

In (V.9) ist die Einheit  $d\sqrt{2}$ , die Koordinaten sind dann  $\mathfrak{R}_v = d\sqrt{2}(X_v, Y_v, Z_v)$ ,  $V$  ist das Kristallvolumen. Die Konstante  $c$  im Nenner wird

$$c = -\hbar^2/(8m^*d) \quad (\text{V.10})$$

mit der von MUTO angegebenen effektiven Masse  $m^* = 0,85$  für KCl. Wir beschränken uns auf die Berechnung des Integrals für die nächsten Cl-Nachbarn im Idealkristall. In diesem Fall kann die erste Integration geschlossen ausgeführt werden. Für die übrigen Integrationen lassen sich durch etwas umfangreichere Rechnungen recht gute Näherungen finden. Das Ergebnis ist

$$G_0^{4s}(d(1, 1, 0)) = -0,1416/eV. \quad (\text{V.11})$$

Damit erhalten wir aus (V.7) die Amplitude am Ort der nächsten Cl-Nachbarn zu

$$U_0(m, 3p | (m - d(1, 1, 0)), 4s) = 0,170 U_0(m, 3p | m, 4s). \quad (\text{V.12})$$

Vernachlässigt man die Elektronendichte außerhalb der 12 nächsten Nachbarn, so wird mit Hilfe der Normierung die Amplitude am Ort der Anregung

$$U_0(m, 3p | m, 4s) = 0,808. \quad (\text{V.13})$$

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. E. FUES, danke ich herzlich für die Unterstützung dieser Arbeit und die Betreuung, die er mir stets zukommen ließ. Herrn Prof. Dr. H. HAKEN bin ich für die Förderung dieser Arbeit und für die Übernahme des Referats zu großem Dank verpflichtet. Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr. H. STUMPF, dessen gründliche und kritische Auseinandersetzung mit dieser Arbeit die endgültige Form mitbestimmte. Herrn Oberstudienrat A. WAHL danke ich für die Hilfe bei numerischen Auswertungen.

## Kontrastierungsmethoden zur elektronenmikroskopischen Untersuchung der Mikromorphologie durchstrahlbarer Kristalle

Von A. MAAS

Aus dem Zentrallaboratorium für Angewandte Übermikroskopie der Universität Bonn  
(Leiter: Prof. Dr. K. E. WOHLFARTH-BOTTERMANN)  
(Z. Naturforschg. 19 a, 645—652 [1964]; eingegangen am 23. August 1963)

Für eine hochauflösende elektronenmikroskopische Untersuchung der Mikromorphologie kleinster Kristalle erweisen sich die üblichen kontraststeigernden Präparationsverfahren der Kohlehüllentechnik und Schwermetallbedampfung nur als bedingt anwendbar. Es werden Präparationsmethoden beschrieben, bei denen die Kontrastierung der Kristalle in der Lösung oder Dampfphase geeigneter Schwermetallverbindungen erfolgt. Die an Testobjekten (Kaolinit und Halloysit-Metalhalloysit) erhaltenen Kontrastierungsergebnisse werden diskutiert und zeigen, daß die mitgeteilten Methoden eine verbesserte Kontrastdifferenzierung, eine Erhöhung des Objektauflösungsvermögens und eine Kombination mit der Ultradünnschnitt-Technik gestatten. Es wird auf die hiernach möglich erscheinende Entwicklung selektiver Kontrastierungsmethoden sowie einer Schwermetallhülltechnik für die Untersuchung undurchstrahlbarer Kristalle hingewiesen.

Der elektronenmikroskopische Bildkontrast  $K$  wird definiert als  $K = \log I_0/I$ , wobei  $I_0$  die primär einfallende Elektronenstrahlintensität ohne Objekt und  $I$  diejenige nach dem Durchgang durch das Objekt bedeuten. Der Objektkontrast, welcher bei dünnen durchstrahlbaren Objektschichten im wesentlichen durch elastische Streuprozesse erfolgt, kann in erster Näherung durch die Beziehung  $K = \sigma(\alpha) \gamma D$  beschrieben werden. Die als Streuquerschnitt bezeichnete Größe  $\sigma(\alpha)$  stellt bei gegebenen apparativen Bedingungen (Apertur und Beschleunigungsspannung) in erster Näherung eine Konstante dar. Der Objektkontrast ist somit abhängig von der Dichte  $\gamma$  und der durchstrahlten Schichtdicke  $D$  des Objektes.

Das Produkt  $\gamma D$  wird als Massendicke bezeichnet. Die Kontrastdifferenzierung des elektronenmikroskopischen Bildes beruht demnach im wesentlichen auf dem Vorliegen von Massendickedifferenzen des durchstrahlten Objektes.

Diese einfache Abhängigkeit des Kontrastes von der Massendicke hat strenge Gültigkeit nur für ausgedehnte amorphe Schichten einheitlicher Dicke. Für die vorliegende Untersuchung der Kontrastierungsmöglichkeit durchstrahlbarer Kristalle kann sie jedoch als grobe Näherung herangezogen werden. Es muß hierbei allerdings berücksichtigt werden, daß bei kristallinen Schichten und bei Objektstrukturen in der Größenordnung des elektronenmikroskopi-



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

sehen Auflösungsvermögens eine Modifizierung des Kontrastes durch Interferenzeffekte erfolgen kann.

Einkristalle einer durchstrahlbaren Dicke in der Größenordnung von 100 Å zeigen im Elektronenmikroskop i. allg. nur einen geringen Kontrast. Sofern das Kristallgitter keine Elemente hoher Ordnungszahl enthält, reichen die in Durchstrahlungsrichtung vorhandenen Massendickedifferenzen meist nicht aus, um im elektronenmikroskopischen Bild eine deutlich sichtbare Kontrastdifferenzierung hervorzurufen. Ein vorhandener Feinbau der Kristalle wird daher i. allg. nur unzureichend wiedergegeben.

