

Das Zusammenwirken von Phasen- und Amplitudenkontrast in der elektronenmikroskopischen Abbildung

Von F. LENZ und W. SCHEFFELS

Aus dem Institut für Elektronenmikroskopie, Düsseldorf, und dem Institut für Elektronenoptik und Feinmechanik der Technischen Hochschule Aachen

(Z. Naturforsch. 13 a, 226—230 [1958]; eingegangen am 16. Dezember 1957)

Die Abhängigkeit des Kontrastes in der elektronenmikroskopischen Abbildung von der Schärfe der Fokussierung wird für einige Objektmodelle mit vorgegebenen örtlichen Verteilungen des Streuabsorptionskoeffizienten und des Brechungsindex für Elektronen mittels der Kirchhoffschen Formel berechnet. Die gefundene Abhängigkeit des Kontrastes bestimmter Objektdetails vom Abstand zwischen Fokussierungsebene und Objektebene ist in guter qualitativer Übereinstimmung mit den Bildkontrasten, die an einer Reihe von bei verschiedener Defokussierung aufgenommener Abbildungen eines Dünnschnitts durch eine markhaltige Nervenfasern beobachtet wurden.

Die berechneten und im elektronenmikroskopischen Bild beobachteten Kontraständerungen durch Defokussierung werden an Hand eines lichtmikroskopischen Modellversuchs (Fokussierungsreihe eines Strichgitters) weiter veranschaulicht.

Bei der Elektronenmikroskopie dünner Objekte kann man bekanntlich häufig durch leichtes Defokussieren eine kontrastreichere Abbildung erhalten als im genau fokussierten Bild. In der vorhergehenden Arbeit von GANSLER und NEMETSCHKE¹ wird dies an elektronenmikroskopischen Aufnahmen eines geeigneten Objektes verdeutlicht. Hier soll durch Untersuchung der Stromdichteverteilung im Raum zwischen Objekt und Linse, die sich aus der Beugung der Elektronen am Objekt ergibt, eine Beschreibung des Kontrastes im defokussierten Bild versucht werden. Dabei wollen wir von Amplitudenkontrast sprechen, wenn der Kontrast von Änderungen des Streuvermögens der einzelnen Objektatome herrührt, und von Phasenkontrast, wenn der Kontrast durch örtliche Variation des mittleren inneren Potentials (also des elektronenoptischen Brechungsindex) im Objekt entsteht. Es wird sich zeigen, daß eine Defokussierung den Phasenkontrast stark und in geringerem Maße auch den Amplitudenkontrast beeinflusst.

Für eine periodische sinusförmige örtliche Variation des elektronenoptischen Brechungsindex in einem dünnen Objekt bei paralleler Bestrahlung haben v. BORRIES und LENZ² den Abstand z_1 derjenigen Ebene vom Objekt angegeben, in der eine Stromdichteverteilung mit maximalem Kontrast vorliegt. Nimmt man nämlich an, daß die Wellenfunktion der Elektronenwelle beim Verlassen des Objektes (d. h. in der Ebene $z=0$) durch

$$\psi(x, y, 0) = A e^{-\sigma_0} e^{i \delta_0 \cos(2\pi x/l)} \quad (1)$$

¹ H. GANSLER u. TH. NEMETSCHKE, Z. Naturforsch. 13 b, 190 [1958]; die Zusammenfassung dieser Arbeit ist auf S. 243 dieses Heftes abgedruckt.

gegeben sei, und daß in derselben Ebene der Gradient praktisch noch den Wert

$$\left[\frac{\partial \psi(x, y, z)}{\partial z} \right]_{z=0} = i k \psi(x, y, 0) \quad (2)$$

hat, so kann man mit diesen Randbedingungen im Raum $z > 0$ die Wellengleichung (SCHRÖDINGER-Gleichung) $\Delta \psi + k^2 \psi = 0$ durch den in x -Richtung mit der Periode l periodischen Reihenansatz

$$\psi(x, y, z) = \sum_{n=0}^{\infty} f_n(z) \cos \frac{2\pi n x}{l} \quad (3)$$

lösen. Für jeden festen Wert von z ist also auch $|\psi|^2$ und damit die Elektronenstromdichte eine in x -Richtung periodische Funktion mit der Periode l . Es ergibt sich, daß die relativen Schwankungen dieser Funktion und damit der Kontrast in der Ebene

$$z_1 = l^2/2\lambda \quad (4)$$

maximal sind.

