

Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung von Oberflächen mit Hilfe von Kohlehüllen*¹.

Von

F. Graseniek und R. Haefler.

Aus dem Physikalischen Institut der Technischen Hochschule Graz.

Mit 4 Abbildungen.

(Eingelangt am 19. Juni 1952. Vorzulegen in der Sitzung am 16. Okt. 1952.)

1. Einleitung.

In der Präparationstechnik spielen wegen der geringen Durchstrahlungsfähigkeit der Elektronen *Abdruckverfahren* eine hervorragende Rolle. Bei diesen Verfahren wird von den zu untersuchenden Objekten eine von Elektronen leicht durchstrahlbare und möglichst formgetreue Nachbildung angefertigt. Diese Nachbildungen, die als „Elektronenobjekt“ im Übermikroskop (ÜM) dienen, müssen einer Reihe von Forderungen genügen: Sie müssen mechanisch und chemisch hinreichend widerstandsfähig sein, um den Beanspruchungen durch die verschiedenen Arbeitsgänge standhalten zu können. Um die Elektronenobjekte im ÜM bei den höchsten Vergrößerungen betrachten und durchmustern zu können, sollen sie die erforderlichen hohen Bestrahlungsdichten zulassen. Die Eigenstruktur der Elektronenobjekte soll möglichst unter der Auflösung des ÜM liegen.

Die bewährten Abdruckverfahren, wie z. B. das Lackabdruckverfahren nach *Mahl*²⁻⁵, das Lack-Siliciummonoxyd-Abdruckverfahren, das

* Herrn Prof. Dr. *G. Jantsch* zu seinem 70. Geburtstag gewidmet.

¹ Über einen Teil der Ergebnisse und über das Verfahren, mit welchem die Abb. 2 gewonnen wurde, ist anlässlich der 2. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Elektronenmikroskopie in Hamburg 1951 bereits berichtet worden.

² *H. Mahl*, *Ergebn. exakt. Naturwiss.* **21**, 262 (1945).

³ *J. Hunger* und *R. Seeliger*, *Metallforsch.* **2**, 65 (1947).

⁴ *S. Mennenöh* und *M. Fahnenbrock*, *Z. wiss. Mikroskop.* **60**, 203 (1951).

⁵ *A. Schrader*, *Z. wiss. Mikroskop.* **60**, 309 (1952).

Aluminiumoxyd-Abdruckverfahren, liefern bei vielen Objekten kein befriedigendes Ergebnis. Einmal erlaubt die Nachbildung der Oberfläche in den besten Fällen nach Angabe verschiedener Autoren nur eine Auflösung von 8 bis 30 μ und andererseits sind diese Verfahren schlecht oder gar nicht mehr anzuwenden, wenn die Objekte so klein sind, daß sie nicht mehr zu handhaben sind, eine unmittelbare Betrachtung im ÜM aber versagt, weil die Objekte noch undurchstrahlbar sind, wie das z. B. bei vielen Kolloiden oder pulverförmigen Stoffen der Fall ist.

2. Die Verwendung von Kohleschichten für Oberflächenuntersuchungen.

Besonders aussichtsreich erschien es nun, für die Oberflächendarstellung *Kohlehüllen* zu verwenden. Solche erfüllen die angeführten Forderungen in weit höherem Maße als die meisten der bisher üblichen Abdruckverfahren. So sind sie sehr beständig gegen Chemikalien, widerstandsfähig gegen starke Elektronenbestrahlung, mechanisch äußerst fest und lassen sich mit so geringer Eigenstruktur darstellen, daß dieselbe unter der Auflösung des ÜM liegt. Alles das kann man sehr gut erkennen, wenn man Kollodiumhäutchen bestrahlt und sie dadurch in Kohlehäutchen überführt, so wie dies *H. Ruska*^{6, 7} vorgeschlagen hat, um stabile, unlösliche, strukturlose Objektträgerhäutchen herzustellen. Überraschend ist immer wieder die mechanische Stabilität dieser so erzeugten Kohleschicht. Wir verwendeten dieses Verfahren oft, um Objektträgerhäutchen herzustellen. Die dabei gewonnene Erfahrung kam uns bei den Versuchen, mit Kohlehüllen Abdrücke herzustellen, sehr zustatten.

Die Anwendung von Kohlehüllen hat sich bei uns für die Darstellung von Oberflächen, die schon mit den bisher üblichen Verfahren untersucht worden sind, bewährt. Hier bietet sie wesentliche Vorteile und Fortschritte. Besonders wichtig wurde sie aber für Objekte, die mit den bisherigen Methoden überhaupt nicht eingehend zu untersuchen waren. Über die Anwendung insbesondere auf die oben schon erwähnten kolloiden Teilchen soll hier näher eingegangen werden.

Um bei derartigen Stoffen die genaue Form und Oberflächenbeschaffenheit zu untersuchen, wurde anfänglich eine für diese Zwecke von *König*^{8, 9} vorgeschlagene Arbeitsweise versucht. Diese besteht darin, daß man die Präparate mit einer Kohleschicht umhüllt und anschließend die undurchstrahlbaren Objekte herauslöst und die verbleibende Kohlehülle

⁶ *H. Ruska*, Naturwiss. 27, 287 (1939).

⁷ *H. Ruska*, Siemens-Z. 20, 228 (1940).

⁸ *H. König* und *G. Helwig*, Z. Physik 129, 491 (1951).

