

Den Festvortrag hielt Professor Dr. *Ernst Ruska*, Direktor des Instituts für Elektronenmikroskopie am Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft, mit dem Thema

## AUS DER ENTWICKLUNG DES ELEKTRONENMIKROSKOPS

Verehrter Herr Präsident, Exzellenz Conant,  
lieber Herr Professor Hahn, liebe Kollegen,  
meine Damen und Herren!

Wir betreiben an diesem Institut überwiegend Forschungen zur Verbesserung des Elektronenmikroskops. Ich möchte daher versuchen, Ihnen einen Überblick über die Aufgaben zu geben, die bei der bisherigen Entwicklung dieses Instruments schon gelöst wurden, und über solche, die noch gelöst werden müssen, wenn es bis zu seiner durch physikalische Gesetze gegebenen Leistungsgrenze verbessert werden soll.

Wir Menschen gehören zu den Augentieren, welche die Erfahrungen mit ihrer körperlichen Umwelt vornehmlich ihrem Gesichtssinn verdanken. Aus unseren bildlichen Eindrücken leiten wir aber auch die meisten unserer Vorstellungen und Begriffe ab. Für den forschenden Menschen sind daher Instrumente, die ihn beim Sehen unterstützen, besonders wichtig. Mit der Erfindung von Fernrohr und Mikroskop begann die moderne Naturwissenschaft. Lichtmikroskope benötigt die Forschung seit langem in fast allen Disziplinen der Naturwissenschaften, gleichwohl ob es sich um die Erforschung von Grundlagen oder um deren Anwendung etwa in der Medizin oder in der Technik handelt. So hat sich beispielsweise der für die gesamte Biologie fundamentale Zellbegriff im wesentlichen aus lichtmikroskopischen Arbeiten entwickelt. Mit dem Elektronenmikroskop kann man zur Zeit mindestens 300mal kleinere Teilchen bzw. Strukturelemente eines Präparats abbilden, als es mit dem Lichtmikroskop möglich ist. Es wird daher trotz seiner heute noch keineswegs ganz ausgereiften Entwicklung, und obwohl es ein sehr kostspieliges Instrument ist, auf fast allen Gebieten verwendet, die sich bisher schon des Lichtmikroskops bedienen. Besonders fruchtbar hat es sich ent-

gegen anfänglicher Skepsis auf den biologischen Sektor ausgewirkt, und das zuvor erarbeitete Zellbild konnte durch elektronenmikroskopische Arbeiten wesentlich verfeinert werden.

Jedes Bild, das wir von einem bestrahlten oder selbststrahlenden Objekt durch Linsen erzeugen, kommt durch Beugung der Strahlen am Objekt und am Linsenrand zustande. Es gibt daher vom Objekt um so kleinere Einzelheiten wieder, je kürzer die Wellenlänge der verwendeten Strahlung und je größer der Raumwinkel bzw. die Abbildungsapertur ist, innerhalb derer von den Flächenelementen des Objekts Strahlung in die dem Objekt nächstliegende Linse des abbildenden Systems, das Objektiv, gelangt. Die Elektronenlinsen sind nicht wie die Lichtlinsen stofflicher Art, sondern bestehen aus dreh-symmetrischen elektrischen oder magnetischen Feldern. Diese lenken die Elektronenstrahlen ebenso wie Lichtlinsen um so stärker zur optischen Achse zurück, je mehr der Strahl vor Eintritt in die Linse zur Achse geneigt war. Der Öffnungsfehler von Elektronenlinsen ist sehr viel größer als bei Lichtlinsen, so daß wir gezwungen sind, die Abbildungsapertur auf  $\frac{1}{100}$  der Apertur des Lichtmikroskops zu beschränken. Die Materiewelle schnell bewegter Elektronen, mit denen wir die Präparate im evakuierten Elektronenmikroskop bestrahlen, ist nun aber rund  $10^6$ -mal kürzer als die des Lichts. Deshalb kann man trotz der sehr beschränkten Apertur theoretisch im elektronenmikroskopischen Bild eine 1000fach bessere Auflösung von Objekteinzelheiten als im lichtmikroskopischen Bild erhalten. Während die Auflösungsgrenze selbst des Ultraviolett-Lichtmikroskops 1 bis 2 zehntausendstel mm beträgt, liegt sie beim Elektronenmikroskop bei 1 bis 2 zehnmillionstel mm, d. h. bei 1 bis 2 Å, ist also etwa so groß wie die kleinsten Atomabstände in Festkörpern.