Je nach dem Grade der Defokussierung werden also aus den im Objekt zu verschiedenen Werten von l gehörigen vorhandenen Potentialschwankungen jeweils die zu deutlichem Phasenkontrast führen, für die die Beziehung (4) erfüllt ist. Für Objekte mit anderer örtlicher Verteilung des elektronenoptischen Brechungsindex und des Streuabsorptionskoeffizienten gilt die zu (4) analoge Beziehung

$$z_1 = C(l^2/\lambda), \quad (5)$$

wobei die Konstante C noch von der geometrischen Form der kontrasterzeugenden Objektstruktur und

² B. v. BORRIES u. F. LENZ, Proc. Electr. Micr., Stockholm 1956, S. 60.



vom Wert der Phasenschiebung und Amplitudenschwächung im Objekt abhängt, aber wie in (4) von der Größenordnung $\frac{1}{2}$ ist. In (5) ist l wie in (4) eine für die jeweilige Objektstruktur charakteristische Länge, beispielsweise für die Beugung an einem oder mehreren Amplituden- oder Phasenbalken die Balkenbreite oder der Abstand zweier benachbarter Balken, für die Beugung an kreisförmigen Scheiben deren Durchmesser usw.

Diese Untersuchung soll jetzt auf Objekte ausgedehnt werden, in denen sowohl der Brechungsindex als auch der Absorptionskoeffizient vom Ort abhängt.

Zur Vereinfachung nehmen wir an, daß das Objekt von parallel einfallenden Elektronen der Wellenlänge $\lambda = 2\pi/k$ durchsetzt wird. Die einfallende Welle

$$u = u_0 e^{i k z} \tag{6}$$

wird im Objekt bezüglich ihrer Phase und ihrer Amplitude zu

$$u(x, y, z) = u_0 e^{i k z + i \delta(x, y) - \sigma(x, y)} \tag{7}$$

modifiziert. Der Amplitudenfaktor $e^{-\sigma(x, y)}$ kennzeichnet die Schwächung des Elektronenstrahls beim Durchgang durch das Objekt infolge elastischer und unelastischer Streuung in so große Winkel, daß die betreffenden Elektronen nicht mehr zum Bild beitragen. Der Phasenfaktor $e^{i \delta(x, y)}$ kennzeichnet die Phasenschiebung der Elektronenwelle beim Durchgang durch das Objekt. Die Frage nach der Ausbreitung der Welle im Raum $z > 0$, d. h. zwischen Objekt und Objektebene, ist keineswegs ein spezifisch elektronenoptisches Problem. Es tritt vielmehr auch in der Lichtoptik auf und ist von MENZEL³ bereits ausführlich behandelt worden. Wie dort gezeigt wird, kann man die Ausbreitung der Welle $u(x, y, z)$ im Raum $z > 0$ als FRESNELSche Beugungserscheinung auffassen, d. h. es ist

$$\left| u(x_1, y_1, z_1) \right| \tag{8}$$

$$= \frac{u_0 k}{2\pi z_1} \left| \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} e^{i k \frac{(x-x_1)^2 + (y-y_1)^2}{2z_1} + i \delta(x, y) - \sigma(x, y)} dx dy \right|.$$

Nach Gl. (8) wurde für verschiedene typische Objekte die Stromdichteverteilung in Ebenen mit unterschiedlichem Abstand z_1 vom Objekt berechnet. Dabei ließ sich die Zahlenrechnung durch das Abgreifen von Strecken in einer graphischen Darstellung der CORNUSCHEN Spirale ersetzen.

³ E. MENZEL, Optik 8, 295 [1951].