Eine Verstärkung der Kontrastdifferenzierung läßt sich nach den üblichen Methoden erreichen durch Verkleinerung der Objektiv- und Bestrahlungsapertur, durch die Kohlehüllentechnik und durch Schwermetallbedampfung des Objektes. Für eine mikromorphologische Analyse kleinster durchstrahlbarer Kristalle unter Ausnutzung des heute möglichen elektronenmikroskopischen Auflösungsvermögens erweisen sich diese Methoden jedoch nur als bedingt anwendbar, worauf später noch eingegangen wird.

Vorliegende Untersuchungen behandelten die Frage, ob durch adsorptive Anlagerung von Schwermetallen bzw. Schwermetallverbindungen eine elektronenmikroskopische Kontrastverstärkung der Mikromorphologie durchstrahlbarer Kristalle erreicht werden kann. Hierfür bieten sich zwei Möglichkeiten an: 1. die Kontrastierung der Kristalle in Lösungen oder 2. in der Dampfphase von Schwermetallverbindungen.

Die Entwicklung einer auf Adsorption beruhenden Schwermetall-Kontrastierungsmethode verfolgte weiterhin das Ziel, Voraussetzungen für eine Kontrastierung von Kristallen im Rahmen der Ultradünnschnitt-Technik zu schaffen. Der Vorteil einer Anwendung der Ultradünnschnitt-Technik für die elektronenmikroskopische Untersuchung von Kristallen liegt darin, daß sie eine vollständige räumliche Erfassung der Kristallmikromorphologie ermöglicht. Die in der Ultradünnschnitt-Technik liegenden Möglichkeiten konnten bisher jedoch kaum ausgenutzt werden, da der schwache Eigenkontrast der meisten durchstrahlbaren Kristalle durch die Einbettungsmatrix noch weiter herabgesetzt wird.

Im Rahmen dieser Untersuchung wurden bisher folgende Verbindungen auf ihre Eignung als „Kontrastmittel“ geprüft: Bariumchlorid, Cerchlorid, Dysprosiumnitrat, Erbiumchlorid, Lanthannitrat, Osmiumtetroxyd, Phosphorwolframsäure, Praseodym-

nitrat, Quecksilberchlorid, Quecksilbernitrat, Silbernitrat, Thallium-II-chlorid, Thallium-III-chlorid, Thalliumnitrat, Uranyl nitrat, Uranylacetat und Wismutnitrat.

Schwierigkeiten bereitet die Auswahl geeigneter Testobjekte zur Prüfung der Kontrastierungseigenschaften dieser Kontrastmittel. Ein ideales Testobjekt sollte folgende Bedingungen erfüllen: gleichartige räumliche Gestalt aller Kristalle, Konstanz der Kristalldicke in Durchstrahlungsrichtung, elektronenmikroskopische Durchstrahlbarkeit der Kristalle und Sauberkeit der Kristalloberflächen von Verunreinigungen. Für eine geeignete elektronenmikroskopische Präparation des Kristallpulvers ist schließlich noch eine hinreichende Dispergierbarkeit ohne Anwendung chemischer Dispergierungszusätze notwendig.

Für eine erste orientierende Untersuchung erschienen unter diesen Bedingungen ausgewählte Proben von Kaolinit (Amberg) und Halloysit-Metalloxyd (Djebel-Debar) als annähernd brauchbar. Nach dem Ergebnis vorliegender Versuche dürfte es jedoch zweckmäßig sein, für eine weitere Verbesserung der Kontrastierungsmethoden künstlich hergestellte Kristalle zu benutzen.

## Präparationsmethoden

### 1. Kontrastierung mit wäßrigen Lösungen von Schwermetallverbindungen

Es wurde jeweils eine Menge von ca. 0,1 g des Kristallpulvers in 3 ml einer max. 1-proz. wäßrigen Lösung des Kontrastmittels behandelt. Eine vorherige Trocknung des Kristallpulvers auf einem Uhrglas im Exsikkator begünstigt die Anlagerung des Kontrastmittels. Die Einwirkungszeit betrug 1–4 Stunden. Die Dispergierung des Kristallpulvers erfolgte während der Kontrastierung mit Ultraschall einer Frequenz von 1 MHz. Die Kontrastierungslösung wurde anschließend abdekantiert und durch die gleiche Menge bidestillierten Wasser ersetzt. Nach Aufschüttelung des Kristallpulvers wurden unmittelbar darauf mit einer Pipette Tropfen der Aufschwemmung auf befilmte Trägernetzchen gebracht und eingetrocknet. — Eine Einstellung des pH-Wertes wurde bei den durchgeführten Versuchen noch nicht vorgenommen.

### 2. Kontrastierung in der Dampfphase von Osmiumtetroxyd

Das Kristallpulver wurde in dünner Schicht auf einem flachen Uhrglas ausgestrichen und in einen mit Calciumchlorid beschickten Exsikkator gebracht. Der Exsikkator wurde mit einer Vakuumpumpe auf ein

Vakuum von  $< 10$  Torr evakuiert. Die Trocknungszeit betrug 12 Stunden. Anschließend wurde eine im Exsikkator befindliche abgeschmolzene Glasphiole aufgeschlagen, die 0,1 g kristallisiertes Osmiumtetroxyd enthielt. Nach einer mehrstündigen Einwirkungsdauer des  $\text{OsO}_4$ -Dampfes wurde mit Hilfe des im Exsikkator bestehenden Vakuums getrocknete Äthylalkohol-gesättigte Luft in den Exsikkator geleitet. Das Osmiumtetroxyd wird durch den Äthylalkohol wahrscheinlich zu Osmiumdioxid reduziert. Das vor dem Versuch weiße Kaolinit- bzw. Halloysitpulver zeigte bereits während der Behandlung mit Osmiumtetroxyd-Dampf eine schwache Graufärbung, die sich nach dem Einlassen alkoholgesättigter Luft verstärkte.

