

Tabelle. Unkorrigierte massenspektrometrische Analysenwerte für die Häufigkeiten der schweren Elemente im Meteoriten Holbrook, in  $10^{-6}$  Atomanteilen, bezogen auf  $Si = 1$ 

Z	75	76	77	78	79	80	81	82	83	90	92
Element	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Th	U
Häufigkeit	0,04	0,2	0,15	0,35	0,1	< 0,03	< 0,002	0,5	< 0,008	0,07	(0,06)

allen drei untersuchten Chondriten. In den Spektren der beiden Olivin-Hypersthen-Chondriten fehlen außerdem noch die Linien der etwas weniger flüchtigen Elemente Thallium und Wismut. Man kann darin einen Hinweis erblicken, daß die Chondrite, oder zumindest Teile der Materie, aus der sie gebildet wurden, einen Zustand erhöhter Temperatur durchgemacht haben, bei welchem die flüchtigen Elemente verloren gingen; bei den Olivin-Hypersthen-Chondriten war das offenbar in stärkerem Maße der Fall als beim Enstatit-Chondriten Abec.

Besondere Beachtung verdient die Isotopenhäufigkeitsverteilung des Bleis im Meteoriten Abec. Ganz im Gegensatz zum terrestrischen Blei ist hier das Isotop-207 häufiger als das Isotop-206 (vgl. Fig. 9c u. Fig. 5c). Obwohl trotz des geringen Blei-Gehaltes von rund 10 ppm die Linien der Blei-Isotope bereits überbelichtet sind, und im Sättigungsbereich der Photoplatte Häufigkeitsunterschiede verwischt werden, ist dieser Unterschied auch in dem hier reproduzierten Spektrum noch erkennbar. Weniger exponierte Spektren zeigen diesen

Unterschied viel deutlicher. Diese Häufigkeitsverteilung ist typisch für „Ur-Blei“, das seit mehreren Milliarden Jahren keinen Kontakt mit merklichen Mengen Uran — aus dem es radioaktives Zerfallsblei hätte können aufnehmen — gehabt hat.

[1] a) CRAIG, R. D., et al.: Adv. in Mass Spectrometry. Vol. 1, S. 136. London: Pergamon Press 1959. — b) CORNU, A.: Adv. in Mass Spectrometry. Vol. 4, S. 401. London: Elsevier 1968. — c) AHEARN, A. J.: Mass Spectrometric Analysis of Solids. London: Elsevier 1966. — [2] HINTENBERGER, H., in: Reinstoffanalytik. S. 337. Berlin: Akademie-Verl. 1966 (Tagungsbericht vom 2. Int. Symp. „Reinstoffe in Wissenschaft und Technik“, Dresden 1965. Hrsg. von G. EHRLICH). — [3] MATTAUCH, J., u. R. HERZOG: Z. Physik 89, 786 (1934). — [4] INGRAM, M. G.: Ann. Rev. Nucl. Sci. 4, 81 (1954). — [5] HINTENBERGER, H., in: Electrometrically enriched Isotopes and Mass Spectrometry. Ed. by M. C. SMITH. S. 177. London: Butterworth 1956. — [6] SCHNETZLER, C. C., et al.: Geochim. Cosmochim. Acta 31, 95 (1967). — Anal. Chem. 39, 1888 (1967). — [7] BROWN, R., and W. A. WOLSTENHOLME: Nature 201, 598 (1964). — [8] TAYLOR, S. R.: Nature 205, 34 (1965). — [9] NICHOLLS, G. D., et al.: Anal. Chem. 39, 584 (1967). — [10] BERGHOF, W.: Diplomarbeit Mainz 1968. — [11] FRANZEN, J., and K. D. SCHUY: Z. Naturforsch. 21a, 1479 (1966).

Eingegangen am 17. März 1969

## Bild differenzverfahren in der Elektronenmikroskopie

W. HOPPE, R. LANGER, J. FRANK und A. FELTYNOWSKI

Abteilung für Röntgenstrukturforschung am Max-Planck-Institut für Eiweiß- und Lederforschung, München und

Physikalisch-Chemisches Institut der Technischen Hochschule, Abteilung für Strukturforschung, München

### Einleitung

Die theoretische Auflösungsgrenze eines konventionellen Elektronenmikroskopes (Öffnungsfehlerkonstante des Objektivs  $\approx 4$  mm) beträgt 3 bis 4 Å. In der Röntgenstrukturanalyse kann man bei solchen Auflösungen bereits sehr gut  $\alpha$ -Schrauben oder DNS-Stränge „sehen“.

Schon geringfügig erhöhte Auflösungen gestatten das Erkennen atomarer Details. Eine Röntgenstrukturanalyse von Proteinkristallen mit 2,8 Å Auflösung läßt sich bei gegebener Aminosäuresequenz als atomares Modell auswerten. Bei einer Auflösung von mindestens 1,5 Å ist mit Sicherheit die atomare Deutung einer jeden Struktur möglich. Die Erzielung höherer Auflösungen bei der Strukturforschung mit Elektronenstrahlen wurde zunächst nur im Sinne eines apparatetechnischen Problems verstanden. Vor einiger Zeit zeigte sich jedoch, daß es möglich ist, auch mit fehler-

haften elektronenoptischen Objektiven bis zur atomaren Auflösung vorzustoßen [1—7]. Notwendig sind dafür Eingriffe, welche einer Korrektur des elektronenoptischen Strahlenganges entsprechen. Diese Bildkorrektur ist möglich, weil — wie bereits in den ersten Arbeiten im Detail gezeigt wurde — die bei atomarer Auflösung auftretende Verformung der Wellenfläche (die sog. Wellenaberration) gerade die für eine Korrektur geeignete Größenordnung besitzt. Diesem glücklichen Umstand ist es zu verdanken, daß man mit den technisch hochentwickelten rotationssymmetrischen Magnetobjektiven an Strukturforschung in atomarer Auflösung denken kann. In jüngster Zeit wurden die Wellenaberrationsfunktionen derartiger Objektive auch experimentell nachgewiesen [8, 9].

