

wurden, dazu, in Kombination mit passenden anderen Messungen dieses Verfahren zur Untersuchung pauschaler Magnetfeldvorgänge im Θ -Pinch zu verwenden.

Meinen besonderen Dank möchte ich Herrn Prof. E. FÜNFER für die Übertragung der Aufgabe und für

seine Anteilnahme an den Arbeiten aussprechen. — Herrn Dr. C. ANDELFINGER danke ich für die Unterstützung der Arbeiten und Herrn Dr. E. GLOCK für zahlreiche Hinweise zu dem optischen Teil des Experiments. — Herr Dipl.-Ing. F. LINDBERGER besorgte dankenswerterweise den Entwurf der Photovervielfacher- und Verstärkerschaltungen.

Elektronenmikroskopische Sichtbarmachung von $\leq 10 \text{ \AA}$ großen Fremdstoffeinschlüssen in elektrolytisch abgeschiedenen Nickelschichten mittels Phasenkontrast durch Defokussieren

Von L. ALBERT

Laboratorium für Elektronenmikroskopie der Technischen Hochschule Karlsruhe

und

R. SCHNEIDER UND H. FISCHER

Lehrstuhl und Abteilung für Elektrochemie der Technischen Hochschule Karlsruhe
(Z. Naturforsch. **19 a**, 1120—1124 [1964]; eingegangen am 13. Mai 1964)

Defokussierte elektronenmikroskopische Aufnahmen von Nickelschichten, die in Gegenwart organischer Fremdstoffadsorbate elektrolytisch abgeschieden wurden, zeigen starke Punktkontraste. Verschiedene elektronenoptische Beobachtungen, ergänzende spektralphotometrische Messungen und lichtoptische Modellversuche lassen den Schluß zu, daß die Punkte durch Phasenkontrast sichtbar gemachte einzelne Moleküle oder einige wenige Moleküle enthaltende Fremdstoffeinschlüsse sind.

Bei der elektrolytischen Abscheidung von Metallen in Gegenwart adsorbierbarer nichtmetallischer Fremdstoffe können diese sich in verschiedener Form in den Niederschlag einlagern^{1—3}. Elektronenmikroskopisch fanden insbesondere STEINEMANN, HINTERMANN und JAVET^{4, 5} sowie WEIL und COOK⁶ Fremdstoffeinschlüsse in Kupfer- und Nickelschichten. Eigene Befunde werden in der vorliegenden Arbeit mitgeteilt (s. auch⁷).

Elektronenoptische Beobachtungen

Die Abb. 1a bis 1c* sind elektronenmikroskopische Durchstrahlungsaufnahmen von 40 bis 80 \AA dicken Nickelschichten, die unter Zusatz von o-Phenanthrolin zum Elektrolyten 300 \AA dick auf Kupfer abgeschie-

den und nach dem Ablösen^{8, 9} dünn geätzt wurden. Auf der unterfokussierten Aufnahme 1c ist eine große Anzahl heller Punkte und Punktagglomerate zu erkennen, die auf dem überfokussierten Bild 1a dunkel erscheinen und sich deutlich von der bekannten allgemeinen Körnigkeit defokussierter Aufnahmen abheben. Die „richtig“ fokussierte Aufnahme 1b zeigt (mit Ausnahme einiger schwacher Andeutungen) die Punkte nicht.

Wir halten die Punkte auf den defokussierten Aufnahmen für die Stellen, an denen o-Phenanthrolinmoleküle bei der Elektrolyse in die Nickelschicht eingebaut worden sind. Diese Annahme wird durch die folgenden Befunde nahegelegt:

1. Die Anzahldichte der Punkte wächst (schwächer als linear) mit der dem Elektrolyten zugesetzten

* Abb. 1 bis 5 auf Tafel S. 1122 a, b.

¹ H. FISCHER, Elektrolytische Abscheidung und Elektrokristallisation von Metallen, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1954, S. 210 ff. und 519 ff.

² H. FISCHER, Electrochim. Acta **2**, 50 [1960] und in Korrosion **16** (Grundlagenforschung auf verschiedenen Gebieten der Korrosion und der Werkstoffe); Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstr. 1963, S. 133.

³ H. FISCHER, Chem.-Ing.-Techn. [1964], im Druck.

⁴ S. STEINEMANN u. H. E. HINTERMANN, Schweiz. Arch. Angew. Wiss. Tech. **26**, 202 [1960].

⁵ Ph. JAVET u. H. E. HINTERMANN, Vortrag auf der Tagung der Gesellschaft Deutscher Chemiker, Fachgruppe Angewandte Elektrochemie, Frankfurt/Main, 17. Oktober 1963.

⁶ R. WEIL u. H. COOK, J. Electrochem. Soc. **109**, 295 [1962].

⁷ R. SCHNEIDER, H. FISCHER u. L. ALBERT, Naturwiss. **51** [1964], im Druck.

⁸ R. WEIL u. H. J. READ, J. Appl. Phys. **21**, 1068 [1950].

