

## ЭЛЕКТРОННЫЙ МИКРОСКОП

С. Л. Пупко, Москва

§ 1. Изображение объектов размерами менее  $0,15 \mu$  в современном оптическом микроскопе ограничено некоторым фактором, известным под названием «предела разрешения». Этот фактор, обусловленный волновой природой света, может быть определен на основе формулы Аббе для оптической линзы:

$$d = \frac{\lambda}{2n \sin \alpha},$$

где  $d$  — предел разрешения,  $\lambda$  — длина волны света в вакууме,  $n$  — показатель преломления среды, в которую погружен объект, и  $\alpha$  — половина угла светового конуса, образуемого отверстием линзы и объектом.

Наибольшие значения величины численной апертуры линзы, полученные для современного оптического микроскопа, составляют 1,6. Так как самая короткая длина волны видимого света  $\lambda = 0,4 \mu$ , то для предела разрешения оптического микроскопа получаем:

$$d = \frac{0,4}{2 \cdot 1,6} = 0,125 \mu.$$

Если расстояние между частицами объекта меньше  $d$ , то независимо от увеличения, изображение, в котором была бы различима структура объекта, получить нельзя. Снижение предела разрешения может быть осуществлено при соответствующем уменьшении длины волны используемого излучения.

Как известно, длина волны потока электронов может быть выражена формулой

$$\lambda = \frac{h}{mv} = \sqrt{\frac{150}{E}} \cdot 10^{-8} \text{ см},$$

где  $E$  — ускоряющее напряжение электронов. Отсюда электрон даже с малой энергией в 150 eV имеет длину волны, равную длине атомного диаметра. Таким образом, можно было ожидать, что использование электронов в качестве «ультракоротковолнового» света принесет громадные успехи в решении проблемы исследования тонких структур.

Свойство электронов при прохождении через магнитное или электростатическое поле концентрироваться в фокусе и давать изображение легло в основу создания геометрической электронной оптики<sup>1</sup>. Развитие электронной оптики и началось с тех пор, как были указаны

системы (электрические и магнитные), которые обладают подобными фокусирующими свойствами, — так называемые «электронные линзы».

Основоположителем магнитной электронной оптики считают Буша<sup>1а</sup>. В 1926 г. появилась его работа, где впервые было показано, что любое постоянное магнитное поле, обладающее аксиальной симметрией, действует на достаточно узкий пучок электронов подобно тому, как собирающая линза действует на световой луч. Для полной характеристики фокусирующих свойств любой оптической системы необходимо знать положение ее главных оптических плоскостей и величину фокусных расстояний. В случае электронной линзы определение ее фокусирующих свойств сводится прежде всего к определению траектории электронов в заданном магнитном или электростатическом поле. Буш дал уравнения траектории движения электронов в неоднородном магнитном поле и вычислил расстояния от исходной точки электронного пучка до фокуса. Дальнейшее развитие проблем, затронутых и теоретически обоснованных Бушем, принадлежит Руска и Кноллю<sup>2</sup>. Они создали образец магнитной электронной линзы, теоретически и экспериментально проверили ее электронооптические свойства и показали, что с помощью такой линзы можно получить действительное увеличенное изображение.

Возможность осуществления электростатической линзы в качестве самостоятельно фокусирующей системы была показана позже — в 1931—1932 гг., независимо друг от друга, Дэвиссоном и Кэлбином в Америке<sup>3</sup>, Брюхе и Иогансоном в Германии<sup>4</sup>. Брюхе и Иогансон в качестве такой линзы использовали аксиально-симметричные электростатические поля, полученные при помощи заряженных плоских бленд с отверстиями, находящимися в непосредственной близости (0,5 мм) от плоской поверхности катода. Две такие линзы, помещенные на некотором расстоянии друг от друга, представляли собой модель электронного микроскопа с двухступенчатым изображением объекта. При ускоряющих напряжениях электронов от 200 до 800 В с помощью этой модели были получены изображения источников электронов, а именно эмитирующей поверхности катода, увеличенные до 150 раз.

Дальнейшее усовершенствование электростатической линзы Иогансоном и Шерцером<sup>5</sup> привело к созданию короткофокусной линзы (с фокусным расстоянием  $< 1$  см) при напряжениях до 1 000 В.

Однако, принципиальные трудности создания электростатической линзы для больших скоростей электронов (от 10 000 В и выше), необходимых для изображения объектов, не обладающих собственной эмиссией, направили исследователей по пути создания магнитной электронной линзы. Конструирование такой линзы с коротким фокусным расстоянием при больших напряжениях имело первостепенное значение для решения проблемы больших увеличений.

Для этой цели Руска и Кнолль<sup>6</sup> применили так называемую «короткую» магнитную катушку (магнитную линзу), подобную «тонкой» линзе в обычной оптике. Под «короткой» линзой понимают систему, поле которой можно считать сосредоточенным на отрезке,

малом по сравнению с расстоянием от исходной точки до фокуса. Как показывает формула фокусного расстояния такой короткой магнитной катушки с квадратным сечением обмотки

$$f \approx 62\,500 \frac{U \cdot d}{I^2} \text{ см}$$

(где  $U$  — ускоряющее напряжение электронов в вольтах;  $d$  — средний диаметр катушки;  $I$  — число ампер-витков), создание очень коротких фокусных расстояний при больших напряжениях требует не только коротких, но и очень сильных магнитных полей. Единственное решение этого вопроса было найдено в экранировании многослойной короткой катушки ферромагнитным материалом высокой магнитной проницаемости при очень малом воздушном зазоре. В этот зазор, представляющий собой небольшую круглую щель, вставлялась «внутренняя оптика» — бленды с отверстием различного сечения, где собственно и должна быть расположена магнитная линза. Построенные по такому принципу (известному в литературе как принцип «полюсных наконечников») линзы позволяли получать очень короткое и сильное магнитное поле.

§ 2. Первая модель магнитного электронного микроскопа построена Руска и Кноллем в 1931—1932 гг.<sup>7</sup> Этот прибор был использован для исследования объектов с собственной эмиссией — оксидированных катодов (см. статью Малова<sup>1</sup>).

Дальнейшее развитие магнитного электронного микроскопа шло по линии применения его не только для исследования самоэмитирующих поверхностей, но, что несравнимо важнее, для изучения малых органических и неорганических объектов, не обладающих собственной электронной эмиссией, поскольку они могли быть в виде тонких пленок помещены в вакуум, не претерпев при этом значительных структурных изменений.

Электронный микроскоп, пригодный для исследования объектов в проходящем пучке, был сконструирован теми же авторами в 1933—1934 гг.

При конструировании второй модели авторы<sup>8</sup> учли многие конструктивные особенности и методы, реализованные и проверенные в ранее усовершенствованных ими катодных осциллографах. Для удобства центрировки, сборки и обращения со всем прибором последний был поставлен в вертикальное положение, так что катод — источник электронов — составляет верхушку микроскопа. Отдельные части прибора сконструированы и подогнаны таким образом, что позволяют производить сборку прибора в различном порядке. Общая длина прибора от катода до фотокамеры — 1,2 м. Источником электронов служит газоразрядная трубка с холодным алюминиевым катодом, окруженным металлическим анодом в форме трубки с блендами различного сечения. Получаемый таким образом достаточно узкий пучок электронов проходит через магнитную катушку, играющую роль конденсорной линзы и также имеющую бленды очень малого сечения. Еще более концентрируясь, пучок падает на объект, помещенный в специально устроенную камеру объекта, представленную на

рис. 1. Последняя соответствует предметному столику в оптическом микроскопе. Камера позволяет исследовать несколько объектов, без необходимости нарушать вакуум в приборе при смене объекта. Для этой цели в стенке камеры, непосредственно обращенной к объективу, помещается зубчатое колесо, внутри которого находится несколько отверстий с блендами, имеющими диаметр просвета 0,1 мм. На эти бленды помещают объект. Бленда «объектодержатель» тщательно отполирована с целью максимального отвода тепла при электронной бомбардировке. Она сделана из сплава золота с платиной; это предохраняет металл бленды от испарения и даже плавления. Для исследования объектов, находящихся в камере, последняя, вне прибора, может перемещаться с помощью конических шлифов в направлении, поперечном к оси электронного пучка. На кратчайшем расстоянии

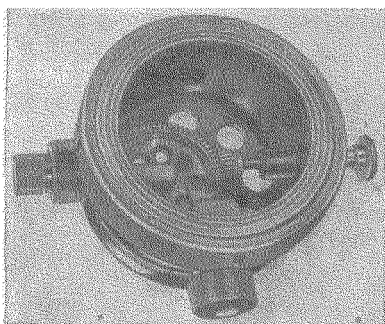


Рис. 1. Камера объекта

от камеры объекта находится объективная катушка, которая на первом флуоресцирующем экране дает увеличенное изображение, наблюдаемое через окошко. Изображение объекта, полученное в первой ступени, проектируется посредством третьей магнитной катушки на конечный флуоресцирующий экран. Окончательно увеличенное изображение можно также видеть с помощью наблюдательных окошек. Фотосъемка изображения производится с помощью фотокамеры, расположенной внутри прибора, так что полученное во второй ступени изображение можно непосредственно проектировать на фотопластинку. Таким образом, этот прибор соответствует проекционному микроскопу световой оптики. Все три магнитные катушки были сконструированы по одному типу «полюсных наконечников». Усовершенствование кольцеобразных полюсных наконечников таких катушек выразилось в подборе подходящей формы колец, соответствующего диаметра свободного просвета и расстояния между ними. Были также найдены, при практически возможных ускоряющих напряжениях, необходимые размеры и формы поля. Все это позволило достигнуть весьма коротких фокусных расстояний. По аналогии с обычной оптикой «монокроматичность» электронного пучка, иначе говоря, одинаковые скорости падающих электронов, являлась решающим фактором при получении максимально резких изображений, а следовательно, и возможно большей разрешающей способности электронооптической системы. Во второй модели Кнолля и Руска были устроены специальные стабилизаторы напряжения с большой степенью стабилизации, позволявшие снижать колебания напряжений в 40 kV и выше до нескольких вольт.