Die notwendigen Korrekturen des Strahlenganges kann man unmittelbar im Mikroskop vornehmen, z. B. mit einfachen Ringblendensystemen (Zonenkorrektur-

blenden); erste experimentelle Ergebnisse liegen vor [10]. Man kann aber auch analog zur Lichtoptik — kohärente Beleuchtung und schwach streuende Objekte vorausgesetzt — eine die Wellenaberrationskurve korrigierende Bildrekonstruktion nachträglich an den mangelhaft aufgenommenen elektronenmikroskopischen Diagrammen durchführen<sup>1</sup>.

Es ist zunächst überraschend, daß trotz der günstigen elektronenoptischen Situation im Bild nur Einzelheiten gedeutet werden können, deren Ausdehnung von der konventionellen Auflösungsgrenze noch beträchtlich entfernt ist. Dies liegt zum Teil daran, daß nahe der Auflösungsgrenze die durch Öffnungsfehler und Defokussierung verzerrt wiedergegebenen Phasenstrukturen ohne Korrekturen nicht zu deuten sind. Eine weitere Ursache ist, daß elektronenmikroskopische Präparate bei Å-Auflösungen als drei-

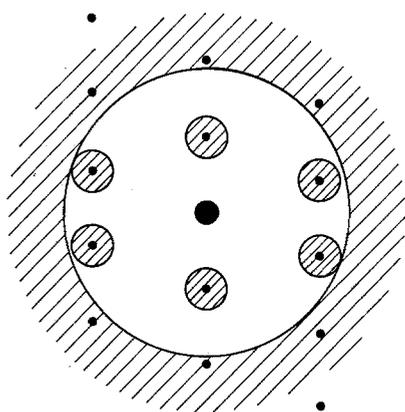


Fig. 1. Ausblendung der Reflexe der Kristallfolie in der Beugungsebene durch die Apertur- und zusätzliche Reflex-Blenden

dimensionale Gebilde aufgefaßt werden müssen. Ähnlich wie in der Röntgenproteinkristallstrukturanalyse kann man nur beim Übergang vom zweidimensionalen zum dreidimensionalen Bild atomar interpretierbare Resultate erwarten. Das Prinzip einer dreidimensionalen Strukturanalyse im Elektronenmikroskop wurde bereits mitgeteilt [11, 12].

Bei kleinen Molekülen können allerdings auch Projektionen der dreidimensionalen Struktur — also zweidimensionale Bilder — unmittelbar zu atomar deutbaren Resultaten führen. Voraussetzung ist dabei die räumliche Fixierung der Moleküle mit Hilfe eines Trägers, der das Präparat zwar festhält, selbst aber nicht zur Streuung beiträgt. Derartige „masselose“ Objektträger gibt es natürlich nicht<sup>2</sup>.

Diese Arbeit beschreibt Verfahren, bei denen ein zusätzlich streuender Träger das Präparat räumlich fixiert, wobei aber die überlagerte (und daher störende) Abbildung seiner Struktur sekundär eliminiert wird.

Dreidimensionale Analysen erfordern übrigens grundsätzlich keine Eliminierung der Trägerstruktur, da

1. Die „richtige“ Größenordnung der Wellenflächenverformung bewirkt im ersten Verfahren nicht zu enge (daher experimentell herstellbare) Ringblendensysteme, im zweiten Verfahren nicht zu enge (und damit experimentell auflösbare) Gebiete mit einheitlichem Phasenkontrast in der durch die Wellenaberration verformten Fouriertransformierten der Struktur.

2. Vielleicht lassen sich an Ecken und Kanten eines größeren Objektes gebundene, in den freien Raum herausragende kleine Moleküle (oder Molekülfragmente) noch am ehesten als „masselos fixiert“ betrachten. Doch leuchtet ein, daß derartige Präparationen nur in speziellen Fällen und dann sehr schwer durchführbar sein dürften.

Objekt und Objektträger immer räumlich getrennt sind; eine störende Überlagerung findet überhaupt nicht statt. Trotzdem können — wie hier nicht näher erläutert werden soll — die neuen Verfahren in Kombination mit einer dreidimensionalen Auswertung die Analyse eines Objektes erleichtern.

Zuletzt wird in diesem Beitrag auf die „dynamische Strukturanalyse“ hingewiesen, zu der sich einige der neuen Verfahren entwickeln lassen.

Freilich entfernt sich die Elektronenmikroskopie durch den Einsatz informationstheoretischer Methoden (rechnerische Korrekturen der optischen Fehler, Aufbau dreidimensionaler Bilder, Eliminierung der Trägerstruktur) sehr von der klassischen Mikroskopie. Sie wird zu einer „Elektronenstrukturforschung“, welche im Grundprinzip des rechnerischen Aufbaus von Bildern der Röntgenstrukturforschung nahe verwandt ist. Das Elektronenmikroskop wird zum *quantitativen* Meßinstrument. Allerdings besteht ein grundsätzlicher Vorteil: Die Phaseninformation bleibt, wenn auch in verschlüsselter Form, erhalten.