⁹ *H. König*, Naturwiss. 35, 261 (1948).

als Elektronenobjekt verwendet. Die Kohlehülle soll dabei durch Einbringen der Präparate in den Entladungsraum einer mit Kohlenwasserstoffen betriebenen Glimmentladung erzeugt werden. Auf diese Weise konnten wir aber zunächst keine befriedigenden Ergebnisse erzielen. Die entstandenen Hüllen waren mechanisch so wenig widerstandsfähig, daß sie teils während des HerauslöSENS fortgespült, teils stark deformiert wurden. Die Erklärung für diesen Befund dürfte sein, daß die Hüllen nicht aus Kohlenstoff allein bestehen, sondern daß sich bei diesem Vorgang ein organisches Polymerisationsprodukt bildet. Die Mikroanalyse ergab die Bruttoformel $C_{10}H_7$.

Eine Reihe von Verfahren zur Erzeugung geeigneter Kohlehüllen soll im folgenden mitgeteilt werden. Es handelt sich um:

I. Auftragen einer Polymerisationsschicht durch eine Glimmentladung in einer Kohlenwasserstoffatmosphäre und nachträgliche Einwirkung von Elektronenstrahlen.

II. Zerstäubung von Kohleelektroden in verschiedenen Gasatmosphären, wie z. B. Wasserstoff und Argon.

III. Einwirkung von Elektronenstrahlen auf die Objekte in einer At-

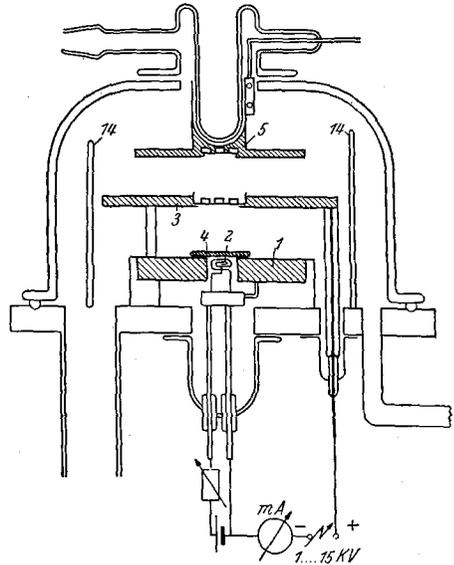


Abb. 1 a.

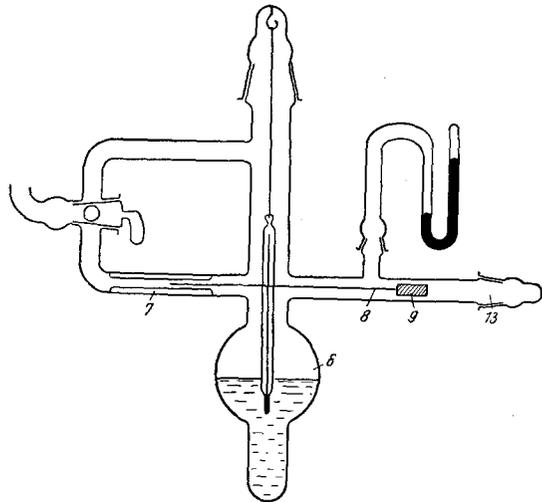


Abb. 1 b.

Abb. 1. Versuchsanordnung zur Erzeugung von Kohlehüllen.

mosphäre von gasförmigen Kohlenwasserstoffen oder sonstigen kohlehaltigen Gasen bei geringen Drucken (10^{-2} bis 10^{-4} Torr).

IV. Adsorption von organischen Substanzen.

3. Versuchsanordnung für die Verfahren I, II und III.

Es kann eine Apparatur verwendet werden, wie sie auch für Aufdampfzwecke üblich ist, nur müssen eine Reihe von Einbauten und Ergänzungen vorgenommen werden, wie sie aus Abb. I ersichtlich sind.

Die Entladungsstrecke ist in einer Vakuuglocke untergebracht. Die Kathode 1 besteht aus einer Kohleplatte von 10 cm Durchmesser und 1 cm Dicke. Um zu erreichen, daß die Entladung nur an der oberen Seite der Kathode ansetzt, ist die Kohleplatte in einen Ring aus Isoliermaterial gefaßt. In der Mitte hat die Kathode eine Bohrung von 1,5 cm Durchmesser, in der sich die Glühkathode 2 befindet. Um über einen großen Winkelbereich eine möglichst gleichmäßige Elektronenstromdichte zu erhalten, empfiehlt sich eine großflächige Kathode. Diese wird am einfachsten und für unsere Zwecke völlig ausreichend durch eine ebene Spirale aus Wolframdraht (5 Windungen, 0,2 mm Drahtdurchmesser) verwirklicht. Es wird dann bei 15 kV Anodenspannung auf der in 3 cm Entfernung befindlichen Anode eine Kreisfläche von 5 cm Φ von Elektronen getroffen. Die Anode 3 ruht auf einem Dreifuß aus Glas. Sie enthält auf konzentrischen Kreisen angeordnet eine große Anzahl von Bohrungen, in die die Objektträgerblenden mit dem Objekt nach unten gerichtet hineingelegt werden.

Hat man es mit Objekten zu tun, von denen man im gekühlten Zustand einen Kohleabdruck zu machen wünscht, wie es z. B. bei biologischen Objekten oder empfindlichen chemischen Substanzen, die im Vakuum leicht sublimieren, der Fall sein kann, so verwendet man als Anode den auf der Kühlfalle angeordneten Objektträger 5. Die Anode 3 wird in diesem Fall entfernt. Während der Glimmentladung ist die Bohrung in der Kohlekathode durch das Kohleplättchen 4 verschlossen, das von außen magnetisch bewegt werden kann. Dieses Verschließen hat den Zweck, einerseits für eine gleichmäßige Verteilung der Entladung über die Kathodenfläche zu sorgen und andererseits zu verhüten, daß sich Kohlenstoffverbindungen auf der Glühspirale niederschlagen. Diese Kohlenstoffverbindungen würden nämlich beim anschließenden Glühen der Kathode im Hochvak. verdampfen und auf den Objekten eine nicht erwünschte Beschattung hervorrufen. Es ist zweckmäßig, den eigentlichen Entladungsraum mit einem Glaszylinder 14 zu umgeben. Die Glocke wird mittels einer Diffusionspumpe evakuiert. Die Druckmessung erfolgt mit einem Ionisationsmanometer mit kalter Kathode, über das in Kürze gesondert berichtet wird.