⁹ L. REIMER, Z. Metallk. **47**, 631 [1956]; **48**, 390 [1957].



o-Phenanthrolinmenge. Aufnahmen von Nickelschichten, die ohne Fremdstoffzusatz unter sauberen Bedingungen abgeschieden werden, zeigen die Punkte nur vereinzelt. Wir deuten diese vereinzelten Punkte als Verunreinigungen oder kleine Lunker im 10 Å-Bereich.

2. Bei gleicher Fremdstoffkonzentration im Elektrolyten nimmt die Punktedichte mit der Abscheidungsstromdichte zu, was kinetisch plausibel ist: an der Oberfläche adsorbierte Fremdstoffmoleküle werden um so leichter „beerdigt“ je schneller die Schicht wächst (solange eine kritische Stromdichte noch nicht überschritten ist¹⁰).

Diese beiden Beobachtungen ließen allerdings noch den Schluß zu, daß es sich bei den Punkten nicht um die Fremdstoffmoleküle selbst (Primäreffekt), sondern um irgendeinen damit zusammenhängenden Sekundäreffekt handelt, der mit der Fremdstoffkonzentration und der Stromdichte anwächst. Die folgenden beiden Ergebnisse sprechen aber für den Primäreffekt:

3. Parallel zur elektronenmikroskopischen Untersuchung durchgeführte spektralphotometrische Messungen ergaben eine *o*-Phenanthrolinkonzentration im Nickel, die mit der elektronenmikroskopisch beobachteten und unter der Annahme 1 Punkt = 1 oder einige wenige Moleküle errechneten Einschlußdichte befriedigend übereinstimmt.

4. Die Abb. 2 a bis 2 c zeigen eine weitere Fokusreihe, bei der die mittlere Aufnahme (Abb. 2 b) um 1 bis 2 Feinrasten des Elmiskop I – Objektivstromeinstellers (das entspricht einer Fokusdifferenz Δf von 0,1 bis 0,2 μ) unterfokussiert ist. Bei dieser geringen Defokussierung sind die hellen Punkte auf der Originalaufnahme schon gut sichtbar und noch so scharf, daß sie ausgemessen werden können. Innerhalb der an der Auflösungsgrenze noch zulässigen Meßgenauigkeit (s. z. B.²⁰, S. 1660), ergibt sich ein Punktdurchmesser von 6 bis 10 Å, was etwa der Größe eines *o*-Phenanthrolinmoleküls entspricht. Bei weiterer Defokussierung (Abb. 2 a und 2 c: $\approx \pm 5$ Feinrasten) werden die Punkte bereits ziemlich unscharf abgebildet, sie erscheinen größer, heben sich aber kontrastreicher vom Untergrund ab.

Es ist möglich, daß unter der Einwirkung der Elektronenstrahlung das *o*-Phenanthrolin zersetzt wird oder gar verdampft, aber auch in diesem Fall

würden die hellen bzw. dunklen Punkte den Einschlußort der Fremdstoffmoleküle markieren.

Entsprechende Aufnahmen von Nickelschichten, die mit Zusatz von 2-Butindiol-1,4 abgeschieden wurden, zeigen die gleichen Erscheinungen, nur sind hier die auf gleiche Punktedichten und Abscheidungsstromdichten bezogenen Konzentrationen im Elektrolyten wesentlich höher als bei *o*-Phenanthrolin. Außerdem werden die Punkte kontrastärmer wiedergegeben (eventuell wegen der kleineren Molekülgröße).

Gelegentlich auftretende, sehr kleine Löcher in den Nickelschichten mit einem Durchmesser von 15 bis 30 Å verhalten sich beim Defokussieren ähnlich: Sie erscheinen am hellsten im Unterfokus, weniger hell im Fokus und sind auf überfokussierten Aufnahmen um so dunkler angelaufen, je kleiner sie sind.

Die elektronenoptischen Daten der Abb. 1 und 2 sind: Elektronenmikroskop: Siemens Elmiskop I; Strahlspannung $U = 80$ kV; Strahlstrom $I \approx 40 \mu\text{A}$; Feinstrahl (Radius des bestrahlten Objektbereiches $r_B = 7$ bis 10μ); 200 μ -Kondensoraperturblende (Bestrahlungsapertur $\alpha_B \leq 10^{-3}$); 50 μ -Objektivaperturblende (Objektivapertur $\alpha_0 \approx 9 \cdot 10^{-3}$); elektronenoptische Vergrößerung $M_e = 80\,000$ auf Agepe-FF-Planfilm, lichtoptische Nachvergrößerung auf $M = 400\,000$; astigmatische Brennweitendifferenz $\Delta f_A < 0,1$ bis $0,2 \mu$ (Scharfstellung und Korrektur des Astigmatismus erfolgten an zahlreich vorhandenen Löchern in der Nickelschicht).

Lichtoptische Modellversuche

Um zu prüfen, ob sich lichtmikroskopisch beim Defokussieren die gleichen oder ähnliche Erscheinungsmerkmale zeigen, wurde als Modellobjekt eine elektronenmikroskopische Lochfolie gewählt, die Löcher mit verschiedenem Durchmesser, u. a. solche an der Auflösungsgrenze des Lichtmikroskops, enthielt. Auch hier wurde mit kleiner Kondensorapertur gearbeitet.