Zur rechnerischen Synthese von Strukturen gehört ein quantitatives Erfassen der Streudaten. Der Partner des Elektronenmikroskops ist deshalb ein genaues automatisches Photometer, vielleicht später eine Viel-detektoranlage. Das Endstadium der Analyse wird sich in größten elektronischen Rechenmaschinen abspielen.

#### *Einkristallfolien als Objektträger*

Einkristallfolien sind zwar nicht strukturlos. Wegen ihrer dreifach periodischen — bzw. in elektronenmikroskopischen Aufnahmen höchstens zweifach periodischen — Struktur aber ist mit der Kenntnis des Aufbaues einer Gitterzelle auch die Kenntnis eines beliebig großen Ausschnittes einer solchen Folie verbunden: Somit kann die Objektträgerstruktur aus den Bildstrukturen wegkorrigiert werden. Dazu bieten sich zwei Wege an:

1. Für ein periodisches Objekt ist es charakteristisch, daß die Streuamplituden nur an wenigen diskreten Stellen des reziproken Raumes (den reziproken Gitterpunkten) wesentlich von Null verschieden sind. Die Fouriertransformierte eines Objektes, welches aus der Kombination eines Gitters und eines aperiodischen Körpers besteht, wird daher eine kontinuierliche Struktur zeigen, der die reziproken Gitterpunkte überlagert sind. Aus allgemeinen Redundanzbetrachtungen folgt, daß bereits die Kenntnis der kontinuierlichen Fouriertransformierten ohne ihre Werte an den Stellen der reziproken Gitterpunkte genügt, um die Struktur des aperiodischen Objektes zu bestimmen. Der Ausschluß der Werte an den Stellen der reziproken Gitterpunkte ist durch Anbringen von Blenden in der Beugungsebene möglich (vgl. Fig. 1), bei Zonenkorrekturplatten z. B. durch die ohnehin notwendigen Stege [13]. Die restlichen Strahlen bauen dann das von der Struktur der Folie ungestörte Bild auf.

2. Für die rechnerische Analyse bietet sich ein Differenzverfahren im Ortsraum an. Fig. 2 zeigt schematisch den Grundgedanken. Die Einkristallfolie soll durch das Netz angedeutet sein. Das (räumlich abgeschlossene) Präparat *P* überdeckt einige Zellen *G* des Einkristalles. Man erhält zwar im Bild eine durch

Linsefehler, inkohärente Streuung etc. verzerrte und verwischte Struktur der Kristallfolie, doch ist sie weiterhin periodisch mit den gleichen Gitterkonstanten wie bei idealer Abbildung und kann deshalb auch in das Gebiet unter dem Präparat  $P$  extrapoliert werden. Subtrahiert man also von der gesamten Bildfunktion die Gitterbildfunktion, so verbleibt das von der Folienstruktur nun nicht mehr gestörte Bild des Objektes  $P$ . Dieses Bilddifferenzverfahren spielt als Differenzfouriersynthese seit langem eine wichtige Rolle in der Röntgenstrukturanalyse.

Die Methode hat den Vorteil, die gesamte Information über das Objekt zu erhalten, auch die Information an den Stellen der reziproken Gitterpunkte.

Die Einkristallverfahren verlangen eine bis in atomare Details gleichmäßige und von unperiodischen Fremdschichten freie Oberfläche, zumindest in Gebieten von der Größenordnung der zu untersuchenden Objekte.

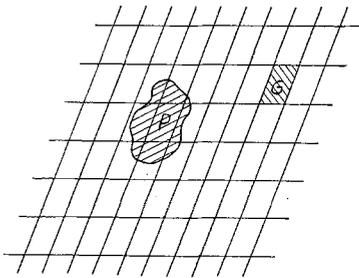


Fig. 2. Präparation auf einer Einkristallfolie

Derartige ungestörte Oberflächen kann man am ehesten bei Schichtkristallen erwarten. Unter ihnen bieten sich besonders die Graphitkristalle wegen der kovalenten Bindung in den Schichten und der elektrischen Leitfähigkeit an. Uns standen nach einem besonderen Präparierverfahren [14] gewonnene sehr dünn gesplattene Graphit- und  $V_2O_5$ -Einkristalle zur Verfügung (verwendet wurde ein Elmiskop IA). Es ergab sich allerdings bei den bisherigen Versuchen eine Granulation der Folienbilder, die ähnlich wie die Granulation einer amorphen Folie aussieht. Fig. 3 zeigt einen Ausschnitt aus einer Randlamelle einer Graphitfolie bei sehr hoher Vergrößerung. Das zusätzliche Moiré-Muster ist ein Zeichen für den kristallinen Aufbau der Folie. Fig. 4 zeigt den Schichtaufbau eines  $V_2O_5$ -Kristalles. In ihr ist auch die Netzebenenschar (200) zu sehen. Bilder, die unter sehr schlechten elektronenoptischen Bedingungen entstanden sind, und in denen nicht unmittelbar periodische Strukturen zu sehen sind, lassen z. B. im lichtoptischen Diffraktometer ihren periodischen Anteil erkennen (Fig. 5).

Bisher gelang es nicht, eine Einkristallfolie ohne unperiodischen — und deshalb störenden — Strukturanteil herzustellen. Es läßt sich nicht voraussagen, ob er durch entsprechende Präparierverfahren oder durch Wahl anderer Substanzen beseitigt werden kann.

