

über Entfernungen von der noch nicht auflösbaren Größenordnung der Atomradien erstreckt und dann als Phasenkontrast, wenn es sich um wesentlich langsamere lokale Änderungen des Brechungsindex handelt, insbesondere solche, die von der Objektivlinse aufgelöst werden können. Ein *grundsätzlicher* physikalischer Unterschied zwischen den diese beiden Arten von Kontrast hervorrufenden Wechselwirkungen im Objekt besteht also nicht. Der *praktische* Unterschied zwischen beiden Kontrasttypen besteht aber im wesentlichen darin, daß die durch die atomaren Felder im Innern des Objekts bewirkte Modifikation des abbildenden Strahls hinter dem Objekt zu einer Beugungserscheinung mit so breitem Öffnungswinkel führt, daß eine auch nur annähernd ideale Abbildung (die nach dem Obigen zum Verschwinden des Kontrastes führen würde) mit den heutigen Elektronenlinsen unmöglich ist. Man braucht also weder phasenschiebende Plättchen einzubringen noch zu defokussieren noch sonstige Störungen des Strahlengangs künstlich einzuführen, um den Streuabsorptionskontrast hervorzurufen.

Anders ist es mit den längerwelligen Schwankungen des Brechungsindex im Objekt, die eine Beugungserscheinung mit so engem Öffnungswinkel bewirken, daß die Bildfehler wirkungslos werden und die Aperturblende praktisch alle gebeugten Elektronen durchläßt. Dann liegt im Bezug auf diese längerwelligen Schwankungen eine ideale Abbildung vor und sie führen im Bild nur dann zu Helligkeitsschwankungen, wenn man diese ideale Abbildung künstlich stört, beispielsweise durch Defokussieren.

3. Die für den Anwender naheliegende Frage, welcher Anteil eines im Bild beobachteten Kontrastes auf Streuabsorptions- und welcher Anteil auf Phasenkontrast zurückzuführen sei, kann daher in dieser Form kaum beantwortet werden. Aber auch die schon etwas sachgemäßer gestellte Frage, ob und wie man aus einer beobachteten Schwärzungsverteilung im photographischen Endbild auf die verursachende lokale Verteilung des elektronenoptischen Brechungsindex im Objekt schließen kann, bringt den Theoretiker in Verlegenheit. Wie schon oben erwähnt, kann er im allgemeinen nur den umgekehrten Schluß vom Objekt auf das Bild ziehen und daher bestenfalls sagen, ob gewisse vom Anwender zu machende Annahmen über Objekteigenschaften mit dem beobachteten Bild verträglich sind oder nicht. Dabei können aber durchaus verschiedene, in gleicher Weise mit dem Bild verträgliche Annahmen über die Verteilung des Brechungsindex im Objekt möglich sein.

Für die Möglichkeiten der Elektronenmikroskopie periodischer oder nahezu periodischer Strukturen nahe der Auflösungsgrenze ist es ein glücklicher Umstand, daß die auftretenden Kontraste viel stärker sein können, als man noch vor einigen Jahren zu hoffen wagte. So bildet sich nach theoretischen Untersuchungen von NIEHRS in Objekten mit periodischer Struktur und endlicher Dicke (d. h.  $d \gtrsim \frac{\delta^2}{\lambda}$ ) eine ebenfalls periodische lokale Intensitätsmodulation der abbildenden Elektronenströmung aus. Diese Intensitätsmodulation kann bei hinreichend dicken Objekten schon in der bildseitigen Objektoberfläche erhebliche Werte annehmen. Im Gegensatz zu der durch unendlich dünne Objekte bewirkten zunächst reinen Phasenmodulation der abbildenden Elektronenstrahlung ist zu erwarten, daß selbst bei idealer Abbildung mit großer Apertur diese Intensitätsmodulation auch im Endbild einen entsprechenden Kontrast hervorruft.

#### Literatur

1. WYRWICH, H., u. F. LENZ: Z. Naturforsch. **13a**, 515 (1958).
2. HALL, C. E., and T. INOUE: J. appl. Physics **28**, 1346 (1957); Denshikembikyō (Electron Microscopy), **6**, 129 (1958).

## Electron phase microscope

KOICHI KANAYA and HISAZO KAWAKATSU  
Electrotechnical Laboratory, Tokyo

Since the beginning of the electron microscopy, it has been well known that the phase contrast due to interference of the coherent wave plays a very important role in image formation. Distinctive examples are: Fresnel diffraction fringes as demonstrated by BOERSCH (1), HIBI (2) and others;

interference fringes in crystals by HEIDENREICH (3) and MENTER (4); biprism-interference fringes obtained by MÖLLENSTEDT (5) and FERT (6); a possibility of interferometer introduced by MARTON (7), and so on.

