

Zur Deutung der „Granulation“ elektronenmikroskopischer Bilder hoher Vergrößerung

M. H. HAHN

Institut für Biophysik und Elektronenmikroskopie
der Medizinischen Akademie Düsseldorf

(Z. Naturforschg. **20 a**, 487—488 [1965]; eingegangen am 20. Januar 1965)

Hochvergrößerte elektronenmikroskopische Bilder zeigen fast ausnahmslos eine typische „Granulation“, deren Kontrast vom Grade der Defokussierung des Objektivs abhängt und bei sehr genauer Stigmatisierung in der Nähe der optimalen Fokussierung nahezu verschwindet¹. Es handelt sich also um „Phasenkontrast“². Sowohl für die Erkennung und Zuordnung in der Größenordnung des Auflösungsvermögens liegender Objektstrukturen, wie auch für die Verwendung der Granulation als Auflösungs-Testobjekt³, ist es wichtig zu wissen, welche ortsabhängigen Eigenschaften der verwendeten Objekte (meist sehr dünne C-Folien) diesen Phasenkontrast veranlassen. Von BORRIES und LENZ⁴ zeigten, daß örtliche Schwankungen ΔU_0 des inneren Potentials

$$U_0 = \frac{N e \Theta}{6 \varepsilon_0} \quad (1)$$

(N = Atomzahldichte, $\Theta = \int_0^\infty \varrho(r) 4 \pi r^4 dr$, eine aus der Elektronendichtevertteilung $\varrho(r)$ der Objektatome gebildete Größe⁵) der Periodizität A bei einer hinreichend großen⁶ Defokussierung

$$\Delta z = A^2 / 2 \lambda \quad (2)$$

durch Phasenkontrast maximal hervorgehoben werden und hinter dem Objekt zu einer relativen Stromdichteschwankung

$$\frac{\Delta j}{j} = \frac{4 \pi d}{\lambda} \cdot \frac{\Delta U_0}{U} \quad (3)$$

führen, wobei d die hier als konstant angenommene Dicke des Objektes in Strahlrichtung, λ die Wellenlänge und U die Beschleunigungsspannung des Elektronenstrahls bedeuten.

Als mögliche Ursache für die Potentialschwankungen ΔU_0 werden in⁴ allgemein Schwankungen der Atomzahldichte und der Konzentration von Fremdstoffen genannt. Biologische Objekte und die organischen Trägerfolien bestehen nach kurzer Bestrahlung im Elektronenmikroskop weitgehend aus amorphem Kohlenstoff, dessen Dichte mit ca. 1 g cm^{-3} nur etwa halb so groß wie die des Graphits ($2,25 \text{ g cm}^{-3}$) ist.

Speziell ergibt sich aus dem bei RUSKA¹ angegebenen Kontrast $K=3\%$ nach LIPPERT⁷ die Massendicke des C-Films in Abb. 8 zu $x=5 \cdot 10^{-7} \text{ g cm}^{-2}$, aus der angegebenen Dicke $d=5 \cdot 10^{-7} \text{ cm}$ folgt die Dichte $\varrho=1 \text{ g cm}^{-3}$.

Die Zahl der Fehlstellen ist hier also von gleicher Größenordnung wie die Atomzahl. Man macht daher wohl keinen großen Fehler, wenn man die Verteilung der Atome als ideal amorph annimmt, d. h. den Ort jedes Atoms als unabhängig von den Orten aller übrigen Atome ansieht. Daraus folgt eine mittlere statistische Schwankung ΔN der Atomzahldichte in dem durch Phasenkontrast bei der Defokussierung Δz hervorgehobenen Volumen $A^2 \pi d/4$ zu

$$\Delta N = \sqrt{\frac{2 \varrho}{\pi A m_H \lambda d \Delta z}} \quad (4)$$

($A m_H$ ist die Masse eines Objektatoms vom Atomgewicht A).

