt unter Kontrolle beider Kameras! Probe mit Joystick langsam hochfahren, dabei muß der Abstand (WD) immer > 2 mm bleiben! Contrast (10) & Brightness (9) anhand des Bildes auf linkem Monitor nachregulieren und den Fokus mit dem Rad rechts an der Tastatur (11) nachstellen.

Shift und die F2 Taste drücken um automatisch den Offset zu korrigieren, was man immer tun sollte, wenn die Hochspannung verändert wurde. Nun wird die Kondensorblende gewobbelt. Dazu den Wobbel Knopf (13) drücken. Im Live Bild



erscheint ein grüner Bereich in dem gewobbelt wird und dessen Grenzen sich mit der Maus verschieben lassen in dem kleinen Fenster daneben lässt sich die Wackelfrequenz regulieren (am besten relativ gering einstellen) Ziel ist es das Wackeln nach links-rechts (X) und hoch-runter (y) so minimal wie

möglich einzustellen, dazu die Drehregler (4 und 5) verwenden. Am besten mit x beginnen (Rad 4 der Tastaturabbildung drehen). Am Ende dem Wobbler wieder ausschalten (13).

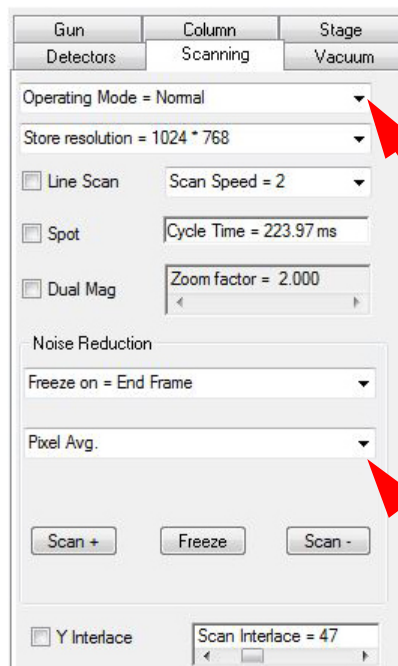
Bedienung des Zeiss Crossbeam 540 Rasterelektronenmikroskops



Je genauer die Wobblereinstellung erfolgt, desto besser wird das Bild. Nach dem Ende des Wobbels wieder den Fokus richtig einstellen (Rad 11). Nun folgt die Korrektur des Stigmatismus. Dazu die beiden Stigmatorknöpfe (2 und 3) drehen und das Livebild betrachten. Der Stigmatismus ist abhängig vom

Arbeitsabstand und muß daher immer, wenn dieser sich ändert (z.B. beim Aufsuchen einer neuen Stelle der Probe), neu eingestellt werden. Da sich die eben beschriebenen Einstellungen gegenseitig beeinflussen, ist zur Gewinnung optimaler Bilder oft noch ein zweiter Einstellungsdurchgang empfehlenswert. Dabei ist folgende Reihenfolge zu wählen: EHT einstellen → Shift F2 → Kontrast & Helligkeit → Fokus → Wobbeln zum Apertur einstellen → Stigmator → Fokus → Wobbler →

Tipps zur Gewinnung möglichst optimaler Aufnahmen:



schnellerer Scan Speed (kleinerer Wert) reduziert das Rauschen, ebenso kleinere Bilder (Store resolution). Die Tiefenschärfe kann durch Wahl des Operating Mode (OM; Dreieck anklicken) beeinflusst werden, dabei gilt:

OM = Analytic erhöht sie,

OM = Depth of Field macht sie maximal,

OM = High Resolution reduziert sie zugunsten höherer Auflösung.

