

Zur Defokussierungsabhängigkeit des Phasenkontrastes bei der elektronenmikroskopischen Abbildung *

F. THON

Siemens & Halske AG, Wernerwerk für Meßtechnik,
Entwicklungsabteilung MG-EM, Berlin

(Z. Naturforsch. 21 a, 476–478 [1966]; eingegangen am 16. Februar 1966)

Nach LENZ^{1–3} handelt es sich bei der in hochvergrößerten elektronenmikroskopischen Bildern stets zu beobachtenden defokussierungsabhängigen Granulation um reinen Phasenkontrast, der durch Überlagerung der ungebeugten Elektronenwelle mit den infolge örtlicher Schwankungen des inneren Potentials im Objekt gebeugten Wellen zustande kommt. LENZ berechnete die resultierende Stromdichteverteilung in den Ebenen hinter dem Objekt und fand, daß jeder FOURIER-Komponente der im Objekt vorliegenden räumlichen Verteilung des inneren Potentials eine Ebene im Abstand Δz unmittelbar hinter dem Objekt zugeordnet werden kann, in der eine Stromdichteverteilung maximalen Kontrastes mit der Wellenlänge Λ dieser Komponente entsteht. Zwischen Λ und dem Abstand Δz von der Objektebene besteht nach LENZ die Beziehung

$$\Lambda = + (2 \lambda \Delta z)^{1/2}, \quad (1)$$

wobei λ die Elektronenwellenlänge bezeichnet. Bei der Abbildung durch das Objektiv sollte also je nach dem Grad der Defokussierung Δz jeweils diejenige FOURIER-Komponente maximalen Bildkontrast hervorrufen, deren Wellenlänge Λ oder Raumfrequenz $1/\Lambda$ durch Gl. (1) bestimmt ist.

In einer früheren Arbeit⁴ konnte gezeigt werden, daß sich die experimentell in Fokussierungsreihen an

dünnen Kohlefolien beobachtete Defokussierungsabhängigkeit durch (1) nicht mehr richtig beschreiben läßt, wenn die objektbezogenen Abstände Λ kontrastbetonter Bildstrukturen den Wert 1,2 nm unterschreiten. Die experimentellen Befunde konnten jedoch auch im Gebiet kleinerer Abstände Λ gut gedeutet werden, wenn die Phasenverschiebung der Elektronenwellen durch Defokussierung Δz und der Öffnungsfehler der Objektivlinse berücksichtigt und das Objekt als schwaches Phasenobjekt⁵ betrachtet wurden. Unter Anwendung der für eine starke Linse modifizierten Beziehung von SCHERZER⁶ für die Phasenverschiebung γ in Abhängigkeit vom Winkel Θ zwischen Objektivachse und dem Wellenvektor der gebeugten Elektronenwelle in der Objektebene,

$$\gamma = \frac{\pi}{2 \lambda} (C_0 \Theta^4 - 2 \Delta z \Theta^2) \quad (2)$$

(C_0 = Öffnungsfehlerkonstante), ergab sich mit der Annahme, daß Phasenverschiebungen der 1. gegen die 0. Beugungsordnung von

$$\gamma = (2 n - 1) \frac{\pi}{2}, \quad n \text{ ganzzahlig}, \quad (3)$$

jeweils zu Maximalkontrast führen, für die Defokussierungsabhängigkeit der Objektperioden Λ mit

$$\Lambda = \lambda / \Theta \quad (4)$$

die Beziehung

$$\Lambda = \lambda \left[\frac{\Delta z}{C_0} \pm \left(\frac{\Delta z^2}{C_0^2} + \frac{(2 n - 1) \lambda^{1/2}}{C_0} \right)^{-1/2} \right]. \quad (5)$$

In Abb. 1 ist Λ nach Gl. (5) mit $C_0 = 4 \text{ mm}$ und $\lambda = 3,7 \cdot 10^{-9} \text{ mm}$ durch die ausgezogenen Kurven dargestellt; die gestrichelten Kurven entsprechen der Beziehung (1), die in (5) für $C_0 \rightarrow 0$ und $n = 0$ und $n = +1$ enthalten ist.