In view of ZERNIKE's (8) theory of the phase difference microscope, if an appropriate phase plate is inserted into the back focal plane of the objective and, in addition, if it is possible to cause a phase difference whether in the transmitted wave or the diffracted one, it is reasonable to expect that it is possible to make a phase microscopic observation. According to RAMBERG's calculation, a collodion film 100 Å in thickness is seen to result in a phase delay of order of  $\pi/2$  provided that the accelerating potential is 60 kV. For this reason, it is necessary that the phase

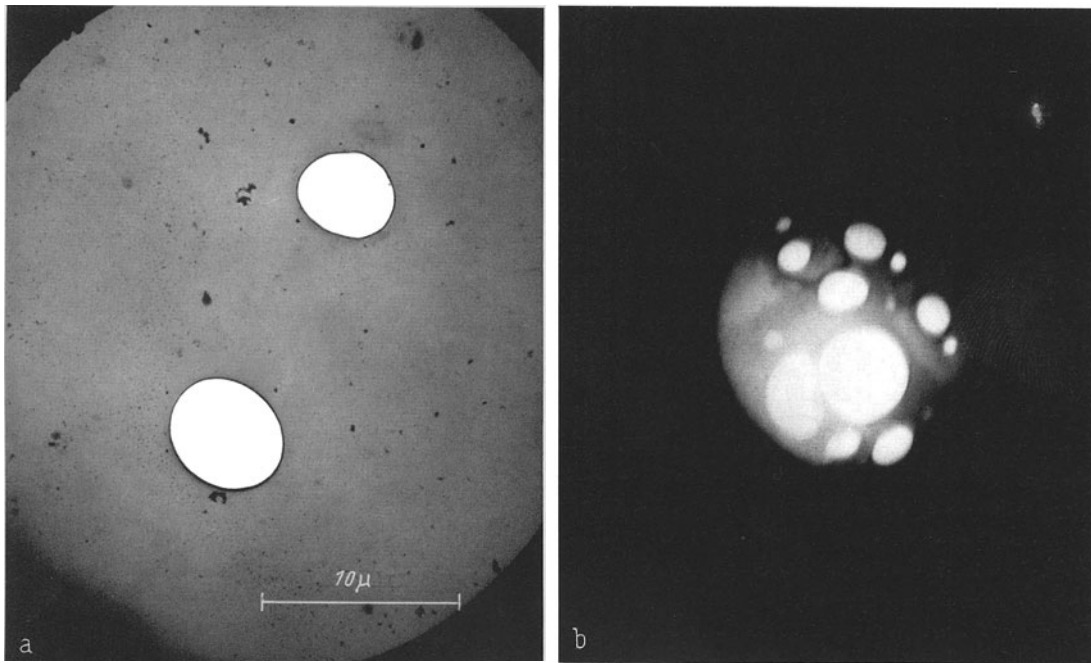


Fig. 1 a and b. Micrograph of a phase plate, a) in object position, b) in position at the back focal point

plate be very thin. In this respect it is different from interchromatic phase contrast as tested by LOCQUIN (10), in which a metallic cone diaphragm is used as phase plate. Later the authors tried to use a collodion or carbon film instead of a metallic film. For the phase plate, a hole in a collodion membrane or disk on a thin collodion membrane may be suitable for dark or bright contrast observations. However, when the electron beam is exactly focused at the back focal point, its intensity may be ten times as much as its value at the specimen and therefore the resulting destruction, contamination, and charge-up phenomenon of the phase plate have frequently been observed. Accordingly, it is concluded that a phase plate with holes may be considered to be superior to that without holes as the phase plate under consideration. Furthermore, an appropriate potential to arise various phase differences is applied to the carbon phase plate which is shadowed as thin as possible by chromium. This report deals with an experiment of electron phase microscope using a phase plate with many holes in a carbon membrane, together with applying a small potential.

**Theoretical consideration.** The case will be considered where a disk specimen having a uniform thickness is illuminated by an incident plane wave. Let us assume the image plane to have a very large distance from the objective lens. The amplitude of the specimen as a function of any image plane can easily be calculated according to HUYGEN's principle in FRAUNHOFER's approximation, assuming that the phase plate results in a phase delay of the order of  $\pi/2$ , disregarding all aber-

rations, defocusing and inelastic scatterings. Thus, consider the phase contrast at the centre of a disk specimen, called "macro-contrast" in the optical phase difference microscope; it may be expressed by

$$\gamma = \frac{(1-P)^2 \Delta \delta^2 - P^2 \Delta \delta^2}{(1-P)^2 \Delta \delta^2} \quad (1)$$