Видоизмененная и усовершенствованная модель Руска давала практически предел разрешения в  $5 \cdot 10^{-2}$  м, т. е. в несколько раз меньше, чем минимально возможный предел разрешения оптического микроскопа.

Предел разрешения оптического микроскопа, как уже было указано, определяется апертурой объектива. Для длин волн видимого света снижение предела разрешения требует максимально возможного увеличения апертуры. В электронном микроскопе, где длина волны электронов много меньше, величина апертуры при тех увеличениях, которые были достигнуты с помощью этой модели, не имела решающего значения. Апертура могла быть очень мала, поскольку это допускали условия конструкции линзы. Понижение апертуры выгодно в смысле увеличения резкости изображения. Однако, понижение величины апертуры было ограничено допускаемой интенсивностью облучения объекта. При апертурах объектива 0,1 объекты толщиной в 1—0,5  $\mu$  требовали сильного охлаждения, чтобы не подвергнуться изменению и даже разрушению при электронной бомбардировке.

Итак, максимальные увеличения, полученные Руска в 1933 г. при исследовании органических объектов, в известной мере нечувствительных к нагреванию, были порядка 8 000—10 000 раз, а объектов неорганических, как, например, металлические пленки, — порядка 12 000 раз. Большие увеличения (в 30 000—40 000 раз) с максимальной резкостью изображений могли быть достигнуты, как считал Руска<sup>9</sup>, только при сильном снижении аберрации линзы. Это могло быть осуществлено путем систематических исследований в области подбора формы и материала полюсных наконечников.

С 1934 до 1937 г. в Бельгии Мартоном<sup>10</sup>, а в Англии Мартином и Уэлптоном<sup>11</sup> были построены магнитные электронные микроскопы на основе принципов и конструктивных методов Руска. Мартон впервые пытался исследовать с помощью своего прибора биологические объекты. Он выработал ряд методов<sup>12</sup>, позволяющих предохранить микроорганизмы от разрушающего действия электронной бомбардировки. Биологические объективы были исследованы с пределом разрешения 1  $\mu$ , т. е. в 10 раз большим, чем предел разрешения современного оптического микроскопа. Мартин и Уэлптон также не получили значительных результатов и увеличения, достигнутые ими, не отличались от увеличений обычного микроскопа.

В 1937 г. появляется третья модель магнитного электронного микроскопа Руска<sup>13</sup>, показанная на рис. 2. Этот прибор был впер-

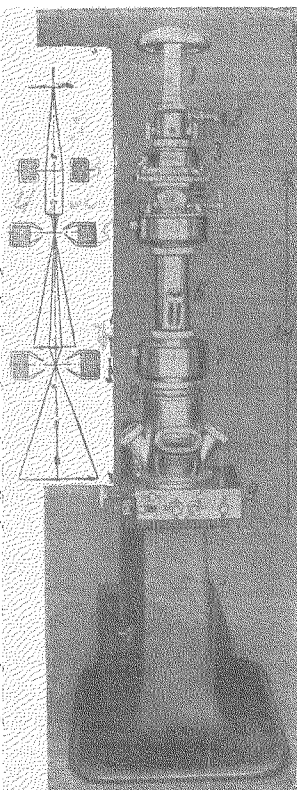


Рис. 2. Магнитный сверхмикроскоп Борриса и Руска. Общий вид и схема:

- 1 — газоразрядная трубка, 2 — отклоняющая камера, 3 — конденсорная катушка, 4 — камера объекта, 5 — объективная катушка, 6 — объективная трубка, 7 — проекционная катушка, 8 — проекционная трубка, 9 — фотокамера

вые назван Руска «сверхмикроскопом». В основу его легла конструкция, разработанная ранее. Особое внимание при проектировании прибора было обращено на достижение максимальных удобств при работе с ним и производстве съемок, а также на улучшение качества изображений при возможно больших увеличениях.

Магнитные линзы были сконструированы по ранее выработанному принципу полюсных наконечников, и усовершенствование их шло по двум направлениям: были подобраны полюсные наконечники специальной формы и экранирование катушек производилось при помощи ферромагнитного материала очень высокой магнитной проницаемости. Фокусные расстояния при напряжениях в 80 kV составляли 2,8 мм для объективной катушки и 1 мм для проекционной катушки. Расстояние изображения в первой и второй ступени составляло 40 см; при этом можно было получить увеличение в первой ступени 75, а во второй 400. Электрооптическое увеличение составляло 30 000. Увеличив изображение оптическим путем примерно в 3 раза, можно было получить общее увеличение порядка 100 000.

Из замечательных усовершенствований этого прибора следует отметить камеру объекта и фотокамеру. Первая снабжена специальным приспособлением — «погрузочной воронкой», — устроенной так, что «загрузка» и «выгрузка» нового объекта происходят без нарушения вакуума в приборе. Объект помещается на объектодержатель — целлюлоидную или коллодиевую пленку — и вместе с последней прикрепляется к диафрагме с диаметром отверстия от 0,3 до 0,03 мм. Диафрагма с прикрепленным к ней объектом насаживается на патрон и с помощью шлифов вводится в вакуум. Весь процесс загрузки длится всего 1 мин. «Погрузочная воронка» для объекта снабжена приспособлением, позволяющим охлаждать объект в вакууме. Кроме того, во время наблюдения изображения объект можно передвигать в горизонтальной плоскости и в плоскости, перпендикулярной к оси прибора. Описанное устройство позволяет любой участок объекта повернуть так, чтобы он совпал с серединой объектива. Фотокамера также снабжена специальной «погрузочной воронкой» для фотопластинок. Загрузка, как и выемка последних, производится без нарушения вакуума в приборе, а самый процесс фотосъемки прерывается лишь на 3 мин.

Пучок электронов, получаемый из точечного катода, направляют с помощью конденсорной катушки, передвигающейся во всех направлениях, на исследуемый объект. После прохождения объекта пучок посредством регулирующих механизмов направляется на объективную катушку. Регулирование длится до тех пор, пока на промежуточном флуоресцирующем экране, совпадающем с первой плоскостью изображения, не получится более или менее резкое изображение объекта. Посредством наблюдательных окошек можно видеть изображение в первой ступени. Выбрав наиболее интересные для окончательного увеличения части объекта, можно повернуть его так, чтобы эти части совпали с серединой устроенного для этой цели отверстия в промежуточном экране, и таким образом осуществить увеличение во второй ступени. Второй и конечный флуо-

ресцирующий экран совпадает со второй плоскостью изображения. Конечный экран также снабжен наблюдательными окошками, так что окончательно увеличенное изображение могут наблюдать несколько человек одновременно. Сдвинув в вакууме экран, можно спроектировать изображение непосредственно на фотопластинку.

Апертуры объектива были снижены до 0,01, что позволило получать изображения большой глубины резкости. В этом состоит громадное преимущество сверхмикроскопических изображений по сравнению с микроскопическими. Несмотря на гораздо большую степень увеличения, резкость изображения в электронном микроскопе настолько велика, что представляется возможным простым поворачиванием объекта в плоскости исследовать его во всех его частях, без дополнительных — механических или электрических — фокусирующих приспособлений. Предел разрешения, достигнутый сверхмикроскопом, составлял  $5 \cdot 10^{-8}$  м.

§ 3. Электронный сверхмикроскоп благодаря большой разрешающей способности и высокой степени резкости изображений становится мощным орудием исследования в самых различных областях науки и техники.

Применение его к исследованию природных и искусственных глинистых минералов, субмикроскопические частицы которых являются важным фактором пластичности, позволило показать влияние различных температур на процессы обжига<sup>14</sup>.

Чрезвычайно интересны исследования в области выделения первичных кристаллов из насыщенного раствора  $\text{CaCO}_3$ : вначале наблюдают выделение тонкого слоя мелкопузырчатого аморфного  $\text{CaCO}_3$ , весьма стабильного благодаря отсутствию каких-либо зародышевых центров. При повышении интенсивности облучения аморфный слой приходит в движение, вслед за тем немедленно появляются центры кристаллизации и кристаллы конусообразной формы, имеющие  $0,15$  м в диаметре. Таким образом, электронное изображение позволило впервые увидеть стабильную аморфную форму  $\text{CaCO}_3$  и момент перехода от  $\text{CaCO}_3$ -геля к кальциту, который по некоторым данным лежит при температуре  $200$ — $230^\circ$ . Роль зародышевых центров здесь сыграло более интенсивное облучение объекта и вызванное этим нагревание<sup>15</sup> (рис. 3 и 4).