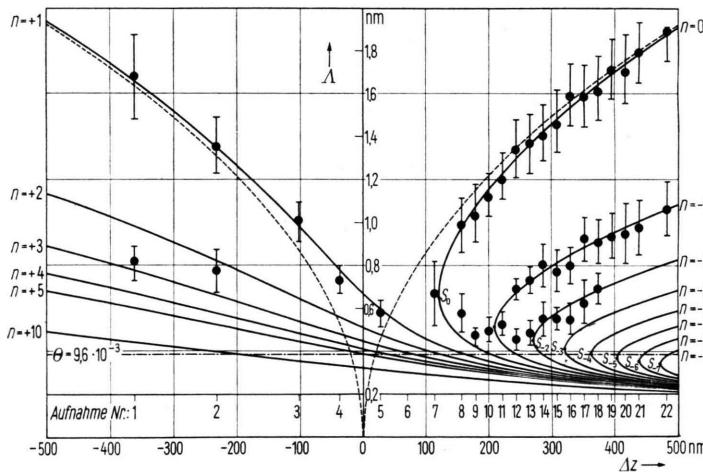


Abb. 1. Theoretische Defokussierungsabhängigkeit der Objektperioden Λ nach Gl. (1) (gestrichelte Kurven) und nach Gl. (5) (ausgezogene Kurven) für $C_0 = 4 \text{ mm}$ und $\lambda = 3,7 \cdot 10^{-9} \text{ mm}$. Zusätzlich sind die auf den einzelnen Aufnahmen einer Fokussierungsreihe (Abb. 2) ausgemessenen Mittelwerte der Abstände kontrastbetonter Strukturdetails aller auftretenden Abstandsgruppen mit der mittleren Schwankung der Einzelmessung eingetragen.

* Auszug aus einem Vortrag auf der Tagung für Elektronenmikroskopie in Aachen am 27. 9. 1965.

¹ B. v. BORRIES u. F. LENZ, in Electron Microscopy, Proc. Stockholm Conf. 1956; hrsg. v. F. S. SJÖSTRAND u. J. RÖDIN, Verlag Almqvist u. Wiksell, Stockholm 1957, S. 60.

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

³ F. LENZ, Optik 22, 270 [1965].

⁴ F. THON, Z. Naturforsch. 20 a, 154 [1965].

⁵ K.-J. HANSSEN, B. MÖRGENSTERN u. K.-J. ROSENBRUCH, Z. Angew. Phys. 16, 477 [1964].

⁶ O. SCHERZER, J. Appl. Phys. 20, 20 [1949].



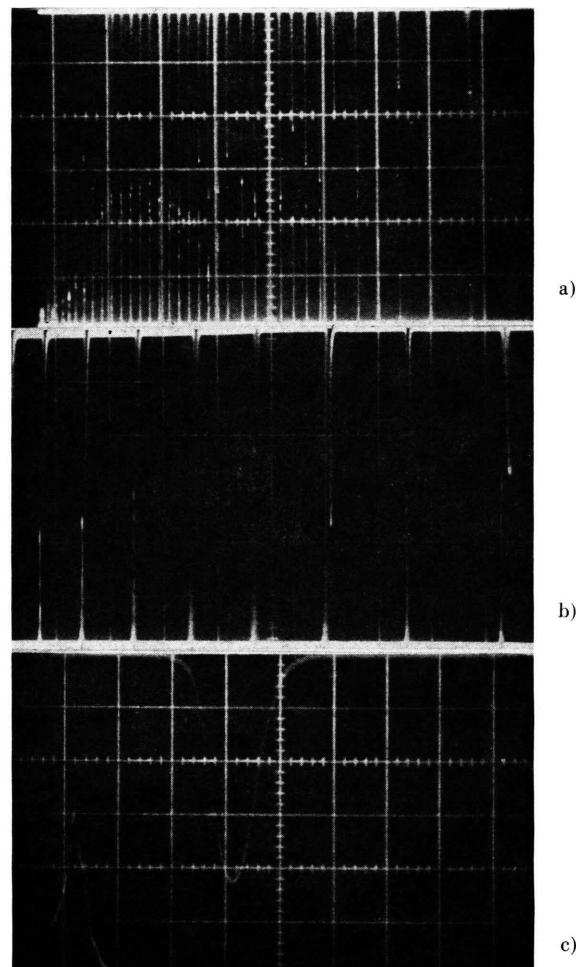


Abb. 1. Oszillogramme der Emission von Rubin- und Neodymlaser. Positive Ordinatenrichtung: Emission des Rubinlasers (Pumplicht); negative Ordinatenrichtung: Emission des Neodymlasers. a) $50 \mu\text{s}/\text{Einheit}$, b) $20 \mu\text{s}/\text{Einheit}$, c) $0,5 \mu\text{s}/\text{Einheit}$.