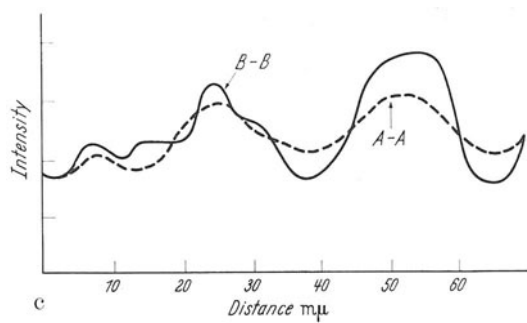
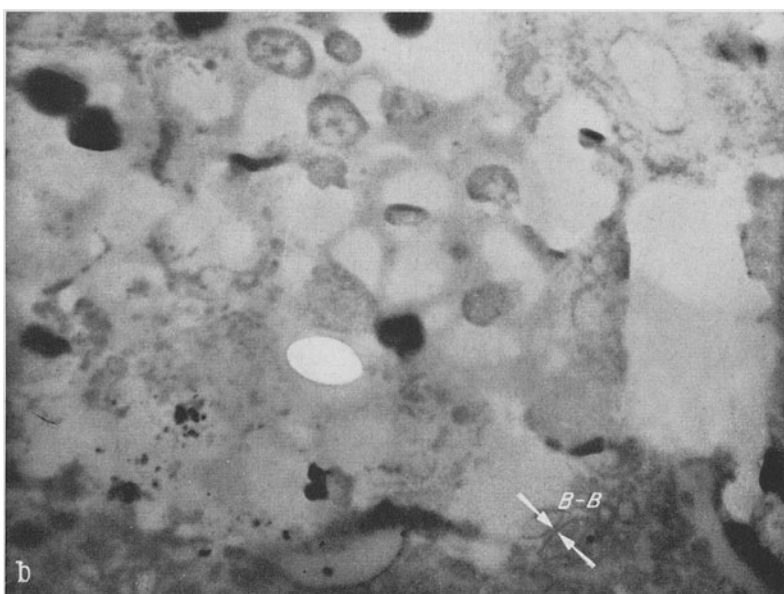
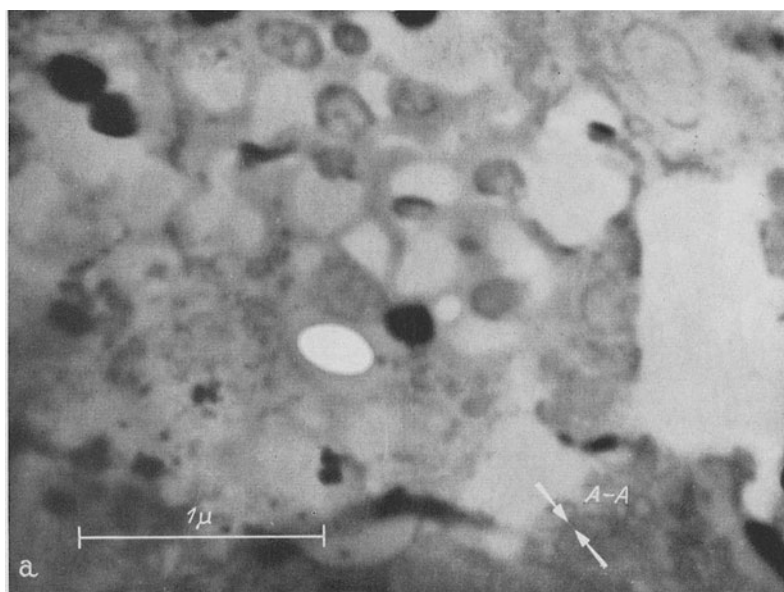


Fig. 2a—c. A section of liver of the mouse, a) ordinary observation with 50 μ limiting aperture, b) electron phase microscopic observation with a hole of 20 μ in the phase plate; c) comparison of the intensity variations within the fields indicated by arrows in a) and b)

Then, “micro-contrast” indicating the contrast corresponding to a small phase difference may be expressed by

$$\gamma' = \frac{\Delta I_1}{I_1 \Delta(\Delta\delta)}, \quad (2)$$

where  $I_1$  is the image intensity and is equal to  $(1-P)^2 \Delta\delta^2$ ,  $P = (R_s/R_a)^2$ , in which  $R_s$  and  $R_a$  express the radii of the specimen and substrate, and  $\Delta\delta$  is the phase difference.

