

# Vorläufige Mitteilung über Fortschritte im Bau und in der Leistung des Übermikroskopes.

Von Bodo von Borries und Ernst Ruska.

Mit 5 Bildern.

Mitteilung aus dem Zentrallaboratorium des Wernerwerkes der Siemens & Halske AG zu Siemensstadt.

Eingegangen am 25. Februar 1938.

## Einleitung.

Die neuen Instrumente stellen eine Weiterentwicklung des 1933 von dem einen von uns gebauten ersten magnetischen Übermikroskops [1]<sup>1)</sup> in Richtung der Vorschläge dar, die wir in einer früheren Arbeit [2] gemacht haben. 1933 mußte der Bau besserer Instrumente unterbleiben, Anfang 1937 aber kamen infolge der Bemühungen der Verfasser neue Entwicklungsarbeiten in Fluß, nachdem auf ihren Vorschlag eine neue Entwicklungsstelle im Zentrallaboratorium des Wernerwerkes der Siemens & Halske AG eingerichtet worden war.

Im Zuge dieser Arbeiten wurde zunächst ein Versuchsgerät entwickelt, dessen Ansicht in Bild 1 mit dem links daneben dargestellten Schema des zweistufigen magnetischen Übermikroskops wiedergegeben ist. Das Instrument entspricht im wesentlichen der üblichen bekannten Bauart; die Elektronenspannung beträgt 60 bis 80 kV. Besonderer Wert wurde beim Entwurf des neuen Instrumentes auf eine erhöhte Bequemlichkeit beim Mikroskopieren und auf eine Verbesserung der Vergrößerungsleistung gelegt.

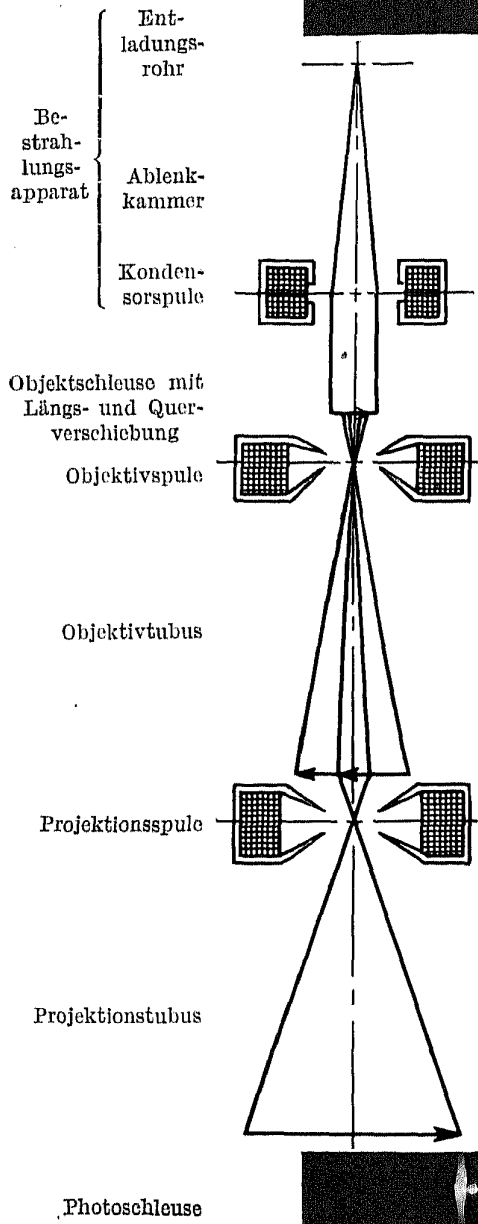
## Vorgang des Mikroskopierens.

Nach Herstellung der Betriebsbereitschaft des Instrumentes, wozu vom luftgefüllten Zustand ab bei kalter Diffusionspumpe 20 und bei heißer Diffusionspumpe nur 5 min erforderlich sind, wird zunächst durch Einschalten der Hochspannung ein Kathodenstrahl erzeugt. Dieser wird mit Hilfe der allseitig einstellbaren Kondensorenspule auf ein Probeobjekt gelenkt, wozu man zweckmäßigerweise ein feines Drahtnetz verwendet.