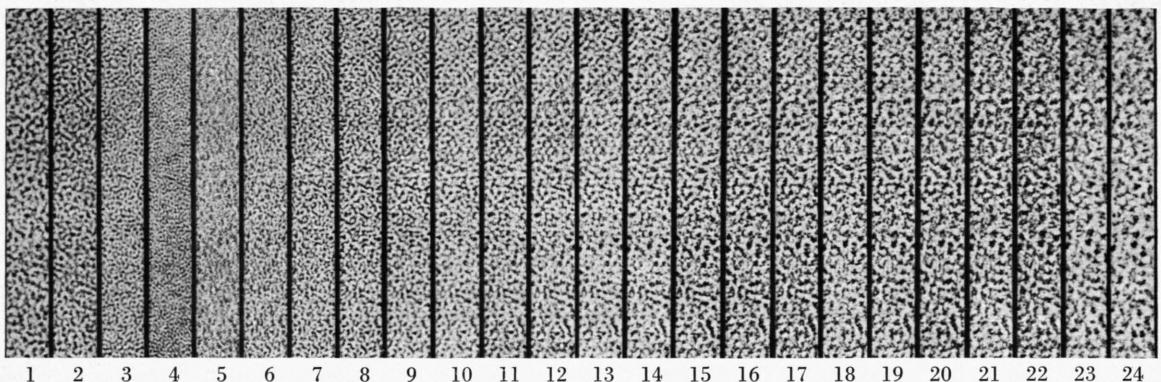


Abb. 2. Ausschnitte aus den Aufnahmen einer Fokussierungsreihe an einer dünnen Kohlefolie. Die Defokussierungswerte sind in Abb. 1 angegeben. Aufnahmedaten: $\lambda = 3,7 \cdot 10^{-9}$ mm (100 kV); Bestrahlungsapertur $\alpha_B \approx 1 \cdot 10^{-3}$; Objektivapertur $\alpha_0 = 9,6 \cdot 10^{-3}$; elektronenoptische Vergrößerung 178 000 : 1; Gesamtvergrößerung 620 000 : 1.

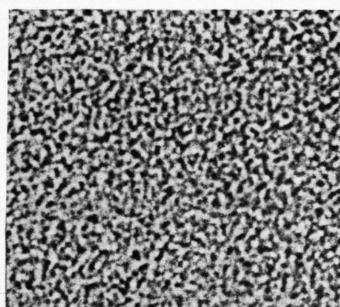


Abb. 3. $\Delta z = +110$ nm.

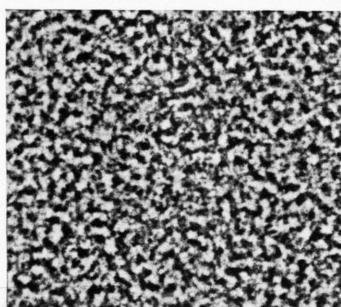


Abb. 4. $\Delta z = +230$ nm.

Abb. 3 und 4. Bildstrukturen bei Defokussierungswerten Δz in der Nähe der Scheitel S_0 und S_{-1} .
Gesamtvergrößerung 1 500 000 : 1.

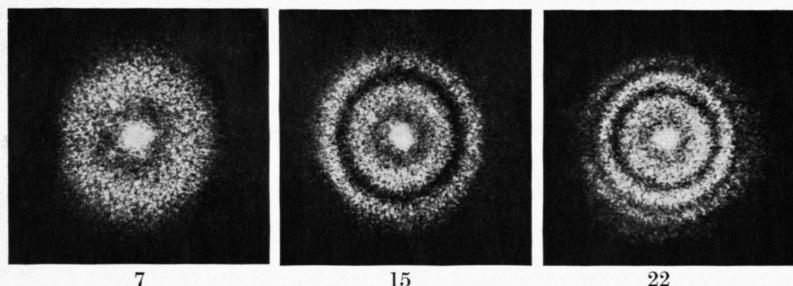


Abb. 6. Lichtoptische Beugungsfiguren, die an den Bildstrukturen der Aufnahmen 7, 15 und 22 der Fokussierungsreihe (Abb. 2) mittels der in Abb. 5 beschriebenen Anordnung gewonnen wurden.