#### Bilddifferenzverfahren für unperiodische Träger

Der Grundgedanke, einen „masselosen“ Objektträger dadurch zu realisieren, daß man seine Struktur von der Bildstruktur subtrahiert, beruhte bei dem beschriebenen Einkristalldifferenzverfahren auf der periodischen Wiederholung der Trägerstruktur. Bei amor-

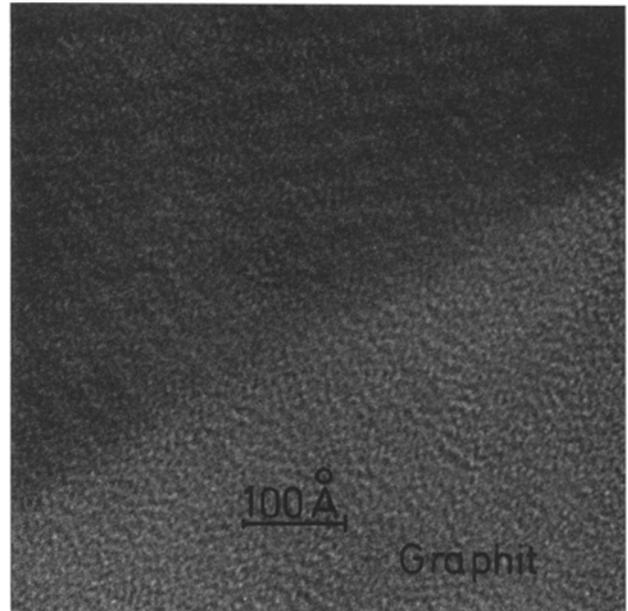


Fig. 3. Ausschnitt aus einer Randlamelle einer Graphitfolie mit Moiré-Muster (Objektraumkühl; 80 kV; elektronenopt. Vergr. 220 000)

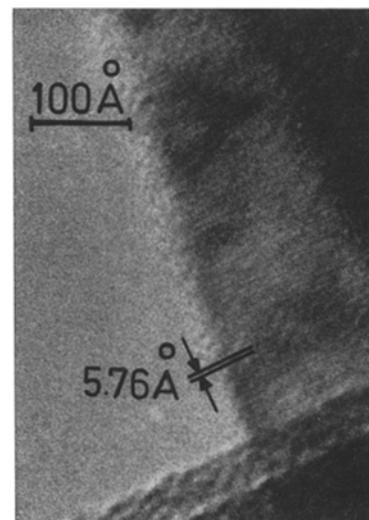


Fig. 4. Schichtaufbau eines  $V_2O_5$ -Kristalles. Die Netzebenenschar (200) mit 5,76 Å Abstand ist zu erkennen. (Objektraumkühl.; 80 kV; elektronenopt. Vergr. 220 000)

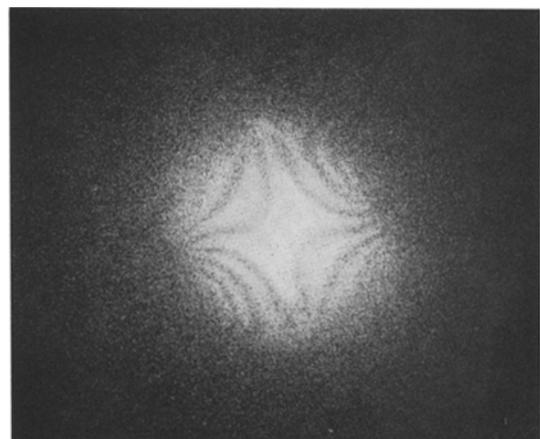


Fig. 5. Lichtoptisches Diffraktogramm von einem mit starkem Astigmatismus aufgenommenen Bild eines  $V_2O_5$ -Einkristalles. Die beiden Reflexe stammen von der periodischen Kristallstruktur, das hyperbelähnliche Muster von einer zusätzlichen unperiodischen Struktur

phen Trägerfolien (und natürlich auch bei Einkristallfolien mit amorphen Deckschichten) ist die Differenzbildung nicht mehr möglich, da man aus der Folienstruktur in der Umgebung des Objektes nicht mehr auf die Folienstruktur unterhalb des Objektes schließen kann. Die Situation ändert sich aber, wenn man *zuerst das Bild der Folie allein* aufnimmt, danach das Präparat auf die Folie aufbringt und schließlich ein Bild von Folie + Präparat herstellt. *Die Differenz dieser beiden Bilder* liefert unter gewissen Voraussetzungen die Objektstruktur allein.

Diese Methode unterscheidet sich grundsätzlich von dem z.B. bei Makromolekülen oder Viren (mit oft hoher Symmetrie) häufig angewandten Verfahren, durch *Aufsummieren* vieler Bilder verschiedener Individuen oder morphologischer Einheiten den unerwünschten Strukturanteil der amorphen Trägerfolie im Bild des Individuums annähernd auszumitteln und so die Objektstruktur aus dem „Rauschuntergrund“ der Trägerfolie herauszuheben.

Bei der neuen Methode registriert man nämlich zusätzlich zum Bild von Folie + Präparat in einer eigenen Aufnahme den an der interessierenden Präparatstelle *realisierten* Rauschuntergrund (nicht den Mittelwert aller gemessenen Realisationen!) und kann so die Struktur des Individuums bestimmen. Das andere Verfahren liefert nur die mittlere Struktur vieler nicht exakt gleicher Individuen. Die Ausmittlung über viele ähnliche, jedoch nicht gleiche Präparate bewirkt ein Verwaschen der feinen Strukturdetails, bedeutet deshalb immer eine Herabsetzung der Auflösung.