Были исследованы также дымы (окиси металлов) и минеральная пыль в отношении их кристаллической структуры и их технической

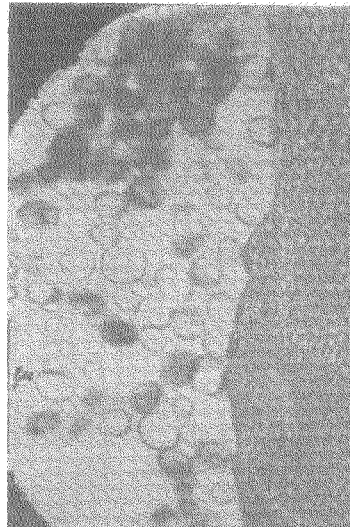


Рис. 3. Аморфный пузырьчатый  $\text{CaCO}_3$ . Электронооптическое увеличение 18 000:1

пригодности для испытания пылеулавливающих фильтров<sup>16</sup>. Оказалось возможным показать наличие в пылевидном материале (особенно важном с точки зрения промышленной гигиены) частиц размерами от  $5 \cdot 10^{-8}$ — $10^{-2}$  м. Это делает понятным факт поглощения легкими пылевидных промышленных ядов. Исследование субмикроскопической



Рис. 4. Кальцит, выкристаллизованный из аморфного  $\text{CaCO}_3$  в момент интенсивного электронного облучения. Электронооптическое увеличение 20 000:1

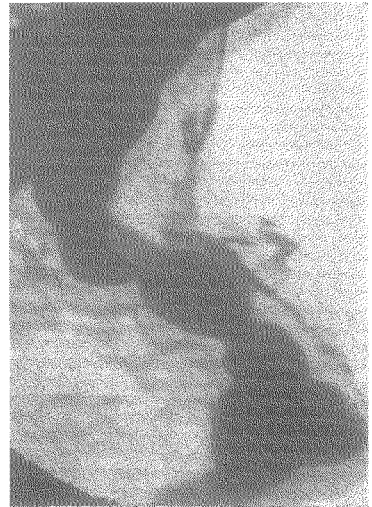


Рис. 5. *Staphylococcus aureus*. Электронооптическое увеличение 21 200:1. В непосредственном окружении бактерии видны какие-то образования, принадлежащие, вероятно, продуктам обмена бактерий с окружающей средой

структуры биологических объектов пролило свет на различные вопросы гематологии, бактериологии<sup>17</sup> и т. д.

Было показано, что во время процесса свертывания крови протоплазма кровяных телец претерпевает структурные превращения, связанные с потерей веществ, обуславливающих активность свертывания<sup>18</sup>.

При бактериологических исследованиях были обнаружены новые данные о строении оболочки бактерий и о выделении определенной формы продуктов обмена<sup>19</sup> (рис. 5). Замечательно, что удалось установить в бациллах куриного туберкулеза наличие определенных химических элементов строения клетки путем сравнения ничем не обработанной клетки с такой же, но экстрагированной в эфире. Этим было показано, что электронное изображение может не только установить распределение массы в объекте, но также распределение определенных химических элементов в тонкой структуре объекта, подобно тому, как это имеет место в световой оптике в отношении более грубых структур.



С помощью сверхмикроскопа была исследована так называемая «голубая структура» пера птицы<sup>20</sup>. Давно известно, что голубая окраска обуславливается не пигментом, а наличием тонких воздушных пор в ящичкообразных клетках пера птицы, которые, как до сих пор предполагали, имеют трубчатое строение. Однако, электронное изображение опровергло это представление. Стенки ящичкообразных клеток оказались не трубчатого, а губчато-ячеистого строения. Эти воздушные просветы имеют размеры от  $10^{-1}$  до  $2,5 \cdot 10^{-2}$   $\mu$ , а тончайшие нити рогового вещества — толщину  $1,5 \cdot 10^{-3}$  —  $10^{-2}$   $\mu$ . Таким образом, был выяснен спорный вопрос в зоологии.

Недостовверные данные, полученные обычными оптическими методами, о структуре

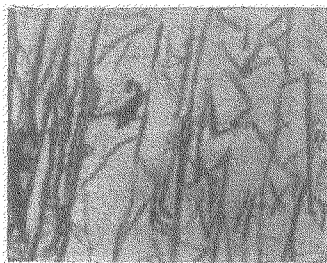


Рис. 6. Вирус табака с характерным изгибом нитей. Электронооптическое увеличение 20 000:1

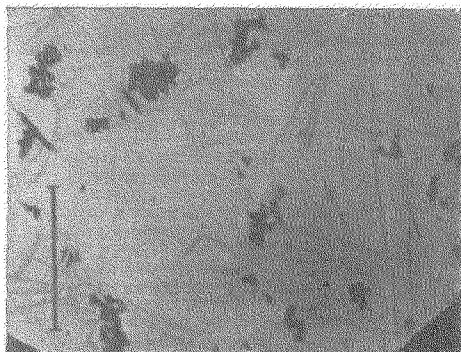


Рис. 7. Вирус табака. Отдельные нити расположены в виде параллельных и поперечных агрегатов. Электронооптическое увеличение 20 000:1

и форме некоторых животных вирусов были опровергнуты благодаря электронным изображениям таких вирусов, непосредственно препарированных из больной ткани. Было установлено, что вирусы оспы и экстремелии представляют собой не шарообразные образования, а мельчайшие частицы призматической и кубической формы с округленными краями и гранями.

Сверхмикроскоп позволил получить достаточно исчерпывающую характеристику растительных вирусов. При очень больших разбавлениях зольей вируса табака и картофеля боковые связи больших агрегатов оказались разорванными, и удалось непосредственно увидеть отдельные нитеобразные частицы (рис. 6, 7), представляющие собой молекулы вируса  $1,5 \cdot 10^{-3}$  в диаметре и длиной от  $1,5 \cdot 10^{-2}$  до  $3 \cdot 10^{-1}$   $\mu$ <sup>21</sup>.

Можно было непосредственно наблюдать, как с чрезвычайной легкостью молекулы вируса образовывали сначала линейную цепочку, затем постепенным насливанием и утолщением — микроскопические и, наконец, макроскопические кристаллы. Это исследование позволило не только увидеть «возбудителя» болезней табака и картофеля, но и впервые показать молекулярную картину этого процесса.

Байшером<sup>22</sup> были исследованы размеры первичных кристаллов, образуемых в различных дымах (металл и окись металла) рентгенографическим и электронографическим методами. Для сравнения данных им был получен ряд электронных изображений этих дымов в сверхмикроскопе. Преимущество последних оказалось в следующем: с помощью рентгенографического и электронографического метода можно в данном коллоидном агрегате определить только средние размеры мельчайших кристаллизующихся частиц; электронный микроскоп позволяет определить не только «индивидуальные» размеры и форму отдельных первичных частиц, но и взаимное расположение их в данном соединении.

Большой интерес представляет исследование кристаллической пыли вольфрама. Как показывает рис. 8, частицы вольфрама находятся как бы в оболочке из тонких игольчатых кристаллов — факт, до сих пор неизвестный.

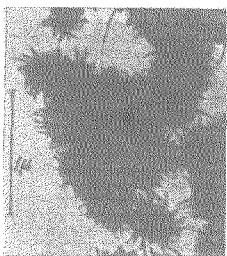


Рис. 8. Частицы порошкообразного вольфрама. Электронооптическое увеличение 25 000:1

Можно было бы привести еще огромное количество примеров, иллюстрирующих разностороннее применение электронного микроскопа. Нет сомнения, что развитие сверхмикроскопа делает этот прибор таким же необходимым и ценным орудием исследования, каким явился в свое время оптический микроскоп. Электронный сверхмикроскоп позволит гораздо глубже заглянуть в недра вещества и получить целый ряд новых данных о молекулярном и атомном строении материи.

§ 4. В 1939 г. появилась четвертая модель магнитного электронного микроскопа Руска и Борриса<sup>23</sup>.

В основу конструкции этой модели лег ряд новых принципов. Прежде всего авторы стремились создать такой прибор, который мог бы быть в любом институте использован для научно-исследовательских целей, где дальнейшее электронооптическое исследование явилось бы естественным продолжением оптических исследований. Для этого было необходимо, чтобы с электронным микроскопом смог обращаться исследователь, не имеющий особой квалификации в области электротехники и вакуумной техники. Поэтому авторы стремились сделать прибор наиболее компактным, эффективным и простым в обращении. Все необходимые при работе измерительные приборы, выключатели, регулирующие сопротивления и т. д. помещены на двух распределительных досках, одна из которых находится под фотокамерой, так что исследователь, сидя у главного наблюдательного окошка, может легко производить все нужные манипуляции при наблюдении изображения и съемке.

Развитие и техническое совершенствование сверхмикроскопа позволили получить изображение частиц с размерами вплоть до  $5 \cdot 10^{-3}$   $\mu$  в диаметре (размер кристаллической решетки —  $10^{-2}$   $\mu$ ). Если, с одной стороны, электронные лучи обладают очень большой разрешающей способностью, то, с другой стороны, их способности

проникать сквозь массы объекта очень ограничена. Следовательно, как все приспособления для исследования в оптическом микроскопе — объектодержатель, покровные стекла, — так и объект с толщиной, соответствующей самым тонким срезам микротомы, при облучении их электронами оказались совершенно непригодными. Слои, хорошо проникаемые для электронов, должны быть коллоидных размеров, т. е., иначе говоря, это должны быть такие образования, которые в коллоидной химии обычно называют пленками. Последние могут служить как объектом исследования, так и держателем объекта. В качестве держателей используются чаще всего коллодиевые пленки с толщиной в  $10^{-2}$   $\mu$ . Следовательно, толщина такой пленки меньше, чем средняя длина молекулы коллодия, и в ней, очевидно, молекулы должны быть расположены плоско. Такие пленки оказываются совершенно прозрачными для электронных лучей, подобно покровному стеклу в обычном микроскопе, не показывая при этом никакой электронооптической структуры. Кроме того, будучи приготовленными с равномерной толщиной, они проявляют большую прочность, не разрываясь при нанесении объекта и электронной бомбардировке.