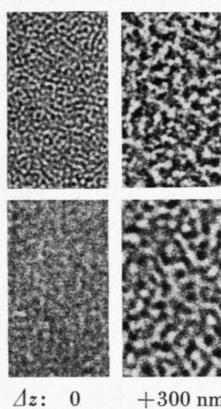


Abb. 9. Einfluß der Objektivaperturbegrenzung auf die Bildstruktur. Obere Reihe: $\alpha_0 = 9,6 \cdot 10^{-3}$; untere Reihe: $\alpha_0 = 3,8 \cdot 10^{-3}$. Gesamtvergrößerung 1 250 000 : 1.

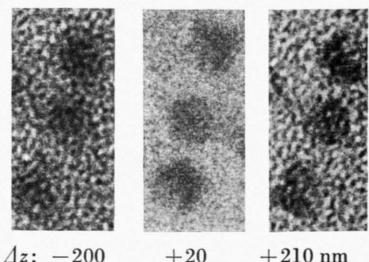


Abb. 10. Aufnahmen aus einer Fokussierungsreihe. Die Objektdetails mit ca. 5 nm Durchmesser werden durch Streuabsorptionskontrast hervorgehoben. Die mittlere Aufnahme zeigt wegen der auf $\alpha_0 = 3,8 \cdot 10^{-3}$ begrenzten Objektivapertur verschwindend geringen Phasenkontrast. Gesamtvergrößerung 1 000 000 : 1.

Von besonderer Bedeutung sind die Scheitel S_n der Kurvenzweige für $n \leq 0$ mit den Koordinaten

$$\Delta z = + (1 - 2n)^{1/2} \lambda^{1/2} C_0^{1/2} \quad (6)$$

und

$$\Delta = + (1 - 2n)^{-1/4} \lambda^{3/4} C_0^{1/4}. \quad (7)$$

In der näheren Umgebung der durch (6) gegebenen Defokussierungswerte besteht jeweils für einen relativ großen Δ -Bereich eine geeignete Phasenverschiebung nach (3). Phasenverschiebungen nach (3) mit geradzahligen Werten von n führen zu positivem Phasenkontrast, für ungeradzahlige n ergibt sich negativer Phasenkontrast.

Zur weiteren experimentellen Überprüfung der vorstehenden Aussagen wurden an einem Elmiskop IA erneut Fokussierungsreihen an dünnen Kohlefolien über einen erweiterten Defokussierungsbereich ($\Delta z \approx \pm 500$ nm) und mit verbesserter Aufnahmetechnik angefertigt. Abb. 2 * zeigt Ausschnitte aus den 24 Aufnahmen einer solchen Reihe. Zunächst wurden auf jeder Aufnahme dieser Reihe die Abstände von jeweils 100 kontrastreichen benachbarten Strukturdetails aus jeder auftretenden Abstandsgruppe gemessen. Die auf das Objekt bezogenen Mittelwerte der Abstände wurden mit der mittleren Schwankung der Einzelmessung nach der in ⁴ beschriebenen Methode in das Kurvensystem der Abb. 1 eingefügt. Es ergibt sich fast im gesamten Δz -Bereich recht gute Übereinstimmung der theoretischen und der experimentellen Werte. Die Abb. 3 und 4 zeigen das typische Verhalten der Bildstrukturen bei Defokussierungswerten in der Nähe der Scheitel S_0 und S_{-1} . Die objektbezogenen Abstände kontrastbetonter Strukturdetails liegen auf Abb. 3 über den gesamten Bereich zwischen 0,5 und 1,1 nm verteilt, während auf Abb. 4 bevorzugt Abstände von 0,4–0,7 sowie von 1,1–1,3 nm auftreten und der dazwischenliegende Bereich praktisch ausfällt. An identischen Bildstrukturen ($\Delta = 1,0$ nm) der in Abb. 2 gezeigten Aufnahmereihe konnte eine dreimalige Kontrastumkehr zwischen den Kurvenzweigen für $n = +2$ und $n = +1$, $n = +1$ und $n = 0$ sowie $n = 0$ und $n = -1$ nachgewiesen werden. Bildstrukturen mit Abständen von 0,4–0,5 nm wurden auf allen Aufnahmen im gesamten Defokussierungsbereich $\Delta z = +100$ bis $+500$ nm beobachtet.