Die durch Wellenlänge und Objektivapertur bestimmte theoretische Grenzauflösung eines Mikroskops wird sich aber nur dann in entsprechend hoch aufgelösten Bildern manifestieren, wenn bei der Abbildung einige selbstverständliche Voraussetzungen erfüllt sind. So dürfen Objekt und Bild während der Beobachtung und Aufnahme ihre Lage zum Abbildungssystem nicht verändern, die abbildenden Linsen müssen rund und zueinander zentriert sein und das Bild muß genügend genau scharfgestellt werden können. Auch darf sich das Objekt unter

dem Einfluß der Bestrahlung nicht verändern. Diese Voraussetzungen müssen bei jedem optischen Instrument nur gerade so weit erfüllt sein, daß seine theoretische Grenzauflösung realisiert werden kann. Sie waren beim Lichtmikroskop mit seinem vergleichsweise geringen Auflösungsvermögen noch relativ leicht zu erfüllen. Es war bisher und ist auch noch heute ungleich schwieriger, diese Voraussetzungen auch für das 1000mal bessere Auflösungsvermögen des Elektronenmikroskops zu erfüllen und dabei den völlig anderen physikalischen Eigenschaften der Elektronenstrahlen Rechnung zu tragen. Die genannten Bedingungen lassen sich nicht alle durch die Konstruktion des Elektronenmikroskops erfüllen, sondern es müssen einige von ihnen vom Mikroskopierenden bei seiner Arbeit eingehalten werden. Die Kunst des Mikroskopierens, von der man schon in der Lichtmikroskopie sprach, ist also durch das Elektronenmikroskop keineswegs geringer geworden. Die Anstrengungen im Verlauf der jetzt etwa 30jährigen Entwicklung des Elektronenmikroskops galten fast ausschließlich der Schaffung dieser Voraussetzungen.

#### *Begrenzung von Bewegung und Erwärmung des Präparats*

Betrachten wir zunächst die selbstverständliche Forderung, wonach sich das mikroskopische Präparat nicht unzulässig stark bewegen darf, während die photographische Emulsion mit dem hochvergrößerten Elektronenbild exponiert wird. Besonders kritisch ist dabei die Bewegungskomponente senkrecht zur Objektivachse bzw. zum Elektronenstrahl. Während der Exposition von ca. 1 Minute darf sich daher das Präparat in dieser Richtung um nicht viel mehr als 1 Å, d. h. um höchstens den Abstand zweier benachbarter Atome bewegen. Diese extremen Anforderungen an die Bewegungslosigkeit des Präparats während der Aufnahme konnte man im Laufe der Zeit erstaunlicherweise durch zwei einfache Maßnahmen weitgehend erfüllen.

Man beschränkte erstens die Möglichkeit elastischer und thermischer Verschiebungen zwischen Präparat und Objektiv. Hierzu machte man den mechanischen Weg vom Präparatträger über den zum Durchmustern des Präparats notwendigen Verschiebetisch bis zum Polschuhsystem des Objektivs, in dem das Linsenfeld erzeugt wird,

möglichst kurz und losfrei. Dabei verhinderte man die spontane Bewegung des Verschiebetisches gegenüber dem Objektivpolenschuhsystem durch Haftreibung.

Die starke Wechselwirkung der sehr energiereichen Elektronen mit der Materie führt selbst bei dünnsten Präparaten zu einer starken Erwärmung. Diese wird noch verstärkt, wenn der Elektronenstrahl außerdem noch auf die ein freies Präparatfeld begrenzenden Teile des Präparatträgers trifft. Da diese sehr viel dicker als das Präparat sind, wird dort die gesamte Elektronenenergie absorbiert. Man mußte daher auch die durch die örtlich ungleichmäßige Erwärmung verursachte thermische Drift während der Exposition auf die Größenordnung von nur wenigen  $\text{\AA}/\text{min}$  bringen. Hierzu bildet man die Strahlquelle stark verkleinert auf dem Präparat ab. Man braucht von diesem nur noch den kleinen Bereich zu durchstrahlen, der als Endbild auf dem Leuchtschirm erscheint und der um so kleiner ist, je höher die elektronische Vergrößerung des Präparats eingestellt wird. Beispielsweise entspricht bei einer 100 000fachen elektronischen Vergrößerung einem Leuchtschirmbild von 10 cm Durchmesser ein Präparatfeld von gerade noch  $1 \mu\text{m}$  Durchmesser. Dank der erstaunlichen Fortschritte in der Präparationstechnik gelang es aber, nur ca.  $150 \text{\AA}$  dicke, aber mechanisch und chemisch noch genügend widerstandsfähige Trägerfolien und nur ca.  $300 \text{\AA}$  dicke Schnitte von biologischen Präparaten herzustellen. Das für die Erwärmung wesentliche, durchstrahlte Präparatvolumen kann daher heute auf die Größenordnung eines Würfels mit der Kantenlänge von  $1/2000 \text{ mm}$  gebracht werden. Die in diesem winzigen Präparatvolumen absorbierte Strahlleistung ist so klein, daß sie schon bei geringer Temperaturerhöhung des Präparats gegenüber seiner Umgebung abgeleitet oder abgestrahlt wird. Deshalb kann das Präparat selbst dann praktisch auf Zimmertemperatur gehalten werden, wenn man es mit der für eine elektronische Vergrößerung von  $200\,000 : 1$  erforderlichen Strahlstromdichte von ca.  $1 \text{ A}/\text{cm}^2$  durchstrahlt. Man kann heute auch Folien und Dünnschnitte auf Präparatträgern mit relativ großen, freien Bohrungen bis zu  $1 \text{ mm}$  Durchmesser befestigen. Der sehr viel dünnere Elektronenstrahl trifft dann auch beim Absuchen des Präparats nicht auf den Präparatträger selbst und leitet daher auch nicht einmal vorübergehend eine thermische Drift ein. Die ursprüngliche

Befürchtung, daß man die starke Erhitzung des Präparats im Elektronenstrahl und seine dadurch bedingte Bewegung und Zerstörung nicht vermeiden könne, hat vor 30 Jahren neben anderen inzwischen ebenfalls gegenstandslos gewordenen Einwänden viele Jahre lang verhindert, daß man der Elektronenmikroskopie eine reelle Chance gab.