Bei den elektronenmikroskopischen Aufnahmen handelt es sich offenbar um einen Phasenkontrasteffekt. Da nach SCHERZER¹¹ der Phasenkontrast durch das Zusammenwirken von Öffnungsfehler und Defokussieren entsteht (s. auch¹²), wählten wir ein schlecht auskorrigiertes Objektiv zur Abbildung der Lochfolie. Am besten konnten wir die Kontrastver-

¹⁰ P. B. PRICE, D. A. VERMILYEA u. M. B. WEBB, *Acta Met.* **6**, 524 [1958].

¹¹ O. SCHERZER, *J. Appl. Phys.* **20**, 20 [1949].

¹² S. LEISEGANG in *Handbuch der Physik*, Bd. 33; Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1956, S. 503.

änderungen beim Defokussieren mit einem auf $z_0 \approx 0,6$ abgeblendeten Ölimmersionsobjektiv 100 studieren, das wir als Trockenobjektiv verwendeten.

Die lichtmikroskopische Fokusreihe (Abb. 3 a bis 3 c) zeigt das zu den entsprechenden elektronenmikroskopischen Aufnahmen analoge Erscheinungsbild: Auf der „richtig“ fokussierten Abb. 3 b sind nur die größeren Löcher gut sichtbar; die kleinen, an der Auflösungsgrenze liegenden Löcher sind nicht oder nur andeutungsweise zu erkennen, während sie im Unterfokus (Abb. 3 c) hell und im Überfokus (Abb. 3 a) dunkel erscheinen.

Wählt man die Kondensorapertur des Lichtmikroskops *sehr* klein, so liefert das als Trockenobjektiv benutzte Immersionsobjektiv die in Abb. 4 a bis 4 k wiedergegebene Fokusreihe: Mit zunehmender Unterfokussierung beobachtet man in den Löchern eine periodisch wechselnde Kontrastumkehr, die dagegen bei den überfokussierten Aufnahmen nicht auftritt. Die Erklärung für diese Erscheinung wird im nächsten Abschnitt gegeben.

Kontrastveränderungen beim Defokussieren im Fall *periodischer* Objektstrukturen wurden von FAGET, FAGOT und FERT^{13, 14} in licht- und elektronenmikroskopischen Analogiestudien untersucht.

Diskussion

Das o-Phenanthrolin ($C_6H_4N_2 \cdot H_2O$) ist ein ebenes, ca. $8 \text{ \AA} \times 10 \text{ \AA}$ großes und nur eine Atomlage dickes Molekül. Es erscheint ziemlich aussichtslos – und wird durch Abbildung 1 b auch bestätigt –, ein solches Ringkohlenwasserstoffmolekül, eingebettet in einer 40 bis 80 \AA dicken (noch dazu mit einer C-Schicht kontaminierten) Nickelschicht, im Streuabsorptionskontrast sichtbar zu machen¹⁵, auch dann nicht, wenn sich bei der elektrolytischen Abscheidung ein kleiner Hohlraum über dem Molekül bildet, da die Nickelschicht wohl nicht unmittelbar auf dem im Vergleich zu den Nickelatomen großen organischen Fremdstoffmolekül aufwachsen wird.

¹³ M. FAGOT u. CH. FERT, C. R. Acad. Sci., Paris **250**, 94 [1960].

¹⁴ J. FAGET, M. FAGOT u. CH. FERT, Proc. European Regional Conf. Electron Microscopy, Delft 1960, Vol. I, S. 18.

¹⁵ Im Elektrolyten besteht eine nicht geringe Wahrscheinlichkeit für die Bildung des Komplexes $[(C_6H_4N_2 \cdot H_2O)_2 \cdot Ni^{+}]$. Bei Adsorption an der Kathode wird das Ni-Ion entladen, und der Komplex zerfällt. Die beiden o-Phenanthrolinmoleküle könnten dann auf Grund ihrer Dipolmomente möglicherweise aufeinanderliegend im Nickelniederschlag inkorporiert werden.

Sehr wohl aber ist es denkbar, daß solche Einschlüsse durch Phasenkontrast sichtbar gemacht werden können, der z. B. mit Hilfe einer HOPPE-LENZ-Platte durch geeignete Phasenaussortierung realisiert werden kann^{16–19} oder beim Defokussieren des Objektivs entsteht. Alle Beobachtungen, einschließlich der lichtmikroskopischen Modellversuche, sprechen dafür, daß die hellen bzw. dunklen Punkte auf den defokussierten Aufnahmen 1 a und 1 c sowie 2 a bis 2 c wirklich durch Phasenkontrast sichtbar gemachte $\leq 10 \text{ \AA}$ große Fremstoffeinschlüsse sind.