Während sich das unbehandelte Kaolinit- bzw. Halloysit-Pulver leicht auf befilmte Trägernetze aufstäuben läßt, erschienen die Kristalle nach der beschriebenen Kontrastierungsbehandlung zu grobflockigen Aggregaten zusammengelagert. Eine trockene Dispergierung ließ sich durch Zerreiben der Aggregate zwischen zwei Glasobjektträgern erreichen, wonach eine Aufstäubung oder Auftupfung der Kristalle auf befilmte Trägernetze wieder leicht möglich war. Eine gute Präparation konnte auch durch Aufschwemmung der kontrastierten Substanz in bidestilliertem Wasser, Dispergierung mit Ultraschall und anschließendes Eintrocknen von Tropfen der Suspension auf befilmten Trägernetzen durchgeführt werden. — Die bei der Kontrastierung hervorgerufene Graufärbung der Kaolinit- bzw. Halloysit-Substanz bleibt auch nach mehrfacher Wässerung erhalten und deutet auf eine große Haftfestigkeit des auf den Kristalloberflächen angelagerten Kontrastmittels hin.

### 3. Kombinierte Kontrastierung und Kunststoffeinbettung von Kristallen zur Herstellung von Ultradünnschnitten

Das Kristallpulver wurde zunächst 24 Stunden mit einer 1-proz. wässrigen  $\text{OsO}_4$ -Lösung behandelt. Falls die Kristalle wie bei den vorliegenden Objekten Spalten und Hohlräume enthalten, empfiehlt es sich, die  $\text{OsO}_4$ -Lösung mehrfach zu wechseln und nach jedem Wechsel in einem Vakuumbehälter zu evakuieren. Das Kristallpulver wurde nach Abschluß der  $\text{OsO}_4$ -Behandlung abzentrifugiert. Um ein Eindringen des benutzten nicht-wasserlöslichen Einbettungsmediums Butyl-Methyl-Methacrylat in Hohlräume der Kristalle zu ermöglichen, wurden die Kristalle in eine Äthylalkohol-Reihe aufsteigender Konzentration (20–40–70–96%) gebracht. Nach jeder Konzentrationsstufe wurde abzentrifugiert. In der Stufe des 70-proz. Alkohols wurde bei einem Teil der Präparate durch Zugabe von Phosphorwolframsäure bzw. Uranylacetat eine weitere Kontrastierung durchgeführt. (Nach den bisherigen elektronenmikroskopischen Befunden scheint jedoch diese zusätzliche Kontrastierung bei den untersuchten Kristallen keine weitere Kontrastverstärkung zu bewirken.) Nach Waschen mit absolutem Alkohol erfolgte sodann die Einbettung in Butyl-Methyl-Methacrylsäureester nach der üblichen Methodik. Das Mischungsverhältnis Butyl- zu Methyl-Methacrylat wurde zur Erzielung verschiedener Härte

des Einbettungsmediums von 8 : 1 bis 1 : 4 variiert. Die Polymerisation erfolgte während 8 Stunden bei  $60^\circ\text{C}$  und anschließend 12 Stunden bei  $90^\circ\text{C}$ .

## Ergebnisse

Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen\* der Abb. 1, 3, 4 und 5 wurden unter völlig gleichartigen Bedingungen mit dem Siemens-Elmiskop I bei 80 kV Strahlspannung, Abb. 6 mit dem Siemens ÜM 100 bei 80 kV und Abb. 2 mit dem Zeiss-EM 8/IV bei 40 kV hergestellt.

Abb. 1 stellt eine elektronenmikroskopische Aufnahme von *unkontrastiertem* Halloysit-Metahalloysit und Kaolinit dar. Bei den nadelartigen Kristallen, von denen einer in der unteren Bildhälfte in Schräglage die charakteristische röhrenförmige Form zeigt, handelt es sich um Halloysit- bzw. Metahalloysit-Kristalle. Ihnen aufgelagert erscheint als völlig durchstrahlbares pseudo-hexagonal begrenztes Plättchen ein Kaolinit-Kristall. Wie eine genauere Betrachtung der Aufnahme erkennen läßt, besitzen sowohl die Halloysit-Metahalloysit-Kristalle als auch der Kaolinitkristall Feinstrukturen, die jedoch nur mit geringem Kontrast wiedergegeben werden. Es sei bemerkt, daß die Aufnahme eine optimale Positiv-Wiedergabe des photographischen Negativs unter Benutzung entsprechender Möglichkeiten der photographischen Technik (günstigste Papiergradation, partielle Nachbelichtung und Abschwächung) darstellt.

Von den eingangs genannten bisher untersuchten Kontrastmitteln bewährten sich für die Kontrastierung der Testobjekte Kaolinit und Halloysit-Metahalloysit in wäßriger Lösung lediglich Thallium-III-Chlorid, Praseodymnitrat und Osmiumtetroxyd. Abb. 2 zeigt als Beispiel durchstrahlbare Kaolinitkristalle nach Kontrastierung in einer 1-proz. Lösung von Praseodymnitrat. Gegenüber dem unkontrastierten Objekt zeigen die Kristalle nun eine deutliche Kontrastdifferenzierung. Setzt man das Präparat durch Überhöhung des Strahlstromes einer starken Erwärmung aus, so verdampft schrittweise die Kontrastierungsschicht. Verschiedene Feinstrukturen des Kristalls bleiben bei diesem Abdampfungsvorgang noch längere Zeit erhalten, schlierenartige Kontrastbereiche verschwinden dagegen bei Erwärmung sehr schnell. Dieser Befund deutet beim Kaolinit vermutlich darauf hin, daß es sich bei den gegen Erwärmung re-

\* Abb. 1 bis 6 auf Tafel S. 650 a, b.