### *Verringerung störender elektrischer und magnetischer Felder*

Die Ablenkung der Elektronenstrahlen durch elektrische und magnetische Felder macht es nicht nur möglich, daß Elektronenlinsen und Elektronenmikroskope gebaut werden können, sondern kann leider auch zu recht unangenehmen Störungen beim Mikroskopieren führen. Analoge Schwierigkeiten mußten bei der Entwicklung des Lichtmikroskops natürlich nicht überwunden werden. Wird zum Beispiel das abbildende Elektronenstrahlbündel zwischen Präparat und Endbild zeitlich veränderlich abgelenkt, so bewegt sich das Elektronenbild auf dem Leuchtschirm bzw. der photographischen Emulsion selbst bei völliger Ruhe des Präparats gegenüber dem Objektiv. Bei rascher Ablenkung zum Beispiel durch magnetische Wechselfelder von 50 Hz leidet die Auflösung von Leuchtschirmbild und photographischer Aufnahme. Bei langsamerer Ablenkung, die noch das Verfolgen des bewegten Leuchtschirmbildes mit dem Auge gestattet, leidet dennoch die Auflösung der Aufnahme. Eine zeitlich konstante Ablenkung des Elektronenstrahlbündels führt zu seiner Dejustierung gegenüber den Linsen und verschlechtert so ebenfalls die Bildauflösung.

Unerwünschte elektrische Felder entstehen im Elektronenmikroskop dadurch, daß der Elektronenstrahl auf die ihn umgebenden metallischen Oberflächen trifft, auf denen sich häufig dünne, schlecht leitende Schichten befinden. Die örtlich und meist auch zeitlich variierenden Aufladungspotentiale führen zu entsprechend örtlich und zeitlich variierenden, den Elektronenstrahl ablenkenden, elektrischen Feldern. Ein solches elektrisches Störfeld tritt zum Beispiel besonders häufig an der Aperturblende der Objektivlinse auf, die ja von den am Präparat gestreuten Elektronen getroffen wird. Es verhindert — selbst bei zeitlicher Konstanz — allein durch seine nicht drehsymmetrische Form die völlig axial-symmetrische Ablenkung der Elektronen-

strahlen, welche für eine stigmatische, d. h. von astigmatischen Fehlern freie Abbildung notwendig ist. Das Auftreten störender elektrischer Felder kann auch heute noch allein dadurch vermieden werden, daß man die dem Strahl ausgesetzten metallischen Oberflächen peinlich säubert und so ihre Leitfähigkeit aufrechterhält.

Die in fast allen Räumen mit elektrischer Installation zumindest zeitweise auftretenden magnetischen Wechselfelder von 50 Hz dringen selbst durch eine gute ferromagnetische Abschirmung in das Innere der Mikroskopröhre und lenken den Elektronenstrahl und das Elektronenbild periodisch ab. Aus den Eisengehäusen der von Gleichstrom durchflossenen magnetischen Linsenspulen treten Kraftlinien aus und dringen an anderen Stellen der Mikroskopröhre wieder in diese ein. Wegen der meist nicht drehsymmetrischen Verteilung des abschirmenden Eisens, aus dem die Mikroskopröhre besteht, entstehen dort wiederum nichtdrehsymmetrische und deshalb selbst bei zeitlicher Konstanz störende Felder. Sie lenken den Elektronenstrahl je nach der Größe des Linsenstroms verschieden stark ab und dezentrieren ihn so gegenüber dem gesamten Linsensystem, wodurch sich die Bildauflösung ebenfalls verschlechtert. Daraus ergibt sich eine doppelte Aufgabe: Einerseits muß man den Elektronenstrahl durch die Wand der Mikroskopröhre vor magnetischen Wechselfeldern möglichst gut abschirmen, die entweder aus der elektrischen Versorgung des Mikroskops oder aus elektrischen Geräten und Leitungen in der Nähe des Aufstellungsortes herrühren. Andererseits muß man das Mikroskop möglichst weit entfernt von solchen magnetischen Störquellen aufstellen.

#### *Begrenzung der Inkonstanz der Linsenfokallängen*

Aus der Ablenkbarkeit der Elektronenstrahlen in Feldern ergab sich aber noch eine zweite schwierige Aufgabe, nämlich das Konstanthalten der Fokallängen der Elektronenlinsen, die von Elektronengeschwindigkeit und Linsenfeldstärke abhängen. Hierzu mußten für die Elektronenbeschleunigung Gleichspannungen der Größenordnung 100 kV mit einer Konstanz von weniger als  $10^{-5}$  erzeugt und die Linsenspulen mit Strömen von noch etwas besserer Konstanz gespeist werden. Die Anforderungen an die Konstantregelung werden

künftig aus zwei Gründen noch wachsen: Um dickere Objekte durchstrahlen zu können, aber auch um noch höhere Auflösung zu erreichen, muß man zu schnelleren Elektronen und stärkeren Linsenfeldern übergehen und damit auch größere und besser geregelte Strahlspannungen und Linsenströme als bisher erzeugen. Bei der Entwicklung des Lichtmikroskops gab es keine analogen Probleme, weil die Brennweite von Lichtlinsen nur von zeitlich hinreichend unveränderlichen Größen wie der Krümmung der Linsenflächen und dem Brechungsexponent der Gläser abhängt.

