

12 **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

21 Anmeldenummer: **87117658.2**

51 Int. Cl.4: **G21K 7/00**

22 Anmeldetag: **28.11.87**

30 Priorität: **12.12.86 DE 3642457**

43 Veröffentlichungstag der Anmeldung:
15.06.88 Patentblatt 88/24

84 Benannte Vertragsstaaten:
BE CH DE FR GB IT LI NL SE

71 Anmelder: **Firma Carl Zeiss**

D-7920 Heidenheim (Brenz)(DE)

84 **BE CH DE FR IT LI NL SE**

71 Anmelder: **CARL ZEISS-STIFTUNG HANDELND
ALS CARL ZEISS**

D-7920 Heidenheim (Brenz)(DE)

84 **GB**

72 Erfinder: **Schmahl, Günter, Prof. Dr.**
Sertürnerstrasse 14
D-3400 Göttingen(DE)
Erfinder: **Rudolph, Dietbert, Dr.**
Bronstein 10
D-3410 Nordheim 1(DE)

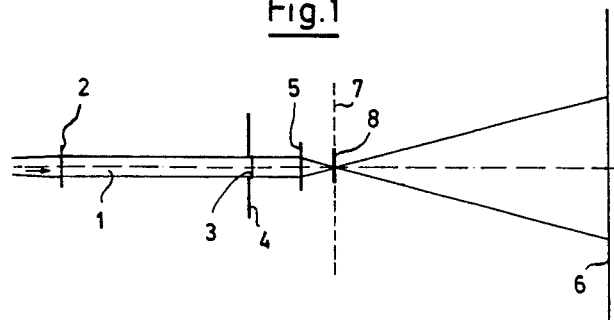
54 **Röntgen-Mikroskop.**

57 Bei einem Röntgenmikroskop wird das Objekt über einen Kondensator mit quasi monochromatischer Röntgenstrahlung kohärent oder teilkohärent beleuchtet und mittels eines hochauflösenden Röntgenobjektivs vergrößert in die Bildebene abgebildet. Um einen möglichst hohen Bildkontrast zu erreichen ist in der Fourierebene des Röntgenobjektivs ein Element angeordnet, das einer vorgewählten Beugungsordnung der Strahlung eine Phasenverschiebung erteilt. Das Element erstreckt sich über den Flächenbereich in der Fourierebene, der hier von der zu beeinflussenden abgelenkten Strahlung beaufschlagt wird.

Die Ausnutzung der Phasenverschiebung einer vorgewählten Beugungsordnung der Strahlung gegenüber der unbeeinflussten Strahlung ermöglicht es, Untersuchungen, insbesondere biologischer Strukturen mit geringer Strahlendosis durchzuführen und dennoch einen hohen Bildkontrast zu erzeugen. Außerdem wird es möglich den zu verwendeten Wellenlängenbereich der Röntgenstrahlung zu kürzeren Wellenlängen hin zu verschieben, bei denen infolge der geringen Absorption bisher

Röntgenmikroskopie nicht sinnvoll möglich war.

Fig.1



Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf ein Röntgen-Mikroskop, bei dem das Objekt über einen Kondensator mit quasi monochromatischer Röntgenstrahlung kohärent oder teilkohärent beleuchtet und mittels eines hochauflösenden Röntgenobjektivs vergrößert in die Bildebene abgebildet wird.

Solche Röntgen-Mikroskope sind beispielsweise in Teil IV des Buches "X-Ray Microscopy" von Schmahl und Rudolph, Springer-Verlag 1984 beschrieben. Auf den Seiten 192/202 dieses Buches findet sich die Beschreibung eines Röntgen-Mikroskops bei dem jedes abbildende Element, d.h. also Kondensator und Röntgenobjektiv als Zonenplatte ausgebildet ist. Eine solche Zonenplatte besteht aus einer Vielzahl von sehr dünnen Ringen, beispielsweise aus Gold, die auf eine dünne Trägerfolie (z.B. aus Polyimid) aufgebracht sind. Diese Ringe bilden ein Zirkular-Gitter mit radial ansteigender Liniendichte. Die Zonenplatten beugen die auftreffende monochromatische Röntgenstrahlung der Wellenlänge und bewirken damit eine Abbildung. Unter quasi monochromatischer Strahlung wird hier Strahlung einer gewissen Bandweite $\Delta\lambda$ verstanden, wobei im Zusammenhang mit Zonenplatten diese Bandweite gegeben ist durch die Beziehung $\lambda/\Delta\lambda \approx p \cdot m$ (p = Linienzahl, m = Nummer der noch zu erfassenden Beugungsordnung).