In einer mit Schliffverbindungen versehenen Apparatur wie der vorliegenden erhält man eine konstant brennende Glimmentladung nur, wenn man bei durchströmendem Gas und saugender Pumpe arbeitet. Die durchströmende Gasmenge und damit der Druck im Entladungsraum wird mit Hilfe der Gasdosierapparatur in Abb. I geregelt. Diese ist im wesentlichen ein Vorratsbehälter 6, aus dem das Gas über eine Kapillare 7 in den Entladungsraum strömt. Der Strömungswiderstand der Kapillaren kann noch durch einen Draht 8, der durch das Eisenstück 9 magnetisch bewegt werden kann, verändert werden. Kohlenwasserstoffe füllt man in den Ansatz

ein, der im Bedarfsfall zum Zwecke der Druckerniedrigung gekühlt werden kann. Gase werden aus einem Behälter mit Gasschleuse über den Schließansatz 13 zugeleitet.

4. Beschreibung von Verfahren I.

Bei dem ersten der genannten Verfahren läßt man zwischen den Elektroden eine Glimmentladung in einer Atmosphäre von beispielsweise Benzol oder Benzol-Tetrachlorkohlenstoff (1 : 1) bei 1 kV Spannung und 10 mA Strom brennen. Der Druck wird dabei so eingestellt, daß der Kathodendunkelraum einige Millimeter vor der Anode endet. Üblicherweise verwendet man bei einer derartigen Glimmentladung Aluminiumelektroden, die vor jedem Versuch sorgfältig gereinigt werden müssen, da die kohlenstoffhaltigen Niederschläge auf der leicht oxydierbaren Aluminiumkathode der Ausgangspunkt von Spritzentladungen sind. Man sieht dann intensiv weiß leuchtende, fadenförmige Entladungen übergehen, die wie Irrlichter auf der Kathode herumtanzen. Trifft ein solcher Entladungsfaden eine Objektblende, so wird das Objekt meistens zerstört. Verwendet man hingegen, wie oben beschrieben, *Kohleelektroden*, so tritt diese störende Erscheinung nicht auf und die Elektroden brauchen daher niemals gereinigt zu werden. Die Dauer der Entladung richtet sich nach der gewünschten Schichtdicke. Diese wiederum muß so bemessen sein, daß sie einerseits der Kohlehülle eine hinreichende mechanische Festigkeit verleiht, andererseits eine genügende Kontrastwirkung im elektronenmikroskopischen Bild erzeugt. Es hat sich ergeben, daß Schichtdicken von 50 m μ diese Forderungen erfüllen. Rechnet man nach *König* mit einer Dichte von 1,4 g/cm, so entspricht dies einer Masse von $7 \cdot 10^{-6}$ g/qcm. Eine solche Schichtdicke wird in etwa 20 Min. erreicht.

Bis hierher folgen wir bis auf einige Verbesserungen, die sich aus der Praxis ergeben haben, dem Vorschlag von *König*. Wir stellten noch fest, daß es gleichgültig ist, ob die Objekte auf der Anode, Kathode oder an einer beliebigen Stelle des Entladungsraumes sich befinden. Wir wählten die Anode als Blendenträger mit Rücksicht auf die nachfolgende Elektronenbestrahlung. Es erwies sich ferner als gleichgültig, ob die Glimmentladung mit Gleich- oder Wechselspannung betrieben wird.

Die auf das Objekt treffenden Elektronen müssen mindestens die zur Aufhebung einer C—H-Bindung erforderliche Energie besitzen. Diese sogenannte Trennungsenergie, mit deren Hilfe sich in roher Annäherung additiv die Dissoziationsarbeit organischer Moleküle berechnen läßt, ist für eine C—H-Bindung ebenso wie auch für eine C—O- oder C—Cl-Bindung rund 100 kcal/Mol. Das entspricht rund 4 eV. Elektronen mit Geschwindigkeiten der Größenordnung 10 eV kommen aber be-

kanntlich im anodischen Teil der Glimmentladung vor, so daß es zunächst den Anschein hat, als müßten diese Elektronen bereits für eine vollständige Dehydrierung des Polymerisats sorgen.

In der Glimmentladung werden die Kohlenwasserstoffe durch Elektronen- und Ionenstoß zerlegt. Es entstehen Wasserstoff und Radikale bzw. ungesättigte Verbindungen. Diese Radikale können beim Zusammenstoß Polymerisationsprodukte bilden. Treffen diese Polymerisate auf die Objekte, so werden sie wegen des niedrigen Dampfdruckes adsorbiert. Der Druck im Entladungsraum ist so hoch, daß die Polymerisate von allen Seiten auf das Objekt fliegen und es daher gleichmäßig umhüllen. Dieser Vorgang der Polymerisatbildung vollzieht sich auch teilweise direkt auf der Oberfläche des Objektes, da dort einzelne Moleküle oder deren Spaltprodukte adsorbiert werden und auch hier von Elektronen und Ionen getroffen werden. Hier scheint es wesentlich, daß der Vorgang der Dehydrierung und damit Aktivierung der Kohlenwasserstoffe auch in umgekehrter Richtung verlaufen, das heißt, daß an dehydrierte Moleküle auch wieder Wasserstoff angelagert werden kann.