Für das in Abb. 1 a veranschaulichte Objektmodell („absorbierender und phasenschiebender Balken“)

$$\begin{cases} \sigma = 0, & \delta = 0 & \text{für } \infty > |x| > \frac{b}{2}, \\ \sigma = \sigma_0, & \delta = \delta_0 & \text{für } -\frac{b}{2} \leq x \leq +\frac{b}{2} \end{cases} \tag{9}$$

ergibt sich

$$\frac{u(x_1, z_1)}{u_0} \tag{10}$$

$$= \left[1 + \frac{e^{i \delta_0 - \sigma_0} - 1}{1 + i} [C + i S] \sqrt{\frac{k}{\pi z_1} \left(\frac{b}{2} - x_1 \right)} \sqrt{\frac{k}{\pi z_1} \left(-\frac{b}{2} - x_1 \right)} \right].$$

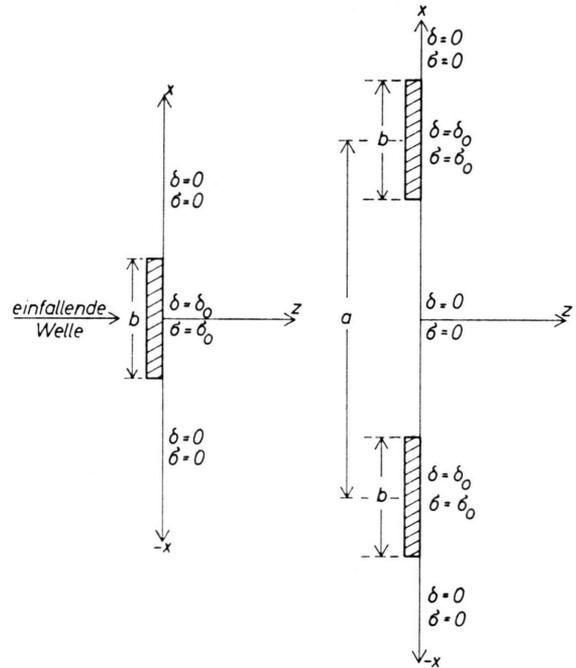


Abb. 1. Objektmodell mit sprunghaft sich ändernder Absorption und Phasenschiebung. a) Einzelbalken, b) Doppelbalken.

Durch Einführung von

$$X = x_1/b, \quad Z = \lambda z_1/b^2 \tag{11}$$

vereinfacht sich (10) zu

$$\frac{u(X, Z)}{u_0} \tag{12}$$

$$= \left[1 + \frac{e^{i \delta_0 - \sigma_0} - 1}{1 + i} [C + i S] \sqrt{\frac{2}{Z} \left(\frac{1}{2} - X \right)} \sqrt{\frac{2}{Z} \left(-\frac{1}{2} - X \right)} \right].$$

Hier und im folgenden bezeichnen C und S die FRESNELSchen Integrale

$$C(v) = \int_0^v \cos \frac{\pi}{2} t^2 dt, \quad S(v) = \int_0^v \sin \frac{\pi}{2} t^2 dt.$$

Nach (12) wurde die Stromdichteverteilung für $e^{-2\sigma_0} = 1/2$ und $\delta_0 = \pi/4$ und verschiedene Z -Werte

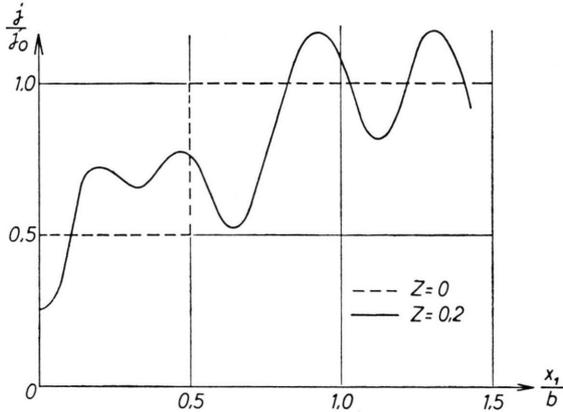


Abb. 2. Stromdichteverteilung hinter einem Balken der Breite b mit sprunghaft sich ändernder Absorption $e^{-2\sigma_0} = 1/2$ und Phasenverschiebung $\delta_0 = \pi/4$ unmittelbar hinter dem Objekt und im Abstand $Z = \lambda z_2/b^2 = 0,2$ hinter dem Objekt.

über der X -Achse berechnet. Dabei zeigt sich, daß der Kontrast, mit dem der Balken wiedergegeben wird, von Z abhängt. Die Kurven $j = j(X, Z_{\text{const}})$ haben über der Mitte des Balkens, also für $X = 0$, aus Symmetriegründen immer ein Extremum. Aus mehreren, hier nicht gezeigten ausgerechneten Kurven ist zu entnehmen, daß bei der Kurve mit dem absolut tiefsten Stromdichteminimum dieses auf der Z -Achse, also bei $X = 0$ liegt. Abb. 2 zeigt eine Kurve für $Z = 0, 2$.