Bei solchen bekannten Röntgen-Mikroskopen wird der Kontrast im Bild durch photoelektrische Absorption im Objekt vermittelt, d.h. es werden Strukturen abgebildet, die eine Amplitudenmodulation der hindurchgehenden Röntgenstrahlen bewirken.

Besonders geeignet ist dabei der Wellenlängenbereich der Röntgenstrahlung, der zwischen 2.4 nm und 4.5 nm liegt, d.h. zwischen der Sauerstoff-K-Kante und der Kohlenstoff-K-Kante. Dieses Gebiet wird auch als Wasserfenster bezeichnet, da hier Wasser eine etwa zehnmal höhere Transmission hat als organische Materialien. Damit lassen sich in diesem Wellenlängenbereich

organische Materialien und damit Zellen und Zellorganellen in lebendem Zustand untersuchen.

Die bisher erreichte Auflösung in der Röntgen-Mikroskopie ist etwa um einen Faktor 10 besser als in der Lichtmikroskopie, wobei eine weitere Steigerung der röntgenmikroskopischen Auflösung um etwa eine Größenordnung noch möglich ist. Dabei wird die Grenzauflösung in der Röntgenmikroskopie von Amplitudenstrukturen durch die Strahlenbelastung der zu untersuchenden Objekte gegeben sein.

Es ist nun die Aufgabe der vorliegenden Erfindung ein Röntgenmikroskop zu schaffen, das es ermöglicht Untersuchungen, insbesondere von biologischen Strukturen mit einer Strahlendosis durchzuführen, die zu einer geringeren Strahlenbelastung der Objekte führt als die bisher üblichen Verfahren, ohne daß eine Verschlechterung des Bildkontrastes in Kauf genommen werden muß.

Diese Aufgabe wird, ausgehend von einem Röntgenmikroskop nach dem Oberbegriff des Anspruchs 1 erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß in der Fourierebene des Röntgenobjektivs ein Element angeordnet ist, das sich über den von der nullten oder einer vorwählbaren anderen Ordnung der vom Objekt abgebeugten Strahlung beaufschlagten Flächenbereich erstreckt und der hindurchgehenden Strahlung eine Phasenverschiebung erteilt.

Bei dem Röntgen-Mikroskop nach der Erfindung werden phasenschiebende Eigenschaften von Objektstrukturen zur Kontrastbildung benutzt. Das im Strahlengang angeordnete phasenschiebende Element erteilt der durch die Form des Elements vorgeählten Ordnung der vom Objekt kommenden Röntgen-Strahlung eine Phasenverschiebung gegenüber der anderen, nicht durch das Element tretenden, vom Objekt kommenden Strahlung. Die phasenverschobenen und die nicht beeinflussten Strahlungsanteile interferieren in der Bildebene und erzeugen dabei ein kontrastreiches,

vergrößertes Bild des Objekts.

Es hat sich als besonders vorteilhaft erwiesen der Röntgenstrahlung nullter Ordnung der vom Objekt kommenden Strahlung gegenüber den von den Objektstrukturen abgelenkten Ordnungen eine Phasenverschiebung von 90° zu geben. Dies kann besonders einfach geschehen, da die Strahlung nullter Ordnung in der Fourierebene des Röntgenobjektivs eine zentrale Kreisscheibe beleuchtet. Eine dazu geeignete Ausbildung des phasenschiebenden Elementes ist in den Ansprüchen 3 und 4 beschrieben.

Die Erfindung geht aus von der Erkenntnis, daß sich der Brechungsindex n eines Elements im Röntgenbereich aus zwei unterschiedlich wirkenden Größen zusammensetzt, was sich schematisch durch die Beziehung $n = 1 - \delta - i\beta$ ausdrücken läßt. Die Größe β beschreibt dabei die Absorption, die mit kürzer werdender Wellenlänge λ der Röntgen-Strahlung kleiner wird. Die Größe δ ist maßgebend für die Phasenverschiebung, die der durchgehenden Röntgenstrahlung erteilt wird. Die Größe δ variiert im allgemeinen nur sehr langsam mit der Wellenlänge. Aus diesem Grunde kann also bei Ausnutzung der Phasenverschiebung durch das Objekt eine deutliche Verbesserung des Kontrastes im Bild erreicht werden.