sistenteren Kontrasten um Kontrastmittel handelt, welches zwischen den Kaolinitplättchen eingelagert wurde. Durch die schlierenartig auftretenden und bei starker Erwärmung verschwindenden Kontraste dürften in diesem Sinne Unebenheiten der äußeren Kristallflächen wiedergegeben werden. Von besonderem wachstumsmorphologischen Interesse ist das nach Kontrastierung sichtbare Auftreten pseudo-hexagonal-umgrenzter Bereiche im Innern der Kaolinitplättchen. Die Begrenzungskanten dieser dunkler erscheinenden Bereiche, von denen einer im Bild durch einen Pfeil markiert ist, verlaufen streng parallel zu den Begrenzungskanten des Kaolinit-Kristalls. — Neben den durch die Kontrastierung sichtbar gemachten Feinstrukturen treten bei dünnen durchgebogenen Einkristallplättchen Interferenzschlieren auf, welche als solche bekanntlich durch ihre Lageänderung bei einer Veränderung der Einfallrichtung des Elektronenstrahls erkannt werden können.

Abb. 3 zeigt zum Vergleich mit Abb. 2 Kaolinitkristalle, die in der  $\text{OsO}_4$ -Dampfphase kontrastiert wurden. Entsprechend dem hohen Atomgewicht des Osmiums ist auch bei einer sehr dünnen Schicht angelagerten Osmiums noch eine sichtbare Kontraststeigerung zu erwarten. Die Aufnahme zeigt an einigen Stellen durch Pfeile gekennzeichnete Kristalllamellen, welche infolge ihrer sehr geringen Dicke nur durch eine Kontrastierung sichtbar gemacht werden können. Im Innern der großen Kaolinitkristalle sind ähnliche Feinstrukturen wie in Abb. 2 zu beobachten, wobei jedoch die schlierenartigen Kontraste fehlen. Allgemein scheint nach den bisherigen Befunden die Kontrastierung mit Osmiumtetroxyd aus der Dampfphase wesentlich gleichmäßiger zu erfolgen als die Kontrastierung in wässrigen Lösungen von Schwermetallverbindungen.

Der als weiteres Testobjekt benutzte Halloysit-Metahalloysit erwies sich als besonders geeignet zur Klärung der Frage nach dem Auflösungsvermögen und der Artefaktfreiheit der  $\text{OsO}_4$ -Dampfkontrastierung.

Halloysit besteht nach dem Ergebnis elektronenmikroskopischer Untersuchungen aus röhrenarti-

gen Kristallen einer Dicke von einigen 100 bis zu einigen 1000 Å bei einer Länge von 1000 bis 10 000 Å<sup>1-4</sup>. Nach röntgenographischen Untersuchungen besitzt er ein ähnliches Schichtgitter wie der Kaolinit, jedoch mit zwischengelagerten  $\text{H}_2\text{O}$ -Molekülschichten<sup>5, 6</sup>. Zur Erklärung der Röhrenform wird angenommen, daß die Schichtpaketebene sich infolge von Gitterspannungen zur Gestalt eines Röhrens durchbiegen<sup>7</sup>. Beim Entzug der zwischengelagerten Wasserschichten erfolgt ein Übergang in den Metahalloysit. Damit verbunden ist eine Streckungstendenz des Röhrens, welche zum Aufblättern, Aufplatzen und Auseinanderrollen der Röhrenwandung führen kann.

Die Abb. 4 und 5 zeigen die Mikromorphologie aufgeplatzter Metahalloysitröhren bei sehr hoher elektronenmikroskopischer Vergrößerung (160 000 ×). Das Objektmaterial wurde zur Begünstigung der Metahalloysitbildung vor der Präparation 14 Stunden im Vakuumexsikkator bei 110° und einem Vakuum von ca. 1 Torr getrocknet. Die elektronenmikroskopische Präparation erfolgte durch Aufstäuben auf befilmte Trägernetze. Abb. 4 stellt das unkontrastierte Objekt dar, Abb. 5 zeigt vergleichbare Kristalle nach der beschriebenen Kontrastierungsmethode in der  $\text{OsO}_4$ -Dampfphase.

Die Aufnahmen zeigen übereinstimmend röhrenartige Kristalle, die teilweise der Länge nach aufgeplatzt sind. Sofern die Röhren hohl sind (es werden auch solche beobachtet, deren Röhrenvolumen mit einer noch unbekannt Substanz gefüllt ist), ist die durchstrahlte Massendicke der Röhrenwandung zur Peripherie hin größer als in der Mitte. Die Röhrenwandung wird daher als dunkle, das Röhrenvolumen beidseitig begrenzende Zone dargestellt.

Wie erwähnt, kann die Röhrenwandung als Folge der Umwandlung des Halloysits in Metahalloysit in Schichten aufblättern. Sofern diese Schichten sich in einem elektronenmikroskopisch auflösbaren Abstand befinden, sollten sie im elektronenmikroskopischen Bild als parallel zur Röhrenachse verlaufende dunkle Linien dargestellt werden. Dies ist jedoch an die weitere Voraussetzung gebunden, daß in Durchstrahlungsrichtung genügend große

<sup>1</sup> W. EITEL u. O. E. RADZIEWSKI, Abh. Preuß. Akad. Wiss., Mathem.-Naturwiss. Kl. **1943**, S. 1.

<sup>2</sup> L. T. ALEXANDER, G. T. RAUST, S. B. HENDRICKS, H. INSLEY u. H. F. McMURDIE, Amer. Mineralogist **28**, 1 [1943].

<sup>3</sup> W. BEHNE, Naturwissenschaften **41**, 138 [1954].

<sup>4</sup> TH. NEMETSCHKE u. U. HOFMANN, Z. Naturforschg. **16b**, 620 [1961].

<sup>5</sup> U. HOFMANN, K. ENDELL u. D. WILM, Anorg. Chem. **47**, 541 [1934].

