

537.533.35

НАБЛЮДЕНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ АТОМОВ *)

А. В. Кру (Отделение физики Чикагского университета), Дж. Уолл и Дж. Лангмор (Отделение биофизики Чикагского университета) сообщают об удачной попытке наблюдения отдельных атомов при помощи сканирующего электронного микроскопа с высоким разрешением (*Science* 168 (№ 3937), 1338—1340 (1970)).

Одним из основных направлений развития электронной микроскопии были попытки наблюдать отдельные атомы. За последние два десятилетия произошло значительное увеличение разрешающей силы этих инструментов, но до недавнего времени было невозможно получить изображения отдельных атомов.

Маловероятно, чтобы обыкновенный электронный микроскоп оказался пригодным для этой цели: наблюдения отдельных атомов затрудняются слишком малым контрастом на микроэлектронограмме, несмотря на достаточную разрешающую силу. Это затруднение возможно было бы преодолеть путем использования темнопольной микроскопии.

*) Сокращенный перевод Л. В. Самсоенко.

С этой целью был разработан специальный сканирующий электронный микроскоп с высоким разрешением; этот инструмент обеспечивает необходимый контраст, хотя его разрешение (5 Å) не так велико, как у имеющихся в продаже электронных микроскопов.

Сканирующий микроскоп состоит из электронно-оптической системы, которая создает сфокусированное пятно электронов диаметром $\sim 5 \text{ Å}$, с токами порядка 10^{-11} — 10^{-10} а и углом схождения пучка ~ 20 миллирад (мрад). Исследуемый объект помещается в фокус, и пучок электронов сканирует препарат по прямоугольному растру.

Если на объект падает N электронов, то N_e электронов упруго рассеиваются, N_i рассеиваются неупруго, а $N_0 = N - N_e - N_i$ не взаимодействуют с объектом. Теоретические расчеты позволяют вывести соотношения между числом падающих и рассеянных электронов (в случае тонкого объекта):

$$\frac{N_e}{N} = \frac{46,5}{\sigma_b} \frac{Z^{4/3}}{V} n = \frac{n\sigma_e}{\sigma_b},$$

$$\frac{N_i}{N} = \frac{868}{\sigma_b} \frac{Z^{1/3}}{V} n = \frac{n\sigma_i}{\sigma_b},$$

где Z — атомный номер, V — ускоряющее напряжение (30 кэ), σ_b — поперечное сечение пучка электронов, σ_e и σ_i — сечения упругого и неупругого рассеяния (в Å²) n — число атомов в пучке.

В процессе упругого рассеяния электроны рассеиваются на значительные углы (50—100 мрад), так что большая часть электронов выходит за пределы конуса «освещающих» объект электронов (20 мрад). При процессах неупругого рассеяния углы рассеяния малы (~ 1 мрад), и большинство электронов остается в пределах электронного пучка.

Под объектом помещается кольцевой детектор. Внешний и внутренний диаметры его подобраны таким образом, что через отверстие в центре проходят электроны в конусе с углом раствора ~ 20 мрад, а электроны, рассеянные под большими углами, будут попадать в детектор. Очевидно, последний будет регистрировать количество электронов N_e . В свою очередь электроны, которые проходят сквозь отверстие в детекторе, можно разделить на две компоненты N_i и N_0 посредством спектроанализатора энергий.

Нетрудно видеть, что сигнал, выражающий отношение N_e/N_i , будет приблизительно равен $Z/19$ и не зависит от толщины объекта или энергии электронов в пучке.