Die Mitwirkung einer Kontrastverstärkung durch BRAGGSche Reflexion erscheint nicht ausgeschlossen, besonders wenn das Nickelgitter in der unmittelbaren Umgebung eines inkorporierten Fremdstoffmoleküls gestört ist (s. hierzu auch²⁰). Diese Kontrastverstärkung sollte vor allem in den dunklen Bildpartien wirksam sein (Schwächung des Maximums nullter Ordnung beim Phasenkontrastverfahren). Tatsächlich beobachtet man in den dunklen Teilen der unterfokussierten Abb. 1 c besonders starke Punktkontraste, von denen einige, allerdings nur als schwach aufgehellte Punkte, sogar auf der „richtig“ fokussierten Abb. 1 b zu erkennen sind. Sicher ist jedoch die BRAGGSche Reflexion für das Entstehen der Punktkontraste nur von untergeordneter Bedeutung, denn sie erklärt nicht den Kontrastumschlag beim Übergang vom Unterfokus in den Überfokus. Diese Erscheinung kann nur als reiner Phasenkontrasteffekt verstanden werden.

Nach SCHERZER¹¹ läßt sich die durch Öffnungsfehler und Defokussieren zustande kommende Phasenverschiebung φ der Elektronenwellen im Bildpunkt in Abhängigkeit von dem gegen die Objektivachse gemessenen Winkel σ , unter dem die die Phasenverschiebung verursachende Linsenzone vom Brennpunkt aus gesehen erscheint, ausdrücken durch

$$\varphi = s^2 \sigma^4 - p s \sigma^2 = \frac{\pi}{2} \left(\frac{C_0}{\lambda} \sigma^4 - 2 \frac{\Delta f}{\lambda} \sigma^2 \right). \quad (1)$$

C_0 ist die Öffnungsfehlerkonstante, λ die Wellenlänge und Δf die Defokussierung; s und p sind

¹⁶ W. HOPPE, Naturwiss. **48**, 736 [1961].

¹⁷ W. HOPPE, Optik **20**, 599 [1963].

¹⁸ F. LENZ, Z. Phys. **172**, 498 [1963].

¹⁹ F. LENZ, The Influence of Lens Imperfections on Image Formation (noch unveröffentlichtes Manuskript). — Vortrag auf dem „International Symposium on Quantitative Electron Microscopy“, Washington, 30. März bis 3. April 1964.

²⁰ M. F. ASHBY u. L. M. BROWN, Phil. Mag. **8**, 1083, 1649 [1963].

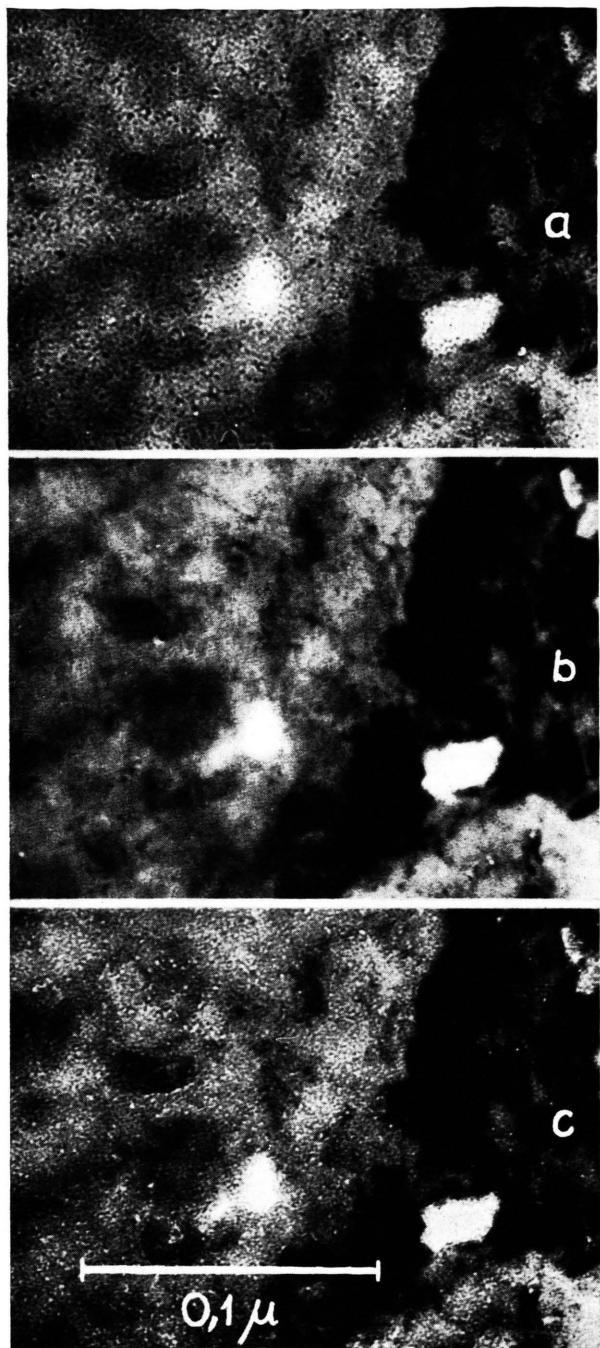


Abb. 1. Elektrolytisch unter Zusatz von o-Phenanthrolin abgeschiedene Nickelschicht (Vergrößerung $M = 400\,000$). — Fokusreihe: a) überfokussiert um 5 Feinrasten, b) in Fokus, c) unterfokussiert um 4 Feinrasten des Elmiskop I-Objektivstromeinstellers.