<sup>6</sup> ST. B. HENDRICKS, Amer. Mineralogist **23**, 295 [1938]. — ST. B. HENDRICKS u. M. E. JEFFERSON, Amer. Mineralogist **23**, 855 [1938].

<sup>7</sup> TH. F. BATES, F. A. HILDEBRAND u. A. SWINEFORD, Amer. Mineralogist **35**, 463 [1950].



Massendickedifferenzen vorliegen. Wie ein Vergleich der Abb. 4 und 5 zeigt, werden trotz gleichen Objektmaterials Schichten der Röhrenwandung bei unkontrastierten Kristallen nur in geringer Zahl und mit geringem Kontrast wiedergegeben, erscheinen dagegen bei kontrastierten Kristallen als scharfe Kontrastlinien. Der mittlere Abstand dieser Kontrastlinien beträgt beim unkontrastierten und beim kontrastierten Objekt übereinstimmend 20–30 Å. Darüber hinaus zeigt der kontrastierte Metahalloysit auch noch deutlich aufgelöste Abstände von 13 Å. – Die Breite der beim kontrastierten Metahalloysit auftretenden Kontrastlinien beträgt ca. 10 Å.

Gegenüber der angeführten Erklärung der Kontrastlinien als Darstellung von aufgeblättern Schichten sind zwei weitere Erklärungsmöglichkeiten in Betracht zu ziehen. Zunächst wäre es denkbar, daß es sich um Interferenzerscheinungen handelt. Derartige Interferenzkontraste müßten jedoch bei einer Veränderung des Einfallswinkels der Elektronenstrahlung im Kristall wandern, was nicht der Fall ist.

Als weitere Erklärungsmöglichkeit für die Kontrastlinien könnte angenommen werden, daß die Röhrenwandung in schmale Lamellen aufgegliedert ist, die parallel zur Röhrenachse verlaufen. Da die elektronenmikroskopische Abbildung gewissermaßen eine vergrößerte Parallelprojektion des Kristalls darstellt, müßte bei einem Röhren mit kreisförmigem oder U-förmigem Querschnitt, welches senkrecht zu seiner Achse durchstrahlt wird, der projizierte Abstand der Lamellen zum Röhrenrand hin abnehmen. Eine Ausmessung der Abstände der Kontrastlinien ergab jedoch, daß sie keine Abnahme zum Röhrenrand hin zeigen.

Es kann daher angenommen werden, daß es sich bei den Kontrastlinien um die elektronenmikroskopische Darstellung von Schichten handelt, welche die Röhrenwandung bilden.

Unter diesen Voraussetzungen läßt sich eine Abschätzung durchführen, ob und in welcher Art durch die Anwendung der  $\text{OsO}_4$ -Dampf-Kontrastierung Artefakte auftreten.

Zunächst läßt sich aus Abb. 5 entnehmen, daß eine Ausfällung von Kristalliten des Kontrastmittels elektronenmikroskopisch bei dem vorliegenden Auflösungsvermögen von ca. 13 Å nicht auftritt. Es ergibt sich weiterhin die Frage, welche Dicke die auf der Kristalloberfläche angelagerte Kontrastierungsschicht besitzt. Wie bereits erwähnt, ergab die Ausmessung der Kontrastlinien-Abstände (gemessen als

Abstand der Linienmitten) auf Abb. 5 einen minimalen Wert von 13 Å. Auf Grund röntgenographischer Analysen wurde für Halloysit eine Schichtpaketperiode von ca. 10 Å ermittelt, die sich beim Metahalloysit auf ca. 7 Å erniedrigte. Unter der Annahme, daß die Kontrastlinien eine Aufblätterung der Schichtstruktur wiedergeben, ist aus diesen Werten zu schließen, daß die Dicke der angelagerten Kontrastierungsschicht nur maximal wenige Å betragen kann.

Abb. 6 zeigt am Beispiel des Kaolinit und Metahalloysits Ultradünnschnitte, welche durch Kombination der Kontrastierung in wässriger 1-proz.  $\text{OsO}_4$ -Lösung mit der Einbettung in Butyl-Methyl-Methacrylat erhalten wurden. Die in verschiedener räumlicher Lage eingebetteten Metahalloysitkristalle lassen deutlich kreisrunde, U-förmige und polygonale Querschnittsformen erkennen. Im oberen und unteren Teil der Aufnahme werden zahlreiche aufgeblättern und auseinandergerollte Metahalloysitröhren abgebildet. Das erreichbare Auflösungsvermögen, welches bei Ultradünnschnitten wegen der Streuung an der Einbettungsmatrix etwas geringer als beim direkt durchstrahlten Objekt ist, beträgt hier maximal ca. 20 Å.

Es sei auf einige Präparationsartefakte hingewiesen, welche allgemein bei der Einbettung von Kristallen und speziell bei den als Testobjekten benutzten Schichtsilikaten auftreten können. Die Röhrenwand der Metahalloysitkristalle auf Abb. 6 zeigt im Gegensatz zu den Abb. 1, 4 und 5 vielfach bläschenartige Hohlräume (Pfeilmarkierung). Es handelt sich hierbei wahrscheinlich um Präparationsartefakte, welche durch den bei der Alkoholreihe erfolgenden schnellen Entzug der  $\text{H}_2\text{O}$ -Zwischenschichten und ihrem Ersatz durch Alkohol hervorgerufen wurden. – Die an den Röhrenenden verschiedentlich zu beobachtenden hellen Stellen sind ebenfalls als Artefakte anzusehen, verursacht durch eine mangelnde Haftfestigkeit und die Schrumpfung des Einbettungsmediums. Bei der mechanischen Belastung durch den Schneidvorgang hat sich das Einbettungsmedium an diesen Stellen vom Kristall abgelöst.