In Abb. 3 ist die Z -Abhängigkeit der Stromdichte für $X = 0$ bei $e^{-2\sigma_0} = 1/2$ und jeweils verschiedenen Werten $\delta_0 = 0, \pi/32, \pi/16, \pi/8, \pi/4, \pi/2$ dargestellt. Aus den Kurven läßt sich entnehmen, daß auch bei einem reinen Amplitudenobjekt ($\delta_0 = 0$) ein Objekt-Abstand Z mit größtem Kontrast existiert. Das absolute Stromdichteminimum fällt mit wachsendem δ_0 bis $\delta_0 = \pi/2$ und steigt dann wieder an. Der Abstand der Ebene mit dem tiefsten Stromdichteminimum vom Objekt ist bei $\delta_0 = 0$ etwa doppelt so groß wie bei $\delta_0 = \pi/2$. Wir betrachten nun ein Objektmodell aus zwei gleich breiten zueinander parallelen, absorbierenden und phasenschiebenden Balken (Abb. 1 b) mit den Eigenschaften (13):

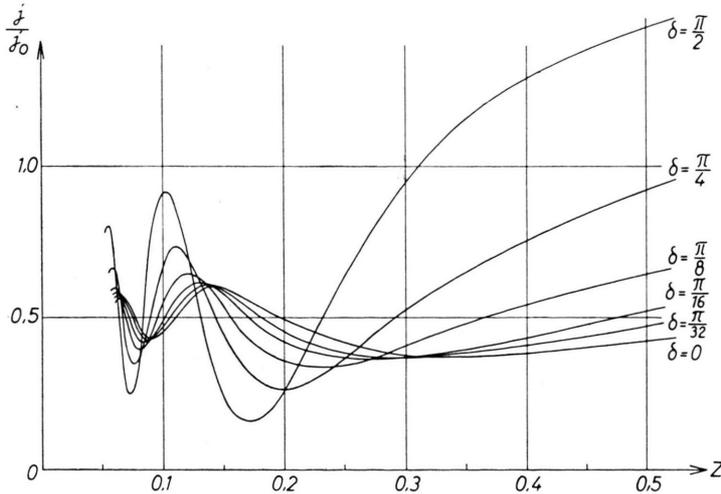


Abb. 3. Stromdichteverteilung hinter der Mitte eines Balkens der Breite b mit der Absorption $e^{-2\sigma_0} = 1/2$ und verschiedenen Werten für die Phasenverschiebung $= \delta_0$ in Abhängigkeit vom Objekt-Abstand $Z = \lambda z_1/b^2$.

$$\begin{cases} \sigma = 0, \quad \delta = 0 & \text{für } \infty > |x| > \frac{a}{2} + \frac{b}{2} \text{ und für } -\frac{a}{2} + \frac{b}{2} < x < +\frac{a}{2} - \frac{b}{2}, \\ \sigma = \sigma_0, \quad \delta = \delta_0 & \text{für } \frac{a}{2} - \frac{b}{2} \leq x \leq \frac{a}{2} + \frac{b}{2} \text{ und für } -\frac{a}{2} - \frac{b}{2} \leq x \leq -\frac{a}{2} + \frac{b}{2}. \end{cases} \quad (13)$$

Für den Betrag der Wellenfunktion in der Ebene $z = z_1$ gilt dann (14):

$$\left| \frac{u(x_1, z_1)}{u_0} \right| = \left| 1 + \frac{e^{i\delta_0 - \sigma_0} - 1}{1 + i} \left\{ [C + iS] \begin{matrix} \sqrt{\frac{k}{\pi z_1}} \left(\frac{a}{2} + \frac{b}{2} - x_1 \right) \\ \sqrt{\frac{k}{\pi z_1}} \left(\frac{a}{2} - \frac{b}{2} - x_1 \right) \end{matrix} + [C + iS] \begin{matrix} \sqrt{\frac{k}{\pi z_1}} \left(-\frac{a}{2} + \frac{b}{2} - x_1 \right) \\ \sqrt{\frac{k}{\pi z_1}} \left(-\frac{a}{2} - \frac{b}{2} - x_1 \right) \end{matrix} \right\} \right|. \quad (14)$$