Nach einiger Betriebsdauer stellt sich in der Glimmentladung ein Gleichgewichtszustand zwischen sämtlichen Reaktionspartnern ein. Daß überhaupt die Polymerisationsschichten wachsen, liegt daran, daß die Polymerisationsprodukte infolge ihres geringen Dampfdruckes aus dem Entladungsraum entfernt werden. Um nun Kohlehüllen von bestimmter Schichtdicke zu erhalten, muß die Glimmentladung nach Erreichung einer geeigneten Schichtdicke des Polymerisationsproduktes unterbrochen und eine vollkommene Dehydrierung herbeigeführt werden. Das geschieht im Hochvakuum durch Elektronenbeschuß. Dabei ist das Gleichgewicht vollkommen in Richtung der Dehydrierung verschoben, weil der entstehende Wasserstoff laufend fortgeführt wird¹⁰.

Die ersten Versuche der Dehydrierung wurden *im Elektronenmikroskop selbst* vorgenommen. Hier ist es leicht möglich, die Bestrahlung zu variieren und so geringe Elektronenstromdichten und so hohe Spannungen anzuwenden, daß auch empfindliche Objekte infolge der örtlichen Erwärmung an der Oberfläche keinen Schaden leiden. Es wurden z. B. die Polymerisationsprodukte bei 80 kV mit einer Elektronenstromdichte von $5 \cdot 10^{-6}$ A/qcm 1 bis 2 Min. bestrahlt. Anschließend wurde das Objekt herausgelöst und die Kohlehülle als Elektronenobjekt im Übermikroskop betrachtet. Abb. 2 zeigt uns eine so erhaltene Aufnahme von Magnesiumoxyd, das durch Verbrennen von Magnesiumband und Auffangen des Rauches auf einer Trägerfolie gewonnen wurde. Die Trägerfolie selbst zeigt keinerlei Eigenstruktur, woraus zu entnehmen

¹⁰ Eine Verschiebung des Gleichgewichtes in Richtung der Dehydrierung ist aber auch möglich durch chemische Zusätze, wie z. B. Chlor oder chlorhaltige Substanzen.

ist, daß die nach dem obigen Verfahren gewonnene Kohleschicht keine auflösbare Eigenstruktur besitzt. Obwohl Magnesiumoxyd schon häufig untersucht worden ist, konnte erst durch das oben beschriebene Verfahren eine genaue Darstellung der Oberflächenstruktur ermöglicht werden. Es sind selbst Feinheiten, wie sie durch das Kristallwachstum hervorgerufen werden, zu entnehmen. Die Höhe der Stufen beträgt bei den großen Kristallen ungefähr $20\text{ m}\mu$. Die Seitenflächen zeigen eine körnige Struktur, die möglicherweise Äußerungen der Mosaikstruktur sein können. Je nach Neigung der abbildenden Elektronenstrahlen zu den Gitterstufen erscheinen diese mehr oder weniger stark zusammengedrängt. Sie können auch zu einem dunklen Strich verschwimmen, wenn der Abstand zweier Stufen unter dem Auflösungsvermögen des Gerätes liegt. Aus dem gerade noch trennbaren Strichabstand kann das Auflösungsvermögen des Gerätes ermittelt, bzw. die Güte des Präparationsverfahrens erkannt werden.

Für präparative Arbeiten ist es aber zweckmäßiger, die Elektronenbestrahlung nicht im Mikroskop selbst vorzunehmen, sondern unter der Vakuumbglocke im Anschluß an die Herstellung des Polymerisationsproduktes. Man

hat dann den Vorteil, daß man in einem Arbeitsgang eine größere Zahl von Objektblenden mit Elektronen bestrahlen kann.

In der Glocke lassen sich so hohe Spannungen wie im ÜM nicht beherrschen. Die obere Grenze liegt bei 30 kV , wenn man keinen besonderen Aufwand hinsichtlich Formgebung und Oberflächenbeschaffenheit der Elektroden treiben will. Wir verwendeten 15 kV bei Stromdichten zwischen 10^{-5} und 10^{-6} A/qcm . Die Bestrahlungszeiten liegen dabei zwischen 10 und 30 Min. Hier richtet sich die Arbeitsweise nach dem Objekt. Man wählt lieber eine längere Bestrahlungszeit bei kleiner Stromdichte, was aufwandsmäßig infolge der großen Anzahl der Objekte, die gleichzeitig bestrahlt werden, keine Rolle spielt.

Es sei noch erwähnt, daß man sogar bei einer Spannung von 3 kV die Kohlehülle vollständig dehydrieren kann. Diese Spannung dürfte etwa der unteren Grenze der überhaupt zu verwendenden Spannung ent-

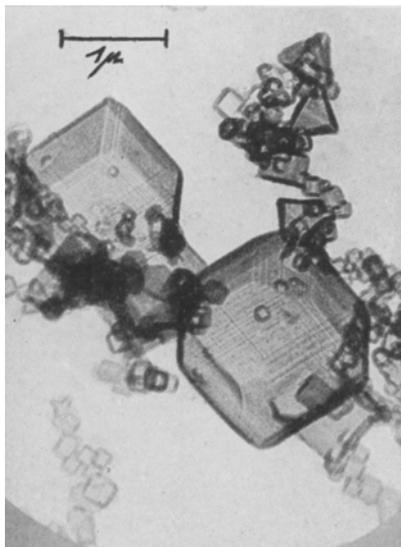


Abb. 2. Kohlehülle von Magnesiumoxyd.

sprechen. Die Elektronen müssen nämlich mindestens eine solche Energie besitzen, daß sie die Polymerisationsschicht zu durchsetzen vermögen. Nur so kann sie auch im Inneren vollständig dehydriert werden. Für eine Schicht von $50\text{ m}\mu$ Dicke, die normal zum Elektronenstrahl steht, findet man, daß zur vollständigen Durchdringung eine Energie von mindestens 1000 eV erforderlich ist. Für Schichten, die nicht normal zum Elektronenstrahl stehen, ist die erforderliche Energie entsprechend größer.