Sodann wird der Strom in der Objektivspule einreguliert, bis auf dem Zwischenbildeleuchtschirm ein annähernd scharfes Bild des von den Kathodenstrahlen durchsetzten Objektes entsteht. Der Zwischenbildeleuchtschirm ist zu diesem Zwecke ebenso

<sup>1)</sup> Wir benutzen künftig für dasjenige magnetische Elektronenmikroskop, dessen Bilder größere Auflösungen als die des Lichtmikroskopes zeigen, das Wort Übermikroskop, um es von anderen, insbesondere den elektrischen Elektronenmikroskopen, zu unterscheiden.

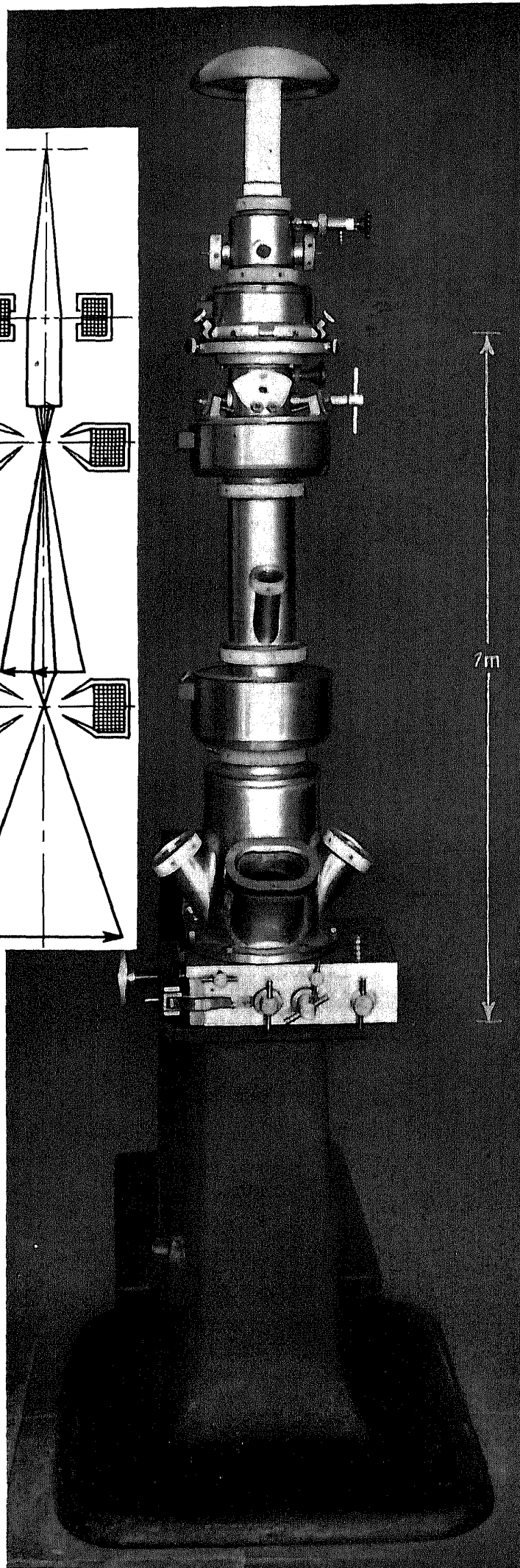
Über-  
mikroskop



Optisches  
Mikroskop

- Mikroskopierlampe
- Zeit- und Momentverschluß
- Kondensator
- Zentrierbarer Objektisch mit Grobtrieb
- Objektiv
- Tubus
- 7m
- Photookular
- Photoauszug
- Aufnahmekassette

Bild 1. Ansicht des Übermikroskops mit links befindlichem Schema des Strahlenganges und mit Angabe der entsprechenden Bezeichnungen des optischen Mikroskops.



wie der endgültige Leuchtschirm so angeordnet, daß er von der Einfallseite der Elektronen her in natürlicher Blickrichtung schräg von oben von mehreren Beobachtern gleichzeitig betrachtet werden kann. Ist das Zwischenbild eingestellt, so schaltet man die Projektionsspule ein und beobachtet nun das endgültige Bild. Alle zur Bedienung des Mikroskops notwendigen Schalter, Meßinstrumente und Regelwiderstände sind auf Schalttafeln zusammengefaßt, die sich in bequemer Lage zum Beobachter befinden, so daß man vor dem Hauptleuchtschirmfenster sitzend einregeln kann.