Für den Fall, daß $a = 3b$ ist, wird beispielsweise mit den Abkürzungen (11) aus (14)

$$\left| \frac{u(X, Z)}{u_0} \right| = \left| 1 + \frac{e^{i\delta_0 - \sigma_0} - 1}{1 + i} \left\{ [C + iS] \begin{matrix} \sqrt{\frac{2}{Z}} (2 - X) \\ \sqrt{\frac{2}{Z}} (1 - X) \end{matrix} + [C + iS] \begin{matrix} \sqrt{\frac{2}{Z}} (-1 - X) \\ \sqrt{\frac{2}{Z}} (-2 - X) \end{matrix} \right\} \right|. \quad (15)$$

Für dieses Objektmodell mit $e^{-2\sigma_0} = \frac{1}{2}$ und $\delta_0 = \pi/4$ sowie $\delta_0 = \pi/16$ in den Balken wurde nach (15) die Stromdichteverteilung über der X -Achse für verschiedene Z berechnet. Wie beim Einzelbalken wird auch hier bei einem bestimmten Objektabstand jeder Balken mit absolut größtem Kontrast wiedergegeben. Bei $Z \approx 0,6$ erscheint aber ein deutliches Stromdichteminimum in der Mitte zwischen beiden Balken, dem im Objekt selbst kein charakteristisches Strukturelement entspricht. Bei noch größerem Abstand von der Objektebene verschwindet dieser „Mittelstrich“ wieder.

Abb. 4 zeigt die Stromdichteverteilung für diese beiden typischen Objektabstände für $\delta_0 = \pi/4$ in Abb. 4 a und $\delta_0 = \pi/16$ in Abb. 4 b, in beiden Fällen ist $e^{-2\sigma_0} = \frac{1}{2}$.

verteilung im elektronenmikroskopischen Endbild keineswegs identisch. Wegen der endlichen Dicke des Objektes, der endlichen Bestrahlungsapertur sowie des begrenzten Auflösungsvermögens der Linsen und wegen der Unzulänglichkeit der verwandten Objektmodelle werden unsere bisherigen Untersuchungen nur eine qualitative Beschreibung der Kontrastverhältnisse im defokussierten Elektronenbild liefern. Die endliche Bestrahlungsapertur γ bewirkt eine Kontrastabnahme, wenn die Defokussierung so groß ist, daß die tatsächlich abgebildete, zur Objektebene benachbarte Ebene außerhalb des Tiefenschärfenbereichs liegt. Das ist dann der Fall, wenn $\gamma z_1 \geq l$ wird. Eine weitere Kontrastabnahme wird durch denjenigen Teil der inkohärent gestreuten Elektronen bewirkt, der in so kleine Winkel gestreut wird,

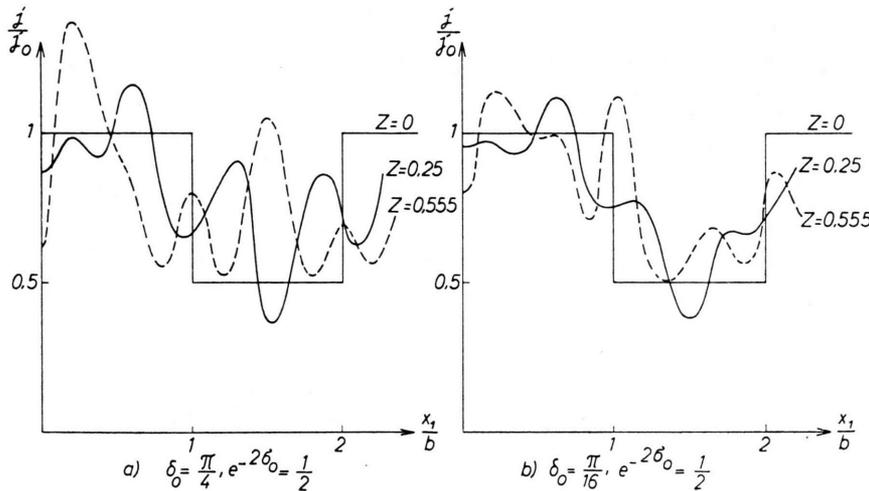


Abb. 4. Stromdichteverteilung in verschiedenem Abstand $Z = \lambda z_1/b^2$ hinter einem Doppelbalken mit der Balkenbreite b und dem Balkenabstand $a = 3b$.
a) $\delta_0 = \pi/4$, b) $\delta_0 = \pi/16$.