## Diskussion

Im vorstehenden Teil der Arbeit konnte gezeigt werden, daß die auf Adsorption beruhenden Kontrastierungsmethoden eine wesentliche Steigerung des elektronenmikroskopischen Kontrastes durch-

strahlbarer Kristalle und damit verbunden eine bessere Ausnutzung des apparativen Auflösungsvermögens ermöglichen.

Zur Abgrenzung des Anwendungsbereiches der beschriebenen Kontrastierungsmethoden seien im folgenden die Eigenschaften der bisher zur Kontrastierung durchstrahlbarer Kristalle gebräuchlichen Methoden diskutiert. Es handelt sich hierbei um die erwähnten Möglichkeiten einer Kontrastverstärkung durch Verkleinerung der Objektiv- und Bestrahlungsapertur, durch Anwendung der Kohlehüllentechnik und durch Schwermetallbedampfung des Objektes.

Die Möglichkeit einer Verstärkung des Bildkontrastes durch Verkleinerung der Objektiv- und Bestrahlungs-(Kondensor-)Apertur kann i. allg. nur bis zu mittleren elektronenmikroskopischen Primär-Vergrößerungen (ca. 20 000  $\times$ ) ausgenutzt werden. Während die Verkleinerung der Objektivapertur eine allgemeine Erhöhung des durch elastische Streuung hervorgerufenen Kontrastes bewirkt, ist eine Verkleinerung der Bestrahlungsapertur insbesondere für die Kontrastverstärkung von Objektstrukturen in der Größenordnung des Auflösungsvermögens von Vorteil, um den zusätzlich zur Streuabsorption auftretenden Phasenkontrast zu verstärken. Bei höheren elektronenoptischen Vergrößerungen ergibt sich jedoch bei kleiner Kondensor- und Objektivaperturblende eine erhebliche Verringerung der Endbildhelligkeit und damit eine schwierige Fokussierung des Bildes. Eine Verstärkung der Elektronenstrahlintensität ist zumeist wegen der mangelnden Strahlungsbelastbarkeit des Objektes nicht möglich. Die unter diesen Umständen notwendige lange Belichtungszeit von 30 – 60 Sekunden stellt Anforderungen an die Konstanz der Beschleunigungsspannung und der Linsenströme, die meist nicht erfüllt werden. Die Verwendbarkeit sehr kleiner Objektivaperturblenden ( $< 30 \mu$ ) ist ferner dadurch begrenzt, daß die Blendenöffnung sehr schnell vom Rand her mit einer Kontaminationsschicht zuwächst und einen astigmatischen Bildfehler hervorruft. Ein Wechsel der Objektivaperturblende (Fokussierung bei großer, Aufnahme bei kleiner Aperturblende) bedingt einen gewissen Zeitaufwand, der die Ausbildung von Kontaminationsschichten auf dem Objekt (Verschlechterung des Auflösungsvermögens) und eine unzulässige Objekterwärmung begünstigt.

Eine weitere Verbesserung des Bildkontrastes läßt sich nur durch präparative Veränderung des Objektkontrastes erzielen.

Bei der Kohlehüllentechnik wird der Kristall mit einer Kohlenstoffhülle umgeben und hernach chemisch aus dieser Hülle herausgelöst. Die Herstellung einer Kohlenstoffhülle kann entweder durch die Beglimmungsmethode nach KÖNIG (Gleichstrom-Glimmentladung im Feinvakuum bei einem gewissen Partialdruck von Benzoldampf)<sup>8</sup> oder durch die Kohlenstoffbedampfungsmethode nach BRADLEY (Erhitzung von Kohlenstoffelektroden im Hochvakuum)<sup>9</sup> erfolgen. Infolge des geringen Atomgewichtes des Kohlenstoffs sind die in Durchstrahlungsrichtung auftretenden Massendickedifferenzen der aufgelagerten Kohlenstoffschicht klein im Vergleich zur durchstrahlten Massendicke des Kristalls, so daß nur eine geringe Kontraststeigerung erzielt wird. Durch das chemische Herauslösen des Kristalls wird die Massendicke des Kristalls eliminiert, die Kohlenstoffhülle stellt dann einen allseitigen Oberflächenabdruck des Kristalls dar. Infolge der geringen Dichte der Kohlenstoffschicht und der dementsprechend zur Erzielung ausreichender Kontraste notwendigen großen Schichtdicke liegt das erreichbare Auflösungsvermögen jedoch nur wenig unter 100 Å. Ein weiterer Nachteil dieser Methode für die mikromorphologische Untersuchung durchstrahlbarer Kristalle liegt in gewissen Fällen darin, daß nur die Oberfläche des Kristalls elektronenmikroskopisch dargestellt wird, ursprünglich vorhandene Inhomogenitäten des Kristallinneren jedoch nicht mehr sichtbar werden.

Die Kontrastdifferenzierung läßt sich weiter steigern, wenn statt des leichten Kohlenstoffs Schwermetalle auf die Kristalloberfläche aufgelagert werden. Bei ausreichender Durchstrahlbarkeit des Kristalls ist es hierbei nicht notwendig, den Kristall anschließend wegzulösen. Das Aufbringen einer solchen Schwermetall- oder kombinierten Schwermetall-Kohlenstoffschicht erfolgt bisher ausschließlich durch verschiedenartige Bedampfungsmethoden im Hochvakuum. Die Bedampfung kann dabei bei stillstehendem oder während der Aufdampfung bewegtem Objekt durchgeführt werden (Zusammenfassung der Literatur z. B. in <sup>10</sup>).

Die Bedampfungsmethoden haben den Vorteil, daß sie eine starke selektive Kontrastierung von

<sup>8</sup> H. KÖNIG u. G. HELWIG, Z. Phys. **129**, 491 [1951].

<sup>9</sup> D. E. BRADLEY, J. Metals **83**, 35 [1954].

<sup>10</sup> L. REIMER, Elektronenmikroskopische Untersuchungs- und Präparationsmethoden, Springer-Verlag, Berlin 1959, S. 185 ff.