Führt man die in (3) vorausgesetzte Schwankung des inneren Potentials ΔU_0 ganz auf diese statistischen Schwankungen der Atomzahldichte zurück, so erhält man mit $\varrho d=x$ die relative Stromdichteschwankung durch Phasenkontrast

$$\frac{\Delta j}{j} (\text{Ph}) = \frac{2 e \Theta}{3 \lambda U \varepsilon_0} \sqrt{\frac{2 \pi x}{A m_H \lambda \Delta z}}. \quad (5)$$

Mit den für Abb. 8 oben bei RUSKA¹ geltenden Werten

$$\begin{aligned} A m_H &= 2 \cdot 10^{-23} \text{ g (Kohlenstoff)}, \\ \varepsilon_0 &= 8,86 \cdot 10^{-14} \text{ A sec/V cm}, \\ e &= 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ A sec}, \\ \lambda &= 4,87 \cdot 10^{-10} \text{ cm}, \\ U &= 6 \cdot 10^4 \text{ V}, \\ \Theta &= 2 \cdot 10^{-16} \text{ cm}^2 \text{ (l. c. } 5, 8), \\ x &= 5 \cdot 10^{-7} \text{ g cm}^{-2}, \\ \Delta z &= 3,96 \cdot 10^{-5} \text{ cm} \end{aligned}$$

wird $\Delta U_0=0,11 \text{ Volt}$ und $[\Delta j/j] (\text{Ph})=2,35 \cdot 10^{-2}$.

Da die Apertur $A/\Delta z$ von der Größenordnung der Objektivapertur ist, erscheint ein Vergleich mit dem nach LIPPERT⁹ definierten „Amplitudenkontrast“ sinnvoll.

Die der statistischen Schwankung der Atomzahldichte entsprechende Massendickeschwankung des hervorgehobenen Bereiches

$$\Delta x = \sqrt{\frac{2 x A m_H}{\pi \lambda \Delta z}} \quad (6)$$

beträgt mit den hier gewählten Werten

$$\Delta x = 1,8 \cdot 10^{-8} \text{ g cm}^{-2}$$

und führt mit der Kontrastdicke nach LIPPERT und FRIESE⁷ (für Kohlenstoff und eine Objektivapertur von $9 \cdot 10^{-3}$)

$$x_K = 1,7 \cdot 10^{-5} \text{ g cm}^{-2}$$

¹ E. RUSKA, Naturw. Rundschau **17**, 125 [1964].

² F. LENZ u. W. SCHEFFELS, Z. Naturforschg. **13 a**, 226 [1958].

³ F. THON, Proc. 3rd European Regional Conf. Electron Microscopy, Prague 1964, Vol. A, S. 127.

⁴ B. v. BORRIES u. F. LENZ, Proc. Stockholm Conf. Electron Microscopy 1956, S. 60.

⁵ F. LENZ, Z. Naturforschg. **9 a**, 185 [1954].

⁶ F. THON, Z. Naturforschg. **20 a**, 154 [1965].

⁷ W. LIPPERT u. W. FRIESE, Proc. 5th Intern. Congr. Electron Microscopy, Philadelphia 1962, Vol. 1, S. AA-1.

⁸ W. LIPPERT, Proc. 3rd European Regional Conf. Electron Microscopy, Prague 1964, Vol. A, S. 19.

⁹ W. LIPPERT, Z. Naturforschg. **13 a**, 274 [1958].



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 digitized 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.

auf den weit unter der Nachweisbarkeitsgrenze liegenden Amplitudenkontrast

$$\frac{\Delta j}{j} \text{ (Am)} \approx \frac{\Delta x}{x_K} = 10^{-3}.$$

Die im betrachteten Fall mehr als 20-fache Verstärkung durch Phasenkontrast bildet also die relativen Dichteschwankungen $\Delta x/x$ von 3,6% mit einem Kontrast von 78% des Amplitudenkontrastes der ganzen Folie ($x/x_K = 3 \cdot 10^{-2}$) ab!

(Zur Bedeutung der Bezeichnungen Phasenkontrast und Amplitudenkontrast siehe LENZ¹⁰.)

Von RUSKA (briefl. Mitt.) beobachtete kleine Verschiebungen der „Granula“ beim Durchfokussieren sind durch die von Δz abhängige Zuordnung der statistischen Schwankungen zu den Auswahlbereichen $A^2 \pi/4$ erklärlich. Das von VAN DORSTEN (Vortrag Bonn,

¹⁰ F. LENZ, 4. Intern. Kongr. Elektronenmikroskopie, Berlin 1958, Verh. Bd. 1, S. 306, Springer 1960.

9.11.64) berichtete Verschwinden und Neuentstehen solcher Granula kann außer durch Fokusverschiebungen und örtliche, zeitlich schwankende Aufladungen auch durch Platzwechselvorgänge, die die statistische Dichteverteilung örtlich verändern, gedeutet werden.