Растворенный в воде или каких-либо летучих органических растворителях исследуемый объект наносится на коллодиевую пленку в виде капли и после испарения растворителя может подвергнуться исследованию. Нужно еще упомянуть о том, что препарирование объекта, как и коллодиевой пленки — держателя объекта, — должно происходить в совершенно стерильных условиях, так как самое незначительное загрязнение посторонними частицами, как, например, пылью, совершенно исказит электронооптическую картину и структура этой посторонней частицы будет ошибочно принята за структуру самого объекта. Наиболее подходящей толщиной объекта при электронном облучении являются слои от  $10^{-3}$  до  $10^{-2}$   $\mu$ . Такие тонкие объекты вместе с держателем насаживаются на бленду с диаметром отверстия 0,3—0,03 мм и вносятся в камеру объекта не сразу. Они проходят ряд стадий с постепенным уменьшением давления, благодаря чему не подвергаются возможному разрушению, наступающему при резких изменениях давления<sup>24</sup>.

Очень важным вопросом является влияние электронной бомбардировки на объект и держатель объекта. Так как количество поглощаемых электронов тем больше, чем меньше их скорость, то при напряжениях, применяемых в сверхмикроскопе—60—80 kV, — абсорбция для объектов в  $10^{-3}$ — $10^{-2}$   $\mu$  толщиной составляет лишь несколько процентов.

Исследования показали, что в случае более толстых слоев объекта —  $> 1$   $\mu$  — имеет место такое сильное поглощение энергии, что объекты нагреваются до температур выше  $1000^\circ$ . Об этом свидетельствует перекристаллизация или плавление объекта, причем часто пленка — объектодержатель — разрывается. Опасность разрыва пленки снижается с уменьшением диаметра отверстия в бленде — держателе объекта.

Взаимодействие электронов с объектом при применяемых скоростях длится около  $10^{-16}$  сек. Но и за этот короткий период времени наблюдается влияние еще одного очень важного фактора — ионизации объекта. За меру ионизации принимают количество электронов, падающих на единицу поверхности объекта за время облучения его; эта величина имеет в сверхмикроскопе порядок  $5 \cdot 10^{-4}$  кулон/см. Ряд исследований, проведенных с живыми микроорганизмами, показал, что при применяемых напряжениях в 60—80 кВ и плотностях тока в  $10^{-3}$  А/мм<sup>2</sup> критическая электронная нагрузка в некоторых случаях порядка  $3 \cdot 10^{-6}$  кулон/см, т. е. почти на два

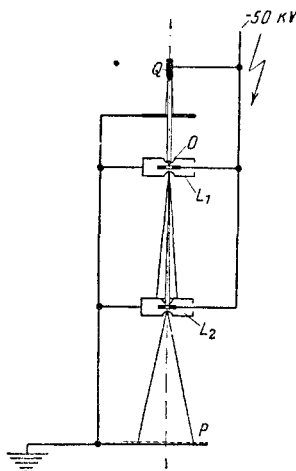


Рис. 9. Электростатический сверхмикроскоп Маля (схема)

Q — источник электронов, O — объект,  $L_1$  и  $L_2$  — линзы, P — флуоресцирующий экран (фотопластинка)

порядка величины меньше, чем в электронном микроскопе. Исходя из этого, Арденне<sup>25</sup> пришел к весьма скептическим выводам, считая, что поле деятельности сверхмикроскопа в органическом мире ограничено и подвергаться исследованию могут только те живые организмы, которые обладают высокой степенью сопротивляемости по отношению к электронной бомбардировке.

§ 5. Развитие электронной микроскопии до 1939 г. шло по линии конструирования и усовершенствования магнитных электронных линз для построения магнитных сверхмикроскопов. Возможность применения электростатических линз для тех же целей ставилась под сомнение. Считали, что, исходя из чисто принципиальных соображений геометрической оптики, построение электростатического электронного микроскопа с разрешающей способностью большей, чем обладает оптический микроскоп, представляется мало вероятным<sup>26</sup>. Однако, вопреки мнению ряда ученых создание такого микроскопа с большой разрешающей способностью оказалась все же возможным. В 1939 г. такой прибор был построен в Германии Малем<sup>27</sup>. На рис. 9 показана схема электростатического сверхмикроскопа.

Электростатический сверхмикроскоп в одном отношении представляет большее преимущество по сравнению с магнитным сверхмикроскопом. Постоянное ускоряющее напряжение, являющееся важнейшим и неизменным фактором для магнитного электронного микроскопа, в электростатическом оказывается маловажным. При подходящем выборе фокусных расстояний последние не зависят от колебания напряжения. Однако, конструирование этого прибора оказалось чрезвычайно трудным, так как нужно было создать в электростатических линзах при больших напряжениях очень сильные и короткие поля.

Электростатический сверхмикроскоп построен также по принципу двухступенчатого изображения объекта. Источником электронов служит

катод — раскаленный конец проволоки, экранированный фокусирующим цилиндром Венельта. Ускоряющее напряжение электронов составляет 50 kV. Пучок электронов концентрируется блендой с диаметром отверстия в 0,1 мм и направляется на тонкий объект, помещающийся непосредственно перед первой электростатической линзой и вращающийся как в горизонтальном, так и в вертикальном направлениях. Пластика, служащая держателем объекта, является в то же время электродом объективной линзы. С помощью этой линзы получается увеличенное действительное изображение на первом флуоресцирующем экране, лежащем вблизи второй проекционной линзы и совпадающем с первой плоскостью изображения. Часть промежуточного изображения можно направить через центральное отверстие бленды экрана и спроектировать на второй флуоресцирующий экран, либо на фотопластинку. Общее электронооптическое увеличение составляет 10 000. Покидающие объект электроны проходят через бленду объектива с диаметром отверстия в 0,1 мм, служащую в то же время электродом в объективной линзе и совпадающую с фокусом в первой ступени. Средние электроды обеих линз электрически соединены с катодом. Установка на резкость производится с помощью механических приспособлений, изменяющих расстояние объекта. Сильные электростатические поля в электрических линзах могли быть получены только после подходящего выбора материала для электродов линз (хромоникелевая сталь), формы линз и очень тщательной полировки. Соответствующая форма предохраняла от возможных искровых разрядов. Фотографии, полученные с помощью этого сверхмикроскопа, показывают предел разрешения ниже  $1,5 \cdot 10^{-2} \mu$  <sup>28, 29</sup>.

§ 6. В 1939 г. был построен в Канаде магнитный электронный сверхмикроскоп Пребусом и Гиллером <sup>30</sup>.

При построении этого микроскопа были целиком использованы все принципы сверхмикроскопа Руска. Усовершенствованный прибор <sup>31</sup> позволяет уже в настоящее время получить увеличения порядка 180 000 с пределом разрешений в  $6 \cdot 10^{-3} \mu$ .

§ 7. Развитие электронной микроскопии выдвигает вопрос о том, какие факторы ограничивают разрешающую способность сверхмикроскопа и как их можно устранить. Следует отметить, что в настоящее время этот вопрос находится в стадии полемики <sup>32</sup>. Экспериментальные и теоретические исследования выявили шесть факторов, снижающих разрешающую способность <sup>33</sup>: 1) дифракция электронов в объекте; 2) влияние пространственных зарядов на траектории электронов; 3) aberrации линзы; 4) пространственное рассеяние электронов в объекте; 5) колебания магнитного поля и 6) хроматическая aberrация.

Д и ф р а к ц и я. Значение величины дифракции может быть вычислено по формуле, получаемой из дифракционной теории оптического микроскопа (Аббе), введением в уравнение длины волны электронов по де-Броглю. Если принять равенство апертур конденсора (т. е. апертуры падающего пучка электронов) и объектива, то при ускоряющих напряжениях в 10 kV предел разрешения будет больше  $10^{-3} \mu$  только в случае значений апертуры ниже  $10^{-2}$ .

Пространственные заряды. Экспериментальные наблюдения показали, что при экспозиции в 1 сек., достаточной для получения фотосъемочного фона подходящей яркости, пространственные заряды ограничивают предел разрешения на величину, несколько меньшую, чем  $10^{-4}$   $\mu$ . Так как в связи с нежелательным увеличением электронной нагрузки на объект нет никаких оснований для увеличения времени его экспозиции<sup>34</sup>, то влиянием пространственных зарядов можно пренебречь.

Аберрации линзы. Эксперименты, проведенные с целью исследования электронооптических свойств магнитного объектива, показали, что из чисто конструктивных соображений весьма трудной является возможность получения фокусных расстояний, ниже 3 мм

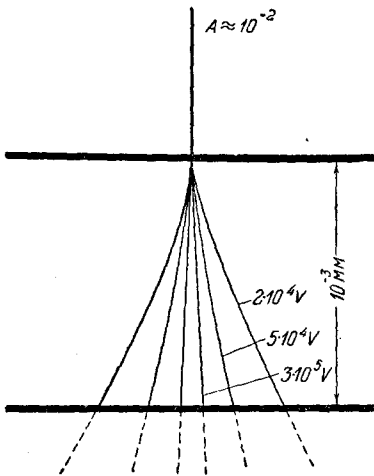


Рис. 10. Рассеяние электронов объектом, толщиной в  $10^{-3}$  мм

при ускоряющих напряжениях в пределах от 10 до 100 кВ. При этих условиях можно достигнуть предела разрешения в  $10^{-3}$   $\mu$ , если апертура не больше чем  $10^{-2}$ . Понижение предела разрешения в большой степени зависит от устранения аберраций линзы.

Пространственное рассеяние. Этот фактор сильно сказывается при исследовании органических объектов с толщиной слоя порядка 1  $\mu$ , соответствующей срезу микротом. Эксперименты показали<sup>35</sup>, что при напряжениях в 50 кВ и апертуре  $A$  падающего пучка электронов в  $10^{-2}$  проникновение электронами всего только от 10 до 20% толщины слоя значительно повышает апертуру пучка.