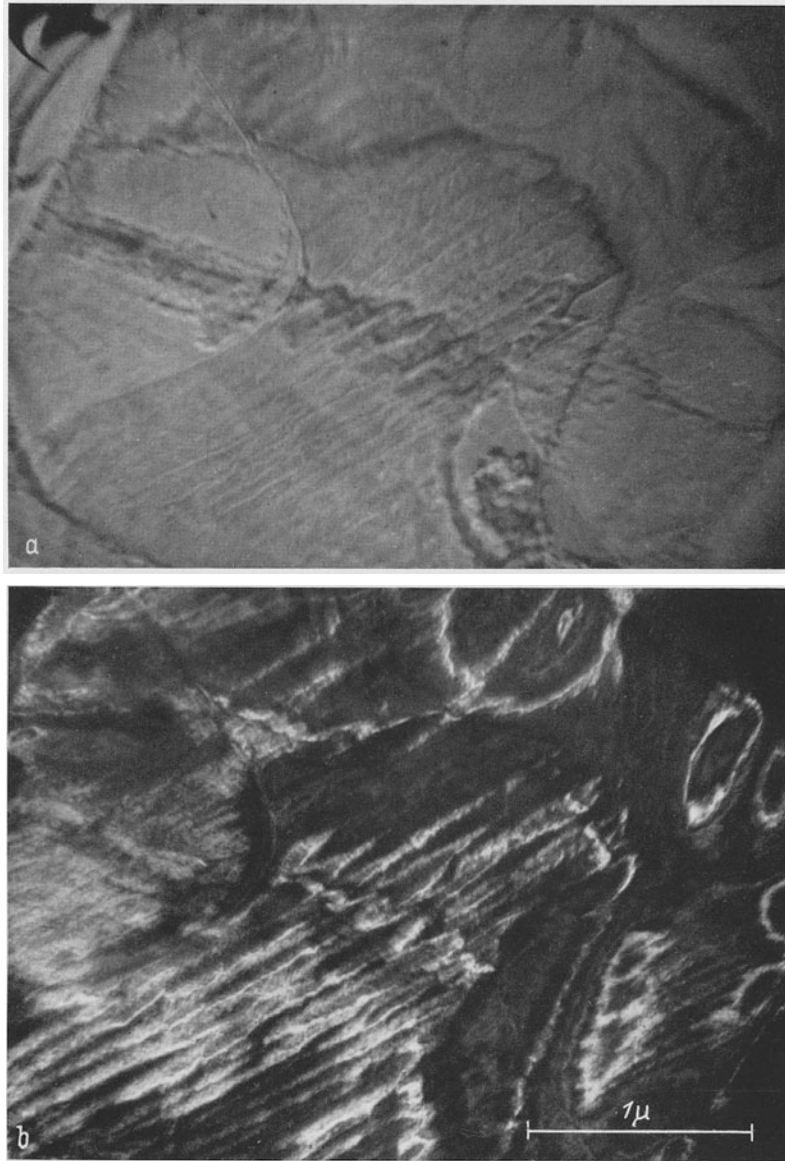


Fig. 3a—f. Images of  $\text{MoO}_3$ -crystal, a) ordinary observation without limiting aperture, b) and c) with phase plate, a hole at spots (200) or  $(\bar{2}00)$ , respectively; d), e) and f) with phase plate on various potentials, the hole at the centre (000). ( $\lambda = 0.053 \text{ \AA}$ )

It is well known that in the optical phase microscope the phase shift is  $\lambda/4$  corresponding to  $\Delta\delta = \pi/2$ , where  $\lambda$  is the wave length. However, in the electron phase microscope such condition does not hold, since in the latter case the phase delay due to the phase plate must be of an order corresponding to the phase difference of the specimen. Accordingly, normal electron phase

microscopic procedure should yield not high "macro-contrast" but high "micro-contrast", in order to attain high contrast in the image not visible by conventional observation.

**Preparation of phase plate.** A 3% collodion (nitrocellulose) solution in amyl acetate is spread uniformly on a slide glass and droplets of distilled water are sprayed on it by a nebulizer. Conse-