Ist so der Strahlengang im Elektronenmikroskop zur Aufnahme richtig eingestellt, so kann man nach Abschaltung der Strahlspannung das Objekt wechseln. Zu diesem Zweck ist eine Objektschleuse vorhanden, die es gestattet, ohne Störung des Vakuums beliebige Objekte ein- und wieder auszuschleusen. Das Objekt (meist eine Objektträgerfolie auf einer Objektträgerblende) wird bei der vorliegenden Versuchsausführung an der Stirnseite einer Patrone befestigt, die durch ein schräg nach unten führendes Loch auf der Vorderseite der Schleuse in die als Schleusenraum dienende Bohrung eines Hahnkükens [3] eingeführt wird. Dieses wird daraufhin gedreht, bis seine Bohrung mit der Gerätachse zusammenfällt und damit das Objekt in das Vakuum hineingebracht ist. Der gesamte Vorgang der Objektschleusung dauert nur 1 min. Ist er beendet, so wird die Strahlspannung wieder eingeschaltet, wonach sofort Zwischenbild und endgültiges Bild auf ihren Leuchtschirmen erscheinen, und zur Aufnahme nur noch Kondensor- und Objektivspule leicht nachgeregelt zu werden brauchen. Man kann daher in einer Stunde zahlreiche Aufnahmen machen. Blindaufnahmen erwiesen sich bei den bisher erzielten Vergrößerungen (bis 20 000fach linear) noch nicht als unbedingt notwendig.

Die Schleuse ist mit einer Vorrichtung vereinigt, die es gestattet, das Objekt zu kühlen und unter Vakuum während der Beobachtung der Bilder in seiner axialen Lage und in einer Ebene genau senkrecht zur Achse zu verschieben. Man hat also wie im Lichtmikroskop einen Grobtrieb und einen Kreuztisch. Die beschriebene Anordnung ermöglicht es, jedes beliebige Gebiet des Objektes vor die Mitte des Objektivs zu bringen. Beobachtet man bei der Objektverschiebung den Zwischenbildschirm, so sieht man, daß sich das Zwischenbild auf dem Schirm bewegt. Man kann also die für die endgültige Vergrößerung besonders interessierenden Gebiete heraussuchen, über das in der Mitte des Zwischenbildleuchtschirms angebrachte Loch bringen und damit der zweiten Vergrößerungsstufe zuführen. Merkt man sich im Zwischenbild die relative Lage des zu untersuchenden Bildfeldteiles zum Rand der Objektträgerblende, so kann man diese Stelle nachher leicht im Lichtmikroskop wiederfinden. Die Objektträgerblende ist so ausgebildet, daß die Objektfolie mit dem Träger auch noch bei hohen Vergrößerungen im Lichtmikroskop beobachtet werden kann. Zum bequemen Mikroskopieren besitzt man eine große Anzahl von Objektträgerblenden verschiedenen Durchmessers (0,03 ··· 0,3 mm), auf denen das Objekt mit jeweils verschiedener Technik aufgebracht wird.

Da das Instrument mit Innenaufnahme arbeitet, war es nötig, noch eine zweite Schleuse zur Einbringung des photographischen Materials vorzusehen. Bei der gewählten Konstruktion wird die Tätigkeit des Mikroskopierens durch den Vorgang der Plattenschleusung nur 3 min lang unterbrochen.

Um die Bestrahlung des Objektes nur auf die Zeit beschränken zu können, während der man beobachtet oder aufnimmt, ist oberhalb der Objektschleuse eine Ab-

lenkkammer angebracht, in der der Strahl durch Ablenkplatten über einer Sperrblende abgelenkt wird. Durch außen oder innen angebrachte Spulen läßt sich hier auch eine magnetische Ablenkung verwenden. Der Strahl kann dabei über einen Spiegel auf dem Sperrblendenrand beobachtet werden. Mit der gewählten Verbindung von Ablenkammer und Kondenserspule ist jede gewünschte Dosierung der Bestrahlungszeit bei der gewünschten Strahlapertur und bei der zur Beobachtung oder Aufnahme passenden Strahlintensität möglich.