5. Beschreibung von Verfahren II.

Die Methode der Glimmentladung in einer Kohlenwasserstoffatmosphäre versagt dann, wenn es sich um Objekte handelt, die im Vakuum gekühlt werden müssen, weil die Kohlenwasserstoffdämpfe sich auf dem Objekt kondensieren würden. Diese Tatsache, sowie der Umstand, daß bei dieser Methode besondere Vorkehrungen zu treffen sind, um das Öl der Diffusions- und der Vorvakuumpumpe vor Kohlenwasserstoffdämpfen zu schützen, veranlaßten uns, weitere Verfahren zur Erzeugung der Kohlehüllen zu entwickeln, bei denen diese Nachteile vermieden werden. Es war naheliegend, die Kathodenzerstäubung von Kohle zu probieren, weil sie unter gewissen Bedingungen auch erwarten ließ, reine Kohlehüllen zu erhalten, ohne über die Zwischenstufe der Polymerisationsschicht gehen zu müssen, das heißt also ohne nachträglichen Beschuß mit Elektronen.

Wie *Güntherschulze*¹¹ schon 1926 feststellte, wird Kohlenstoff in Wasserstoff etwa ebenso stark zerstäubt wie Kupfer. Danach wäre eine rasche Bildung von Kohlehüllen zu erwarten. In Wirklichkeit dauert aber die Bildung hinreichend dicker Schichten unter den gleichen Bedingungen von Strom, Spannung und Druck wie bei dem oben besprochenen Verfahren etwa 2 Stdn.

Der Grund hierfür ist folgender: Die auf die Kathode treffenden Wasserstoffionen bilden mit dem zerstäubten Kohlenstoff Kohlenwasserstoffe. Diese diffundieren in den Gasraum und werden dort durch Stoß von Elektronen oder Ionen zerlegt und bilden Niederschläge. Wir haben damit ähnliche Verhältnisse, wie wir sie oben besprochen haben. In den sich bildenden Niederschlägen herrscht ein Gleichgewichtszustand zwischen dem sich niederschlagenden Produkt und der von den auftreffenden Wasserstoffionen bzw. ungesättigten C—H-Verbindungen wieder aufgelösten Menge. Ähnlich wie Kohlenstoff verhalten sich übrigens auch As, Bi, Sb, Te und *Güntherschulze* spricht in diesem speziellen Falle der Kathodenzerstäubung, wo chemische Reaktionen zwischen Kathodenmaterial und Füllgas eine wesentliche Rolle spielen, von elektrochemischer Kathodenzerstäubung. Im Falle des Kohlenstoffs äußert

¹¹ *A. Güntherschulze*, Z. Physik **36**, 563 (1926).

Güntherschulze bereits die Vermutung, daß die Niederschläge ein Polymerisationsprodukt seien.

Man kann die zur Zerstäubung notwendige Zeit wesentlich verringern, indem man während der Zerstäubung die Glühkathode einschaltet und zusätzlich einen Elektronenstrom der Dichte 10^{-4} A/cm² übergehen läßt. Dadurch wird der Gleichgewichtszustand zugunsten des kohlenstoffhaltigen Niederschlages verschoben. Man erzielt ausreichend dicke Schichten in 20 Min., die anschließend im Hochvakuum noch dem oben

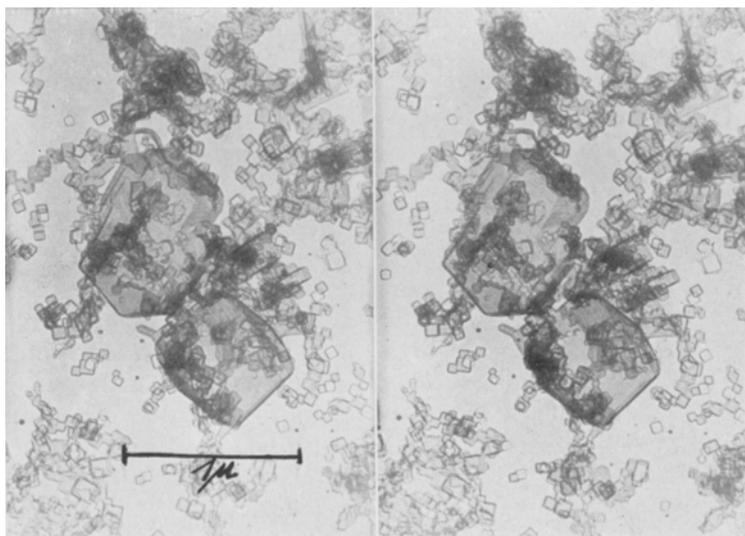


Abb. 3. Kohlehüllen von Magnesiumoxydrauch, die nach Verfahren II gewonnen wurden.

besprochenen Elektronenbombardement ausgesetzt werden müssen. Die erhaltenen Kohlehüllen liefern ein einwandfreies elektronenmikroskopisches Bild.