Die bisherigen Untersuchungen betrafen nur die Stromdichteverteilung in einem bestimmten Abstand z_1 von einem unendlich dünnen Objekt bei paralleler Bestrahlung. Diese ist jedoch mit der Stromdichte-

daß er noch ins Bild gelangt. Ferner werden die durch Defokussierung hervorgehobenen Objektstrukturen nur dann im Endbild sichtbar werden, wenn das Auflösungsvermögen ϱ des Abbildungssystems

ausreicht. Unsere Beschreibung des Phasenkontrastes im defokussierten Bild gilt also nur, wenn

$$z_1 \leq l/\gamma \quad \text{und} \quad l \geq \varrho$$

ist.

Immerhin ist ein Vergleich mit einer Defokussierungsreihe einer querschnittenen markhaltigen Nervenfasern aus der Arbeit von GANSLER und NEMETSCHKE¹ (Abb. 5*) von Interesse, die das Muster eines Balkengitters aufweist. Die Änderung der Kontrastverhältnisse in der aufgenommenen Fokussierungsreihe mit der Defokussierung ist in guter qualitativer Übereinstimmung mit der berechneten Stromdichteverteilung hinter einem Doppelbalken mit Phasen- und Amplitudenkontrast (Abb. 4) mit denselben Abmessungen wie in Abb. 6. Zunächst erhöht sich der Kontrast der Balken (Abb. 6 b) gegenüber dem fokussierten Bild (Abb. 6 a), dann erscheint der Strich zwischen den Balken (Abb. 6 c), und bei weiterer Defokussierung nimmt der Kontrast wieder ab.

Für die Lichtmikroskopie wurde die Wirkung der Defokussierung auf den Kontrast der Abbildung eines Objektes mit Phasen- bzw. Amplitudenschwankungen bei kleiner Bestrahlungsapertur von MENZEL und MENZEL^{3,4} eingehend behandelt. Diese Untersuchung ist ohne weiteres auf die elektronenmikroskopische Abbildung übertragbar. Da dort aber auf die Heraushebung bestimmter charakteristischer Abmessungen des Objektes durch eine entsprechende Defokussierung wie nach (5) nicht näher eingegangen wurde, sei hier zur Demonstration die Defokussierungsreihe eines Objektmikrometers im Lichtmikroskop wiedergegeben, also eines reinen Amplitudenobjektes.

Abb. 6 a* zeigt die fokussierte Aufnahme des Objektes (Strichabstand 10μ) bei großer Bestrahlungsapertur $\lambda \sim 0,5$, Abb. 6 b die Defokussierungsreihe bei $\gamma = 4 \cdot 10^{-3}$. Die Objektivapertur betrug 0,25, die Wellenlänge des benutzten Lichtes $\lambda \sim 0,55 \mu$. Bei der Defokussierung z_1 , die nach (4) den halben

Strichabstand mit optimalem Kontrast hervorhebt, zeigt sich ein zusätzlicher Mittelstrich. Auch die Defokussierung, bei der 2 Zwischenstriche erscheinen, ist mit (4) in Übereinstimmung.

Zum Schluß sei noch kurz auf die Frage eingegangen, ob der „Defokussierungskontrast“ auch bei der elektronenmikroskopischen Abbildung von Kristallstrukturen, wie sie MENTER⁵ und NEIDER⁶ gelungen ist, oder gar bei der aufgelösten Abbildung einzelner Atome eine wesentliche Rolle spielen kann (HAINE⁷). Gl. (4) verlangt bei 80 kV Strahlspannung zur Hervorhebung eines Abstandes von 10 \AA (3 \AA) eine Defokussierung von etwa 1200 \AA (100 \AA). NIEHRS⁸ hat den Einfluß nicht absorbierender periodischer Potentialschwankungen im Objekt auf den abbildenden Elektronenstrahl untersucht und gefunden, daß die periodischen Felder im Kristallgitter schon im Objekt zu einer kontrastreichen Stromdichtemodulation führen. Es hat allerdings wenig Sinn, in diesem Fall, in dem der Abstand der Ebene maximaler Stromdichteschwankung von den diese Schwankung verursachenden Potentialfeldern geringer als die Objektdicke und als die kleinsten an modernen Elektronenmikroskopen unterscheidbaren Fokussierungsunterschiede sind, von „Defokussierung“ zu sprechen. Dennoch darf man wohl sagen, daß der von uns in der vorliegenden Arbeit behandelte Defokussierungskontrast bei der Abbildung wesentlich größerer Objektdetails und der Kontrast bei der Abbildung von nicht oder schwach absorbierenden Atomgittern von eng verwandter physikalischer Natur sind. Die entsprechende Kontrasterhöhung bei der Abbildung als durch „Defokussierung“ hervorgerufen zu bezeichnen, hat dagegen nach unserer Meinung dann durchaus Sinn, wenn der Abstand der Ebene maximalen Kontrasts, der von der Größenordnung $l^2/2\lambda$ ist, wesentlich größer als die Objektdicke ist und sich die Kontrastverhältnisse des Bildes bei Änderung des Fokussierungszustandes in der beschriebenen charakteristischen Weise ändern.