Die Voraussetzungen der Bilddifferenzmethode sind erfüllt, wenn die Bildamplituden linear in den Bildintensitäten enthalten sind. Das ist bei kohärent beleuchteten schwachen Phasen- oder Amplitudenobjekten in guter Näherung gegeben. Auch in Fällen, in denen alle Bildamplituden im wesentlichen gleiche Phase besitzen, können sie aus den Bildintensitäten eindeutig abgeleitet werden (z.B. durch Radizierung der Intensitäten bei fehlerfreier Dunkelfeldabbildung oder Zonenblendendunkelfeld-Abbildung), und das Verfahren wird anwendbar.

Am einfachsten ist es, wenn man das Präparat aus der Gasphase — etwa durch Aufdampfen — aufbringen kann. Dann könnte man diese Operationen im Elektronenmikroskop selbst vornehmen. Auch für Präparationen aus der flüssigen Phase läßt sich eventuell eine entsprechende Experimentiereinrichtung ersinnen. Man kann auch, wie wir experimentell gezeigt haben, zuerst Bilder der Folie allein aufnehmen, dann die Folie aus dem Mikroskop entfernen und auf ihr die nötige Präparation durchführen. Anschließend wird sie in möglichst gleicher Lage wieder ins Mikroskop geschleust; daraufhin werden unter möglichst gleichen elektronenoptischen Bedingungen neue Bilder von ihr hergestellt. Nun hat die gesamte Trägerfolie eine ungeheuer große Fläche, verglichen mit dem Ausschnitt, auf welchem später vielleicht nur wenige molekulare Einzelheiten von Interesse sind. Da man nicht weiß, wo sich diese Einzelheiten befinden werden, müßte man das ganze Gebiet der Folie mit der vollen, für das Endbild erforderlichen Auflösung registrieren, d.h. sehr viele Aufnahmen anfertigen. Deshalb wird man ohne eine gewisse Zielpräparation kaum auskommen<sup>3</sup>. Die Informationsmenge vergrößert sich noch bedeutend, wenn man dieses Bilddifferenzverfahren für die dreidimensionale Strukturanalyse anwenden will. Man

3. Sind die interessierenden Objekte in genügender Anzahl dicht nebeneinander auf den Objektträger präparierbar, so wird die Analyse vereinfacht, da dann bereits ein kleiner Folienausschnitt mit großer Wahrscheinlichkeit Objektstrukturen enthält. Deshalb genügt hier bei der Voruntersuchung die Aufnahme eines kleinen Ausschnittes aus der Trägerfolie.

müßte dann die entsprechende Information für sehr viele Kippwinkel der Trägerfolie und des Präparates sammeln<sup>4</sup>. Vorteilhafter wäre bei dreidimensionalen Problemen folgende Variation des Foliendifferenzverfahrens: Nach üblicher Präparation werden elektronenmikroskopische Diagramme von interessierenden Objektstellen hergestellt und eventuell einer vorläufigen Auswertung unterzogen. Hierauf wird das Präparat von der Folie *abgelöst*. Eine Aufnahme der leeren Folie — die jetzt nur von den Stellen angefertigt werden muß, welche auszuwertende Strukturen enthalten haben — schließt die experimentelle Untersuchung.

Um den Ablöseprozeß zu erleichtern, dürfte es sich empfehlen, die Folie aus einem anderen Material zu wählen als das Präparat. So könnte man bei anorganischen Präparaten Kohlefolien wählen (Herauslösung durch Säuren), während bei organischen Präparaten anorganische Folien angebracht erscheinen (Entfernung des organischen Materials durch Oxydation). Im letzteren Fall ließe sich der Reinigungsprozeß sogar recht einfach in das Elektronenmikroskop verlegen. Es ist bekannt, daß organische Objekte in sauerstoffhaltiger Restatmosphäre bei geeigneten Bedingungen vom Elektronenstrahl abgebaut werden (vgl. z.B. [15]).

Es leuchtet ein, daß die Differenzbildung beim Bilddifferenzverfahren nur dann möglich ist, wenn die zu subtrahierenden Strukturen genau zur Deckung gebracht werden können. Während eine ungefähre Koinzidenz über Marken etc. leicht erreichbar ist, erfordert das Auffinden absoluter Deckungsgleichheit neue Methoden. Sie beruhen auf dem Auffinden einer Korrelation zwischen den zu vergleichenden Bildern.

Es sei bemerkt, daß hier Verfahren Anwendung finden können, welche für andere Zwecke auch in der Röntgenstrukturanalyse entwickelt wurden. In der Faltmolekülmethode [16] werden komplizierte räumliche Strukturen (Faltmoleküle) mit Strukturen (Patterson-Funktionen) verglichen, die neben weiteren strukturellen Details additiv die Faltmoleküle mit unbekanntem Orientierungs- und Translationsparametern enthalten. Ein ähnliches Problem liegt beim Bilddifferenzverfahren vor: Dem Faltmolekül entspricht die Trägerstruktur, der gesamten Patterson-Struktur die Struktur von Träger und Präparat.