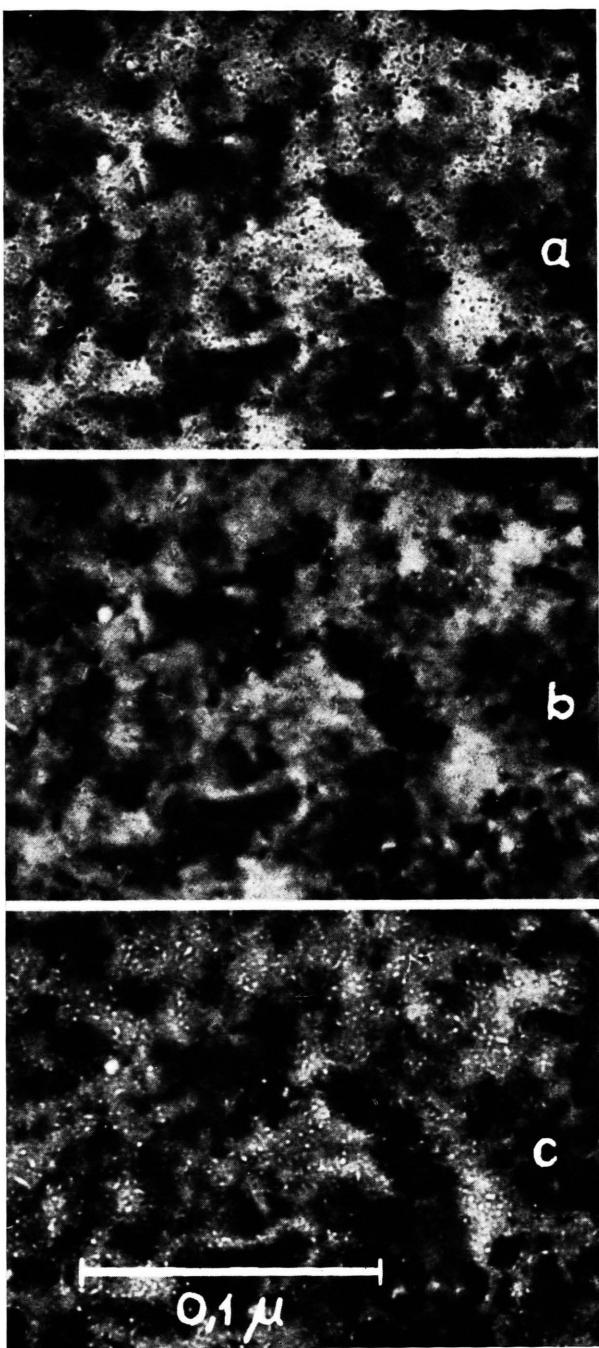


Abb. 2. Elektrolytisch unter Zusatz von o-Phenanthrolin abgeschiedene Nickelschicht (Vergrößerung $M = 400\,000$). — Fokusreihe: a) überfokussiert um 5 Feinrasten, b) unterfokussiert um 1 bis 2 Feinrasten, c) unterfokussiert um 5 Feinrasten des Elmiskop I-Objektivstromeinstellers.

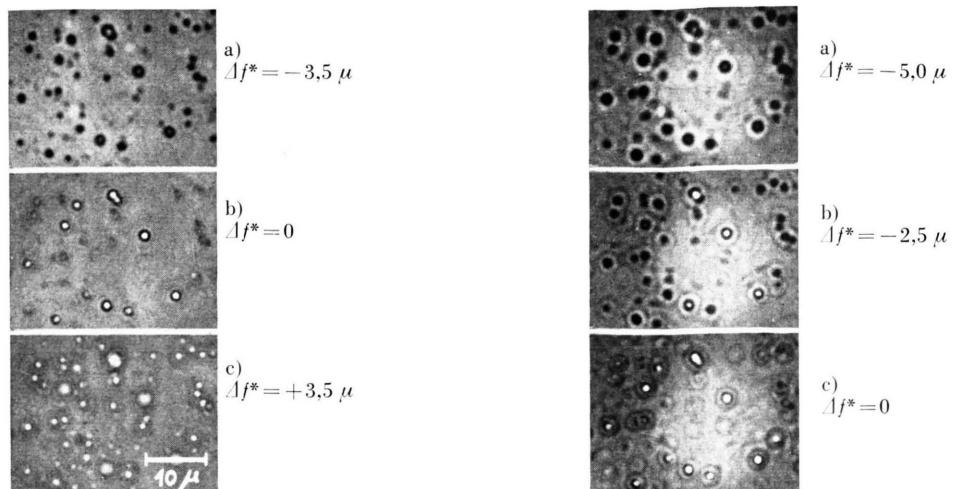


Abb. 3. Lichtmikroskopische Fokusreihe. Lochfolie, aufgenommen mit einem als Trockenobjektiv benutzten Ölimmersionsobjektiv bei kleiner Beleuchtungsapertur (Vergrößerung $M = 800$). — a) im Vergleich zu b) $3,5 \mu$ überfokussiert; b) kontrastärmste Einstellung; c) im Vergleich zu b) $3,5 \mu$ unterfokussiert.