* Abb. 5 a bis c und Abb. 6 a, b auf Tafel S. 230 a, b.

¹ E. MENZEL u. CHR. MENZEL, *Optik* 4, 22 [1948].

³ J. W. MENTER, *Proc. Roy. Soc., Lond. A* 236, 19 [1956].

⁶ R. NEIDER, Vortrag auf der Tagung Elektronenmikroskopie, Darmstadt 1957.

⁷ M. E. HAINE, *J. Sci. Instrum.* 34, 9 [1957].

⁸ H. NIEHRS, Vortrag auf der Tagung Elektronenmikroskopie, Darmstadt 1957.

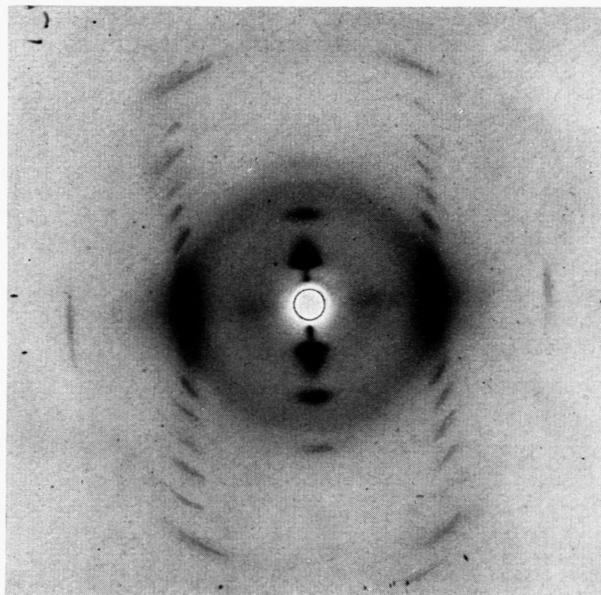


Abb. 2. Faserdiagramm von 8-Nylon, monoklin entartet.

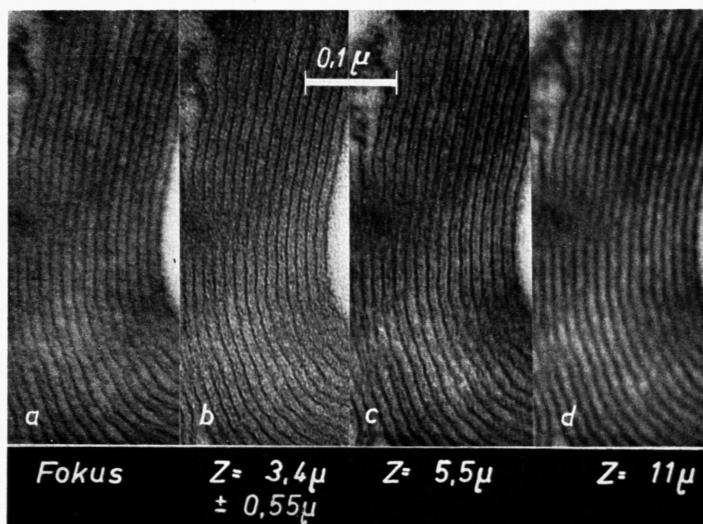


Abb. 5. Ausschnitt aus dem Querschnitt einer Nervenfasern.
Fokussierungsreihe Elektronenbilder: a) 7711/57; el.-opt.: 38 000 : 1. b) 7695/57; el.-opt.: 72 000 : 1. c) 7710/57; el.-opt.: 38 000 : 1. d) 7712/57; el.-opt.: 38 000 : 1. Aus: GANSLER und NEMETSCHKE¹, dort Abb. 2.