Aus Abb. 3 kann vor allem auf die außerordentliche mechanische Festigkeit der Kohlehüllen geschlossen werden. Bei der Betrachtung des Bildpaares mit einem Stereoskop kann man ersehen, daß die Magnesiumoxydkristalle Brücken und Türme bilden. Sie hängen oft nur an Ecken und Kanten zusammen, die großen Kristalle liegen nicht auf der Trägerfolie, sondern sitzen auf solchen Gebilden auf und es hat den Anschein, daß sie frei im Raum schweben. Da Magnesiumoxydkristalle in verschiedenen Größen vorkommen, eine regelmäßige Form haben, Feinstrukturen, wie Gitterwachstumsstufen, besitzen und sich infolge der Wirkung der starken Oberflächenkräfte zu größeren Aggregaten zusammenlagern, eignen sie sich in hervorragender Weise als Testobjekte für übermikroskopische Präparationsversuche. (Die Reproduktionen lassen nicht so viele Einzelheiten erkennen wie die Original-

aufnahmen, sodaß sie nicht in vollem Umfange als Maß für die Leistungsfähigkeit der Präparationsmethoden gewertet werden können.)

Betreibt man die Kathodenzerstäubung von Kohle in einem inerten Gas, wie Stickstoff oder Argon, so ist zu erwarten, daß die entstehenden Schichten aus reinem Kohlenstoff bestehen und daß daher auf den nachträglichen Elektronenbeschuß verzichtet werden kann. Diese Erwartung wurde nur bis zu einem gewissen Grad erfüllt. Die Kohlehüllen von Teilchen bis zum Durchmesser $0,1 \mu$ sind ausreichend stabil. Die Hüllen größerer Teilchen hingegen sind durch die Beanspruchung beim Lösen deformiert worden. Offenbar bestehen die Schichten nicht aus reinem Kohlenstoff, sondern enthalten noch Kohlenwasserstoffe, wenn auch in geringerem Maße als bei den zuvor erwähnten Verfahren. Die Entstehung von Kohlenwasserstoffen ist auch durchaus verständlich, wenn man bedenkt, daß Wasserdämpfe an den Wänden der Apparatur absorbiert sind, daß die Kohleelektrode wasserstoffhaltige Verunreinigungen enthält und daß Fettdämpfe, die sich in der Gasentladung zersetzen, nicht zu vermeiden sind.

Für die Auffassung, daß die Schichten einen geringeren Wasserstoffgehalt haben als die nach dem früheren Verfahren, spricht auch die Tatsache, daß die Schichten eine wesentlich geringere Porosität und damit höhere Dichte haben als die z. B. nach Verfahren I hergestellten Schichten. Das Herauslösen dauerte bei den in Argon hergestellten Schichten 5- bis 20mal länger als bei den nach Verfahren I hergestellten. Je nach Arbeitsbedingungen kann also die Dichte und damit die *Porosität* der Kohlehüllen *in einem weiten Bereich variiert* werden. Dies ist bedeutungsvoll für das präparative Arbeiten. Soll die Kohleschicht auch feinste Objekteinzelheiten möglichst genau nachbilden, so wird man dichte Kohlehüllen anstreben. Läßt man während der Zerstäubung zusätzlich von der Glühkathode einen Elektronenstrom, wie oben erwähnt, ausgehen, so erhält man auch ohne nachträgliches Bombardement sofort stabile Kohlehüllen. Die Bemühungen, Kohlehüllen bei extrem sauberen Bedingungen ohne gleichzeitige oder nachträgliche Elektronenbestrahlung herzustellen, sind zur Zeit noch im Gange.

6. Beschreibung von Verfahren III.

Im ÜM legt sich bekanntlich infolge der durch Vakuumfett und Gummidichtungen erzeugten kohlenwasserstoffhaltigen Atmosphäre nach längerer Bestrahlungsdauer ein Kohlefilm um das Objekt. Ebenso kann man auch in kürzerer Zeit unter der Vakuumglocke eine Kohlehülle erzeugen, wenn man das Objekt mit Elektronen beschießt. In die Nähe der Elektronenquelle wird dabei ein kleines Vorratsgefäß mit beispielsweise Vakuumfett gestellt, das durch Wärmestrahlung von der Glüh-

spirale eine geringe Temperaturerhöhung erfährt. Man kann durch den Abstand je nach dem verwendeten Fett den Dampfdruck variieren. Auch nach diesem Verfahren konnten, wie zu erwarten, einwandfreie Ergebnisse erzielt werden.