Следовательно, если прибор имеет предел разрешения в  $10^{-2}$ — $10^{-3}$   $\mu$ , то подобный объект может быть исследован с пределом разрешения лишь в  $10^{-1}$   $\mu$  (рис. 10). Это влияние будет еще больше в случае исследования элементов, находящихся внутри среза, как, например, внутреннее содержимое клеточных ядер. Обусловленное этим фактором повышение предела разрешения в случае таких толстых слоев объекта можно в значительной степени устранить повышением ускоряющего напряжения. Чем больше скорость электронов, тем меньше страдает резкость изображений от пространственного рассеяния электронов слоем объекта.

Колебания магнитного поля. Расчеты показывают, что предел разрешения, выраженный в миллиметрах, приблизительно равен  $1/4$  от величины колебаний поля, выраженной в гауссах. Следовательно, чтобы достигнуть предела разрешения  $10^{-3}$   $\mu$  колебания магнитного поля в наиболее чувствительной области прохождения электронного пучка должны быть не более чем  $2 - 4 \cdot 10^{-6}$  гаусс.

Достижение такого постоянства поля является весьма затруднительным условием и требует особых мер.

Хроматическая абберация обуславливается, главным образом, колебанием ускоряющего напряжения электронов и рассеянием скоростей электронов при пронизывании объекта и пленки—объектодержателя. Решающим фактором является различное рассеяние скоростей электронов при пронизывании слоя объекта. Этот вопрос всесторонне исследовался<sup>36</sup> в связи с первоначальными скоростями электронов и толщиной слоя объекта. Результаты некоторых измерений, проведенных в указанной области, могут быть выражены с помощью формулы Боте<sup>37</sup>

$$v_0^4 - v^4 = ax, \quad (1)$$

где  $v_0$  и  $v$  — соответственно скорость падающего электрона и наиболее вероятная скорость его после прохождения перпендикулярно через металлическую пленку толщиной в  $x$  см. Константа  $a$  зависит от вещества пленки и связана с атомным номером  $Z$ , плотностью  $\rho$  и атомным весом  $A$  элемента, составляющего пленку. Согласно формуле Боте

$$a = k \frac{\rho}{A} Z, \quad (2)$$

где  $k$  — постоянная.

Если скорости  $v_0$  и  $v$  превратить соответственно в ускоряющий потенциал  $E + \Delta E$  и  $E$  и если подставить в формулу значения  $a$  для Al:

$$a = 5,5 \cdot 10^{-42},$$

то формулы (1) и (2) можно привести к такому виду:

$$E \cdot \Delta E = 22,1 \cdot 10^9 \left( \rho \frac{Z}{A} \right) x. \quad (3)$$

Эти формулы были получены при исследовании пленок толщиной  $x > 10^{-4}$  мм. Таким образом, при исследовании объектов, например, тончайшего среза микротомы —  $10^{-4}$  мм, по своим атомным свойствам подобного Al, согласно формуле (3) следует ожидать рассеяния скоростей в пределах 580 V. Отсюда следует, что если объективная линза имеет предел разрешения в  $1,1 \cdot 10^{-4}$  м, то подобный объект, обуславливающий указанную величину хроматической абберации, сможет быть исследован с пределом разрешения только в  $5,4 \cdot 10^{-2}$  м. Это не многим ниже предела разрешения современного оптического микроскопа.

Оценка всех указанных факторов, ограничивающих в большей или меньшей степени разрешающую способность современного электронного микроскопа, приводит большинство исследователей к выводу, что решающей является величина хроматической абберации и только ее максимальное снижение позволит достигнуть теоретически допустимой в настоящее время разрешающей способности. Следует указать, что Руска<sup>32</sup> не вполне присоединился к этому мнению, считая, что решающей является абберация линзы.

Чтобы представить себе яснее, до каких пределов можно повысить теоретически допустимую разрешающую способность современного электронного микроскопа, мы вкратце рассмотрим механизм получения изображения<sup>38, 39, 40</sup>.

Параллельный пучок электронов, исходящих из точечного катода, концентрируется, попадая в бленду конденсора, с апертурой  $10^{-3}$ . Этот узкий пучок падает на объект, частично поглощаясь, а, главным образом, рассеиваясь, и с помощью магнитных или электростатических линз дает увеличенное изображение на флуоресцирующем экране или фотопластинке. Так как мы должны принять, что объект имеет участки разной толщины или плотности, то естественно, что от более плотных участков электроны рассеиваются под большим углом, чем от менее плотных. Значит, в первом случае в отверстие объективной бленды попадает гораздо меньше электронов, чем во втором случае. Число попадающих электронов также ограничено апертурой бленды объектива, имеющей обычно значения  $10^{-2}$ . Если апертура рассеянных электронов больше, чем апертура объектива, то они не попадают в бленду и не участвуют в создании изображения. Электроны же с апертурой, меньшей или равной  $10^{-2}$ , попадают в бленду и распределяются в плоскости изображения, также вследствие aberrации линзы, на сравнительно большем участке, и соответствующие места на флуоресцирующем экране покажутся более темными, чем их окружение. Те электроны, которые попадают на более тонкие места объекта, покидая последний, сохраняют направление, параллельное оси пучка, и первоначальное значение апертуры  $10^{-3}$ . Эти электроны благодаря малой апертуре заполняют только часть отверстия бленды объектива и образуют максимально резкие соответствующие участки в плоскости изображения. Рассеянные электроны, уловленные отверстием бленды, не обуславливают резкости изображений, а только богатство контрастов. Однако, сильное суживание отверстия бленды привело бы

только к повышению времени экспозиции объекта и еще более выраженным явлениям дифракции.

Несколько иначе представляется картина, когда объект обладает столь тонкой структурой, что уже первые боковые дифракционные максимумы его образуют заметный угол с оптической осью. Так как согласно Аббе эти дифракционные максимумы, безусловно, необходимы, чтобы две точки объекта могли быть отображены раз-

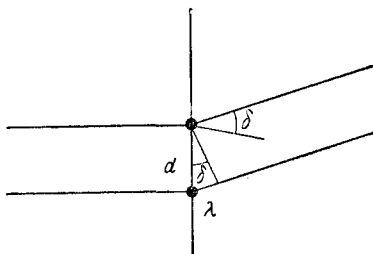


Рис. 11. Положение первого бокового дифракционного максимума

дельно, то правильный предел разрешения будет достигнут тогда, когда эти максимумы в плоскости изображения будут смещены вследствие aberrации линзы на расстояние, как раз равное расстоянию между двумя точками изображения по Гауссу. Если  $d$  — расстояние между двумя точками объекта и  $\lambda$  — длина волны электронов в пло-



скости объекта, то первый боковой максимум, как видно из рис. 11, образует с осью угол  $\delta = \frac{\lambda}{d}$ .

Как показали расчеты Ребша<sup>41</sup>, лучшие современные электронные линзы дают смещение на отрезок

$$\rho = \frac{1}{4} f V \delta^3,$$

где  $f$  — фокусное расстояние объектива и  $V$  — увеличение. Расстояние между двумя точками изображения равно по Гауссу  $Vd$ . Отсюда мы получаем значение для минимального расстояния, еще разрешимого в современном микроскопе:

$$Vd_{\min} \approx \frac{f}{4} V \delta^3 = \frac{f}{4} V \left( \frac{\lambda}{d_{\min}} \right)^3;$$

следовательно,

$$d_{\min} \approx \frac{\lambda}{\sqrt{2}} \sqrt[4]{\frac{f}{\lambda}}.$$

Если глубже проанализировать полученное выражение, то оказывается, что оно отличается от формулы Аббе для предела разрешения обычного оптического микроскопа прежде всего на фактор  $\sqrt[4]{\frac{f}{\lambda}}$ . Этот фактор для современных электронных микроскопов равен 100. Следовательно, теоретически допустимый предел разрешения электронного микроскопа не лежит вблизи значений длины волны, как это имеет место в случае оптического микроскопа, а вблизи ста длин волны. Так как применяемые напряжения приблизительно составляют 100 кВ, то электрон с энергией в 100 KeV имеет длину волны около  $4 \cdot 10^{-10}$  см, т. е.  $\frac{1}{25}$  атомного диаметра, и, значит, мы можем достигнуть предела разрешения  $\approx 4 \cdot 10^{-10} \cdot 100 = 4 \cdot 10^{-8} = 4 \text{ \AA}$ . Отсюда понятно, что в перспективе есть возможность увидеть объекты протяженностью в несколько атомных диаметров<sup>42</sup>.

§ 8. Универсальный микроскоп Арденне, построенный в 1940 г., по своей разрешающей способности превосходит и магнитный сверхмикроскоп Руска<sup>43</sup>, и электростатический сверхмикроскоп Маля<sup>28</sup>.

В основу построения этого прибора лег еще ряд новых принципов<sup>44</sup>. Конструкция прибора выполнена с таким расчетом, чтобы по выбору исследователя можно было работать как с магнитными линзами, так и с электростатическими. Это позволяет произвести сравнение не только между магнитным и электростатическим электронными микроскопами, но, главным образом, между электронооптическими свойствами отдельных линз, особенно между свойствами магнитного и электростатического объектива. Кроме того, осуществлена возможность мгновенного перехода от светлого съемочного фона к темному. И, наконец, сделаны конструктивные приспособления для получения электрономикроскопических стереоизображений. Этими особенностями универсальный микроскоп резко отличается от двух видов принципиально различных электронных микроскопов, существующих в настоящее время. На рис. 12 представлен общий вид этого прибора.