Die bisher angewendete Methode, die Defokussierungsabhängigkeit der Raumfrequenzen $1/\Delta$ durch Ausmessen von Abständen im Bild zu überprüfen, stellt trotz der erreichten guten Übereinstimmung mit den Aussagen von (5) noch keinen strengen Beweis dieser Beziehung dar. Denn nach (5) wird bei jedem gewählten Defokussierungswert Δz (einschließlich $\Delta z = 0$) maximaler Phasenkontrast gleichzeitig für mehrere FOURIER-Komponenten des Objektes mit z. Tl. recht unterschiedlichen Wellenlängen erreicht. Die StromdichteVerteilung in der Bildebene entsteht also durch Überlagerung der Beiträge aller dieser FOURIER-Komponenten; dem Abstand zweier Intensitätsextrema in der Bildebene kann deshalb nicht ohne weiteres eine Wel-

lenlänge Δ einer FOURIER-Komponente zugeordnet werden. Die am Aufbau der Bildstruktur beteiligten Raumfrequenzen können aber korrekt durch eine FOURIER-Analyse der StromdichteVerteilung im Bild bzw. der StromdichteVerteilung auf der Photoplatte ermittelt werden.

Hierzu erwies sich ein lichtoptisches Diffraktometer, wie es für lichtoptische Analogieverfahren bei RÖNTGEN-Feinstruktur-Untersuchungen seit langem verwendet wird, als geeignet ⁷. Abb. 5 zeigt schematisch die verwendete Anordnung: Mittels Quecksilber-Höchstdrucklampe Q, Kondensor K, Blende BL und Filter F wird eine feine monochromatische Lichtquelle in der Brennebene einer Linse L_1 erzeugt. In den Parallelstrahlengang wird die zu analysierende Photoplatte O eingebracht. Die in der Brennebene der Linse L_2 bei B_1 entstehende Beugungsfigur ist die FOURIER-Transformierte der ortsabhängigen Amplitudenverteilung am Ort der Photoplatte. Sie gibt alle in der Bildstruktur enthaltenen Raumfrequenzen nach Richtung und Betrag geordnet wieder.

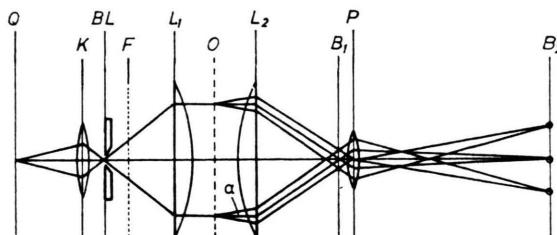


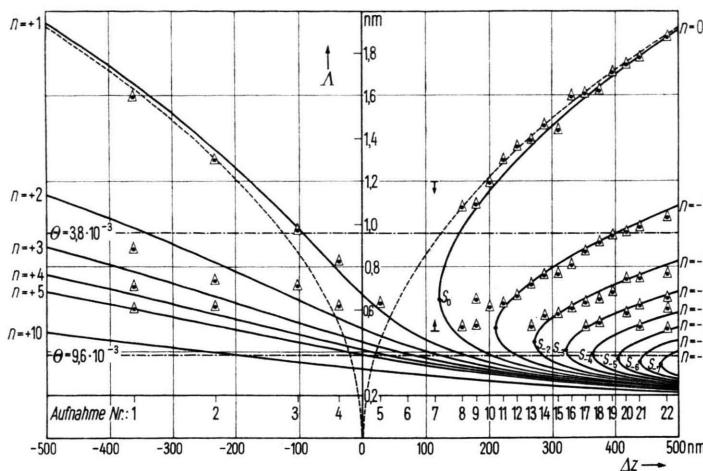
Abb. 5. Schema der Anordnung für die FOURIER-Analyse der Schwärzungsverteilung auf den Photoplasten. Es bedeuten: Q: Lichtquelle; K: Kondensor; BL: Blende; F: Linienfilter; L_1 , L_2 : korrigierte Linsensysteme; O: Ort der Photoplatte; B_1 : Brennebene von L_2 ; P: Projektiv; B_2 : Registrierbene.