### *Begrenzung der Unrundheit der Linsen*

Infolge der kurzen Elektronenwellen werden aber auch an die Drehsymmetrie der Elektronenlinsen ungleich viel höhere Ansprüche als an die von lichteoptischen Linsen gestellt. Bei magnetischen Linsen hängt der Symmetriegrad des Feldes vom Grad der Rundheit der Polschuhbohrungen und vom Grad der Homogenität des magnetischen Materials ab. Die noch zulässige Abweichung von der Drehsymmetrie liegt unter  $10^{-5}$ , so daß es bis heute nicht gelungen ist, genügend runde Linsenfelder durch hinreichend runde Polschuhbohrungen und zugleich durch genügend homogenes magnetisches Polschuhmaterial zu verwirklichen. Man hat aber einen anderen Weg gefunden, um das unrunde Linsenfeld zu verrunden. Es ist dies eine in unmittelbarer Nähe der zu korrigierenden Linse angeordnete elektronische Zylinderlinse, deren Brechkraft und Azimut einstellbar sind, und die so eingestellt werden, daß die Unrundheit der zu korrigierenden Linse kompensiert wird. Da in der ersten, vom Objektiv bewirkten Abbildungsstufe des Mikroskops die größte Strahlapertur vorhanden ist, begrenzen Öffnungsfehler und Astigmatismus im Objektiv die Abbildungsgüte besonders stark. Die Unrundheit des Objektivs ist insbesondere durch die Aufladung der Aperturblende zeitlich veränderlich, so daß der Mikroskopierende während des Arbeitens die Stigmatoreinstellung kontrollieren muß. Die Einführung des im Betrieb einstellbaren „Stigmators“ in das Objektiv des Elektronenmikroskops brachte daher einen entscheidenden Fortschritt.

## *Veränderung der Präparate durch den Elektronenstrahl*

Die Ausnutzung der hohen Auflösung des Elektronenmikroskops wurde aber bisher auch noch durch einen weiteren Umstand behindert, der bei der Lichtmikroskopie nicht auftritt. Der Elektronenstrahl kann nämlich durch Ionisierung die stoffliche und strukturelle Zusammensetzung des Präparats innerhalb des durchstrahlten Bereichs verändern. Solche strahlenchemischen Wechselwirkungen finden entweder nur zwischen den Strahlelektronen und dem Präparat statt, oder es können dabei auch noch zusätzlich Gas- und Dampfmoleküle eine Rolle spielen, die trotz der Evakuierung des Elektronenmikroskops auf  $10^{-5}$  Torr in großer Zahl auf die Oberfläche des Präparats treffen.

Zu der letzteren Gruppe gehört die seit langem beobachtete „Verschmutzung“ der Präparate durch die Bildung von Kohlenstoffschichten. Sie entstehen dadurch, daß auf das Präparat Moleküle verschiedener Kohlenwasserstoffe auftreffen, die teils aus dem für die Vakuumpumpen benötigten Öl, teils aus den zur Vakuumdichtung verwendeten Gummiringen und Fetten dauernd in den evakuierten Raum abdampfen. Je geringer die Temperatur des Präparats ist, um so länger verweilen sie auf seiner Oberfläche, bevor sie wieder in den evakuierten Raum zurückdampfen. Während ihrer Verweilzeit auf der Oberfläche können sie von Strahlelektronen getroffen werden. Dadurch entstehen zunächst Polymerisate, die nicht mehr abdampfen. Bei weiterer Bestrahlung wird dann Wasserstoff frei und fester Kohlenstoff bleibt zurück. Es bildet sich daher mit der Zeit auf den beiden Präparatoberflächen eine immer dickere Kohlenstoffschicht. Solange bei niedrigen Vergrößerungen die Struktur der zusammen mit dem Präparat abgebildeten Kohlenstoffschicht noch nicht optisch aufgelöst wird, vermindert sich nur der Kontrast, mit dem die größeren Strukturen des Präparats im Bild erscheinen. Bei hohen Vergrößerungen wird zusammen mit den feinsten Präparatstrukturen auch die Struktur der beiden Kohlenstoffschichten aufgelöst. Ihre Überlagerung im Bild erschwert die Beobachtung und Deutung der Struktur des Präparats.