Рассмотрим теперь один атом урана, находящийся на углеродной пленке толщиной 20 Å. (Подобные пленки несложно изготовить, и они оказываются достаточно прочными для использования в микроскопе.) Рассчитаем предполагаемые значения N_e и N_i для углеродной пленки (С) и углеродной пленки плюс один атом урана (С + U):

$$\frac{N_e^{U+C}}{N} = \frac{\sigma^U + n_C \sigma_e^C}{\sigma_b}, \quad \frac{N_e^C}{N} = \frac{n_C \sigma_e^C}{\sigma_b},$$

$$\frac{N_i^{U+C}}{N} = \frac{\sigma_i^U + n_C \sigma_i^C}{\sigma_b}, \quad \frac{N_i^C}{N} = \frac{n_C \sigma_i^C}{\sigma_b},$$

где n_C — число атомов углерода, охватываемых пучком электронов (приблизительно 55 в рассматриваемом случае). Нижний индекс e относится к упругому рассеянию, индекс i означает неупругое рассеяние. Имеем

$$\frac{N_e^{U+C}}{N_e^C} = 1 + \frac{1}{n_C} \frac{\sigma_e^U}{\sigma_e^C} = 1 + \frac{1}{n_C} \left(\frac{92}{6} \right)^{4/3} = 1,68.$$

Это число можно назвать фактором видимости; оно свидетельствует, что при использовании одних только рассеянных электронов сигнал от атома урана плюс углерод будет в 1,68 раза больше, чем от одного углерода.

Рассчитаем теперь фактор видимости, если в качестве сигнала в микроскопе воспользоваться отношением N_e/N_i :

$$\frac{N_e^{U+C}}{N_i^{U+C}} = \frac{\sigma_e^C}{\sigma_i^C} \left[\frac{n_C + (\sigma_e^U/\sigma_e^C)}{n_C + (\sigma_i^U/\sigma_i^C)} \right] \sim 1,68 \frac{N_e^C}{N_i^C}.$$

Итак, фактор видимости и в этом случае оказывается примерно таким же, как и для сигнала от упругого рассеяния, рассмотренного выше. Таким образом, возможно зарегистрировать один-единственный атом урана, если сигналы окажутся статистически достаточно однородными. Основные источники шумов — это непостоянство толщины углеродной пленки и статистические флуктуации числа регистрируемых электронов.

Предполагаемое число атомов углерода равно 55, так что случайные флуктуации этого числа порядка 13%. Статистические флуктуации электронных сигналов при нормальных условиях эксперимента оказываются меньше 10%. Комбинируя эти два источника ошибок, можно заключить, что шумы не превышают 20%, так что задача наблюдения отдельных атомов не представляет принципиальных трудностей.

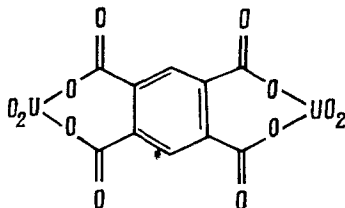
Если для формирования сигнала используются только упруго рассеянные электроны, то можно считать, что основной составляющей шумов будут вариации сигнала, вызванные локальными изменениями толщины подложки. Используя же в качестве сигнала отношение N_e/N_i , можно добиться существенного улучшения, ибо это отношение не зависит от толщины углеродной пленки.

Шумы могут оказаться источником ложных сигналов. В самом деле, при наличии случайных флуктуаций сигнала в 20% сигнал в 1,6 единицы в среднем имел бы место в одной из каждой 1000 точек изображения, а в нашем случае количество элементов изображения составляет 10^6 . Однако истинный сигнал от отдельного атома будет появляться на каждом изображении, а ложные — нет. Кроме того, использование групп атомов с известным отношением количества различных атомов существенно понижает вероятность неправильного отождествления.

Эти расчеты были проверены на различных объектах. Принятый метод сводился к получению различных молекул, содержащих тяжелые атомы, удаленные друг от друга больше чем на 5 Å. Затем измерялся фактор видимости путем визуального наблюдения сигналов на экране осциллографа.

Уранилацетат. Слабый раствор (10^{-4} молярного) уранилацетата наносился на чистую углеродную пленку, которая затем подсушивалась. Под микроскопом наблюдались обособленные яркие пятна с фактором видимости, меняющимся от 1,3 до 1,7. Тот факт, что эти пятна вызывались веществом с большим Z , подтвердился получением микроэлектронограмм того же объекта при использовании для формирования сигнала только неупруго рассеянных электронов. Наблюдавшиеся ранее пятна теперь оказались невидимыми, хотя появились отдельные яркие пятна, видимо, обязанные локальным концентрациям атомов углерода. Шум, порождаемый углеродной пленкой, при использовании отношения N_e/N_i исключался не полностью. Это вполне объяснимо, поскольку процесс неупругого рассеяния не так локализован, как упругого.