Abb. 1. Unkontrastierte Kaolinit- und Halloysit-Metahalloysit-Kristalle; Aufstäubepräparat.  
El.-opt. Vergr. 20 000 ×; Endvergr. 130 000 ×.

Abb. 2. Kaolinit-Kristalle nach Kontrastierung in 1-proz. wässriger Praseodymnitratlösung; Suspensionspräparat.  
El.-opt. Vergr. 4700 ×; Endvergr. 16 000 ×.

Abb. 3. Kaolinit-Kristalle nach Kontrastierung in wässriger 1-proz. Osmiumtetroxyd-Lösung; Suspensionspräparat.  
El.-opt. Vergr. 20 000 ×; Endvergr. 60 000 ×.

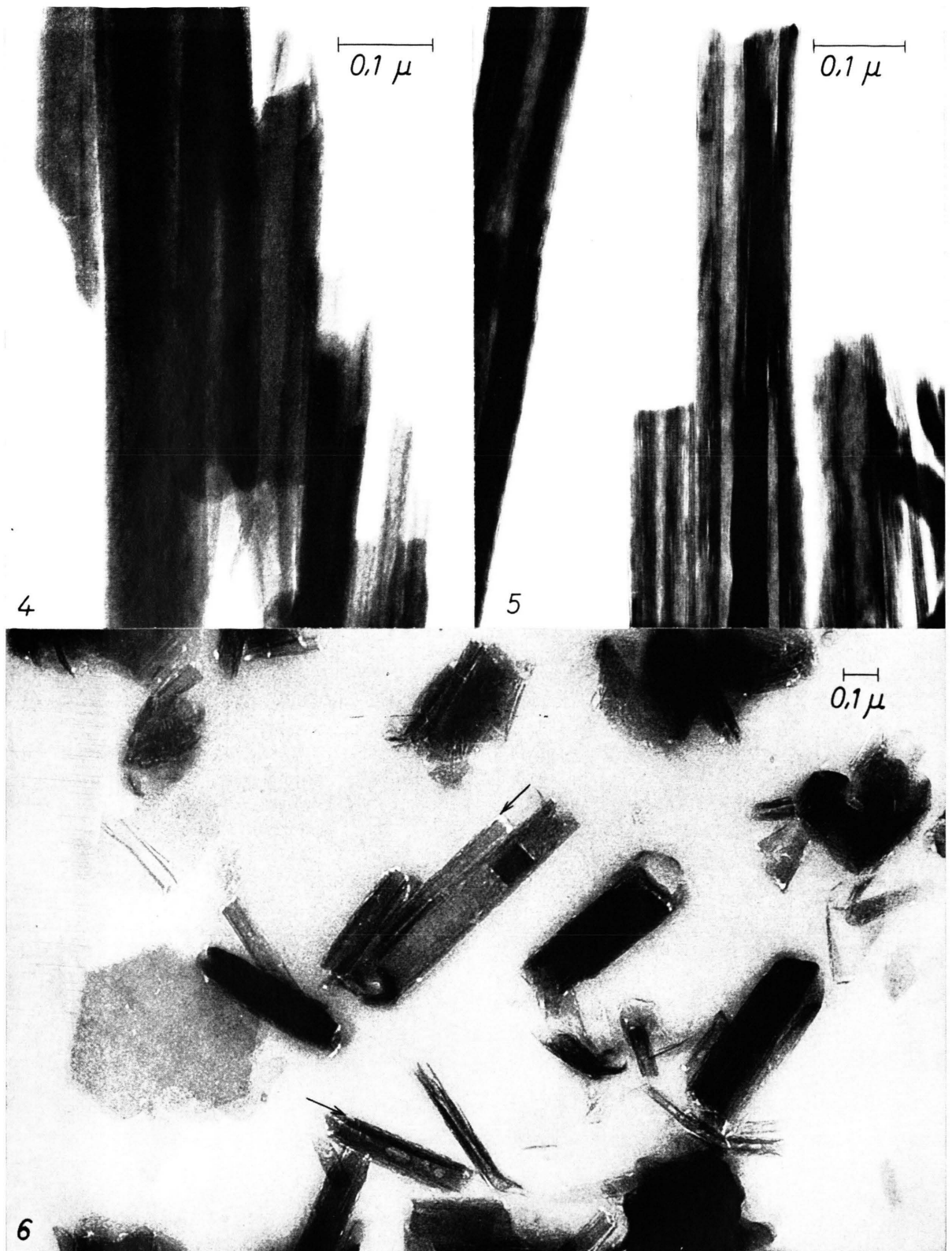


Abb. 4. Unkontrastierte Halloysit-Metahalloysit-Kristalle; Aufstäubepräparat.  
El.-opt. Vergr. 20 000 ×; Endvergr. 160 000 ×.

Abb. 5. Halloysit-Metahalloysit-Kristalle nach Kontrastierung in Osmiumtetroxyd-Dampf; Aufstäubepräparat.  
El.-opt. Vergr. 20 000 ×; Endvergr. 160 000 ×.

Abb. 6. Ultradünnschnitt einer Methacrylat-Einbettung von Kaolinit- und Halloysit-Metahalloysit-Kristallen  
nach Kontrastierung mit 1-proz. wässriger  $\text{OsO}_4$ -Lösung.  
El.-opt. Vergr. 5 900 ×; Endvergr. 59 000 ×.



Objektdetails gestatten, die nahezu senkrecht zur Bedampfungsrichtung liegen, und daß sie im Gegensatz zu allen übrigen Kontrastierungsmethoden auf Grund der Schattenbildung eine Entscheidung ermöglichen, ob es sich bei Oberflächendetails um Erhöhungen oder Vertiefungen handelt. Das nach Bedampfungs-Kontrastierung erreichte Punktauflösungsvermögen liegt z. Zt. bei 30 – 40 Å, das Linienauflösungsvermögen bei ca. 25 Å.