Wie ebenfalls schon seit längerer Zeit bekannt ist, findet aber bei kohlenstoffhaltigen Präparaten auch noch ein anderer strahlenchemi-



scher Prozeß statt, durch den umgekehrt Kohlenstoff von der Oberfläche her abgebaut wird. Hiervon werden also die meisten organischen Präparate der Biologie und Medizin besonders betroffen. Dr. Heide ist in den vergangenen Jahren hier im Institut diesen Fragen nachgegangen und konnte sicherstellen, daß dieser der Schichtbildung entgegenwirkende Prozeß hauptsächlich von den noch im Restgas vorhandenen Wasserdampfmolekülen verursacht wird, welche auf das Präparat auftreffen. Nach Ionisierung der auf der Oberfläche absorbierten  $H_2O$ -Moleküle durch die Strahlelektronen wird der Kohlenstoff in den organischen Verbindungen oxidiert und das entstehende Kohlenoxyd oder Kohlendioxyd abgepumpt. Die hierdurch erfolgende Änderung oder gar das Verschwinden der durch Kohlenstoff bedingten Strukturen im Präparat und im Bild sind natürlich meistens unerwünscht, wenn sie vielleicht auch einmal im Sinne eines gezielten Abbaus nützlich sein mögen. Bei genügend großer Elektronenstromdichte steigt die Bildungsgeschwindigkeit der Kohlenstoffschicht mit dem Partialdruck der Kohlenwasserstoffe, die Geschwindigkeit des Kohlenstoffabbaus mit dem Partialdruck insbesondere des Wasserdampfs. Beide Geschwindigkeiten verringern sich mit steigender Präparattemperatur. Diese erhöht sich mit der Elektronenstromdichte und mit der Größe des durchstrahlten Bereichs sowie mit der Massendicke des Präparats. Mit der Wärmeleitfähigkeit des Präparats vermindert sich seine Temperatur.

#### *Schutz der Präparate vor Veränderungen durch den Elektronenstrahl*

Nachdem die Ursachen für die Bildung der Kohlenstoffschicht und für den Abbau von Kohlenstoff aus Präparaten gefunden worden sind und nachdem man auch die Faktoren kennengelernt hat, welche die Geschwindigkeiten der Prozesse bestimmen, hat Dr. Heide eine Mikroskopiertechnik entwickelt, mit der beide Störungen beseitigt werden können. Man durchstrahlt hierzu das auf annähernd Zimmertemperatur gehaltene Präparat in einer möglichst weitgehend geschlossenen und mit flüssiger Luft auf ca.  $-190^\circ C$  gekühlten Kammer, an deren Wänden sowohl die Kohlenstoff- als auch die Wasserdampfmoleküle kondensieren. Zwei enge Blenden gestatten dem Elektronenstrahl den Durchtritt durch die Kammer und das in

ihr befindliche Präparat. Der Partialdruck im gekühlten Objektraum sinkt auf einen für beide Präparatveränderungen unschädlichen Betrag, denn nur sehr wenige Moleküle gelangen aus dem die Kammer umgebenden Vakuumraum durch die beiden Strahlblenden unmittelbar auf das Präparat. Die Kammer wird zusammen mit dem Präparat ausgeschleust, um die mit der Zeit durch Vereisung verschmutzten Kammerblenden leicht reinigen bzw. auswechseln zu können.

Das Mikroskopieren mit „Objektraumkühlung“ bringt besondere Vorteile, wenn die äußerst feinen und kontrastarmen Strukturen in Dünnschnitten von Zellen und Geweben bei höchster Auflösung und daher bei ca. 100 000facher und noch höherer elektronischer Vergrößerung untersucht werden sollen. Um zu vermeiden, daß die Auflösung in den Aufnahmen durch eine thermische Drift des Präparats vermindert wird, darf man von diesem nur einen sehr kleinen Bereich durchstrahlen. Weil hierbei das Präparat nicht erhitzt wird, sondern annähernd auf Zimmertemperatur verbleibt, verschmutzt es ohne die Objektraumkühlung schon in wenigen Sekunden. Bisher war es daher äußerst schwierig, Aufnahmen mit guter Auflösung, d. h. auch mit genügendem Kontrast in der kurzen Zeit zwischen dem Beginn der Bestrahlung und dem Sichtbarwerden der Verschmutzung zu erhalten. Erst durch die Verwendung der Objektraumkühlung in Verbindung mit der Feinbereichsbestrahlung ist es jetzt möglich geworden, Präparate bei so hoher Vergrößerung und genügender Helligkeit stundenlang zu beobachten und während dieser Zeit viele gute Aufnahmen des unveränderten Präparats zu machen. Durch die neue kontrast- und strukturerhaltende Mikroskopiertechnik kann daher das hohe Auflösungsvermögen des Elektronenmikroskops besonders bei organischen Präparaten erst jetzt voll nutzbar gemacht werden.

#### *Verringerung von Öffnungsfehler und Wellenlänge*

Der in letzter Zeit erreichte Entwicklungsstand der Elektronenmikroskopie läßt es jetzt auch sinnvoll erscheinen, die weitere Verbesserung des Auflösungsvermögens wie in der Lichtmikroskopie durch Verringern des Öffnungsfehlers des Objektivs und Verkürzen der Wellenlänge anzustreben. Ich möchte diese, erst vor kurzem von verschiedenen Seiten in Angriff genommenen Arbeiten als die letzte Entwick-

lungsstufe des konventionellen Elektronenmikroskops bezeichnen. Durch sie wird, wie wir sehen werden, die theoretische Auflösungsgrenze auf  $1 \text{ \AA}$  vorgeschoben, und es ist sehr wahrscheinlich, daß sie in nicht mehr ferner Zeit auch realisiert werden kann. Um zunächst bei gegebener Strahlspannung die beste Auflösung zu erreichen, müssen wir das Elektronenobjektiv mit dem kleinsten Öffnungsfehler suchen. Das wird zunächst ein magnetisches Objektiv sein, da unter vergleichbaren Umständen die Öffnungsfehler magnetischer Linsensfelder kleiner als die von elektrischen sind. Magnetische Linsen brauchen wir auch deshalb nur zu berücksichtigen, weil man ja auch möglichst kurzwellige Strahlen, d. h. schnelle Elektronen verwenden will.