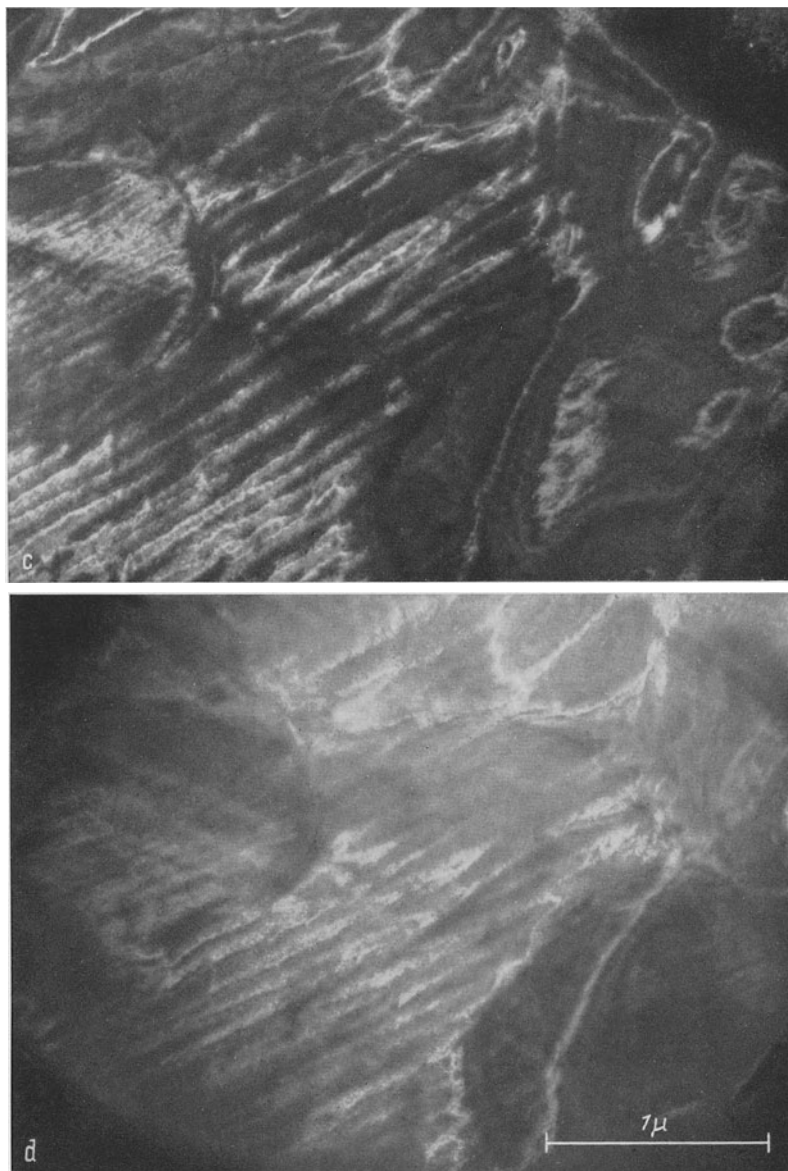


Fig. 3c and d

quently, because of the temperature difference in evaporation between amyl acetate used as the collodion solvent and water, many air bubbles with different diameters, i. e., 5—50  $\mu$  are made in the collodion film. Next, this collodion film with air bubbles is floated on water, dipped up from it by the mesh on the slide glass, and the air bubbles are burned out by a gas burner. In addition, as thin a layer of carbon as possible is evaporated on the film and then only the collodion is dissolved by an appropriate solvent. Furthermore, this carbon phase plate evaporated as thin as possible by metal can be made to be able to apply the potential. Fig. 1a and b show the micrographs of such a phase plate in object position and in position at the back focal point.

**Experiments and results.** To take an example from a number of trials of the electron phase microscopic observations (11, 12), Fig. 2 shows a section of liver of the mouse, a) taken with ordinary observation, b) with the phase plate; c) shows a comparison of the intensity variations through image contours taken with a microphotometer from the fields indicated by arrow in a) and b).