Bei der vorliegenden Versuchsausführung ist erstmalig eine Vorrichtung zur Scharfeinstellung des elektronenoptischen Endbildes mittels Lupe [4] oder Lichtmikroskop angebracht, deren Notwendigkeit sich aus den folgenden Überlegungen ergibt. Wenn man, wie bereits früher vorgeschlagen [5], zur Verminderung der Objektbelastung eine optische Weitervergrößerung sehr scharfer elektronenoptischer Bilder vornehmen will, so muß man diese schärfer einstellen, als man mit dem Auge auflösen kann. Das Auflösungsvermögen des menschlichen Auges beträgt etwa  $\frac{1}{10}$  mm, während das Auflösungsvermögen geeigneter photographischer Platten  $\frac{1}{100}$  mm beträgt. Die bis zu dieser Grenze scharfen Elektronenbilder kann man nachträglich optisch auf das 10fache vergrößern. Die Objektbelastung ist bei diesem Verfahren offenbar nur  $\frac{1}{100}$  derjenigen Belastung, die eintreten würde, wenn man die gesamte Vergrößerung elektronenoptisch durchführen würde.

Dieser Vorschlag unterscheidet sich erheblich von einem früheren [6], wonach das Leuchtschirmbild durch ein Mikroskop beobachtet und über das Mikroskop photographiert werden sollte, weil damals der elektronenoptischen Vergrößerung enge Grenzen gesetzt zu sein schienen. Diese Maßnahme verschlechtert aber die energetischen Verhältnisse gegenüber einer durchgehenden elektronenoptischen Vergrößerung bis zum endgültigen Bild, weil dabei der ungünstige Wirkungsgrad des Phosphors eingeht und außerdem das Lichtmikroskop nicht in der Lage ist, den gesamten vom Phosphor ausgehenden Lichtstrom der photographischen Platte zuzuführen.

### Erhöhung der Vergrößerungsleistung.

Die magnetischen Linsen wurden so weit verbessert, daß im Objektiv bei 80 kV Strahlspannung eine Brennweite von  $5,4 \text{ mm}^1$ ) und in der Projektionsspule eine Brennweite von 1,0 mm erreicht wird. Bei 400 mm Bildweite in beiden Stufen ergibt dies in der ersten Stufe eine Vergrößerung von 75 und in der zweiten Stufe eine Vergrößerung von 400, zusammen eine Vergrößerung von ungefähr 30 000. Die magnetischen Linsen sind nach dem Prinzip der bekannten Polschuhspulen ausgebildet. Die jetzige, gegenüber dem früheren Stand erzielte Verbesserung beruht auf Verwendung von Werkstoffen mit besonders hoher magnetischer Sättigung und auf geeigneter Formgebung. Ausnutzbar ist eine solche hohe Vergrößerung nur, wenn alle Spannungen und Ströme am Mikroskop peinlich genau konstant gehalten werden [7].

### Bildentstehung.

Schwärzungsunterschiede im Bilde kommen bekanntlich dadurch zustande, daß die nahezu parallel auf das Objekt treffende Strahlung von den Objektteilen größerer Dicke oder Dichte in einen größeren Winkel hineingestreuert wird. Wegen der kleinen

<sup>1)</sup> Inzwischen wurde beim Objektiv eine Brennweite von 2,8 mm ohne Beeinträchtigung der Objektbeweglichkeit erreicht.

Apertur der Objektivblende gegen die Dingpunkte ( $0,01 \cdots 0,1$ ) kommen deshalb von den Punkten größerer Massendicke (durchstrahlte Dicke  $\cdot$  Dichte) weniger Elektronen durch das Objektiv, d. h. der entsprechende Bildpunkt wird geringer bestrahlt als der einem durchlässigen Dingpunkt zugeordnete Bildpunkt, welcher keine so wesentliche Streuung der auftreffenden Strahlung bewirkt.