Der verstorbene österreichische Physiker Professor Dr. GLASER hat schon vor mehr als zwanzig Jahren ein solches „optimales Elektronenobjektiv“ angegeben und seine Brennweite und Fehler berechnet. Es handelt sich um eine starke magnetische Linse, deren erste Feldhälfte als Kondensator und deren zweite Feldhälfte als Objektiv benutzt wird. Das Präparat muß bei dieser Linse an die Stelle gebracht werden, an der die axiale Feldverteilung ihr Maximum hat. Der Öffnungsfehler eines solchen von einem Maximum aus nur abklingenden Magnetfeldes ist etwa 10mal so klein und die dadurch bedingte Auflösungsgrenze fast doppelt so gut wie bei den bisher verwendeten magnetischen Objektiven, bei denen das Präparat im wesentlichen vor dem Gesamtfeld liegt. Solche „Kondensator-Objektiv-Einfeldlinsen“ wurden trotz ihrer nun schon seit zwanzig Jahren bekannten geringen Fehler noch nicht im Elektronenmikroskop verwendet. Zwei Umstände vermögen dies hinreichend zu erklären. Einerseits befürchtete man nicht zu Unrecht bei diesem ungewohnten Linsensystem elektronenoptische und konstruktive Komplikationen und scheute wohl auch den damit verbundenen größeren materiellen Aufwand. Andererseits konnte aber auch durch den kleineren Öffnungsfehler der neuen Objektivform das praktische Auflösungsvermögen des Elektronenmikroskops nicht verbessert werden, solange es infolge der bereits erörterten Unvollkommenheiten des Mikroskops schon weit vor dem theoretischen Auflösungsvermögen begrenzt war. Nachdem inzwischen diese Fehler genügend weit beseitigt worden sind, muß man den von Glaser gezeigten Weg beschreiten.

## *Das Kondensor-Objektiv*

In unserem Institut wurde daher ein solches Objektiv gebaut und zunächst von Dr. Riecke auf einer elektronenoptischen Bank erprobt. Durch die erste als fehlerarmer Kondensator kleiner Brennweite dienende Feldhälfte wird eine vor ihr im konvergenten Strahlenbündel liegende „Bereichsblende“ stark verkleinert auf dem Präparat abgebildet. Durch Einschieben von Bereichsblenden verschiedener Größe in den Strahl kann der Durchstrahlungsbereich nach Wunsch variiert, z. B. auf wenige hunderttausendstel mm oder einige 100 Å verringert werden. Die Intensität der Präparatdurchstrahlung wird durch Bestrahlen der Bereichsblende mit verschieden großer Apertur eingestellt. Hierzu werden zwischen der Strahlquelle und der Bereichsblende zwei weitere starke Kondensatorlinsen angeordnet. Die erste davon arbeitet mit kurzer Brennweite und entwirft ein verkleinertes Bild der Strahlquelle. Die zweite arbeitet mit langer Brennweite und überträgt das verkleinerte Strahlquellenbild etwa in natürlicher Größe in die Ebene der Aperturblende des Vorfeldkondensators. Die Größe dieses zweiten Strahlquellenbildes bestimmt die Bestrahlungsintensität auf dem Präparat. Der zweite langbrennweitige Kondensator besitzt sowohl einen zwei- als auch einen dreizähligen Stigmator, um jeden Intensitätsverlust im zweiten Strahlquellenbild zu vermeiden.

Wegen des niedrigen Öffnungsfehlers des Kondensator-Objektivs wird man auch schon mit sehr niedrigen Strahlspannungen und daher bei besonders guten Kontrastbedingungen recht gute Auflösung erreichen, wenn es erst einmal gelungen ist, die verschiedenen, beim Arbeiten mit niedrigen Spannungen bekanntlich besonders großen Schwierigkeiten durch Objekterwärmung, Aufladungserscheinungen und große Empfindlichkeit gegenüber magnetischen Wechselfeldern zu überwinden. Bei nur 10 kV sollte eine Auflösung von mindestens 4 Å erreicht sein. Bei der bisher bevorzugten Strahlspannung von 100 kV erreicht man mit der neuen Linse eine bessere Auflösung als 2 Å, die man mit Objektiven der bisher üblichen Öffnungsfehler erst bei 400 kV erreicht hätte. Eine weitere Auflösungssteigerung der Elektronenmikroskope, die noch für einen größeren Benutzerkreis gedacht sind, wird man mit geringerem Aufwand durch das neue

Kondensor-Objektiv erreichen als durch entsprechende Spannungserhöhung.