Wie schon oben angedeutet, ist (5) eine nur für große $|\Delta z|$ gültige Näherung. Für kleine $|\Delta z|$, d. h. große Aperturen $A/\Delta z$ verkürzt sich der optische Weg des gebeugten Strahls durch die öffnungsfehlerbedingte Wellenabberation nennenswert, so daß die Fläche des hervorgehobenen Bereichs für $|\Delta z| \rightarrow 0$ einem endlichen Wert zustrebt⁶. Außerdem verliert die Überlegung von LENZ und SCHEFFELS² natürlich ihren Sinn, wenn $A/\Delta z$ größer als die durch eine materielle Blende begrenzte Objektivapertur wird. Deshalb nimmt der Phasenkontrast, wie auf Abb. 8 in¹ ersichtlich, für kleine Defokussierungen mit dieser ab.

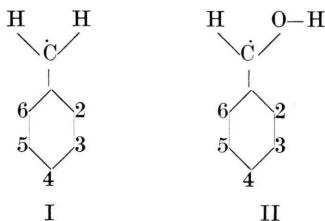
Ich danke Herrn Prof. Dr. F. LENZ, Tübingen, für die freundliche Durchsicht des Manuskriptes.

ESR-Spektren des Benzyl- und des α -Hydroxybenzylradikals

HANNS FISCHER

Deutsches Kunststoff-Institut, Darmstadt
(Z. Naturforschg. 20 a, 488—489 [1965]; eingegangen am 20. Februar 1965)

Hochaufgelöste Elektronenspinresonanz(ESR)-Spektren des Benzylradikals (I) sind kürzlich von DIXON und NORMAN¹ während der Reaktion von Toluol mit Hydroxylradikalen beobachtet worden. Wir haben dieses Radikal und sein Derivat, das α -Hydroxybenzylradikal (II), bei der Reaktion von Hydroxylradikalen mit Phenylsäure bzw. Benzylalkohol erhalten. Dabei wurden einige Besonderheiten der Radikalreaktionen und der ESR-Spektren von I und II festgestellt.



Die Untersuchungen wurden mit der von DIXON und NORMAN² und auch von uns³ bereits früher ausführlich beschriebenen Durchflußtechnik durchgeführt.

Bei der Reaktion von Phenylsäure ($C_6H_5-CH_2-COOH$) in 10^{-1} -mol. wäßriger Lösung mit Hydroxylradikalen werden ESR-Spektren beobachtet, deren Struktur von der Konzentration der Schwefelsäure in den Lösungen abhängt. Bei niedriger Säurekonzen-

tration ($c < 10^{-2} \text{ Mol/l}$) zeigen die Spektren eine Gesamtausdehnung von 75 Oe und besitzen neben kleineren, nicht völlig aufgelösten Aufspaltungen eine Dublettaufspaltung von $\Delta_D = (34 \pm 1)$ Oe. Sie sind deshalb mit großer Wahrscheinlichkeit auf Radikale vom Cyclohexadienyltyp zurückzuführen, die durch Anlagerung von Hydroxylradikalen an die Benzoilringe der Phenylsäuremoleküle entstehen. Bei höherer Säurekonzentration verschwinden die Spektren mit der Dublettstruktur. Es erscheint das in Abb. 1 wiedergegebene Spektrum, das nach seiner Linienstruktur dem Benzylradikal (I) zugeordnet werden muß.

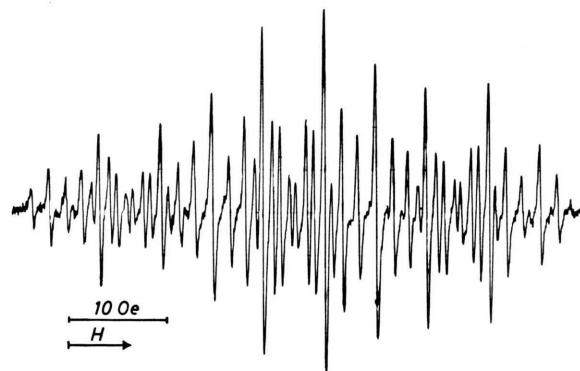


Abb. 1. ESR-Spektrum des Benzylradikals.

Aus der Analyse dieses Spektrums ergeben sich die in Tab. 1 angegebenen Aufspaltungsparameter.

Bei der Reaktion von Benzylalkohol ($C_6H_5-CH_2OH$) mit Hydroxylradikalen treten bei niedriger Säurekonzentration ebenfalls Radikale vom Cyclohexadienyltyp

¹ W. T. DIXON u. R. O. C. NORMAN, J. Chem. Soc. 1964, 4857.

² W. T. DIXON u. R. O. C. NORMAN, J. Chem. Soc. 1963, 3119.

³ H. FISCHER, Z. Naturforschg. 19 a, 866 [1964].