

	Mode Opérateur	Date : 05/06/2013
	Vérification et Maintenance Microscopie Electronique	Indice : 03

OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

Ce document décrit les modes opératoires pour vérifier et entretenir les équipements de microscopie électronique de la PF d'imagerie TRI.

SUIVI DES MODIFICATIONS

Date	Indice	Nature modification
15.06.09	01	Création
04.10.12	02	Modification de la partie sur le 120KeV et ajout d'une caméra dans la partie du 200keV
05.06.13	03	Modification de la partie maintenance curative du microscope Jeol 1400

	Mode Opératoire	Date : 05/06/2013
	Vérification et Maintenance Microscopie Electronique	Indice : 03

SOMMAIRE

I Microscope JEOL 2100

1. Vérification :

- a. *Alignement du Microscope JEOL 2100*
- b. *Calibration et gains référence des Caméras US1000, Erlangshen 500W modèle 782 et US4000*
 - α -gain référence*
 - β -calibration*

2. Maintenance :

- a. Préventive :
 - α -microscope JEOL 2100*
 - β - caméra Gatan US1000 modèle 894 et de la caméra Gatan US4000*
 - γ - circulateur d'eau HX 150W Neslab*
- b. Curative
 - α - remplacement du filament LaB6*
 - β - remplacement des bouteilles d'azote*

II Microscope JEOL 1400

1. Vérification:

- a. *Alignement du Microscope JEOL 1400*
- b. *Calibration et gains référence de la Caméra Gatan Orius SC1000B modèle 832*
 - α -gain référence*
 - β -calibration*

2. Maintenance :

- a. Préventive :
 - α -microscope JEOL 1400*
 - β -Circulateur d'eau Kühlmobil 312-B400 - Van der Heijden*
- b. Curative
 - α - remplacement du filament de tungstène*
 - β - remplacement des bouteilles d'azote*

	Mode Opérateur	Date : 05/06/2013
	Vérification et Maintenance Microscopie Electronique	Indice : 03

I Microscope JEOL 2100



1. Vérification :

a. *Alignement du Microscope JEOL 2100*

La procédure d'alignement complète du microscope est effectuée une fois par mois en routine ou à la suite d'une fiche anomalie mentionnant un problème d'alignement.

Cf document fournisseur JEOL (manuel d'instruction JEOL JEM-2100 classeur bleu chapitre 5 p24) procédure d'alignement complète.

b. *Calibration et gains référence des Caméras US1000, Erlangshen 500W modèle 782 et US4000.*

α -gain référence

On effectue un gain référence lorsque l'image se dégrade ou que l'on veut améliorer sa qualité.

	Mode Opérateur	Date : 05/06/2013
	Vérification et Maintenance Microscopie Electronique	Indice : 03

La procédure est la suivante :

- Enlever le diaphragme objectif
- Se mettre à 50 000 de grandissement
- Etaler le faisceau au max correspondant entre 1500 et 2000 coups (le bruit est de l'ordre de 1000 coups)
- Au niveau du mode CAMERA VIEW :
 - Se mettre en mode :
 - focus
 - Unprocessed
 - Binning 1
 - Full CCD
 - Tps d'expo 0.1 sec
- Dans le menu CAMERA : cliquer en premier sur remove dark reference
- Dans le menu CAMERA : cliquer sur prepare gain reference
 - o Target intensity (1/2 de la saturation qui est de 54000) donc on prend 10000 coups/pixels
 - o Frames to average = 5
 - o Faire OK
- Lever l'écran et mettre le cache et faire OK
- Pour régler la lumière, faire juste décoller le brightness au début de la gamme jaune, pas besoin d'être dans le vert
- Laisser la procédure de gain référence se faire jusqu'au bout sans rien modifier excepter la lumière si elle ne se trouve plus dans la gamme verte.

Rq = essayer d'être dans la bonne gamme d'illumination pour ne pas avoir à retoucher la lumière. Si on la retouche, repérer la valeur du current density à la fin de la procédure de gain référence et la relancer à cette valeur de current density.

Quand faire un gain référence :

- A la suite d'un bake caméra
- Quand on arrête le contrôleur de la caméra
- Quand on arrête l'effet peltier de la caméra (il faut l'arrêter généralement le vendredi soir, le rallumer le lundi matin et attendre que la température se stabilise à -24.8°C et refaire le gain)
- Si on veut optimiser l'image c'est-à-dire quand on change le voltage du microscope, l'échantillon etc...
- En routine au moins tous les mois

	Mode Opérateur	Date : 05/06/2013
	Vérification et Maintenance Microscopie Electronique	Indice : 03

β -calibration

La calibration de la caméra a été effectuée à l'installation des caméras pour chaque grandissement et pour chaque tension d'accélération. Cette calibration est vérifiée tous les 3 mois à l'aide d'une grille de référence (cf référence matériel).