Sehr hohe Strahlspannungen werden heute trotz des damit verbundenen beträchtlichen Mehraufwands und der dadurch gegebenen Einschränkung des Benutzerkreises besonders für metallphysikalische Untersuchungen angestrebt. So arbeitet z. B. in Toulouse seit etwa zwei Jahren ein Höchstspannungsmikroskop für 1000 kV mit konventionellen Objektivlinsen. Für solche Mikroskope brächte die neue Linsenform in Anbetracht der wachsenden Schwierigkeit der Konstantregelung so hoher Strahlspannungen den Vorteil, daß ihr Wellenbereichsfehler nur den halben Wert wie bei den konventionellen Objektiven hat. Allerdings wird es durch das starke Ansteigen der erforderlichen Linsendurchflutung mit der Strahlspannung zunehmend schwieriger, den Eisenkreis ausreichend zu dimensionieren und die elektrische Leistung abzuführen. Bereits für 500 kV sollte man mit der neuen Linse eine Auflösung von 1 Å erreichen.

#### *Grenze des Auflösungsvermögens durch Kontrastmangel*

Die durch Erhöhen der Strahlspannung erreichbare Verbesserung der Auflösung läßt sich natürlich nur bei der Abbildung solcher Objektteilchen realisieren, die durch Streuung oder Phasenänderung der Elektronenwellen die Helligkeit der Teilchenbilder gegenüber ihrer Umgebung genügend stark verändern. Vergrößert man bei der Abbildung die Strahlspannung, so vermindert sich der Bildkontrast. Bei gleicher Strahlspannung steigt der Bildkontrast mit dem Teilchengewicht, d. h. mit der Zahl und dem Gewicht bzw. der Ordnungszahl der Moleküle oder Atome des Teilchens. Wollen wir z. B. einzelne Atome abbilden, so werden sich bei Erhöhung der Strahlspannung immer schwerere Atome durch zu geringen Bildkontrast der Beobachtung entziehen, und es bleiben immer weniger Atomarten übrig, die wir bei entsprechend kleineren Abständen im Bild noch trennen können. Glücklicherweise sorgt bei sehr hohen Strahlspannungen die relativistisch vergrößerte Bewegungsenergie der Elektronen wieder für eine Verminderung der Kontrastschwächung, was der Elektronenmikroskopie mit hohen Strahlspannungen zugute kommt. Als Folge aller dieser Verhältnisse könnte es vielleicht optimale Strahlspan-

nungen für die Auflösung von im kleinsten Abstand nebeneinander liegender Atomen geben, die für die besser auflösbaren schweren Atome höher sind. Genauere Berechnungen des zu erwartenden Kontrasts bei der Abbildung von Einzelatomen, die Dr. Niehrs im Institut durchgeführt hat, zeigen beispielsweise, daß Kohlenstoffatome im Abstand von 3 Å selbst bei 300 kV noch den zur Beobachtung gerade noch ausreichenden Kontrast von 10 % hervorrufen. Wenn diese Rechnungen durch das Experiment bestätigt werden, verliert der bisher vielfach gegen die Verwendung höherer Strahlspannungen erhobene Einwand des zu geringen Kontrasts an Gewicht.