Принципиальные усовершенствования универсального сверхмикроскопа осуществлены благодаря конструктивным особенностям прибора. Любая деталь может быть изъята в вакууме из совершенно собранного прибора без необходимости нарушить все остальные части и весь прибор в целом. Можно, например, полюсные наконечники магнитных линз заменить системой электродов электростатических линз; объективную или проекционную линзу заменить другой с иными

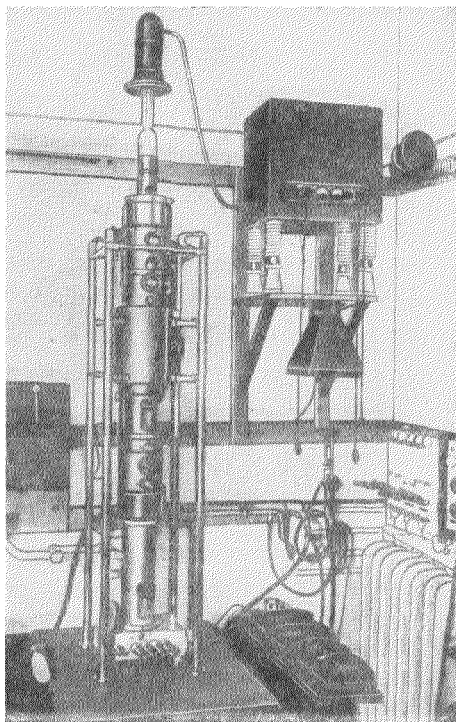


Рис. 12. Универсальный сверхмикроскоп Арденне

оптическими свойствами; бленды с данной апертурой заменить блендой с большей или меньшей апертурой. Точно так же можно легко производить смену камер объекта, флуоресцирующих экранов, фотокамер и т. д. Особо следует отметить тот факт, что центрировка и смена бленд с разной апертурой могут происходить в вакууме с помощью специальных механизмов. Это нововведение оказалось чрезвычайно целесообразным. Оно позволило впервые осуществить в вакууме переход от светлого к темному фону. Если установка на резкость производилась визуально на светлом съемочном фоне или с большими апертурами объективных бленд, то съемка объекта могла быть проведена тотчас же после быстрого переключения на темный съемочный фон или бленды с меньшими апертурами. Это облегчалось еще потому, что автором был сконструирован специальный вспомогательный прибор для установки на максимальную резкость.

Еще одной очень важной особенностью этого прибора является его полная нечувствительность к механическим сотрясениям. Это достигнуто жесткой механической связью массивных полюсных наконечников с держателем объекта на кратчайшем расстоянии друг от друга. Благодаря этому и весьма совершенной магнитной (пермалой) защите всей единой системы — объектив — камера объекта — прибор не нуждается в специальных фундаментах и может с максимальной разрешающей способностью работать в нормальном рабочем помещении.

Ускоряющие напряжения в универсальном микроскопе порядка 100 кВ. При напряжениях в 70 кВ удалось достигнуть фокусных расстояний для объективной линзы 0,9 мм, с величиной апертуры в  $3 \cdot 10^{-3}$  мм, и для проекционной линзы 1 мм. Расстояние изображения в каждой ступени составляет 65 см, так что при фокусном расстоянии в 1 мм в первой и во второй ступенях общее электрооптическое увеличение будет порядка 500 000. Разрешающая способность, достигнутая универсальным микроскопом, составляет  $30 \text{ \AA} — 3 \cdot 10^{-3} \text{ м}$ .

§ 9. Апертуры, применяемые электронным микроскопом, на три порядка величины меньше апертур оптического микроскопа. Вследствие этого глубина резкости изображений, получаемых электронным микроскопом, на такой же порядок величины больше, чем у оптического микроскопа. В электронном микроскопе можно получить изображения с равномерной резкостью даже таких объектов, которые обладают большой пространственной протяженностью.

Под глубиной резкости понимают то расстояние в миллиметрах, на которое можно сместить объект в направлении оптической оси, пока обусловленная этим потеря резкости не достигнет значений предела разрешения микроскопа. Исходя из этого определения, мы получаем

$$T = \frac{2fd}{D},$$

где  $T$  — глубина резкости,  $f$  — фокусное расстояние объектива,  $d$  — предел разрешения и  $D$  — действующий диаметр объектива.

Если относительное отверстие в универсальном электронном микроскопе составляет  $\frac{D}{f} = 3 \cdot 10^{-3}$ , а предел разрешения  $3 \cdot 10^{-6}$  мм, то возможно отобразить объекты протяженностью в направлении оптической оси, равной 2 м, с наибольшей равномерной резкостью<sup>45</sup>. Таким образом, электронный микроскоп является исключительно совершенным прибором для стереоскопии, обещающим огромные достижения в этой области. С помощью универсального электронного микроскопа впервые была осуществлена сверхстереомикроскопия, позволившая увидеть пространственное строение объекта.

Специально сконструированная в универсальном сверхмикроскопе система (объектив — камера объекта) дает возможность смещать в вакууме бленды — держатели объекта — на определенный угол (от 4 — 15°) в направлении оси прибора. Ось смещения точно совпадает с наблюдаемым сектором объекта. При этом, точно регулируя угловое смещение, можно при двух смещениях одного и того же сектора объекта получить два эквивалентных стереоскопических изображения. Последние отличаются только тем, что пронизывание этого сектора электронами происходит с двух сторон.

Сверхстереоскопия возникла в начале 1940 г. и сразу открыла перед исследователями широкие горизонты. Она позволяет увидеть все пространственное строение объекта и получить более полное представление о его структуре.

§ 10. Большая разрешающая способность универсального сверхмикроскопа позволила получить ряд очень ценных данных в области структуры катализаторов, высокомолекулярных веществ, вирусов и бактерий, диатомей и кристаллов. С помощью этого замечательного прибора удалось также увидеть отдельные молекулы.

Как известно, каталитическое действие некоторых металлов в коллоидном состоянии — платины, никеля и др. — объясняется большой степенью дисперсности частиц, а, следовательно, и увеличением и

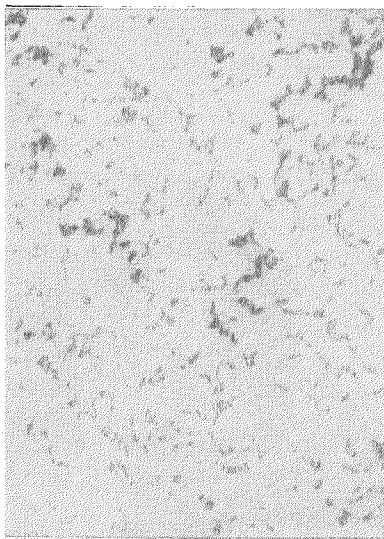


Рис. 13. Платиновый катализатор, приготовленный по методу Паала. Под влиянием защитного коллоида частицы размерами от 30 до 100 Å образуют нитеобразные наслоения. Увеличение 75 000 раз

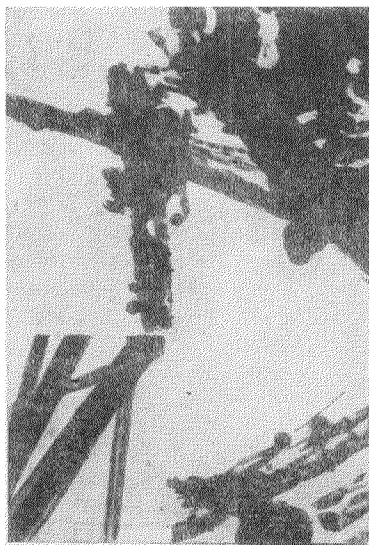


Рис. 14. Использованный палладиевый асбест. В левом углу — чистые асбестовые волокна. Увеличение 50 000 раз

общей поверхности. Электронные изображения позволили рассмотреть в золях этих металлов, приготовленных различными способами, форму частиц с размерами в некоторых случаях от 30 до 100 Å. На рис 13 показан платиновый катализатор при увеличении в 75 000 раз, с частицами в среднем 50 Å. При этом наблюдалось до сих пор неизвестное явление: отдельные частицы наслоены друг на друга, образуя скопления в виде длинных цепочек. Это явление происходит, вероятно, под влиянием защитного коллоида.

Исследования асбеста и палладиевого асбеста обнаружили замечательный факт, что асбест состоит из тончайших нитей (иногда 30 Å толщиной), легко расщепляющихся.

На рис. 14 показан использованный палладиевый асбест при каталитическом сжигании водорода в кислороде при температуре 400°. В нижнем левом углу изображены чистые асбестовые волокна без

палладия. Можно ясно видеть, что волокна асбеста после употребления стали более пушистыми (мохнатыми). Повидимому, это происходит вследствие выделения воды. Палладий откладывается на волокнах асбеста в виде кристаллических частиц размером от 70—1000 Å. Сравнение использованного палладиевого асбеста с неиспользованным, показанным на рис. 15, обнаруживает, что частицы палладия не претерпевают никаких структурных изменений. На основании этих исследований были сделаны очень важные выводы о характере и природе каталитического действия этих коллоидов<sup>46</sup>.

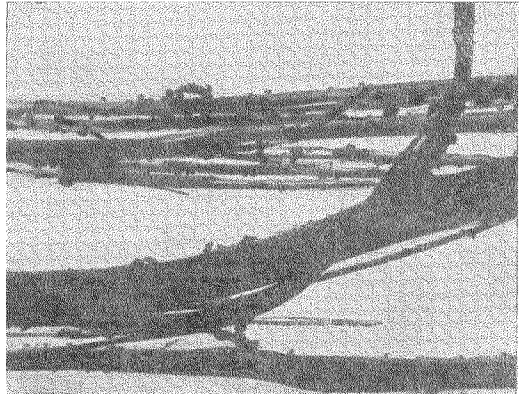


Рис. 15. Неиспользованный палладиевый асбест. Размер тончайших асбестовых волокон 30 Å. Увеличение 50 000 раз. Это электронное изображение показывает, что универсальный сверхмикроскоп дает исключительной резкости изображения и громадное поле зрения

В области изучения морфологии волокнистых веществ универсальный сверхмикроскоп явился естественным продолжением оптического. Прочность и эластичность высокомолекулярных волокнистых веществ, как, например, целлюлозы и ее производных, зависят не только от химических особенностей и размеров входящих в их состав макромолекул. Это обуславливается в значительной степени взаимным расположением отдельных нитей — молекул в первичных агрегатах (волокнах, мицеллах) и величиною этих агрегатов.