Пяры атомов урана. По предложению М. Бира (университет Джона Гопкинса) уранилацетат был подвергнут реакции с 1,2,4,5-бензолтетракарбоновой кислотой. В этом случае возможно образование молекулы



в которой атомы урана располагаются на расстоянии 13 Å.

Согласно принятым представлениям, карбоновые кислоты в жидкой фазе обычно существуют в виде димеров. Поскольку молекула карбоновой кислоты симметрична, при полимеризации можно было бы ожидать, что атомы урана окажутся друг от друга на расстояниях $[13 + (n - 1) 10]$ Å, где $n = 2$ для димера и т. д.

Слабый раствор продукта реакции наносился на чистую углеродную пленку, и наблюдались пары ярких пятен (рис. 1 и 2). Фактор видимости для этих пятен менялся от 1,4 до 1,7, и пятна исчезали, когда использовался сигнал лишь от неупругих рассеяний. Изменения расстояний между пятнами согласовывались с предположением о полимеризации: наблюдались расстояния, соответствующие одной, двум и трем молекулам.

Цепи атомов тория. Была проведена реакция нитрата тория с той же самой карбоновой кислотой. Торий четырехвалентен, ввиду чего могут образовываться цепи из атомов тория, отделенных друг от друга теми же самыми органическими звеньями, как и в случае урана. Образец бы приготовлен М. Биром. Слабый раствор наносился на чистую углеродную пленку, и наблюдались длинные цепи (рис. 3 и 4). Фактор видимости по-прежнему заключался между 1,4 и 1,8, и пятна сразу исчезали при использовании одних только неупруго рассеянных электронов. Среднее расстояние между пятнами было больше 13 Å, что свидетельствует о полимеризации.

В пользу того, что наблюдавшиеся во всех описанных экспериментах яркие пятна действительно соответствуют отдельным атомам, свидетельствуют следующие факты: 1) фактор видимости близок к рассчитанному и его значения лежат в пределах правдоподобных ошибок; 2) пятна исчезают, когда для формирования изображения

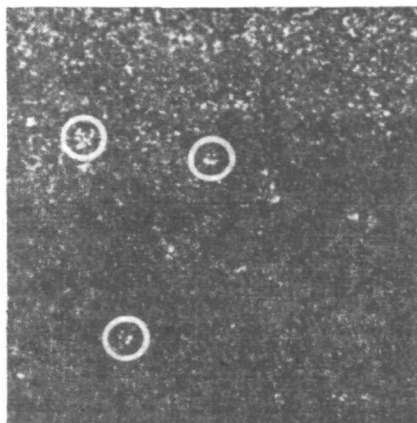


Рис. 1. Микроэлектронграмма тонкой углеродной пленки, на которую был нанесен слабый раствор продукта реакции уранилацетата с бензолтетракарбоневой кислотой.

Ожидалось, что атомы урана будут располагаться парами на расстояниях 13, 23, 33 Å и т. д. Изображение было получено путем использования в качестве сигнала отношения N_e/N_i . Видны несколько пар ярких пятен. По-видимому, они представляют собой атомы урана (полный размер снимка 2100 Å).

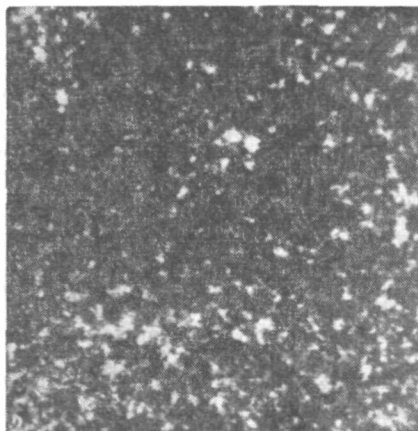


Рис. 2. Тот же препарат, что и на рис. 1, но микроэлектронграмма была получена при большем увеличении.