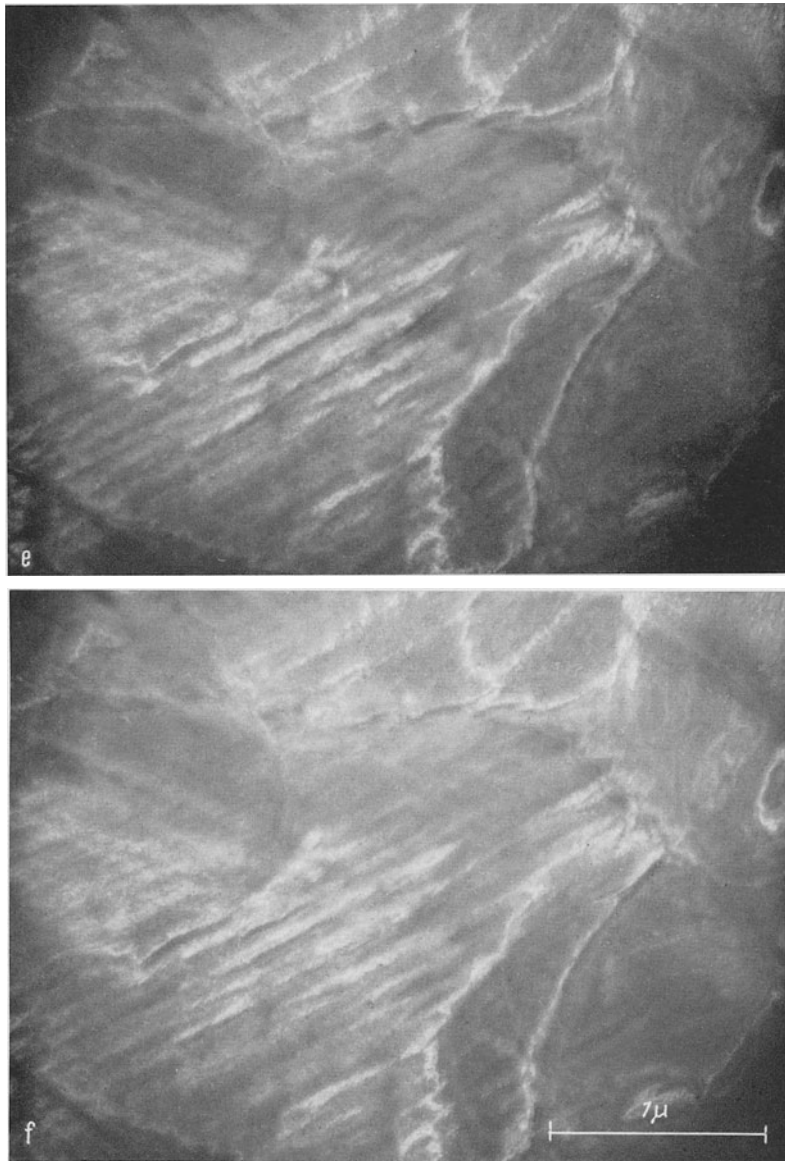


Fig. 3e and f

The following images of a thin crystal of  $\text{MoO}_3$  show the influence of the position of hole in the phase plate and of potential applied to it. In Fig. 3, a) is taken with ordinary observation without limiting aperture; b) and c) are taken with the phase plate, a hole in it being displaced to the positions of spots (200) or  $(\bar{2}00)$ , respectively; d), e), and f) show the interference effects for various potentials when the hole is placed at the centre (000), the diffracted beams (200) and  $(\bar{2}00)$  going through the phase plate. Fig. 4 shows images of the same crystal observed under various other conditions. The method for dark field image d) is indicated by e). Such an image can be obtained in that manner that the primary wave might be stopped by the mesh grid, the  $(\bar{2}00)$ -