Die Abb. 6 zeigt drei solcher Beugungsfiguren, die an den Aufnahmen Nr. 7, 15 und 22 der untersuchten Reihe gewonnen wurden. Die Beugungsfigur zu Aufnahme 22 enthält im Original sechs auswertbare Beugungsringe. Durch Ausphotometrieren der Beugungsfiguren aller Aufnahmen wurde die in Abb. 7 zusammen mit den theoretischen Kurven eingetragene Lage der Beugungsmaxima in Zuordnung zu den objektbezogenen Wellenlängen Δ gefunden: die Beziehung (5) wird also auch durch diese objektive Auswertungsmethode gut bestätigt.

Eine vorliegende Richtungsabhängigkeit der übertragenen Raumfrequenzen wird durch die Beugungsfiguren sehr gut wiedergegeben. Existieren infolge eines geringen und an den Bildstrukturen nicht mehr erkennbaren Astigmatismus leicht unterschiedliche Defokussierungswerte in zwei zueinander senkrechten Richtungen, so ergeben sich deutlich elliptische Beugungsfiguren, wie Abb. 8 zeigt.

⁷ Herrn Prof. Dr. W. HOPPE, München, bin ich für den Hinweis auf diese Methoden zu Dank verpflichtet.

* Abb. 2–4, 6, 8–10 auf Tafel S. 476 b.



Nach der Theorie können nur solche FOURIER-Komponenten des Objektes Phasenkontrast im Bild hervorufen, deren 1. Beugungsordnungen von der in der hinteren Objektivbrennebene angeordneten Aperturblende durchgelassen werden. In dieser Ebene ist der Achsenabstand r der ± 1 . Beugungsordnungen einer Objektperiode A in guter Näherung⁸ durch

$$r = \lambda f / A \quad (8)$$

gegeben (f = Objektivbrennweite). In Abb. 7 sind als strichpunktisierte Geraden die Übertragungsgrenzen ein-

⁸ K.-J. HANSSEN, Z. Angew. Phys., im Druck.

Abb. 7. Theoretische Defokussierungsabhängigkeit der Objektperioden A nach Gl. (1) (gestrichelte Kurve) und nach Gl. (5) (ausgezogene Kurve) für $C_0=4$ mm und $\lambda=3,7 \cdot 10^{-9}$ mm. Die strichpunktuierten Geraden markieren die Übertragungsgrenzen für die Raumfrequenzen bei Objektivaperturen $\alpha_0=3,8 \cdot 10^{-3}$ bzw. $\alpha_0=9,6 \cdot 10^{-3}$. Die eingezzeichneten Meßwerte geben die experimentell durch FOURIER-Analyse der Bildstrukturen ermittelte Defokussierungsabhängigkeit der Objektperioden A wieder.

getragen, die sich nach (8) und (4) für Blenden mit den Radien $25 \mu\text{m}$ und $10 \mu\text{m}$ für $f=2,6$ mm und $\lambda=3,7 \cdot 10^{-9}$ mm ergeben. Das Experiment bestätigte, daß bei Reduzierung der Objektivapertur auf $\alpha_0=3,8 \cdot 10^{-3}$ Periodenlängen $A < 1,0$ nm in der Bildstruktur nicht mehr enthalten sind und der Phasenkontrast somit für $\Delta z \approx 0$ gegen Null geht (Abb. 9). Auf diese Weise können bei der Untersuchung von Objekten mit größeren Details, die noch ausreichenden Streuabsorptionskontrast hervorrufen, die Phasenstrukturen der Trägerfolie weitgehend unterdrückt werden (Abb. 10).

Herrn Prof. Dr. F. LENZ, Tübingen, danke ich für eine kritische Durchsicht des Manuskriptes.