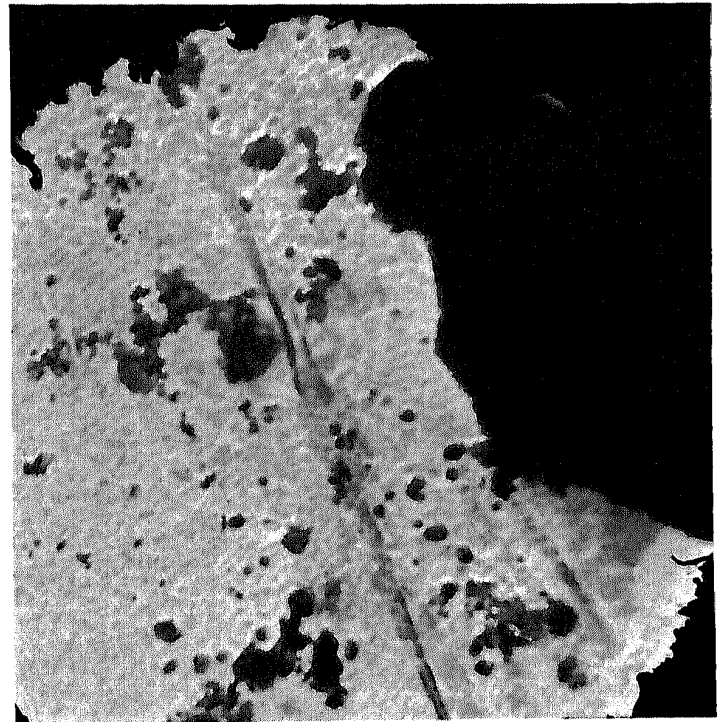
Ein großer Vorteil des übermikroskopischen Bildes gegenüber dem mikroskopischen ist seine viel größere Tiefenschärfe infolge der sehr viel geringeren Eingangsapertur. Die so trotz höherer Vergrößerung zustande kommende bessere Tiefenschärfe erlaubt es, eine ganze Objektfolie mittels der mechanischen Querverschiebung abzusuchen, ohne mechanisch oder elektrisch nachfokussieren zu müssen. Da beim Übermikroskop die geringe Eingangsapertur zwecks Kontrasterzielung stets vorhanden sein muß, wird auch der Vorteil der großen Tiefenschärfe dort immer erhalten bleiben.

### Übermikroskopische Aufnahmen.

Die folgenden Bilder sind mit einer Glühkathode als Strahlenquelle erhalten. — Die Bilder 2a und b zeigen zum Zwecke einer sinnfälligen Darstellung des gegenüber



2a) Lichtbild. Aufnahme 1000fach.  
Nachvergrößerung 9,4fach.  
Gesamtvergrößerung 9400fach.



2b) Elektronenbild. Aufnahme 7400fach.  
Nachvergrößerung 1,49fach.  
Gesamtvergrößerung 11.000fach.

Bild 2a und b. Kollargol auf Kollodiumfolie.

dem Lichtmikroskop erzielten Fortschrittes den gleichen Gegenstand in der gleichen etwa 10000fachen Vergrößerung, und zwar a) lichtmikroskopisch 1000fach, Nachvergrößerung 9,4fach; und b) elektronenmikroskopisch 7400fach, Nachvergrößerung 1,49fach. Es handelt sich um eine Aufnahme von mit Eiweiß vermengtem kolloidalem Silber (Kollargol). Das Präparat ist ebenso wie die anderen Kolloide der Bilder 3 und 4 aus wässriger Lösung auf einer Kollodiumfolie von etwa  $20 \mu$  Dicke aufgetrocknet. Das Lichtbild ist mit 90facher, homogener Ölimmersion bei geradem Licht gewonnen. Es stellt keine Grenzleistung dar, sondern das, was mit normalem Aufwand im Laboratorium erreichbar ist. Beeinträchtigt ist die Aufnahme 2a noch