Исследование физических и химических свойств кристаллов β-полиоксиметилена имеет громадное значение для понимания строения такого

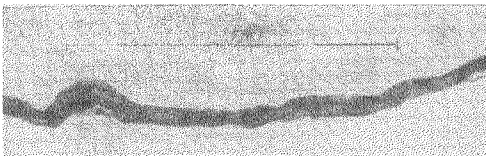


Рис. 16. Электронное изображение отдельного тончайшего волокна. Увеличение 75 000 раз

волокнистого вещества, как целлюлоза. Как показали Штаудингер и Зауер<sup>47</sup>, кристаллы β-полиоксиметилена можно механически под давлением разрушить и получить пучок расщепленных волокон. Такие отдельные волокна исследовались оптическим путем, и было установлено, что самые тонкие из видимых волокон порядка 0,2—0,6 μ. Подвергнув эти волокна еще более сильному механическому расщеплению, удалось впервые с помощью универсального сверхмикроскопа увидеть отдельные тончай-

шие из видимых волокон порядка 0,2—0,6 μ. Подвергнув эти волокна еще более сильному механическому расщеплению, удалось впервые с помощью универсального сверхмикроскопа увидеть отдельные тончай-

шие волокна — связи молекул, имеющие в диаметре от 5—10  $\mu$  (50—100  $\text{\AA}$ ). На рис. 16 показано такое отдельное волокно размером 50  $\text{\AA}$ , увеличенное в 75 000 раз. Оптический микроскоп вследствие своей малой разрешающей способности по сравнению со сверхмикроскопом мог обнаружить в данном случае только целые агрегаты таких молекулярных связей.

На рис. 17 дано оптическое изображение кристаллов  $\beta$ -полиоксиметилена, обработанных 2,5N NaOH, полученное Штаудингером и Заутером при увеличении в 840 раз. На микрофотографии видна структура этих кристаллов. Благодаря процессу периодического роста отдель-

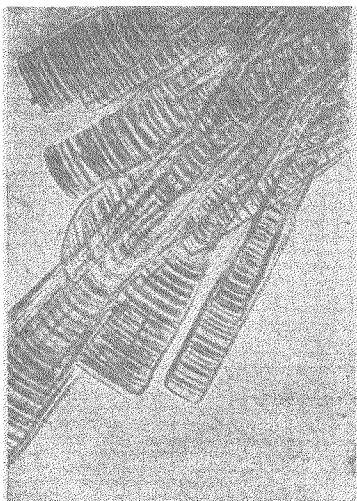


Рис. 17. Оптическое изображение кристаллов  $\beta$ -полиоксиметилена, обработанных 2,5N NaOH. Увеличение 840 раз

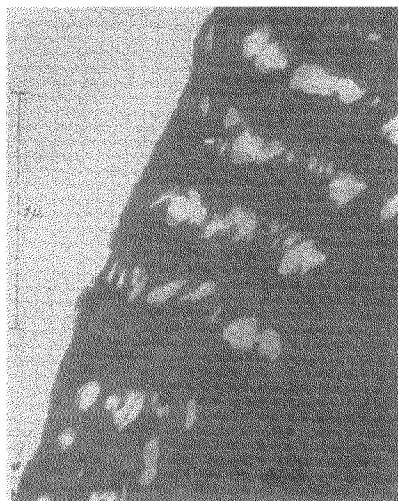


Рис. 18. Электронное изображение кристаллов  $\beta$ -полиоксиметилена, обработанных 2,5N NaOH. Увеличение 50 000 раз

ные тончайшие волокна располагаются в кристалле в виде связанных и правильно чередующихся пучков. Так как щелочь действует только на конечные OH-группы молекул гидрата полиоксиметилена, то уже и микроскопическое изображение совершенно ясно показывает поперечную полосатость, периодически располагающуюся по всей длине отдельного волокна-молекулы. Эта полосатость была Штаудингером определена оптически и составляла 0,36  $\mu$ . Однако, эти значения лежат на границе разрешающей способности оптического микроскопа, поэтому и все выводы о степени полимеризации и атомном весе (56 000) гидрата  $\beta$ -полиоксиметилена были сделаны Штаудингером условно.

Электронное изображение кристаллов  $\beta$ -полиоксиметилена, обработанных таким же образом (2,5N NaOH), показывает периодически

чередующиеся ячейки, соответствующие периодической полосатости, определенной в  $0,36 \mu$ . Так как это изображение было получено с разрешающей способностью, на два порядка величины большей, чем получил Штаудингер и при увеличении в 75 000 раз, то можно было сделать правильные выводы о степени полимеризации на основании периода травления кристалла. На рис. 18 показан край травленного кристалла  $\beta$ -полиоксиметилена. С большой резкостью видны отдельные тончайшие волокна, связывающие чередующиеся сегменты в травленном кристалле. Тончайшие волокна в этих периодических чередующихся ячейках оказались порядка  $50-100 \text{ \AA}$ . Эти значения совпадают с полученными для тончайших волокон при меха-

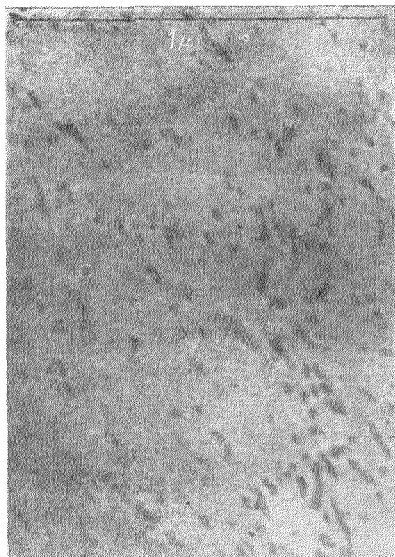


Рис. 19. Молекулы гемоцианина.  
Концентрация  $10^{-7} \text{ г/см}^3 \text{ H}_2\text{O}$ .  
Увеличение 75 000 раз

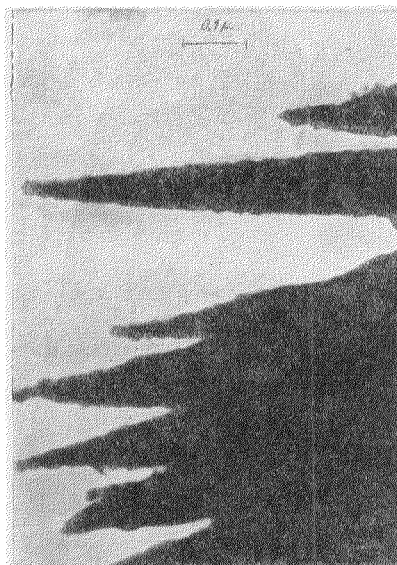


Рис. 20. Частицы шеллака, увеличенные в 100 000 раз

ническом разрушении кристаллов  $\beta$ -полиоксиметилена. Указанные исследования позволили заглянуть глубже в морфологическое строение кристаллических высокополимерных веществ и сделать ряд ценных выводов о чрезвычайно сложных процессах их роста. Отсюда можно предположить, что рост кристаллов характеризуется тем, что последние не строятся из готовых молекул, а одновременно происходит упаковка растущих молекул в связи с диаметром  $5-10 \text{ м}\mu$  и в агрегаты таких связок — волокна с диаметром  $0,2-0,6 \mu$ <sup>48</sup>.

На рис. 19 показана молекула гемоцианина — одна из самых больших однородных молекул среди вообще неизвестных белковых веществ. Электронное изображение этой молекулы при увеличении

в 75 000 раз показывает, что она приблизительно шарообразной формы и имеет в диаметре  $2 \cdot 10^{-2}$  м<sup>49</sup>.

На рис. 20 приведен снимок частиц шеллака, образующих как бы твердый скелет с находящимися в нем шарообразными молекулами

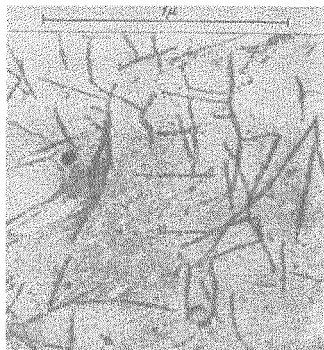


Рис. 21. Вирус томата. Единичные палочки и цепочки

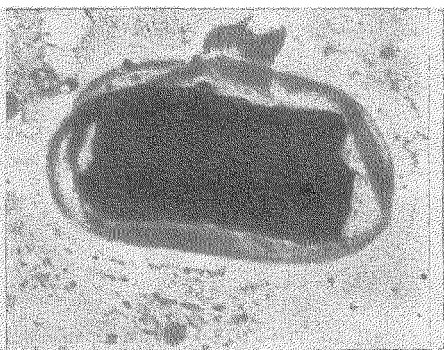


Рис. 22. Бактерия «Proteus» с оболочкой в состоянии покоя. Увеличение 73 000 раз

побочных строительных материалов. Эти круглые образования имеют в диаметре  $10^{-2}$  м.

Была получена молекулярная картина впервые изолированного томатного вируса. Электронное изображение позволило увидеть отдельные молекулы — нити, характерное свойство которых — образование скоплений в виде длинных цепочек (рис. 21). Размеры отдельных вирусных палочек хорошо совпадают с размерами, полученными другими косвенными методами. Этот препарат был приготовлен высушиванием на коллоидной пленке толщиной в  $10^{-5}$  мм одной капли, содержащей вещество вируса в концентрации  $10^{-5}$  г/см<sup>3</sup>.