Es lassen sich insbesondere auch bei geringerer Strahlenbelastung des Objekts Bilder erzeugen, deren Kontrast nicht schlechter ist als bei Ausnutzung des Amplitudenkontrast bei höherer Strahlenbelastung.

Aus dieser Betrachtung ergibt sich auch der weitere wesentliche Vorteil des Röntgen-Mikroskops nach der Erfindung. Da sich die Größe δ mit der Wellenlänge λ nur wenig ändert, läßt sich bei Ausnutzung der Phasenverschiebung der Wellenlängenbereich der Röntgenstrahlung zu kürzeren Wellenlängen hin verschieben, bei denen infolge der geringen Absorption, d.h. kleinem β eine Röntgenmikroskopie wegen der geringen erreichbaren Kontraste im Bild bisher nicht sinnvoll möglich war.

Es kann unter Umständen auch möglich sein nicht die Röntgenstrahlung nullter Ordnung in der Phase zu beeinflussen, sondern höhere Ordnungen der vom Objekt abgebeugten Strahlung. Diese Ordnungen bilden in der Fourierebene des Röntgenobjektivs Ringe, so daß das phasenschiebende Element nach Anspruch 5 ausgebildet wird.

Wie die Formel für den Brechungsindex n im Röntgenbereich, nämlich $n = 1 - \delta - i\beta$ zeigt ist mit einer Phasenverschiebung stets auch eine absorbierende Wirkung verbunden. Dies gilt natürlich auch für das bei dem Röntgenmikroskop nach der Erfindung verwendete phasenschiebende Element. Deshalb kann es erforderlich werden die Intensitäten der in der Bildebene interferierenden Ordnungen der vom Objekt kommenden Strahlung einander anzugleichen. Dazu wird vorteilhaft die phasenschiebende und die absorbierende Wirkung des phasenschiebenden Elementes auf verschiedene korrespondierende Flächen in der Fourierebene des Röntgenobjektivs verteilt. Die durch diese korrespondierenden Flächen tretende Strahlung wird dabei unabhängig voneinander in Phase und Amplitude beeinflußt und zwar so, daß die Intensitäten der in der Bildebene interferierenden Ordnungen der Strahlung aneinander angeglichen sind.

Die Erfindung wird im folgenden anhand der Figuren 1-4 der beigefügten Zeichnungen näher erläutert. Im einzelnen zeigen:

- Fig. 1 ein Ausführungsbeispiel für den prinzipiellen Aufbau eines Röntgen-Mikroskops nach der Erfindung;
- Fig. 2 die Draufsicht auf eine als abbildendes Element verwendete Zonenplatte;
- Fig. 3 das im Mikroskop der Fig. 1 enthaltene phasenschiebende Element in Draufsicht;

Fig. 4 eine Draufsicht eines anderen Ausführungsbeispiels für ein phasenschiebendes Element.

In Fig. 1 ist die von einer Röntgenquelle kommende Strahlung mit (1) bezeichnet. Als Röntgenquelle kann beispielsweise ein Synchrotron oder eine andere in Teil 1 des Buches "X-Ray Microscopy" von Schmahl und Rudolph, Springer-Verlag 1984 beschriebene Quelle verwendet werden.

Die Röntgenstrahlung tritt durch einen Röntgenkondensator (2) und wird von diesem zu dem zu beobachtenden Objekt (3) geleitet, das auf einer Zentralblende (4) angeordnet ist. Die vom Objekt (3) abgebeugte Röntgenstrahlung tritt durch ein hochauflösendes Röntgenobjektiv (5) und wird von diesem in die Bildebene (6) abgebildet.

Mit (7) ist die Fourierebene des Objektivs (5) bezeichnet, in der sich die Zerlegung der durch das Objekt (3) tretenden Strahlung in harmonische Fourierkomponenten findet. In der Bildebene (6) wird diese Verteilung durch Fourier-Rücktransformation als reelles Bild wieder dargestellt.

Als abbildende Elemente (2) und (5) finden vorteilhaft Zonenplatten Verwendung, wie sie beispielsweise in Fig. 2 dargestellt sind. Diese Zonenplatte besteht aus einer Vielzahl von Ringen, die auf einer sehr dünnen Tragefolie, z.B. aus Polyimid aufgebracht sind. Die Ringe sind meist aus Gold oder Chrom und haben eine geringe Schichtdicke von ca. 0.1 μm . Die Ringe bilden ein Zirkular-Gitter mit radial ansteigender Liniendichte.