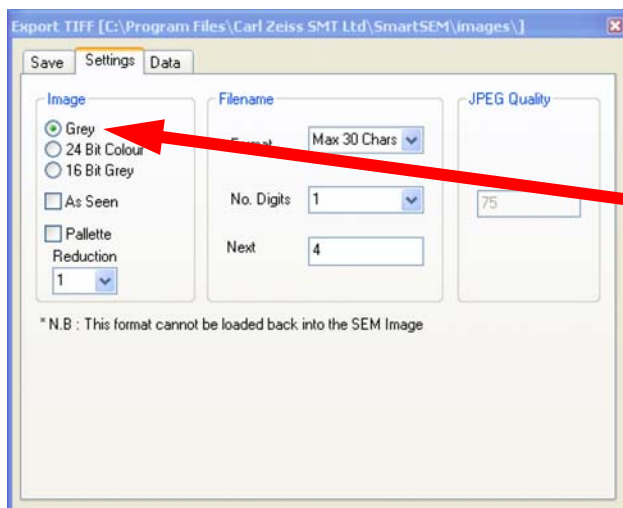
Zu beachten: nach jedem OM Wechsel Shift & F2 drücken!

Durch Wahl von Line Average statt des hier angezeigten Pixel Avg. kann das Rauschen auch reduziert werden (Dreieck anklicken).

Je höher die verwendete Spannung desto tiefer dringen die Elektronen ins Präparat ein.

Nach Beendigung Ihrer Arbeit am REM:

Zuerst die Probe mit dem Joystick weit herunterfahren, damit kein Schaden entstehen kann, im SEM Fenster rechts unten EHT anklicken und im erscheinenden Fenster auf OFF stellen. Den Exchange Knopf (15) auf der Tastatur nur drücken, falls die Proben wieder entnommen werden sollen und dann Handschuhe anziehen und die vorangehend beschriebene Ausschleusung (Seite 5ff.) vornehmen. Erst, wenn der leere Teller wieder in der Kammer und die Schleuse geschlossen ist, wie oben beschrieben weiter fortfahren.



Ansonsten mit einem Rechtsklick auf den Bildschirm das Export TIFF Fenster öffnen und hier auf das Settings Menu (Bild links) gehen, um den eventuell verwendeten 16 Bit Modus wieder auf Grey (8 Bit) zurückstellen, dann alle Fenster oben rechts schließen auch bei EM Server rechts oben X anklicken, damit das REM auf Standby heruntergefahren wird. Bitte vergessen Sie nicht Ihre Bilddateien nun auf Ihren Sciebo Account hochzuladen, da



die Bilddaten NICHT längerfristig (> 2 Monate) auf dem PC bleiben dürfen. Der PC kann nach Abmelden im Standby Modus verlassen werden – nur falls für lange Zeit keine weiteren Nutzer mehr eingetragen sind sollte er heruntergefahren werden. Bitte nicht vergessen den Stickstoff an der Wand wieder zudrehen indem man gegen den Uhrzeigersinn dreht, wodurch statt des grünen ein roter Punkt oben steht.

Zum Schluß tragen Sie sich bitte in das Nutzungsbuch ein. Dabei geben Sie neben dem Datum bitte immer auch die genaue Nutzungszeit an und schreiben Sie wenn alles OK war ein OK dahinter, ansonsten, wenn irgendetwas nicht funktioniert hat oder Probleme auftraten dokumentieren Sie diese bitte auf jeden Fall.

 IMAGING CENTER ESSEN electron microscopy unit	Standard Benutzungsanweisung M12-051_D Bedienung des Zeiss Crossbeam 540 Rasterelektronenmikroskops	
	 Universitätsklinikum Essen	Seite 21 von 21 Version: 22.4.2020 zuletzt geändert von: Holger

Nur, falls Ihre tatsächliche Nutzungszeit am Gerät NICHT mit der zuvor online reservierten Zeit übereinstimmte, sprechen Sie einen Operator an, um das zu korrigieren.

Bei Fragen, Unklarheiten oder Verbesserungsvorschlägen für diese Anleitung benachrichtigen Sie bitte Dr. Jastrow (holger.jastrow@uk-essen.de; Tel: 723 85746) oder einen der Operatoren:

Bernd Walkenfort - Tel.: 4387 oder Sylvia Voortmann – Tel: 6079

Holger Jastrow - Tel.: 85746 oder den Abteilungsleiter: Mike Hasenberg Tel.: 4387

Falls Sie fachliche Fragen zu biologischen Proben haben sollten, hilft Ihnen Dr. Jastrow gerne weiter.