Abb. 4. Lichtmikroskopische Fokusreihe bei sehr kleiner Beleuchtungsapertur. Objekt, Objektiv und Vergrößerung wie bei Abb. 3. Die neben den Teilbildern a bis k angeschriebenen Defokussierungen Δf^* bedeuten Abweichungen von der kontrastärmsten Einstellung.

→

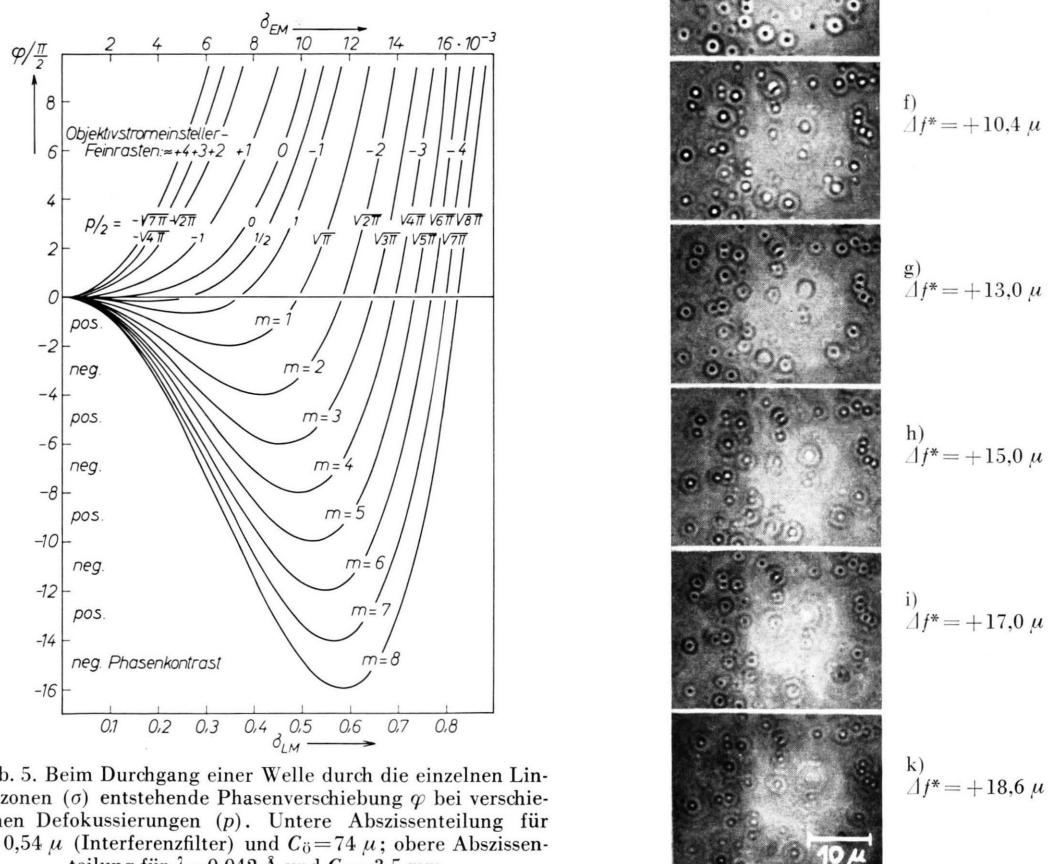


Abb. 5. Beim Durchgang einer Welle durch die einzelnen Linsenzenen (σ) entstehende Phasenverschiebung φ bei verschiedenen Defokussierungen (p). Untere Abszisse: Teilung für $\lambda = 0,54 \mu$ (Interferenzfilter) und $C_0 = 74 \mu$; obere Abszisse: Teilung für $\lambda = 0,042 \text{ \AA}$ und $C_0 = 3,5 \text{ mm}$.

dimensionslose Größen, die gegeben sind durch

$$s = \sqrt{\pi C_0/2 \lambda} \quad (2)$$

und $\Delta f = p \sqrt{C_0 \lambda/2 \pi} \quad (3)$.

Die Gl. (1) bis (3) gelten für nicht zu große σ näherungsweise auch für die größeren Aperturen im lichtmikroskopischen Bereich²¹.

Das Minimum der Funktion $\varphi(\sigma)$ liegt bei

$$\sigma_{\min} = \sqrt{p/2} s = \sqrt{\Delta f/C_0} = \sqrt{p^2 \lambda/2 \pi C_0} \quad (4)$$