Charakteristisch für die Faltmolekülmethode ist die Separierung der drei Orientierungsparameter von den drei Translationsparametern. Dadurch wird es möglich, diese Parameter durch zwei rechnerisch beherrschbare dreidimensionale Abtastungen zu bestimmen. Eine sechsdimensionale Abtastung ließe sich bei vielen Problemen auch in den großen Rechenmaschinen nicht realisieren. Ähnlich (die Parameter sind bereits als in Näherung bekannt vorauszusetzen) gilt diese Einschränkung beim Bilddifferenzverfahren. Erreicht wird die Separation beim Faltmolekülverfahren dadurch, daß zur Orientierungsbestimmung translationsinvariante Faltmoleküle benutzt werden, die im wesentlichen den Patterson-Strukturen der Moleküle gleich sind. Um die gleiche Translationsinvarianz beim Bilddifferenzverfahren zu erhalten, müssen die zu vergleichenden Strukturen in ihre Autokorrelationsfunktionen umgewandelt werden, die den Patterson-Funktionen der Röntgenstrukturanalyse entsprechen. Das kann z.B. durch Fourier-Transformation und nachfolgende Rücktransformation der Fourier-Amplitudenquadrate in den Ortsraum geschehen. Als Vergleichsfunktionen für das gegenseitige Einpassen von Bildern bieten sich wie in der Faltmolekülmethode etwa folgende Funktionen an:

$$U_{(u,v)}^{\pm} = \iint \{f_1(u', v') \pm f_2(u' - u, v' - v)\}^2 du' dv'$$

$u, v$  sind die Orientierungs- oder Translationsparameter,  $f_1, f_2$  sind die zu vergleichenden Funktionen. Das Integral  $U$  hat ein Extremum, wenn beide Funktionen koinzidieren<sup>5</sup>. Nach der Orientierungsbestimmung über Autokorrelationsfunktionen können dann die

4. Die experimentelle Grundlage einer dreidimensionalen Analyse bilden Serienaufnahmen bei verschiedenen Kippwinkeln (vgl. [11]).

5. Die Bedingung  $U_{(u,v)} = \text{Min.}$  entspricht dem von WIENER und RÖHLER [17, 18] verwendeten Kriterium für Bildähnlichkeit.

Translationen sehr einfach durch Parallelverschiebung der aus den Bilddiagrammen durch Photometrierung gewonnenen Datensätze gewonnen werden. Bei genügend kleinen Winkel- und Translationsbereichen lassen sich auch Verfahren mit kleinsten Quadraten anwenden.

Da die Autokorrelationsfunktionen und ihre Fourier-Transformierten kovariant bezüglich Translationen und Rotationen sind, sind die Translationsbestimmung und die Rotationsbestimmung im Fourier-Raum ebenso wie im direkten Raum möglich. Das Quadrat der Fourier-Transformierten von  $U$  zeigt eine streifenförmige Modulation, deren Wellenlänge umgekehrt proportional zum Abstand der beiden versetzten Strukturmuster ist. Bezüglich der Anwendung dieser Beziehung in der Fourier-Transformiertenmethode der Kristallstrukturanalyse vgl. [19]. Die Operationen sind im Ortsraum sowie im Fourier-Raum auch in lichtoptischen Analogiegeräten möglich.

Die Korrelationsmethode gestattet das Auffinden der Koinzidenz mit sehr hoher Präzision. Bereits mit einem lichtoptischen Diffraktometer läßt sich eine weitgehende Deckungsgleichheit erzielen: Anhand der Marken bringt man die beiden Aufnahmen mit dem Auge so gut wie möglich zur Deckung. Im Diffraktogramm der übereinandergelegten Aufnahmen wird ein Streifensystem sichtbar. Der Abstand der Streifen ist — wie sich nach der Theorie ergibt — umgekehrt proportional zur gegenseitigen Verschiebung der Bilder. Man versucht nun, durch vorsichtiges Verschieben möglichst große Streifenabstände zu erhalten. Derart lassen sich die Bilder gut miteinander zur Deckung bringen bis auf einen Abstand, welcher der elektronenmikroskopischen Auflösung entspricht. Die genaue Korrelierung kann mit Rechenmaschinen geschehen.

Die verschiedenen Schritte zur Trennung der Bilder von Objekt und amorpher Trägerfolie haben wir in Experimenten mit dem Elmiskop IA erprobt:

Auch mit den für diesen Zweck nicht optimalen Objekthalterungs- und Verschiebeeinrichtungen des Elmiskops IA gelingt es, im ersten Schritt bestimmte

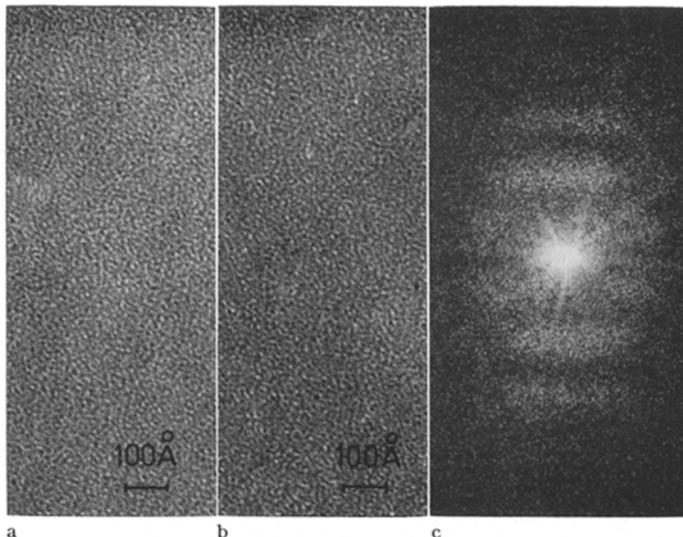


Fig. 6a—c. Modellversuch zur Präparation aus der Gasphase und zur Bilddifferenzbildung. Präparation: Aufwachsenlassen einer Verschmutzungsschicht (ohne Objektraumkühl.;  $\Delta t = 1$  min bei  $5 \cdot 10^{-6}$  Torr; 80 kV; elektronenopt. Vergr. 160000). a Bild der Kohlefolie zur Zeit  $t$ . b Bild der Kohlefolie zur Zeit  $t + \Delta t$ . c Streifenmuster im lichtoptischen Diffraktogramm bei unvollständiger Deckung der Bilder a und b; Verschiebung  $\approx 15$  Å

Stellen („Marken“) auf der Trägerfolie nach einer außerhalb des Gerätes vorgenommenen Präparation selbst bei höchster Vergrößerung wiederzufinden.