Pour la procédure de calibration, cf documentation fournisseur GATAN sur l'ordinateur de la caméra (disque C programme file/GATAN/documentation)

• **Références matériel :**

- Fournisseur Ted Pella ref #00289 grille Grating Replica, waffle 2160 lines/mm, sur grille de 3mm
- Fournisseur EMS Grille Graphitized carbon black ref #80037

2. Maintenance :

a. Préventive :

Réalisée dans le cadre d'un contrat de maintenance ou par le personnel PF (cf tableau suivi de maintenance)

α - microscope JEOL 2100

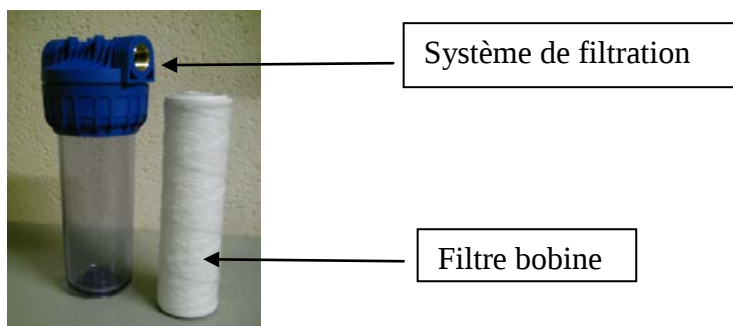
Changement du filtre d'eau glacée

- Fermer les 2 vannes **A** et **B** et ouvrir la **C**



	Mode Opérateur	Date : 05/06/2013
	Vérification et Maintenance Microscopie Electronique	Indice : 03

- Dévisser le système de filtration



- Retirer le filtre usagé du réservoir
- Mettre un filtre neuf
- Revisser le système de filtration
- Ré-ouvrir les vannes A et B et fermer la C
- Vérification qu'il n'y ait pas de fuite

- **Référence matériel :**
- Filtre bobine de 25 MCR

BAKE du microscope

C'est une procédure de réchauffage (60°C) de la colonne et de la pompe ionique de façon à les faire dégazer pour les nettoyer pour récupérer de bonnes valeurs de vide ($<4.10^{-5}$ Pa).

On active le BAKE de 30 à 48h incluant 3h de refroidissement.

La procédure est la suivante :

AU Préalable:

<i>Camera</i>	<i>OUT et OFF</i>
<i>Beam (Filament)</i>	<i>OFF</i>
<i>Haute Tension</i>	<i>OFF</i>
<i>Diaphragme Objectif et condenseur</i>	<i>OUT</i>
<i>lentilles</i>	<i>ON</i>
<i>Porte-objet</i>	<i>OUT</i>

	Mode Opérateur	Date : 05/06/2013
	Vérification et Maintenance Microscopie Electronique	Indice : 03

Interface logiciel Jeol

Rubrique : MAINTENANCE

Sous Rubrique : ACD & Bake

Programmer la durée du Bake (30 à 48h) en gardant 3 heures de Cooling

Cette procédure est à effectuer en routine une fois par mois et dès que la valeur du vide se dégrade.

Cf documentation JEOL (manuel d'instruction JEOL JEM-2100 classeur bleu chapitre 4 p48).

β- caméra Gatan US1000 modèle 894 et caméra Gatan US4000

BAKE de la caméra GATAN US 1000 et de la caméra GATAN US4000

C'est une procédure de réchauffage du scintillateur de la caméra. C'est un nettoyage du scintillateur par sublimation de la glace et de l'huile qui se déposent sur le scintillateur au cours du temps.

On effectue cette opération en routine une fois par mois ou à la suite d'une contamination accidentelle du scintillateur. Le bake est lancé sur la nuit et ne doit pas excéder 15h de chauffage. (Cf documentation fournisseur GATAN sur l'ordinateur de la caméra (disque C programme file/GATAN/documentation/895 camera chapitre 5 care and maintenance p33)

La procédure est la suivante :

Laisser la caméra insérée et sur le pupitre de commande de la caméra, mettre le bouton sur la position « warm ».

	Mode Opérateur	Date : 05/06/2013
	Vérification et Maintenance Microscopie Electronique	Indice : 03



Une fois le bake terminé, il faut refroidir de nouveau la caméra jusqu'à la température de -24.7°C et attendre que la température soit stable avant de s'en servir. Ensuite, faire un gain référence de la caméra (Cf description au dessus chapitre 1b a).