Im Kurvenminimum ist

$$-\varphi_{\min} = (p/2)^2 \quad (5)$$

In Abb. 5 ist $\varphi(p, \sigma)$ sowohl für das als Trockenobjektiv benutzte lichtmikroskopische Immersionsobjektiv (untere Abszissenteilung) als auch für das Objektiv des Elmiskops I ($C_0 = 3,5$ mm, $U = 80$ kV; obere Abszissenteilung) dargestellt. Der Parameter p ist dabei hinsichtlich der in Abb. 4 wiedergegebenen Fokusreihe so gewählt, daß (für $p > 0$) im Kurvenminimum $-\varphi_{\min}$ gleich $1/4$, 1 und $m \pi$ ist ($m = 1, 2, 3, \dots$), und zwar aus folgendem Grund: Sowohl in der Linsenmitte als auch in der Umgebung des Kurvenminimums ist φ über einen verhältnismäßig großen σ -Bereich annähernd konstant. Defokussiert man so, daß im Bereich des Kurvenminimums

$$-\varphi = (2m-1) \frac{\pi}{2} \pm \Delta\varphi \approx \text{const}, \quad (6)$$

wobei wir $\Delta\varphi \leq \pi/2$ zulassen wollen, so bewirken (bei kleinen Gangunterschieden im Objekt) die Linsenzonen, die diese Phasenverschiebung erzeugen, zusammen mit der Linsenmitte ($\varphi \approx 0$) einen negativen oder positiven Phasenkontrasteffekt, je nachdem, ob m eine gerade oder ungerade positive Zahl ist²². Die übrigen Linsenzonen, in denen sich φ mit σ rasch ändert, wirken zwar kontrastvermindernd, heben aber den durch Gl. (6) gegebenen Phasenkontrast nicht auf.

Wir wollen nun versuchsweise die Abb. 4 d bis 4 k den Ordnungsnummern $m = 1$ bis 7 zuordnen und setzen an:

$$-\varphi_{\min} = (2m-c) \frac{\pi}{2} \quad (7)$$

c ist eine aus den gemessenen Defokussierungen, die wir mit Δf^* bezeichnen wollen, zu bestimmende Konstante. Da die Defokussierungen Δf^* von der kontrastärmsten Einstellung (Abb. 4 c) aus gemessen sind, stimmen sie nicht unbedingt mit den durch Gl. (1) definierten Defokussierungen Δf , die auf die GAUSSsche Objektlage bezogen sind, überein. Es sei

$$\Delta f - \Delta f^* = b \quad (8)$$

²¹ Auch bei fester Objektivbrennweite bedeutet Δf sinngemäß die Abweichung von der GAUSSschen Einstellung.

²² Ob für das Zustandekommen eines Phasenkontrastes die Phasenverschiebung $\pm\varphi \approx (2m-1)\pi/2$ (m gerade oder ungerade) zwischen dem paraxialen Teil der Welle und

Aus den Gl. (5) und (7) sowie (3) und (8) folgt mit

$$2\lambda C_0 = a \quad (9)$$

$$m = (\Delta f^* + b)^2/a + c/2 \quad (10)$$

Obwohl Gl. (1) nur eine Näherung darstellt, wird Gl. (10) durch die gemessenen Defokussierungen Δf^* sehr gut erfüllt ($m = \text{ganze positive Zahlen}$) mit den Werten

$$a = 80 \mu^2, \quad b = 5,0 \mu, \quad c = 0,$$

wie Tab. 1 zeigt.

Abb.	$\Delta f^*/\mu$	m	$\frac{(\Delta f^* + b)^2}{a} + \frac{c}{2}$
4 d	4,0	1	1,01
4 e	7,8	2	2,05
4 f	10,4	3	2,96
4 g	13,0	4	4,05
4 h	15,0	5	5,00
4 i	17,0	6	6,05
4 k	18,6	7	6,96

Tab. 1.

Das heißt: die Öffnungsfehlerkonstante des als Trockenobjektiv benutzten Immersionsobjektivs ist mit $\lambda = 0,54 \mu$ (Interferenzfilter) $C_0 = a/2\lambda = 74 \mu$; die kontrastärmere Abbildung 4 c ist um $b = 5,0 \mu$ unterfokussiert, was $p = 1,98 \approx 2$ oder $-\varphi_{\min} \approx 1$ entspricht; und die den Abb. 4 d bis 4 k zugeordneten Parameter p sind so zu wählen, daß nach Gl. (7) im Kurvenminimum $-\varphi_{\min} = m\pi$ wird, nach Gl. (5) also $p = 2\sqrt{m\pi}$ ist.

Die bei den lichtoptischen Modellversuchen mit zunehmender Unterfokussierung beobachtete periodische Kontrastumkehrung kann somit durch abwechselnd positiven und negativen Phasenkontrast erklärt werden. Auch die Beobachtung, daß die den Abb. 4 c bis 4 k entsprechenden Fokussdifferenzen kleiner werden, wenn man das Ölimmersionsobjektiv als Wasserimmersionsobjektiv benutzt (kleinere Öffnungsfehlerkonstante!), steht nach Gl. (3) mit dieser Erklärung in Einklang.

Im Überfokus und in der GAUSSschen Einstellebene ($p \leq 0$) hat die Funktion $\varphi(p, \sigma)$ kein Minimum; sie verweilt jedoch für alle p bei $\varphi \approx \pi/2$ (d. h. zwischen 0 und π) in einem größeren σ -Bereich als bei $\varphi \approx 3\pi/2$, $5\pi/2$, $7\pi/2$ usw. Ein Phasenkontrasteffekt ist also vorhanden, er ändert aber sein Vorzeichen nicht. Dies gilt bei ausreichend großer Objektivapertur schon ab $p \leq \approx 1$. Abb. 4 a entspricht etwa der GAUSSschen Objektlage ($p \approx 0$), Abb. 4 b dem Wert $p \approx 1$.