В центре вверху можно видеть пару светлых пятен—вероятно, два урановых атома (полный размер снимка 670 Å).

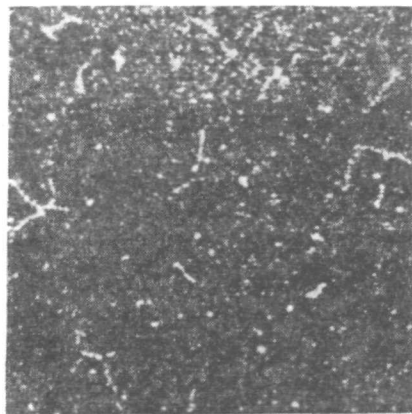


Рис. 3. Микроэлектронграмма тонкой углеродной пленки, на которую был нанесен слабый раствор продукта реакции нитрата тория с бензолтетракарбоневой кислотой.

Предполагалось, что могут образоваться длинные цепи атомов тория, разделенных расстояниями в 13, 23 Å и т. д. в соответствии со степенью полимеризации карбоновых групп между атомами тория. Отчетливо заметны цепочки белых пятен, по-видимому, обязанные своим появлением атомам тория (полный размер снимка 2100 Å).

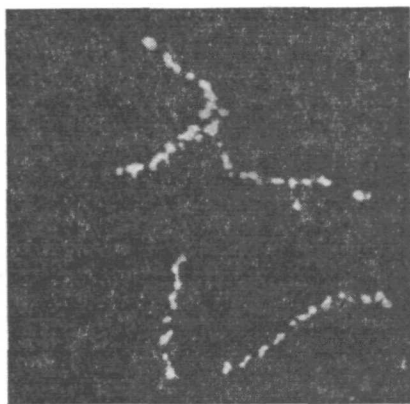


Рис. 4. Тот же препарат, что и на рис. 3, но при большем увеличении. Хотя заметны эффекты вибрации, удаление отдельных атомов друг от друга определяется с полной уверенностью (полный размер снимка 670 Å).

используются только неупруго рассеянные электроны; 3) геометрическое расположение ярких пятен соответствует ожидаемому.

Согласно заметке в «Physics Today» (August 1970, pp. 41—42), Кру считает, что описанная методика вполне применима к широкому классу биологических объектов, поскольку для рентгеновской кристаллографии уже разработаны многочисленные краски, содержащие тяжелые атомы. В частности, возможно применение подобных красок к некристаллическим веществам, например ДНК, в том числе для определения последовательности расположения оснований в молекуле ДНК.

М. Бир, использующий методы обычной электронной микроскопии, в течение многих лет стремится найти метки из тяжелых металлов для каждого из четырех оснований, входящих в молекулу ДНК. Было обнаружено, что одна из солей осмия ($Z = 76$) может присоединяться к тимину. В принципе это позволяет при помощи сканирующего электронного микроскопа проследить всю цепь по наблюдениям атомов осмия, если предположить, что последние прикреплены к молекуле ДНК только в определенных местах регулярно повторяющейся последовательности.

По мнению Кру, увеличение разрешающей силы описанного метода до 2—3 Å позволит наблюдать отдельные атомы с Z до 40. Проблема наблюдения атомов с небольшими Z не решается автоматически с увеличением разрешения микроскопа. При уменьшении Z возрастает возможность ионизации, ввиду чего молекулярная структура подвергается большим нарушениям. (Тяжелые атомы, например уран, даже при нарушении связей в молекуле не смещаются на значительные расстояния ввиду большой массы.) Кроме того, при малом Z трудно получить достаточный контраст.

По сообщению журнала «Physics Today», один из экспериментаторов, Леонард Орнштейн, поставил под сомнение, действительно ли Кру получил изображения отдельных атомов или это были скопления атомов.

Первые фотографии индивидуальных атомов были получены Э. Миллером в 1947 г. На его снимках поверхности ионного источника можно различить отдельные атомы платины и вольфрама. Многие исследователи считают, что техника ионной микроскопии неприменима к биологическим объектам.

А. Кру, Дж. Уолл, Дж. Лангмор