γ- circulateur d'eau HX 150 Neslab

Maintenance du circulateur

Vérifier la température de l'eau du circulateur qui doit être à 18°C et vérifier le niveau de l'eau dans la cuve une fois par mois. Vérifier également qu'il n'y ait pas de message d'erreur. Si le message d'erreur est « ADD », il faut rajouter de l'eau si le message est différent, contacter le SAV de NESLAB.

	Mode Opérateur	Date : 05/06/2013
	Vérification et Maintenance Microscopie Electronique	Indice : 03



Vidange du circulateur d'eau

Cette opération est à effectuer dès que l'eau devient trouble afin de renouveler l'eau du circulateur.

Pour cela, on éteint le circulateur et on ouvre le capot du circulateur. Ensuite, on vide l'eau par la sortie « réservoir drain » (photo p18) situé sur le côté droit. Nettoyer la cuve avec un fluide compatible au système. Dévisser aussi le filtre situé dans la cuve et le nettoyer à l'eau claire et le remettre en place.



Réservoir drain

Cf procédure fournisseur Thermo dans document « NESLAB HX recirculating Chillers » chapitre VII maintenance p33

Ajout d'anti-algue

Ajout d'anti-algue à la bonne concentration dans la cuve du circulateur pour éviter le développement d'algue qui à terme boucherait les tuyaux. Pour cela on ajoute 1 fois/an après la vidange de la chloramine T à la concentration de 1g/3.5l ou de l'algicide 2ml/30l. Et aussi régulièrement on ajoute de l'anti-algue pour éviter le développement d'algues.

	Mode Opérateur	Date : 05/06/2013
	Vérification et Maintenance Microscopie Electronique	Indice : 03

b. Curative :

Réalisée dans le cadre d'un contrat de maintenance ou par le personnel PF

Coordonnées et contact SAV sur fiche matériel.

Intervention dans le cadre de contrat de maintenance ou non

α- Remplacement filament LaB6

Dans le cadre du contrat de maintenance avec la société Jeol, le remplacement du filament LaB6 est effectué par le technicien. (Cf fiche technicien et procédure de changement manuel d'instruction JEOL JEM-2100 classeur bleu chapitre 6 p6)

• Référence matériel :

- Filament DENKA LaB6 cathode M3 Tip shape : 60° ; 10μR pointed

β- remplacement bouteilles d'azote :

On dispose de deux bouteilles d'azote L50 pour le microscope Jeol 2100, l'une pour faire les entrées d'air et l'autre qui sert d'air comprimé pour alimenter la partie pneumatique du microscope. Le remplacement de ces bouteilles est effectué par le personnel PF dès que l'une d'elle est vide. Ensuite il faut régler les manomètres pour avoir la bonne pression d'air : 0.3 bars pour la bouteille responsable des entrées d'air et 4.5 bars pour celle qui sert d'air comprimé.

La commande de ces bouteilles est effectuée auprès de la société Air liquide et le personnel de la plateforme s'assure d'avoir toujours une bouteille d'azote d'avance pour effectuer le roulement qui se trouve sur le monte-charge du bâtiment IBCG.

	Mode Opératoire	Date : 05/06/2013
	Vérification et Maintenance Microscopie Electronique	Indice : 03

II Microscope JEOL 1400



1. Vérification:

a. Alignement du Microscope JEOL 1400

La procédure d'alignement complète du microscope est effectuée une fois par mois en routine ou à la suite d'une fiche anomalie mentionnant un problème d'alignement.

Cf document fournisseur JEOL procédure d'alignement complète.

b. Calibration et gains référence de la Caméra Gatan Orius SC1000B modèle 832

α -gain référence

On effectue un gain référence lorsque l'image se dégrade ou que l'on veut améliorer sa qualité.

	Mode Opérateur	Date : 05/06/2013
	Vérification et Maintenance Microscopie Electronique	Indice : 03

La procédure est la suivante :

- Enlever le diaphragme objectif
- Se mettre à 50 000 de grandissement
- Etaler le faisceau au max correspondant entre 1500 et 2000 coups (le bruit est de l'ordre de 1000 coups)
- Au niveau du mode CAMERA VIEW :
 - Se mettre en mode :
 - focus
 - Unprocessed
 - Binning 1
 - Full CCD
 - Tps d'expo 0.1 sec
- Dans le menu CAMERA : cliquer en premier sur remove dark reference
- Dans le menu CAMERA : cliquer sur prepare gain reference
 - o Target intensity (1/2 de la saturation qui est de 16000) donc on prend 5000 coups/pixels
 - o Frames to average = 4
 - o Faire OK
- Lever l'écran et mettre le cache et faire OK
- Pour régler la lumière, faire juste décoller le brightness au début de la gamme jaune, pas besoin d'être dans le vert
- Laisser la procédure de gain référence se faire jusqu'au bout sans rien modifier excepter la lumière si elle ne se trouve plus dans la gamme verte.