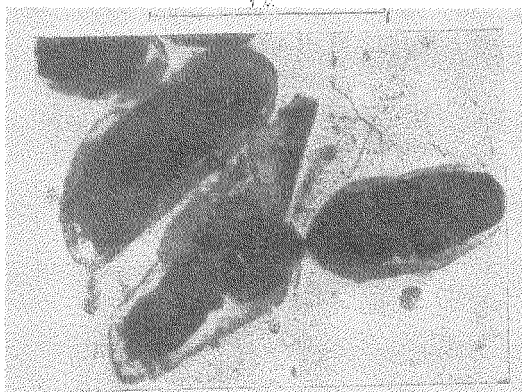


Рис. 23. Бактерии «Proteus» в момент почкования

Исследована бактерия зубной полости, известная в обычной микроскопии своим своеобразным круговым движением. Весьма оживленное движение, которое проявляет эта бактерия в жизни, надо, очевидно, приписать тем тончайшим «ресничкам», которые имеет это бактериальное тело и которые отчетливо видны на электронной микрофотографии.



Электронное изображение (рис. 22) бактерии «Proteus» (также зубной полости), полученное при увеличении в 73 000 раз, позволяет

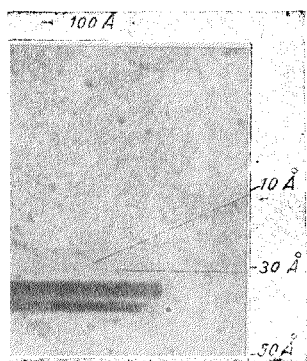


Рис. 24. Хромосомы слюнных желез. Молекулы состоят из небольшого числа атомов. Увеличение 200 000 раз



Рис. 25. Кристаллы окиси магния. Толщина кристаллической нити у вершины кристалла, отмеченной стрелкой, составляет 20 Å. Увеличение 135 000 раз

видеть оболочку вокруг тела бактерии. Следующий снимок (рис. 23) замечателен еще тем, что можно непосредственно наблюдать процесс

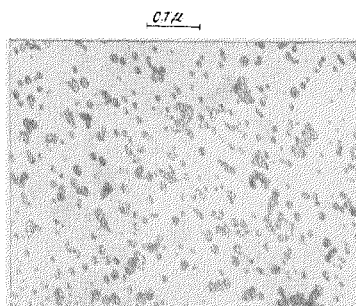


Рис. 26. Высокодисперсное коллоидальное золото

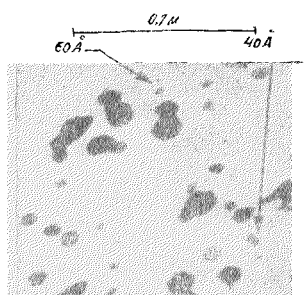


Рис. 27. Небольшая часть изображения, показанного на рис. 26. Увеличение 360 000 раз

почкования внутри обеих таких бактерий и связанное с этим своеобразное изменение структур.

На рис. 24 показаны частицы, состоящие из немногих атомов и имеющие размеры от 10—15 Å. Снимок сделан с растертого препарата хромосом *Drosophila melanogaster* (увеличение 200 000 раз).

Игольчатый кристалл, изображенный вместе с хромосомами, принадлежит уксуснокислой меди или уксуснокислому цинку, применявшимся во время приготовления препарата. Эти молекулы имеют диаметр, в 10 раз меньший, чем диаметр молекул гемоглобина.

Исследования, произведенные с кристаллами, показали целый ряд неизвестных до сих пор явлений, представляющих большой интерес. Так, например, кристаллы, полученные из дыма окиси магния, уве-



Рис. 28. Частицы сажи. Увеличение 500 000 раз

$\times 2000$

$21\mu$

личенные в 135 000 раз (рис. 25), имеют на краях «выступы», представляющие тончайшие кристаллические нити толщиной в 20 Å. Эти нити являются молекулярными цепочками с поразительно высокой сопротивляемостью разрыву.

Удалось наблюдать также коллоидные частицы высокодисперсных золей. Так, например, на рис. 26 и 27 показаны частицы золя золота с размерами в 40 Å, увеличенные в 360 000 раз.

На рис. 28 изображены частицы сажи, полученные из пламени кедрового дерева. При минимально возможных апертурах удалось достигнуть увеличения этих частиц в 500 000 раз.

Разрешающая способность универсального сверхмикроскопа в 100 раз больше современного оптического микроскопа. Там, где лучший оптический микроскоп может показать наблюдателю только один элемент объекта, сверхмикроскоп покажет вместо одного — 10 000 элементов.

Дальнейшие успехи в развитии электронного микроскопа обещают принести науке еще много интересных данных. Можно надеяться, что в близком будущем перед нами раскроются самые отдаленные уголки многообразной картины сверхмикроскопического мира.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. О первых работах по электронному микроскопу см. Успехи физич. наук, статьи: Н. Н. Малова, **13**, 367, 1933; Г. Буша, **17**, 470, 1937; Е. Брюхе, **17**, 477, 1937; О. Шерцера, **17**, 485, 1937; В. Шаффернихта, **17**, 491, 1937; Н. Д. Моргулиса, **17**, 501, 1937; Д. В. Зернова, **21**, 162, 1939.
- 1a. Н. Busch, Ann. Physik, **81**, 974, 1926.
2. E. Ruska u. M. Knoll, Ann. Physik, (**5**) **12**, 607, 641, 1932.
3. Davison and Calbick, Phys. Rev., **38**, 585, 1931.
4. Brüche u. Johannson, Naturwiss., **20**, 353, 1932.
5. Johannson u. Scherzer, Z. Physik, **80**, 183, 1933.
6. E. Ruska u. M. Knoll, Z. techn. Physik, **12**, 389, 1931.
7. E. Ruska u. M. Knoll, Z. Physik, **78**, 318, 1932.

8. E. Ruska, Z. Physik, **89**, 90, 1934.
9. E. Ruska, Z. Physik, **87**, 580, 1934.
10. Marton, Rev. optique, **14**, 129, 1935 et Bull. Acad. Roy. Belg., **20**, 92, 439, 1934.
11. Martin, Whelpton u. Parnum, J. Scient. Instrum., **14**, 14, 1937.
12. Marton, Nature, **133**, 911, 1934 и Phys. Rev., **46**, 527, 1934.
13. B. Borries u. E. Ruska, Wiss. Veröffentlich. Siemens-Werk., **17**, 99, 1937.
14. W. Eitel, H. Müller u. O. Radczewski, Ber. deut. Keram. Ges., **20**, 165, 1939.
15. O. Radczewski, H. Müller u. W. Eitel, Zentralbl. Min., Petrogr., Pal., (A), № 1, 8, 1940.
16. Friess u. H. Müller, Die Gasmasken, **11**, 1, 1939.
17. E. Ruska, Forschung. u. Fortschr., **15**, 371, 1939.
18. Wolpers u. E. Ruska, Klin. Wochenschr., **18**, 111, 1077, 1939.
19. B. Borries, E. Ruska u. H. Ruska, Wiss. Veröffentlich. Siemens-Werk., **17**, 107, 1937.
20. Frank u. E. Ruska, Naturwiss., **27**, 229, 1939.
21. Kausche, Pfankuch u. Ruska, Naturwiss., **27**, 292, 1939.
22. D. Beischer, Z. Elektroch. u. ang. physik. Chemie, **44**, 375, 1938.
23. B. Borries u. E. Ruska, Naturwiss., **27**, 577, 1939.
24. E. Ruska, Naturwiss., **27**, 287, 1939.
25. M. v. Ardenne, Z. techn. Physik, **20**, 239, 1939.
26. H. Müller, Elektrotechn. Z., **59**, 1189, 1938.
27. H. Mahl, Naturwiss., **27**, 417, 1939.
28. H. Mahl, Z. techn. Physik, **20**, 316, 1939.
29. H. Mahl, Kolloid. Z., **91**, 105, 1940.
30. A. Prebus and J. Hillier, Canad. J. Res., (A) **17**, 49, 1939.
31. Burton, J. Hillier and A. Prebus, Phys. Rev., **56**, 1171, 1939.
32. B. Borries u. E. Ruska, Z. techn. Physik, **20**, 225, 1939.
33. M. v. Ardenne, Z. Physik, **108**, 338, 1938.
34. M. v. Ardenne, Z. Physik, **111**, 152, 1938.
35. M. v. Ardenne, Z. Physik, **113**, 257, 1939.
36. J. Hillier, Canad. J. Res., (A) **17**, 64, 1939.
37. W. Bothe, Handb. d. Physik, **25**, **26**, J. Spring., Berlin, 1927.
38. B. Borries u. E. Ruska, Naturwiss., **27**, 281, 1939.
39. B. Borries u. E. Ruska, Z. techn. Physik, **19**, 402, 1938.
40. B. Borries u. E. Ruska, Z. techn. Physik, **20**, 225, 1939.
41. R. Rebsch, Ann. Physik, **31**, 551, 1938.
42. Scherzer, Z. Physik, **114**, 427, 1939.
43. B. Borries u. E. Ruska, Z. wissensch. Mikroskop., **56**, 317, 1939.
44. M. v. Ardenne, Z. Physik, **115**, 339, 1940.
45. M. v. Ardenne, Naturwiss., **28**, 248, 1940.
46. M. v. Ardenne u. Beischer, Angew. Chemie, **53**, 103, 1940.
47. H. u. M. Staudinger u. E. Sauter, Z. physik. Chem., (B) **37**, 403, 1937.
48. M. v. Ardenne u. Beischer, Z. physik. Chem., (B) **45**, 465, 1940.
49. M. v. Ardenne, Naturwiss., **28**, 113, 1940.