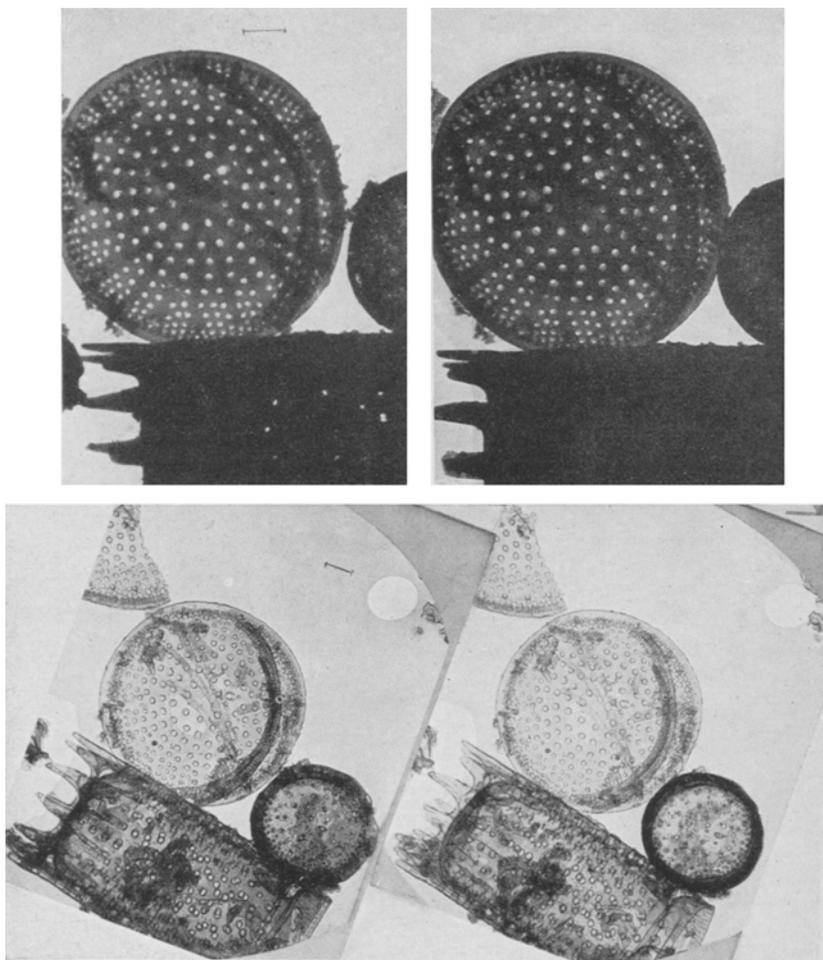


Abb. 4. Kieselgur (Kieselsäureskelette von Diatomeen).

7. Beschreibung von Verfahren IV.

Wendet man die nachträgliche Elektronenbestrahlung an, so erhält man stabile und formgetreue Kohlehüllen auch dann, wenn die Umhüllung des Objektes mit organischer Substanz durch Adsorption erfolgt.

Nach diesem Verfahren ist in Graz Abb. 4 entstanden, als die oben beschriebene Apparatur noch nicht zur Verfügung stand.

Das Präparat wurde zuerst ohne spezielle Vorbehandlung aufgenommen (*oberes* Bildpaar). Nur die in der Mitte des Bildes befindliche Diatomee ist so gut durchstrahlbar, daß unmittelbar der strukturelle Aufbau zu erkennen ist. Die zylindrisch geformte Diatomee am unteren Rande des Bildes ist undurchstrahlbar und daher eine genauere Beurteilung nicht möglich.

Aus diesem Grunde wurde das Präparat weiterbehandelt, das heißt, es wurde das Kieselsäureskelett mit einer dünnen Kohlehülle umgeben, deren Eigenstruktur unterhalb der Auflösung des Elektronenmikroskops liegt und daraufhin die Kieselsäure herausgelöst (*unteres* Bildpaar). Aus der Gegenüberstellung dieser beiden Bilder ergibt sich nun zweierlei:

1. Durch die Präparation ist auch die zuerst undurchstrahlbare zylindrische Form in ihrer Struktur erkennbar geworden und

2. an der in der Mitte des Bildes befindlichen, schon zuerst gut durchstrahlbaren Form erkennt man, daß die Präparationsmethode keine Veränderungen bewirkt hat und es auf diese Weise wirklich möglich ist, die tatsächlichen Verhältnisse herauszuarbeiten und der Schluß berechtigt ist, daß die Kohlehülle des ursprünglich undurchstrahlbaren Teiles dessen Formen richtig wiedergibt.

Zusammenfassend erkennt man, wie sehr die übermikroskopischen Aufnahmen von der Präparationsmethode abhängen und auch, daß die richtige Beurteilung des räumlichen Aufbaues der Präparate erst durch die *Stereo*-aufnahmen einwandfrei möglich ist, welche auch Vermessungen in der Richtung der optischen Achse zulassen.

Es wurde Methylenblau auf Kieselgur adsorbiert, dann das Präparat im $\bar{U}M$ 20 Sek. bestrahlt und die Kieselsäure mit Flußsäure herausgelöst. Bei sehr viel längerer Bestrahlung, z. B. 15 bis 30 Min., je nachdem, ob viel oder wenig Kohlenwasserstoffe im $\bar{U}M$ -Vakuumraum vorhanden sind, entstehen stabile Kohlehüllen auch im $\bar{U}M$, ein Weg, der für praktische Zwecke im allgemeinen natürlich nicht gangbar ist (vgl. dazu auch die Beobachtungen über das Wachsen von Präparaten im $\bar{U}M^{12}$). Je nach der chemischen Natur des Adsorbens muß die organische Substanz gewechselt werden. Das ist besonders wichtig bei manchen kristallinen Substanzen. So können Kaolinteilchen durch anionenaktive und nicht-ionogene Netzmittel nicht gleichmäßig umhüllt werden¹³, da diese sich nur an den Kanten bevorzugt anlagern. Wohl gelingt das aber mit kationenaktiven Netzmitteln. Konzentration und Einwirkungsdauer müssen fallweise durch einige orientierende Versuche festgelegt werden.

¹² *J. H. L. Watson*, *J. appl. Physics* **18**, 153 (1947). — *V. E. Cosslett*, *ibid.* **18**, 844 (1947). — *J. Hiller*, *ibid.* **19**, 226 (1948). — *J. H. L. Watson*, *ibid.* **19**, 110 (1948). — *E. F. Burton*, *R. S. Sennet* und *S. G. Ellis*, *Nature* (London) **160**, 565 (1947). — *J. H. L. Watson*, *J. appl. Physics* **19**, 713 (1948). — *H. König* und *A. Winkler*, *Naturwiss.* **35**, 136 (1948). — *H. König*, *ibid.* **35**, 261 (1948).

¹³ *P. A. Thiessen*, *Z. Elektrochem.* **48**, 675 (1942).

Diese Versuche ergeben meist wertvolle Aufschlüsse über die Ladungsverhältnisse in den Kristallflächen.