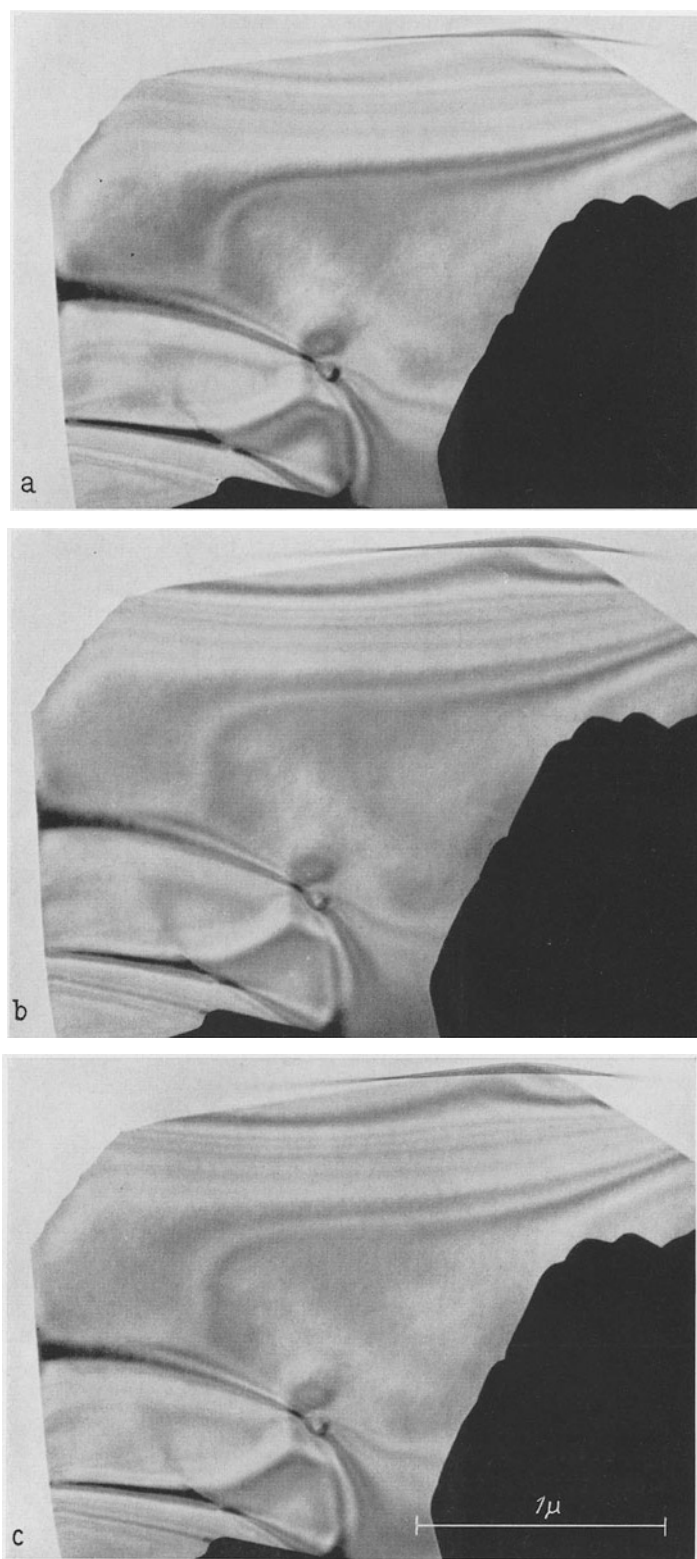


Fig. 4a—f. Images of the same  $\text{MoO}_3$ -crystal, a) ordinary observation, with  $50 \mu$  aperture, b) with a hole of  $20 \mu$  in the phase plate, c) with the same phase plate, but potential of 10 V applied, d) "interference bright contrast image" taken with the method indicated by e). f) selected area diffraction pattern. ( $\lambda = 0.053 \text{ \AA}$ )

diffracted wave directly passing through the hole and the (200)-diffracted wave passing through the thin phase plate, changing its phase provided that the potential of 11 V is applied.

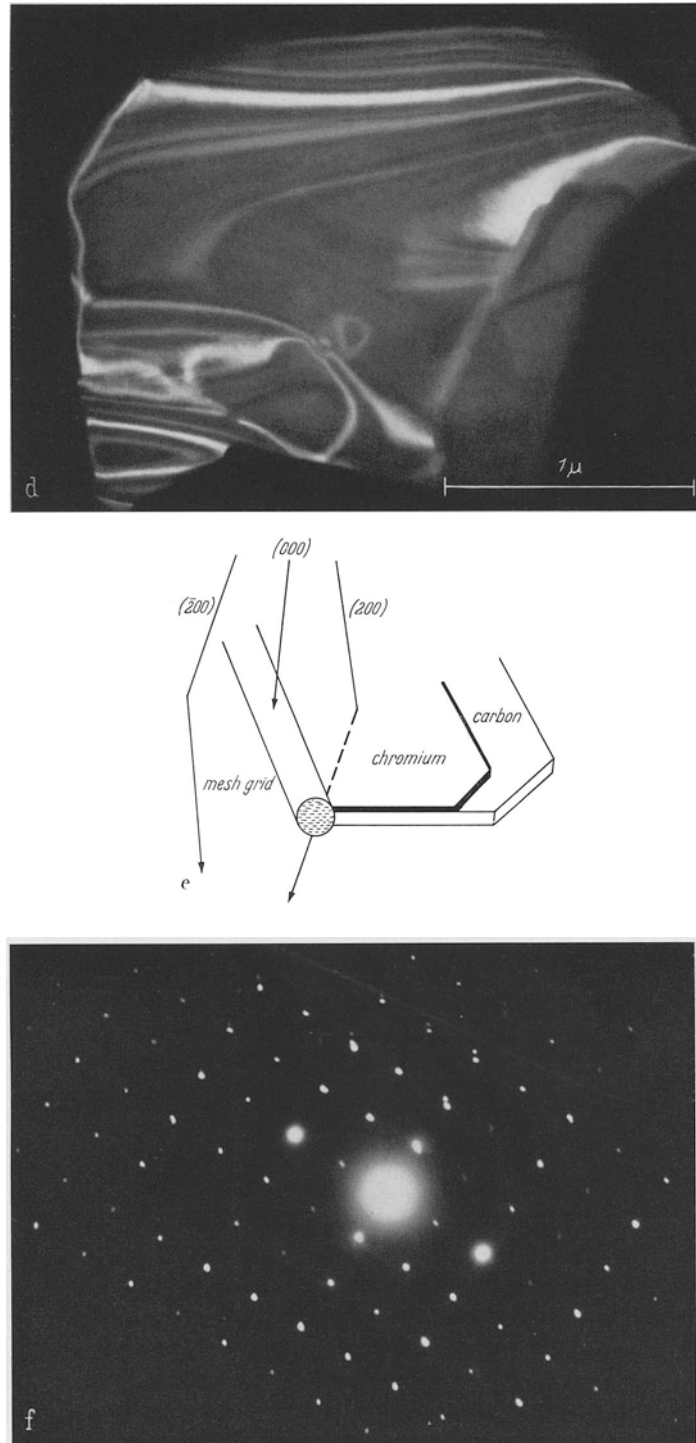


Fig. 4d—f

According to these results, Fig. 5 shows the variation of image contrast with phase plate as well as potential applied to it.



Considering the foregoing, it may be concluded that for a crystal possessing the intense diffraction wave, the improvement of image contrast depends on the phase contrast, however, for an amorphous specimen possessing the weak diffraction wave it does not depend on the phase contrast, but on the effect of scattering absorption because of the small aperture in the phase plate.