Rq = essayer d'être dans la bonne gamme d'illumination pour ne pas avoir à retoucher la lumière. Si on la retouche, repérer la valeur du current density à la fin de la procédure de gain référence et la relancer à cette valeur de current density.

Quand faire un gain référence :

- A la suite d'un bake caméra
- Quand on arrête le contrôleur de la caméra
- Quand on arrête l'effet peltier de la caméra (il faut l'arrêter généralement le vendredi soir, le rallumer le lundi matin et attendre que la température se stabilise à 10°C et refaire le gain)
- Si on veut optimiser l'image c'est-à-dire quand on change le voltage du microscope, l'échantillon etc...
- En routine au moins tous les mois

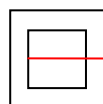
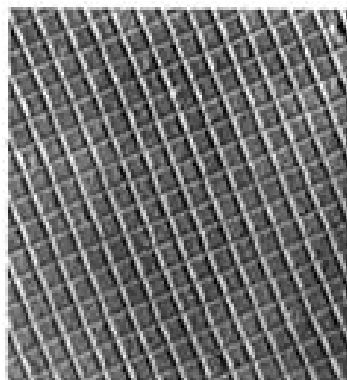
	Mode Opérateur	Date : 05/06/2013
	Vérification et Maintenance Microscopie Electronique	Indice : 03

β -calibration

La calibration de la caméra a été effectuée à l'installation des caméras pour chaque grandissement et pour chaque tension d'accélération. Cette calibration est vérifiée tous les 3 mois à l'aide d'une grille de référence (cf référence matériel).

Pour la procédure de calibration, cf documentation fournisseur GATAN sur l'ordinateur de la caméra (disque C programme file/GATAN/documentation)

- **Références matériel :**
 - Fournisseur Ted Pella ref #00289 grille Grating Replica, waffle 2160 lines/mm, sur grille de 3mm
 - Fournisseur EMS Grille Graphitized carbon black ref #80037
- Faire une acquisition au grandissement voulu
 - Cliquer sur « Microscope » puis « Calibrate image »
 - Mesurer 10 carreaux avec l'outil de mesure en plaçant un coté du trait rouge sur le bord intérieur du premier carreau et l'autre coté du trait sur le bord extérieur du dernier carreau.



- Rentrer la mesure réelle en nm de ces 10 carreaux qui est de 4630 nm car 1 carreau de la grille de référence mesure 463 nm et appuyer sur « calibrate »
- Répéter l'opération pour tous les grandissements.

	Mode Opératoire	Date : 05/06/2013
	Vérification et Maintenance Microscopie Electronique	Indice : 03

2. Maintenance :

a. Préventive :

α -microscope JEOL 1400

Changement du filtre d'eau glacée

Les lentilles sont refroidies à l'aide du circuit d'eau glacée du bâtiment.

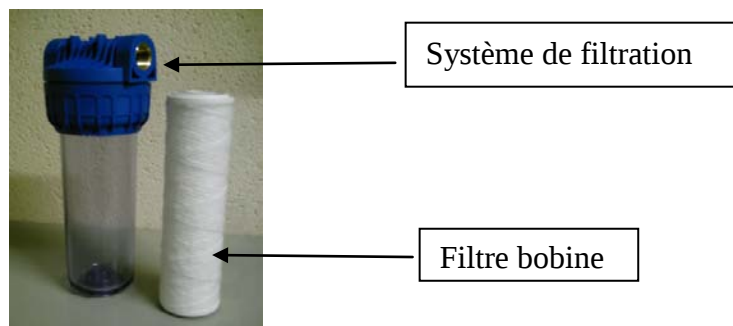
A l'arrivée de l'eau, un dispositif de filtration permet de purifier l'eau glacée qui arrive au refroidisseur eau/ eau du microscope.

Changer au moins une fois par mois le filtre en routine et aussi si la tension du microscope se coupe anormalement et que la température des lentilles est tiède (toucher avec la main la colonne), vérifier le débit de l'eau circulant et la couleur du filtre (blanc à brun). Cela peut arriver que l'eau glacée en été soit plus sale et sature rapidement le filtre (circuit des climatisations).