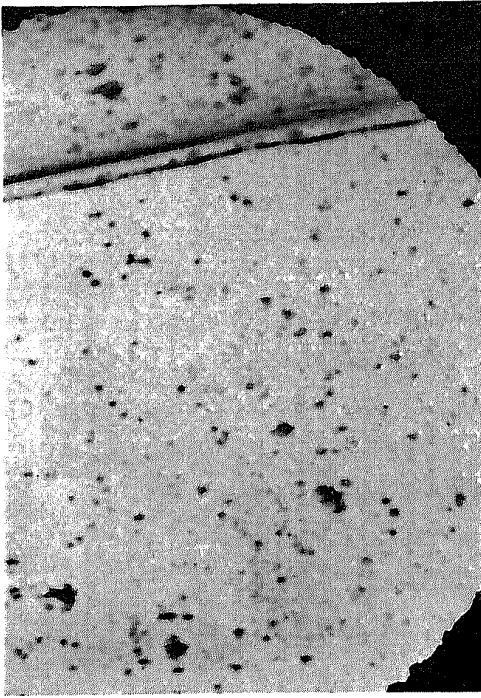


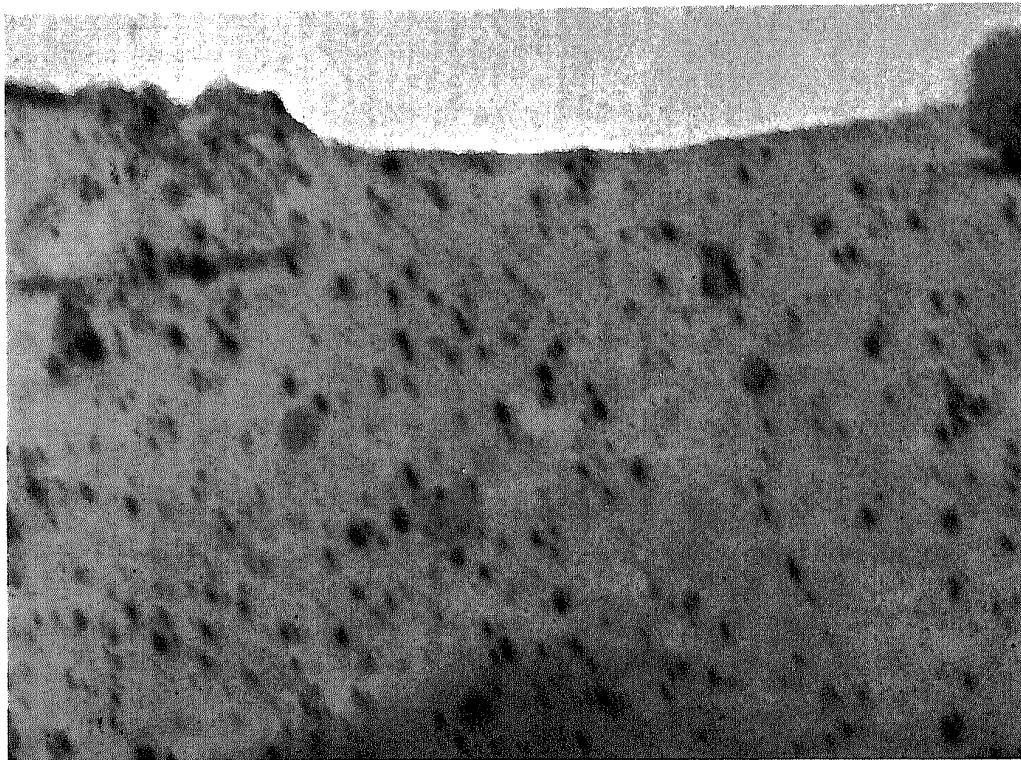
Bild 3. Kolloidales Gold (Heyden).  
Elektronenoptisch 19 000 fach.

die lichtoptische Aufnahme nur noch andeutungsweise gefleckte Gebiete zeigt.

dadurch, daß sich die einzelnen Objektteile in verschiedener Ebene befinden, was wegen der großen Tiefenschärfe der elektronenoptischen Abbildung bei Bild 2b nicht zu Unschärfen Anlaß gibt. Wenn demnach auch der lichtmikroskopischen Aufnahme noch eine gewisse Verbesserungsmöglichkeit zuzusprechen ist, so erkennt man doch klar die Überlegenheit des Übermikroskopes daran, daß die Gebilde auf dem Grunde der Folie sich noch völlig in ihre Einzelheiten auflösen, während



4 a) elektronenoptisch 16 500 fach.



4b) 3,6fache Nachvergrößerung eines Teiles von Bild 4a. Gesamtvergrößerung 60 000 fach.

Bild 4a und 4b. Argosubtil.

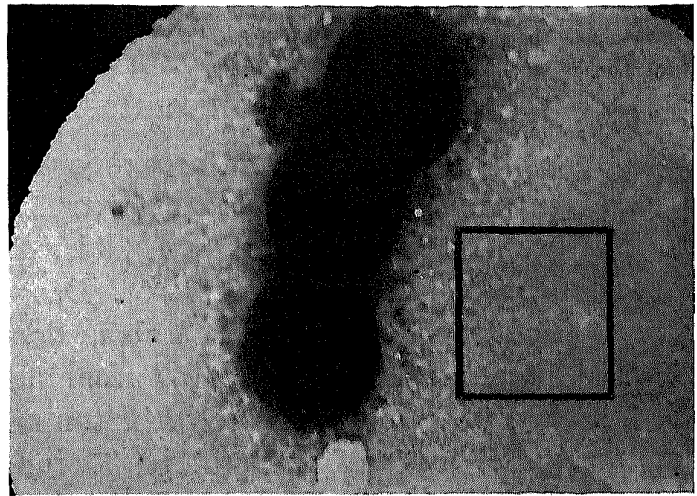
Ein anderes kolloidales System ist in Bild 3 untersucht. Es zeigt kolloidales Gold der Firma Heyden. Von der Herstellerin wurde uns nach ultramikroskopischen und röntgenographischen<sup>1)</sup> Untersuchungen die Teilchengröße mit 12 bzw. 8  $\mu$  an-

<sup>1)</sup> Vorläufige, noch nicht völlig festliegende Mitteilung aus dem Laboratorium für angewandte Röntgenographie der T. H. Dresden (Prof. Dr. G. Wiedmann).