Interessant sind Ergebnisse an Verschmutzungsreihen amorpher Kohlefolien (als Modell für Präparationen in der Gasphase). Es wurden Differenzbilder von Aufnahmen einer Folie mit verschiedenem Verschmutzungsgrad erhalten, selbst wenn die Verschmutzung so stark ist, daß die beiden zugehörigen Aufnahmen bei Betrachtung mit dem Auge nicht mehr ähnlich erscheinen (Fig. 6a und b; ca. 100 Å dicke Verschmutzungsschicht bei einer anfänglichen Folienstärke von ca. 300 Å). Wie Fig. 6c zeigt, gelingt es

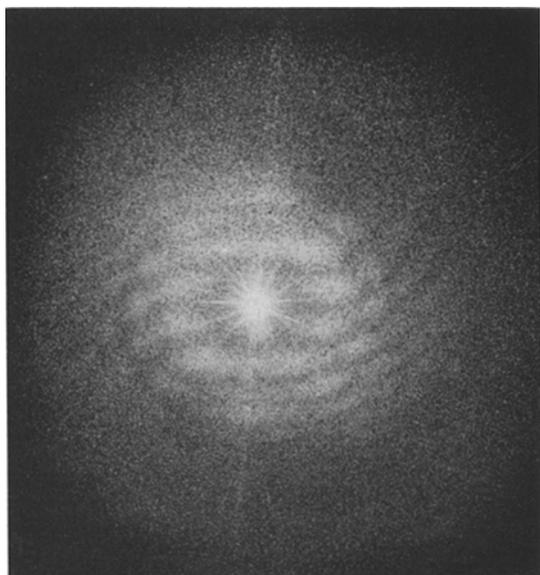


Fig. 7a. Bildkorrelierung zweier Aufnahmen des gleichen Objektes (Kohlefolie) bei verschiedener Defokussierung ( $\Delta f_1 \approx -3000$  Å;  $\Delta f_2 \approx +200$  Å;  $C_d \approx 3,9$  mm, Fokussdifferenz des axialen Astigmatismus  $\Delta f_a \approx 400$  Å) (Objektraumkühl.; 100 kV; elektronenopt. Vergr. 180000). Wegen der Fokussdifferenz entstehen komplizierte, aber quantitativ deutbare Interferenzmuster im lichtoptischen Diffraktogramm

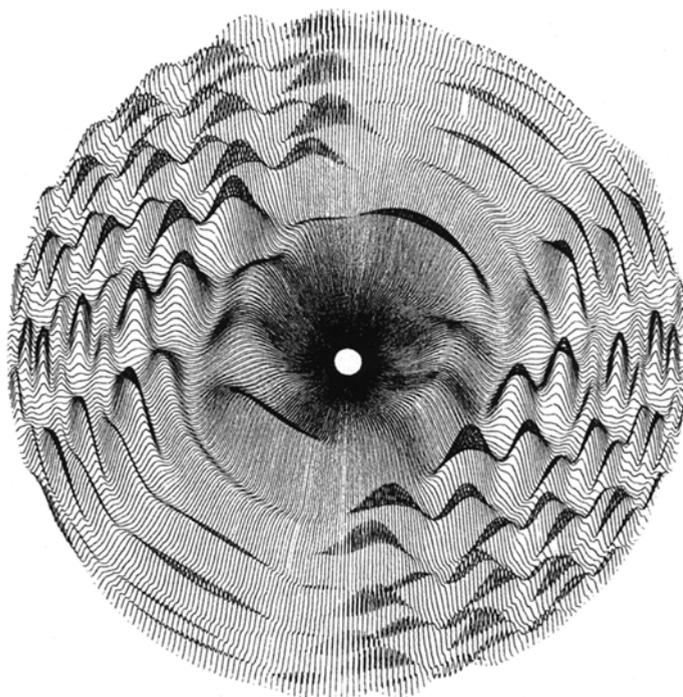


Fig. 7b. Ein Interferenzmuster wie in a wurde — ausgehend von den elektronenoptischen Parametern von a — mit Hilfe einer Rechenmaschine ermittelt und von einem automatischen Zeichengerät dargestellt

nämlich, die zum In-Deckung-Bringen erforderlichen Streifensysteme in der Fourier-Transformierten der Korrelationsfunktion z.B. in einem lichtoptischen Diffraktometer zu erkennen.

Ein weiteres Beispiel, daß visuell unähnliche Bilder zur Deckung gebracht werden können, zeigt Fig. 7. In diesem Fall ist das Objekt gleich, der Fokus aber verschieden. Bemerkenswert ist, daß aus einem einzigen der recht komplizierten Lichtdiffraktogramme (Fig. 7a) im Prinzip alle elektronenoptischen Konstanten (Öffnungsfehler, Astigmatismus und Defokussierung beider Aufnahmen) und die gegenseitige Verschiebung der Bilder bestimmt werden können. Fig. 7b zeigt das Ergebnis der zu Fig. 7a gehörigen Rechnung, graphisch dargestellt mit Hilfe eines automatischen Zeichengerätes.