In any case, it is concluded that the electron phase microscopic observation for specimens possessing small phase difference is superior to the ordinary one, even if the phase delay is not the

optimum value of  $\lambda/4$ . In order to make it more successful, in addition to making a thinner phase plate with the optimum phase shift, the most serious image confusions due to astigmatism and charge-up phenomena should all be removed. It is also assumed that if it is possible to improve such observation, interference fringes corresponding to the resolving limit could clearly be observed as bright contrast image.

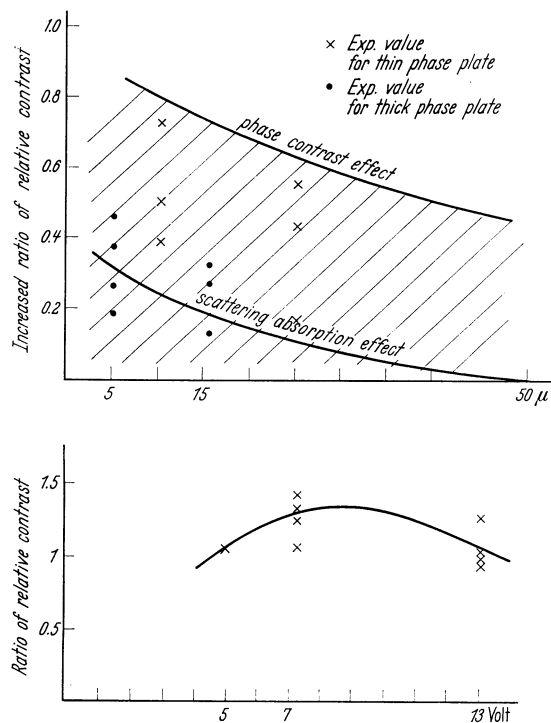


Fig. 5. Variation of image contrast with phase plate as well as potential applied to it

### References

1. BOERSCH, H.: *Naturwissenschaften* **28**, 709 (1940).
2. HIBI, T.: *J. Electronmicroscopy* **3**, 15 (1955).
3. HEIDENREICH, R. D.: *J. appl. Physics* **20**, 993 (1949).
4. MENTER, J. W.: *Proc. roy. Soc.* **236**, 119 (1955).
5. MÖLLENSTEDT, G., u. H. DÜKER: *Z. Physik* **145**, 377 (1956).
6. FAGET, J., et C. FERT: *Cahier de Physique* n° 83, 285 (1957).
7. MARTON, L.: *Science* **118**, 470 (1953).
8. ZERNIKE, F.: *Physica* **1**, 686 (1942).
9. RAMBERG, E. G.: *J. appl. Physics* **20**, 441 (1949).
10. LOCQUIN, M.: *Proc. int. Conference on Electron Microscopy, London 1954*, p. 285.
11. KANAYA, K., H. KAWAKATSU, and A. ISHIKAWA: *Bull. electrotechn. Lab.* **21**, 825 (1957).
12. KANAYA, K., H. KAWAKATSU, and H. YOTSUMOTO: *J. Electronmicroscopy* **6**, 1 (1958).

## Kritisches zu gewohnten Auffassungen über Kontrastentstehung

H. NIEHRS

Institut für Elektronenmikroskopie am Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft, Berlin-Dahlem

Unter dem angekündigten Titel möchte ich nicht einen thematisch abgeschlossenen Vortrag bringen, sondern einige Bemerkungen machen und Bilder zeigen, die für weitere Diskussionen über Streuung und Kontrast Anregungen geben mögen. Bei diesem Fragenkomplex scheinen mir nämlich einige wesentliche Gesichtspunkte bislang zu wenig beachtet worden zu sein.

1. Man hat es des öfteren unternommen, die Streuung eines amorphen Objekts abzuschätzen mit der vereinfachenden Annahme, daß die Atome in ihm statistisch regellos verteilt sind. Dazu möchte ich auf alte Ergebnisse der Röntgenstrahl-Strukturforschung an Flüssigkeiten hinweisen, welche sehr deutlich machen, daß die Atomverteilung in solchen oder in einem amorphen Körper eine große Ähnlichkeit mit der im Kristallgitter hat und keineswegs als regellos betrachtet werden sollte. Abb. 1 zeigt z. B. ein Ergebnis von DEBYE und MENKE über die Röntgenbeugung an flüssigem Quecksilber, welches in der Dampfphase einatomig ist und nicht zur Molekelbildung neigt. Die Verfasser haben auch ein Verfahren angegeben, um aus der Streuverteilung eine Abstandsstatistik der Atome zu ermitteln. Diese, Abb. 2, zeigt, daß bestimmte Atomabstände bevorzugt vorkommen, daß es einen minimalen Abstand gibt, und daß die Verteilung nur für den