Im Hinblick auf den Phasenkontrast werden in dieser Arbeit die Bezeichnungen „überfokussiert“ und „unterfokussiert“ fast durchweg für Abweichungen von der kontrastärmsten Einstellung gebraucht, die in die-

dem die äußeren Linsenzonen passierenden Teil erforderlich ist, oder ob dafür nach dem Vorschlag von LENZ¹⁸ in der Elektronenmikroskopie $\pm\varphi \approx (2m-1)\pi$ (m ganzzahlig) angestrebt wird, ändert an den hier angestellten Betrachtungen qualitativ nichts.

sem Sinn als „richtig“ fokussiert bezeichnet wird. Während bei den lichtmikroskopischen Modellversuchen die Fokusdifferenz Δf zwischen der GAUSSschen und der kontrastärmsten Einstellung 5μ beträgt, fallen die entsprechenden elektronenmikroskopischen Einstellungen wegen der dort wirksamen, kleinen Objektivapertur (s. unten) praktisch zusammen.

Daß die periodisch wechselnde Kontrastumkehr im Unterfokus nur bei sehr kleiner Kondensorapertur beobachtet wird, ist leicht einzusehen: bei größeren Beleuchtungsaperturen treten zusätzliche Gangunterschiede auf, wodurch sich die Feinheiten verwischen, und zwar um so mehr, je größer die Defokussierung ist (mit Δf wachsende Unschärfe und mit zunehmendem m kleiner werdende Differenzen $p_{m+1} - p_m$ in Abb. 5).

Den optimalen Phasenkontrast ($p = 2V/\pi \approx 3,5$) sollten nach Abb. 5 bei $\alpha_0 \approx 9 \cdot 10^{-3}$ (50 μ -Objektivaperturblende) die um 1 bis 2 Feinrasten unterfokussierten elektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen²³. Am hellsten erscheinen die Punkte jedoch auf den um 4 bis 5 Feinrasten unterfokussierten Aufnahmen. Diese Diskrepanz läßt sich verstehen, wenn man annimmt, daß die den Phasenkontrast bewirkenden Elektronen im wesentlichen unter Winkeln $\leq 3 \cdot 10^{-3}$ das Objekt verlassen und in das Objekt eintreten (s. auch VON BORRIES und RUSKA²⁴). Die zum Vergleich mit einer 15 μ -Objektivaperturblende ($\alpha_0 \approx 3 \cdot 10^{-3}$) aufgenommenen Fokusreihen zeigen die Punktkontraste noch deutlicher, aber etwas unschärfer. Sowohl im Unterfokus als auch im Überfokus liegt das Kontrastoptimum hier ebenfalls bei einer Defokussierung von 4 bis 5 Feinrasten

($p \approx \pm 10$). Diese Symmetrie erklärt sich aus Abb. 5: Innerhalb eines Öffnungswinkels von $3 \cdot 10^{-3}$ kommen bei $p \approx \pm 10$ nur Phasenverschiebungen zwischen 0 und π vor; die Kurvenminima werden also gar nicht mehr erfaßt, und der Phasenkontrast kommt ohne Beteiligung des Öffnungsfehlers praktisch allein durch das Defokussieren zustande [das erste Glied $C_0 \sigma^4/\lambda$ in Gl. (1) wird vernachlässigbar klein]. Wäre bei Verwendung einer 50 μ -Objektivaperturblende die für das Zustandekommen des Phasenkontrastes wirksame Apertur wirklich $9 \cdot 10^{-3}$, dann sollten nach Abb. 5 und in Analogie zu den lichtoptischen Modellversuchen auch die Aufnahmen bei GAUSSscher Objektlage die dunklen Punkte zeigen.

Die Annahme einer reduzierten effektiven Objektivapertur erklärt auch, warum auf unseren unterfokussierten elektronenmikroskopischen Aufnahmen ein Kontrastumschlag in den hellen Punkten oder in kleinen Löchern nie festgestellt werden konnte; denn Voraussetzung für eine zu Abb. 4 analoge elektronenmikroskopische Fokusreihe ist außer sehr kleiner Beleuchtungsapertur und genügend feiner Unterteilung des Objektivstrommeistellers vor allem die Erfassung einiger Minima der Funktion $\varphi(p, \sigma)$.

Abschließend danken wir Herrn Dr. H.-A. BRUNE vom hiesigen Institut für Organische Chemie für wertvolle Diskussionen, sowie Herrn Professor Dr. F. LENZ, Tübingen, und Herrn Dr. E. FUCHS, München, für kritische Durchsicht des Manuskriptes.

²³ Am Elmiskop I ist bei 80 kV $\Delta f \approx 0,11 \mu$ pro Feinraste und mit $C_0 = 3,5$ mm nach Gl. (3) $\Delta p \approx 2,25$.

²⁴ B. VON BORRIES u. E. RUSKA, Naturwiss. 27, 281 [1939].