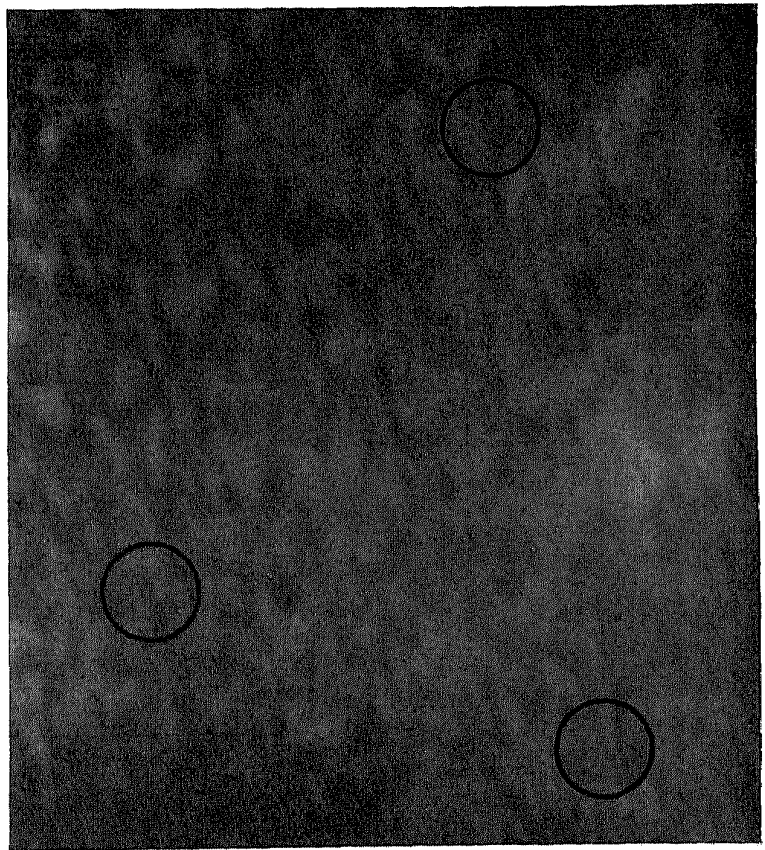
gegeben. Die Aufnahme ergibt die Teilchengröße zu  $10 \cdot \cdot \cdot 50 \mu$ . Vielleicht bestehen die größeren Gebilde aus mehreren primären Kolloidteilchen.

In Bild 4a ist ein anderes medizinisches Präparat, Argosubtil (kolloidales Silber mit Eiweiß) in 16 500facher elektronenoptischer Vergrößerung dargestellt, während Bild 4b einen Teil dieser Aufnahme in Nachvergrößerung auf 60 000fach zeigt. In dieser Vergrößerung beträgt, wie man leicht nachmessen kann, der Abstand zweier Schwärzungsmaxima an einigen Stellen weniger als  $0,8 \mu$ , womit für das Übermikroskop ein Auflösungsvermögen von mindestens  $13 \mu$  nachgewiesen ist. — Die Teilchengröße beträgt hier zwischen  $5$  und  $50 \mu$ . Sie ist nicht ganz einwandfrei zu bestimmen, weil das Präparat nicht vollständig gelöst war.

Daß mit dem neuen Gerät auch Bakterien in bisher nicht gezeigtem Maß vergrößert abgebildet werden können, erweist Bild 5. Alle Einzelheiten im Umriß der Kokken, die aus wässriger Lösung auf die Folie aufgetrocknet sind, also im mikroskopischen Sinn als „ungefärbt“ gelten können, treten überaus deutlich in Erscheinung. Besonders eindrucksvoll ist die in der unmittelbaren Umgebung der Kokken auftretende Änderung in der Grundbelegung der Folie. Die auf der Folie sichtbaren Gebilde gehören sicher nicht der Folie an, wie Vergleichsaufnahmen unbeschickter Folien zeigen, die bei diesen Vergrößerungen noch völlig strukturlos und klar sind. Bild 5b bringt eine 5fache Nachvergrößerung eines Teils der 20 400fachen Vergrößerung 5a. In dieser nun 100 000fachen Vergrößerung sind zwischen zwei Schwärzungsmaxima Abstände von  $1 \mu$  festzulegen, so daß damit ein Auflösungsvermögen von mindestens  $10 \mu$  nachgewiesen ist.



a) elektronenoptisch 20 400 fach.



b) 5fache Nachvergrößerung des schwarz umrandeten Teiles von Bild 5a. Die schwarzen Kreise in Bild 5b sind Stellen der besprochenen Auflösung. Gesamtvergrößerung 100 000 fach.