$z_1=0$

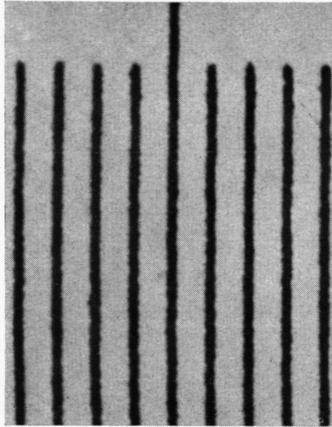
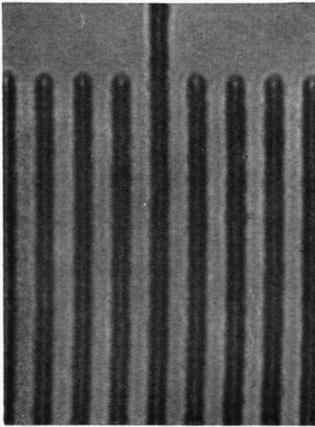
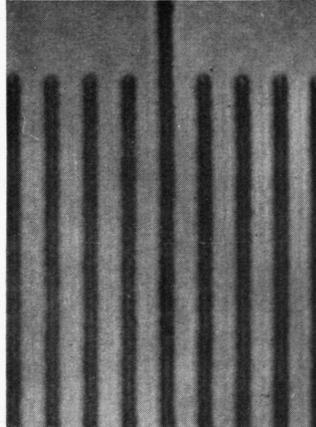


Abb. 6 a.

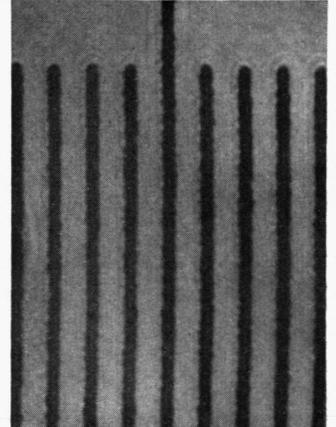
$z_1=-6 \mu$



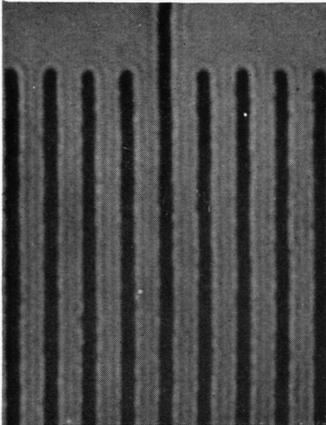
$z_1=-2 \mu$



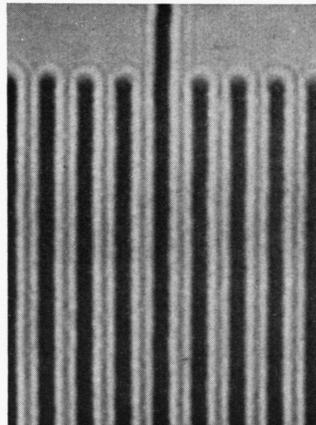
$z_1=0$



$z_1=+8 \mu$



$z_1=+22 \mu$



$z_1=+34 \mu$

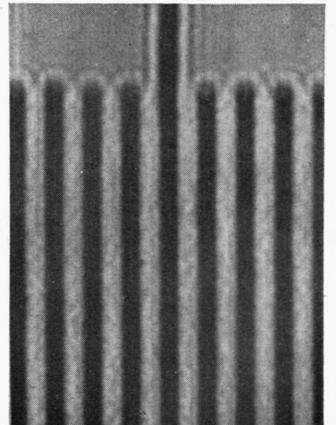


Abb. 6 b.

Abb. 6. Lichtmikroskopische Defokussierungsreihe eines Amplitudenobjektes (Objektmikrometer, Strichabstand 10μ). a) Bestrahlungsapertur $\gamma=0,5$ Abbildung im Fokus. b) Bestrahlungsapertur $\gamma=4 \cdot 10^{-3}$, Defokussierungsreihe (bei positivem z liegt die abgebildete Ebene zwischen Objekt und Linse).