- Fermer les 2 vannes **A** et **B** et ouvrir la **C**



- Dévisser le système de filtration



	Mode Opérateur	Date : 05/06/2013
	Vérification et Maintenance Microscopie Electronique	Indice : 03

- Retirer le filtre usagé du réservoir
- Mettre un filtre neuf
- Revisser le système de filtration
- Ré-ouvrir les vannes A et B et fermer la C
- Vérification qu'il n'y ait pas de fuite

- **Référence matériel :**
- Filtre bobine de 25 MCR

β-Circulateur d'eau Kühlmobil 312-B400 - Van der Heijden

Maintenance du circulateur

Vérifier la température de l'eau du circulateur qui doit être à 18°C et vérifier le niveau de l'eau dans la cuve une fois par mois. Vérifier également qu'il n'y ait pas de message d'erreur.



Vidange du circulateur d'eau

Cette opération est à effectuer quand l'eau est devenue sale et qu'elle nécessite d'être renouveler.

Ajout d'anti-algue

Ajout d'anti-algue à la bonne concentration dans la cuve du circulateur pour éviter le développement d'algue qui à terme boucherait les tuyaux. Pour cela on ajoute 1 fois/an après la vidange de la chloramine T à la concentration de 1g/3.5l ou de l'algicide 2ml/30l. Et aussi régulièrement on ajoute de l'anti-algue pour éviter le développement d'algues.

	Mode Opérateur	Date : 05/06/2013
	Vérification et Maintenance Microscopie Electronique	Indice : 03

b. Curative

α- remplacement du filament de tungstène

Procédure complète cf document fournisseur JEOL

Filament en position OFF

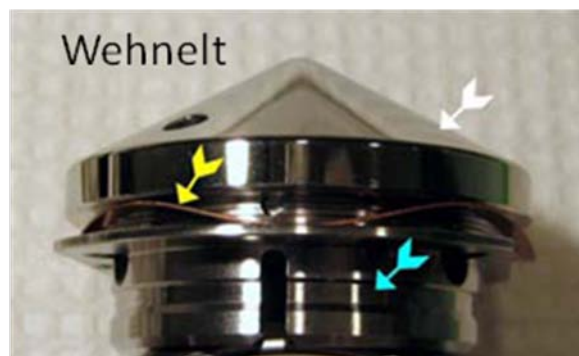
Tension OFF,

Ouvrir La vanne GUN AIR Canon et LIFT UP



Dévisser le Wehnelt , récupérer le porte filament

ATTENTION : WEHNELT CHAUD



Remettre le canon à pomper le temps du nettoyage (lift off et gun pump).

Nettoyer soigneusement le Wehnelt avec de la pâte Wenol et de l'acétone et le soniquer pour enlever les dépôts.

	Mode Opératoire	Date : 05/06/2013
	Vérification et Maintenance Microscopie Electronique	Indice : 03



Wehnelt Sale

Centrer le filament selon le descriptif (cf document constructeur) et régler la hauteur du filament en le faisant affleurer à la surface du wehnelt et ensuite en dévissant de 1 tour 3/4 pour être à la bonne hauteur.



Dispositif réglage En hauteur du filament

Nous disposons d'un Wehnelt supplémentaire, cela permet de préparer un filament d'avance en cas de casse.

Remettre le wehnelt à son emplacement dans le canon, **sans oublier de remettre la bague**



	Mode Opératoire	Date : 05/06/2013
	Vérification et Maintenance Microscopie Electronique	Indice : 03

Appuyer de nouveau sur Lift DOWN, le canon se referme automatiquement
Puis Gun Air désactivé, le pompage se remet en marche.
Attendre le feu vert VIDE SECONDAIRE pour remettre la tension



- **Référence matériel :**
- Fournisseur Jeol, EMS Filament type K ref #81041

β- remplacement bouteille d'azote :

On dispose d'une bouteille d'azote L50 pour le microscope Jeol 1400 sur laquelle est branché un double manomètre pour faire les entrées d'air et pour alimenter la partie pneumatique du microscope. Le remplacement de cette bouteille est effectué par le personnel PF dès qu'elle est vide. Ensuite il faut régler les manomètres pour avoir la bonne pression d'air : 0.3 bars pour les entrées d'air et 4.5 bars pour la partie pneumatique.

La commande de cette bouteille est effectuée auprès de la société Air liquide et le personnel de la plateforme s'assure d'avoir toujours une bouteille d'azote d'avance pour effectuer le roulement qui se trouve sur le monte-charge du bâtiment IBCG.