Zum Schluß sei darauf hingewiesen, daß aus dem Bild-differenzverfahren eine Methode zum *Studium von Reaktionen* im Sinne einer dynamischen Strukturfor-schung abgeleitet werden kann. Bekanntlich studiert man in der Protein-Kristallstrukturanalyse biokatalytische Prozesse mit großem Erfolg mit der Methode der Differenzfouriersynthese (nach isomorpher Ein-diffusion der reagierenden Partner). Analoge Differenz-untersuchungen sind auch mit einem abgewandelten Bilddifferenzverfahren möglich. Hierzu ist es nur nötig, zuerst Bilder des Reaktionspartners und dann des Reaktionsproduktes aufzunehmen und sie dann

mit einer der oben beschriebenen Methoden mitein-ander zu korrelieren.

Die Arbeit wurde von der Deutschen Forschungs-gemeinschaft, dem Fonds der Chemischen Industrie und der Badischen Anilin- und Sodafabrik unter-stützt. Für diese hochherzige Förderung sprechen wir unseren besten Dank aus.

- [1] HOPPE, W.: *Naturwissenschaften* **48**, 736 (1961). — [2] HOPPE, W.: *Optik* **20**, 599 (1963). — [3] LANGER, R., u. W. HOPPE: *Optik* **24**, 470 (1966/67). — [4] LANGER, R., u. W. HOPPE: *Optik* **25**, 413 (1967). — [5] LANGER, R., u. W. HOPPE: *Optik* **25**, 507 (1967). — [6] SCHISKE, P.: 4. Europ. Reg. Conf. Electron Microscopy, Rome 1968, vol. I, p. 145. — [7] HANSZEN, K.-J.: 4. Europ. Reg. Conf. Elec-tron Microscopy, Rome 1968, vol. I, p. 153. — [8] THON, F.: *Z. Naturforsch.* **20a**, 154 (1965). — [9] THON, F.: *Z. Naturforsch.* **21a**, 476 (1966). — [10] MÖLLENSTEDT, G., et al.: 4. Europ. Reg. Conf. Electron Microscopy, Rome 1968, vol. I, p. 125. — [11] HOPPE, W., et al.: *Naturwissenschaften* **55**, 333 (1968). — [12] DE ROSIER, D. J., and A. KLUG: *Nature* **217**, 130 (1968). — [13] LANGER, R.: Dissertation, TH München, 1967. — [14] FELTYNOWSKI, A.: 4. Europ. Reg. Conf. Electron Microscopy, Rome 1968, vol. I, 481. — [15] HEIDE, H. G.: *Z. Angew. Phys.* **15**, 116 (1963). — [16] HOPPE, W.: *Acta Crystallogr.* **10**, 750 (1957), 4. Gen. Assembly of the Intern. Congr. of Crystallogr. 1957, Abstr. 2.8. — [17] WIENER, N.: *The Extrapolation, Inter-polation, and Smoothing of Stationary Time Series*. New York: Wiley 1949. — [18] RÖHLER, R.: *Informationstheorie in der Optik*. Stuttgart: Wiss. Verlagsges. 1967. — [19] TAYLOR, C. A., and H. LIPSON: *Optical Transforms*. London: G. Bell 1964.

Eingegangen am 14. März 1969

## Denkweisen und Arbeitsmethoden der Theoretischen Chemie

H. PREUSS

Arbeitsgruppe für Quantenchemie am Max-Planck-Institut für Physik  
und Astrophysik, München, und Institut für Theoretische Physikalische Chemie  
der Universität Stuttgart

### *Was ist Theoretische Chemie?*

In der Theoretischen Chemie werden theoretische Ver-fahren und Denkweisen der Physik auf Fragen der Chemie angewendet. Die Methoden werden gegebenen-falls entsprechend den besonderen Problemen der Chemie modifiziert.

Die sich so ergebende Verknüpfung von Mathematik, Physik und Chemie liegt in der Natur der Sache be-gründet: Die Atomkerne und Elektronen, aus denen sich die Materie zusammensetzt, können in ihrem Verhalten nur wellenmechanisch beschrieben werden. Damit kann die theoretische Basis der Chemie nur die Wellenmechanik sein, die — ursprünglich in der Physik entwickelt — so zum wesentlichsten Element der Theoretischen Chemie wurde. Mit anderen Wor-ten: Eine Zurückführung der vielfältigen Erscheinun-gen der Physik, Chemie und auch der Biologie auf molekulare Vorgänge und deren Ursachen kann aus-schließlich mit Hilfe der Wellenmechanik geschehen. Theoretische Chemie ist daher im wesentlichen eine *Quantentheorie der Moleküle und Atomsysteme*.

Wir wollen hier zunächst einmal zeigen, welche Kon-sequenzen eine solche Vereinigung von Wellen-mechanik und Chemie nach sich zieht, und zwar be-sonders im Hinblick auf die Denkweisen und die Arbeitsmethoden der Theoretischen Chemie. Denn das sei sogleich festgestellt: Die Kenntnis der Gesetze, nach denen Atomkerne und Elektronen miteinander in Wechselwirkung treten, und die Fähigkeit, solche Wechselwirkungen methodisch zu beschreiben, garanti-ert noch nicht die Einsicht in das molekulare Ge-schehen, aus der das Verständnis folgt und eine prak-tische Anwendung möglich wird. Aber die Kenntnis der Gesetze ist unumgänglich, wenn es gilt, Denk-weisen und Methoden zu entwickeln.

### *Modelle erster Art*

Am Anfang jeder Naturerkenntnis steht ein Experi-ment, ein Befragen der Natur. Ist das Experiment mit Messungen verbunden, so erhält man eine Fülle von Meßwerten, die meist zusammenhanglos blieben,