Die Nachteile dieser Kontrastierung mittels Schwermetallbedampfung liegen darin, daß sich 1. nur solche Objektstrukturen kontrastieren lassen, die vom Bedampfungsstrahl erreicht werden können und daß 2. die Eigenstruktur der Bedampfungsschicht das Objektauflösungsvermögen verschlechtert.

Für eine Kombination mit der Ultradünnschnitt-Technik sind sowohl die Kohlehüllenmethode als auch das Bedampfungsverfahren nicht geeignet. Bei der Einbettung eines Kohlehüllenpräparates in die annähernd massengleiche Kunststoffschicht gehen die in Durchstrahlungsrichtung vorliegenden Massendickedifferenzen der Kohlehülle verloren. Bei einer Einbettung schrägbedampfter Objekte wäre eine kontrastrichtige Wiedergabe der Objektoberfläche im Ultradünnschnitt nur dann gewährleistet, wenn sich das Objekt im Ultradünnschnitt in der gleichen Orientierung zum Elektronenstrahl befände wie vorher zum Bedampfungsstrahl. Dies läßt sich jedoch bei den üblichen Kunststoffeinbettungsmethoden und Schneidetechniken kaum erreichen.

Zusammengefaßt ergibt sich, daß die Kohlehüllentechnik zwar die gesamte Kristalloberfläche erfaßt, jedoch nur eine geringe Kontrastdifferenzierung liefert, wogegen die Schwermetallbedampfungsmethode umgekehrt eine gute Kontrastdifferenzierung gestattet, jedoch i. allg. nur einen Teil der Kristalloberfläche kontrastiert.

Das vorliegende neue Kontrastierungsverfahren einer adsorptiven Anlagerung von Schwermetallen vereinigt im Prinzip die Vorteile der Hülltechnik und der Bedampfungstechnik. Die Anlagerung des Kontrastmittels erfolgt bei der Kontrastierung in der Lösung wie auch in der Dampfphase auf der gesamten Kristalloberfläche einschließlich vorhandener Spalten und Hohlräumbildungen, welche von einem Bedampfungsstrahl nicht oder nur unvollständig erreicht werden können. Die am Kaolinit und Halloysit-Metalhalloysit durchgeführten Untersuchungen las-

sen darauf schließen, daß auch eine Diffusion des Kontrastmittels entlang von inneren Grenzflächen möglich ist.

Besitzt die gesamte Kristalloberfläche konstante Adsorptionseigenschaften für das Kontrastmittel, so sind die erzeugten elektronenmikroskopischen Bildkontraste der Kristalloberfläche denen eines Oxydabdruckes ähnlich<sup>11</sup>. Es entsteht somit ein plastisch wirkendes Bild der Objektoberfläche, das keine unkontrastierten Schattenräume aufweist. Ein Nachteil liegt lediglich darin, daß zwischen Erhöhungen und Vertiefungen nur unter Zuhilfenahme der elektronenmikroskopischen Stereoaufnahmetechnik entschieden werden kann.

Besitzt die Kristalloberfläche unterschiedliche Adsorptionseigenschaften für das Kontrastmittel, so ist eine selektive Anlagerung des Kontrastmittels zu erwarten.

Entsprechend der erreichbaren sehr geringen oder ganz fehlenden Eigenstruktur der Kontrastierungsschicht läßt sich ein wesentlich besseres Objektauflösungsvermögen erreichen, als es mit Bedampfungsverfahren möglich ist.

In Erweiterung der bisher mit Kohlenstoff durchgeführten Hülltechnik besteht die Möglichkeit, die Kristalle zunächst in der OsO<sub>4</sub>-Dampfphase mit einer Kontrastschicht zu umhüllen, anschließend durch Beglimmung nach KÖNIG eine die Hülle mechanisch stabilisierende Kohlenstoffschicht aufzubringen und den Kristall dann aus der Hülle herauszulösen. Nach dem Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen ist zu erwarten, daß auf diese Weise hergestellte Hüllabdrücke eine wesentlich bessere Kontrastdifferenzierung und ein höheres Auflösungsvermögen besitzen als reine Kohlehüllabdrücke. Da der Kristall herausgelöst wird, ist mit dieser Schwermetallhüllmethode auch eine hochauflösende stereoskopische Untersuchung der Mikromorphologie undurchstrahlbarer kleiner Kristalle möglich.

Neben der physikalischen Adsorption dürfte bei geeigneter Wahl des Kontrastierungsmittels auch eine chemische Adsorption in Form eines Ionenaustausches mit dem Objekt auftreten. Für eine erfolgreiche Durchführung derartiger Versuche erscheint es jedoch notwendig, als Testobjekte künstlich hergestellte Einkristalle hoher Reinheit und Güte zu verwenden.

Letztlich konnten im Zusammenhang mit der Ultradünnschnitt-Technik die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß durch Anwendung der beschriebenen

<sup>11</sup> H. MAHL, Z. techn. Phys. **22**, 23 [1941]; l. c. <sup>10</sup>, S. 173.

nen adsorptiven Kontrastierung eine wesentliche Kontraststeigerung kunststoffeingebetteter Kristalle möglich ist. Der kontrastvermindernde Einfluß des Einbettungsmediums kann somit auch bei Kristallen durch eine geeignete Kontrastierung weitgehend kompensiert werden.

Der Autor möchte Herrn Prof. Dr. K. E. WOHLFARTH-BOTTERMANN für seine stete Förderung dieser Arbeit, Frl. S. DANNEEL, Frl. B. WIMMERS, Herrn R. SCHULZ und Herrn W. H. VOIGT für ihre interessierte Mitarbeit bei der Durchführung der experimentellen Untersuchungen freundlichst danken. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft gilt besonderer Dank für die Bereitstellung von Mitteln im Rahmen einer größeren Arbeit.