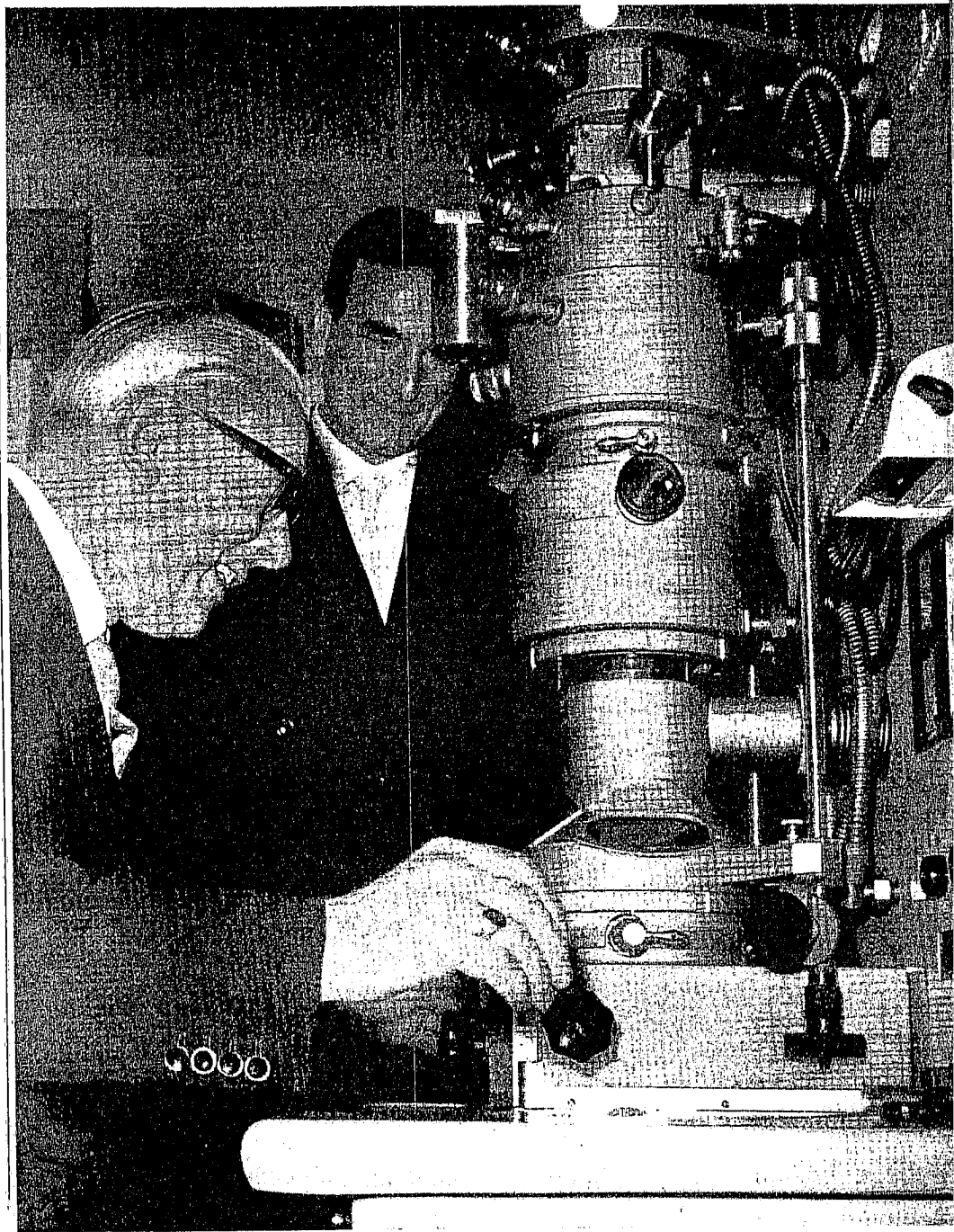
Neuerdings wird nun ein weiterer Gedanke diskutiert, der es ermöglichen soll, die Auflösung und den Kontrast der elektronenmikroskopischen Abbildung noch einmal zu verdoppeln. In der bildseitigen Brennebene des Objektivs befindet sich beim Elektronenmikroskop eine enge Aperturblende, welche die um größere Winkel zur optischen Achse gebeugten bzw. gestreuten Elektronen abfängt. Dadurch gelangen von einem stärker als seine Umgebung streuenden Objektdetail weniger Elektronen ins Bild, so daß das entsprechende Bildelement dunkler als seine Umgebung erscheint. Nach einem Vorschlag von Professor Dr. Hoppe vom Max-Planck-Institut für Eiweiß- und Lederforschung soll diese Aperturblende als Zonenblende ausgebildet werden, damit die undurchlässigen Zonen den Durchgang derjenigen Elektronen verhindern, die auf dem Weg zum Bild unerwünschte Phasenunterschiede gegenüber dem paraxialen Strahl erhalten haben. Die praktische Durchführung dieses Gedankens wird vielleicht nicht einfach sein. Aber wenn man daran denkt, wie viele, scheinbar schwer zu überwindende Hindernisse auf dem Weg zum heutigen Elektronenmikroskop schon überwunden worden sind, sollte man auch weiterhin zuversichtlich sein.

Ich habe bisher von den Bemühungen um die Realisierung der beim Durchstrahlungs-Elektronenmikroskop besonders guten Grenzauflösung berichtet. Sie sind unser grundlegendes, aber nicht unser einziges Anliegen. Wir haben uns zum Beispiel im Institut auch um die Entwicklung eines sehr einfachen und daher wesentlich billiger herzustellenden Elektronenmikroskops bemüht, dessen Strahlspannung nur 50 kV beträgt und dessen Auflösung von ca. 30 Å bei einer

maximalen elektronischen Vergrößerung von 10 000 : 1 uns für zahlreiche Untersuchungen, insbesondere routinemäßiger Art, zu genügen scheint. Die beiden Linsen werden hier durch einen einzigen Permanentmagneten erregt, und die Scharfstellung wird durch Einstellen der Strahlspannung bewirkt, so daß die Stromversorgung für die Linsen entfällt.

Ferner bemühen wir uns um die Verbesserung des Reflexions- und des Emissions-Elektronenmikroskops. Aus verschiedenen Gründen ist hier zwar die Auflösung um mehr als eine Größenordnung schlechter als beim Durchstrahlungsgerät, aber immer noch um mehr als eine Größenordnung besser als beim Auflichtmikroskop, besonders wenn mit ihm Proben bei hohen Temperaturen untersucht werden sollen. Mit diesen Elektronenmikroskopen kann man im Gegensatz zum Durchstrahlungsgerät nicht nur dünne Filme, sondern das Oberflächengefüge von beliebig temperierten kompakten Proben im sublichtmikroskopischen Bereich untersuchen.

Die Auflösungssteigerung des Elektronenmikroskops vollzieht sich heute nicht mehr in dem raschen Tempo der ersten Entwicklungsjahre, sondern in einem zähen Ringen um kleine und kleinste Fortschritte bei den verschiedenen Aspekten des Auflösungsproblems. Allen diesen Fragen ist daher auch unsere Institutsarbeit gewidmet. Da die heute schon realisierte gute Auflösung des Elektronenmikroskops in den nächsten Jahren noch weiter verbessert werden kann, wird künftig der molekulare Aufbau der Stoffe der unbelebten und der belebten Welt immer mehr der unmittelbaren Abbildung zugänglich. Wir dürfen die zuversichtliche Hoffnung hegen, daß auch noch in diesem Auflösungsbereich interessante neue Ergebnisse in der Strukturforschung die aufgewandte Mühe lohnen werden.



Präsident Professor Adolf Butenandt (links)  
und Professor Ernst Ruska vor einem Elektronenmikroskop.