Bild 5a und b. *Staphylococcus aureus*.

Herrn H. Schuchmann sind wir für seine wertvolle Mitarbeit bei der Neukonstruktion des Versuchsgerätes, Herrn Dipl.-Ing. H. O. Müller und Herrn Dr. med. H. Ruska für vielfache experimentelle Hilfe zu Dank verpflichtet.

### Zusammenfassung.

Die Entwicklung neuer Übermikroskope wurde aufgenommen. Es wurde ein Versuchsgerät entwickelt, das in 2 Stufen vorläufig eine Vergrößerung bis zu 30 000 linear bei einer Strahlenspannung von 80 kV liefert. Das Mikroskop ist mit Objektschleuse und Photoschleuse ausgerüstet. Das Objekt ist während der Beobachtung sowohl in Richtung der Strahlachse als in der dazu senkrechten Ebene beliebig bewegbar. Einige bereits gewonnene Aufnahmen, die mit einem Glühkathodenrohr als Strahlquelle gewonnen wurden, enthalten eine Auflösung bis zu 10  $\mu$ . Die Aufnahmen zeigen elektronenoptische Vergrößerungen bis 20 400; sie stellen weder nach Vergrößerung noch nach Auflösungsvermögen Grenzleistungen dar, vielmehr wird sich beides durch Verbesserung der magnetischen Linsen und weitere Beruhigung der elektrischen Verhältnisse noch erheblich steigern lassen.

### Schrifttum.

1. E. Ruska: Z. Physik **87** (1934) S. 580. Die Anordnung des Übermikroskopes ist erstmalig festgelegt in den deutschen Patentanmeldungen: B. v. Borries u. E. Ruska: deutsche Pat.-Anm. B 154 916 VIIIc/21g v. 16. 3. 1932 (Polschuhspule), B. v. Borries u. E. Ruska: deutsche Pat.-Anm. B 159 596 VIIIc/21g v. 16. 3. 1932 (Gesamtaufbau). Mit diesem ersten, im Hochspannungsinstitut Neubabelsberg der Technischen Hochschule Berlin stehenden Gerät sind in der Zwischenzeit die den folgenden Arbeiten zugrunde liegenden Untersuchungen durchgeführt: E. Driest u. H. O. Müller: Z. wiss. Mikroskopie **52** (1935) S. 53 — F. Krause: Z. Physik **102** (1936) S. 417 — F. Krause: in Beitr. zur Elektronenoptik S. 55. Leipzig (1937) — F. Krause: Naturwiss. **25** (1937) S. 817 — O. Beischer u. F. Krause: Naturwiss. **25** (1937) S. 825. Im Anschluß an die obengenannte Arbeit sind inzwischen an zwei Stellen ähnliche magnetische Hochleistungsmikroskope, in Belgien von Marton und in England von Martin gebaut worden. L. Marton: Bull. Ac. Belg., Cl. des Sc. **20** (1934) S. 439; **21** (1935) S. 553; **21** (1935) S. 606; **22** (1936) S. 1336; **23** (1937) S. 672. L. C. Martin, R. V. Whelpton u. D. H. Parnum: J. sci. Instrum. **14** (1937) S. 14.
2. B. v. Borries u. E. Ruska: Z. VDI **79** (1935) S. 519. Ein Teil dieser Vorschläge ist inzwischen bereits von Marton in sehr schönen Konstruktionen verwirklicht.
3. E. Ruska: deutsche Pat.-Anm. R 92 135 v. 11. 12. 1934.
4. Der Vorschlag, eine Lupe zu verwenden, stammt von Herrn H. O. Müller.
5. E. Ruska: Z. Physik **87** (1934) S. 602.
6. M. Knoll u. E. Ruska: Z. Physik **78** (1932) S. 318.
7. Vgl. auch B. v. Borries u. E. Ruska: Z. Physik **83** (1933) S. 187.