8. Das Herauslösen der Substanzen aus ihrer Kohlenumhüllung.

Da die Kohleschicht gegen eine Reihe von Agenzien vollkommen stabil ist, gelingt das Herauslösen in sehr vielen Fällen ohne besondere Mühe. Die bei den Siemens-Mikroskopen üblichen Objektträgerblenden aus Gold-Platin haben sich infolge ihrer Widerstandsfähigkeit und ihrer günstigen Form sehr bewährt. Ihre Form erlaubt es, mit dünnen Kapillaren Wassertropfen verschiedenen Volumens aufzusetzen, die leicht haften und infolge der Oberflächenspannung bedeutend größer sein können als die Blende selbst. Die Tropfen lassen sich mit feinen Kapillaren, wie sie bei mikrochemischen Arbeiten üblich sind, aufsetzen, verkleinern oder ganz absaugen. Dasselbe gilt natürlich auch für die Säuren oder Agenzien, welche zum Herauslösen der Objekte dienen. Zweckmäßig verwendet man dafür sehr verdünnte Reagenzien, damit die Hülle nicht unnötig beansprucht wird. Beim Herauslösen von Magnesiumoxydkristallen aus ihrer Kohlehülle wurde verdünnte Salzsäure (von $\frac{1}{10}$ bis 5%) versucht. Nach dem Herauslösen wird mehrmals ein Tropfen destilliertes Wasser aufgesetzt und nach ungefähr 10 Min. wieder abgesaugt. In allen Fällen gelang das Herauslösen einwandfrei. Damit der Wassertropfen bzw. der verd. Säuretropfen nicht eintrocknet, ist es zweckmäßig, diesen Prozeß in einer kleinen mit Feuchtigkeit gesättigten Kammer durchzuführen. Die Dauer des Vorganges schwankt je nach der Säurekonzentration und der Dicke und Dichte der Kohlehülle von wenigen Minuten bis zu fast einer Stunde. Man kann diesen Vorgang so gut in die Hand bekommen, daß das Herauslösen der Substanzen in Etappen erfolgen kann, wobei inzwischen immer wieder Aufnahmen von der fortschreitenden Herauslösung gemacht werden können (siehe z. B. die Abb. 5a der Arbeit von *Grasenick, Probst, Ratzenhofer*¹⁴). Bei Magnesiumoxyd gelang uns das Herauslösen in 4 Etappen und es konnten Rückschlüsse auf die außerordentlichen Konzentrationsschwankungen im Mikrobereich gewonnen werden. Es hat sich als vorteilhaft erwiesen, die Objektträgerblenden nur mit einem Wassertropfen zu versetzen und sie dann gemeinsam mit einem kleinen Schälchen, in welchem sich das Reagens befindet, in eine geschlossene Kammer zu bringen, wo durch isotherme Destillation der Wassertropfen sich allmählich mit diesem Reagens anreichert. Dieses Verfahren, das der Chemiker zur besonders sauberen Herstellung von Reagenzien verwendet, ist hier sehr zu empfehlen; sinnvoll ist es z. B., die Flußsäure, die mit Glaskapillaren

¹⁴ Mh. Chem. 83, 1062 (1952).

nicht gehandhabt werden kann, in kleinen Platinschälchen in einer paraffinierten Kammer unterzubringen. Diese mikrochemische Art, mit Flußsäure zu arbeiten, wurde von *Wiesenberger* in die elektronenmikroskopische Präparationstechnik eingeführt und von ihm bei dem Präparat, das Abb. 4 zeigt, angewendet.

Die Grenzen des Verfahrens liegen dort, wo es nicht mehr gelingt, die Substanzen ohne Beschädigung der Kohlehüllen herauszulösen. Wie weitgehend es sich aber bewährt, ist vielleicht daraus ersichtlich, daß es *Wiesenberger*¹⁵ gelang, es auf Bariumsulfat anzuwenden.

Nicht anwendbar ist das Verfahren für oxydierende Reagenzien, weil dadurch die Kohlehülle selbst angegriffen wird. Für Objekte, die sich vor allem durch solche oxydierende Reagenzien beseitigen lassen, haben Siliciumoxydhüllen eine ähnliche Bedeutung erlangt. Auch Siliciumoxydschichten erfüllen wie Kohleschichten die eingangs erwähnten Forderungen, die an Elektronenobjekte gestellt werden müssen. Über diese Ergebnisse soll an anderer Stelle berichtet werden.

Zusammenfassung.

Es werden eine Reihe von Angaben zur Herstellung von Kohlehüllen gemacht, die sich, wie an einigen Beispielen gezeigt werden kann, hervorragend zur Darstellung von Präparaten für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen eignen. Infolge ihrer außerordentlichen mechanischen Festigkeit und chemischen Widerstandsfestigkeit können Oberflächenstudien von kolloidalen Teilchen durchgeführt werden, die bisher der Untersuchung nicht zugänglich waren.

Die hohe Auflösung, die mit diesem Verfahren erzielt werden kann, und die sonstigen günstigen Eigenschaften der Kohleschichten ergeben eine Reihe von Fortschritten auch bei der Untersuchung von Oberflächen, die bisher mit anderen Abdruckverfahren behandelt worden sind. Darüber und über die Ergebnisse, die bei der Verwendung von Siliciumoxydschichten als Umhüllungssubstanz und von Siliciumoxydschichten in Verbindung mit Kohleschichten für Abdruckzwecke erzielt wurden, soll in der nächsten Veröffentlichung berichtet werden.

¹⁵ Er berichtete darüber auf der 3. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Elektronenmikroskopie in Tübingen im Juni 1952.