In der Fourierebene (7) des Objektivs (5) ist ein phasenschiebendes und/oder absorbierendes Element (8) angeordnet. Dieses besteht, wie Fig. 3 zeigt aus einer dünnen Trägerfolie (9), die in einem Ring (10) gefaßt ist und auf die eine dünne Schicht aus phasenschiebenden Material, beispielsweise Chrom in Form

einer zentralen Kreisscheibe (11) aufgebracht ist.

Wie aus Fig. 1 zu erkennen ist durchdringt, die vom Objekt (3) kommende Röntgenstrahlung (1) nullter Ordnung die zentrale Kreisscheibe (11). Dabei wird dieser Strahlung gegenüber den von den Objektstrukturen abgebeugten Ordnungen eine Phasenverschiebung von 90° erteilt. In der Bildebene (6) entsteht Interferenz zwischen der phasenverschobenen Strahlung und der unbeeinflussten Strahlung und damit entsteht ein kontrastreiches, vergrößertes Bild des Objektes (3), das beispielsweise direkt auf einer photoempfindlichen Schicht festgehalten werden kann.

Verwendet man zum Beispiel Röntgenstrahlung einer Wellenlänge $\lambda = 4.5 \text{ nm}$ und besteht der zentralen Kreisscheibe (11) des Elementes (8) aus einer $0.09 \text{ }\mu\text{m}$ dicken Chromschicht, so liefert eine Proteinstruktur von 10 nm Dicke in Wasser bei dem Röntgen-Mikroskop der Fig. 1 einen etwa 20 mal besseren Kontrast als die bisher übliche Abbildung im Amplitudenkontrast.

Fig. 4 zeigt ein Ausführungsbeispiel für ein zur Phasenverschiebung und/oder zur Absorption dienendes Element (8), bei dem auf der Trägerfolie (9) ein Ring (12) aus entsprechendem Material, beispielsweise Chrom angebracht ist. Dieser Ring erteilt höheren Ordnungen der vom Objekt abgebeugten Strahlung eine Phasenverschiebung. Welche Ordnung beeinflusst werden soll, wird durch den Durchmesser und die Breite des Rings (12) festgelegt.

Patentansprüche:

1. Röntgen-Mikroskop, bei dem das Objekt über einen Kondensator mit quasi monochromatischer Röntgenstrahlung kohärent oder teilkohärent beleuchtet und mittels eines hochauflösenden Röntgenobjektivs vergrößert in die Bildebene abgebildet wird, dadurch gekennzeichnet, daß in der Fourierebene (7) des Röntgenobjektivs (5) ein Element (8) angeordnet ist, das sich über den von der nullten oder einer vorwählbaren anderen Ordnung der vom Objekt (3) abgebeugten Strahlung beaufschlagten Flächenbereich erstreckt und der hindurchgehenden Strahlung eine Phasenverschiebung erteilt.
2. Röntgen-Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die phasenschiebende und die absorbierende Wirkung des Elements (8) zur Ausgleichung der Intensitäten der verschiedenen Ordnungen, unabhängig voneinander auf die verschiedenen korrespondierenden Flächen in der Fourierebene (7) des Röntgenobjektivs (5) verteilt ist.
3. Röntgen-Mikroskop nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Element (8) aus einer in Form einer zentralen Kreisscheibe (11) auf einer Trägerfolie (9) aufbrachten Schicht einer solchen Dicke besteht, daß die hindurchtretende Röntgenstrahlung nullter Ordnung eine Phasenverschiebung von 90° und eine gegebenenfalls amplitudenanpassende Absorption erhält.
4. Röntgen-Mikroskop nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Zentralkreis (11) des Elementes (8) bei einer Röntgen-Wellenlänge $\lambda = 4.5 \text{ nm}$ aus einer $0.09 \mu\text{m}$ dicken Chromschicht besteht.
5. Röntgen-Mikroskop nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Element (8) aus einer ringförmigen Schicht (12) besteht, die der vom Objekt (3) abgebeugten Strahlung nter Ordnung ($|n| \geq 1$) eine Phasenverschiebung und gegebenen-

falls eine amplitudenanpaßende Absorption erteilt.

Fig.1

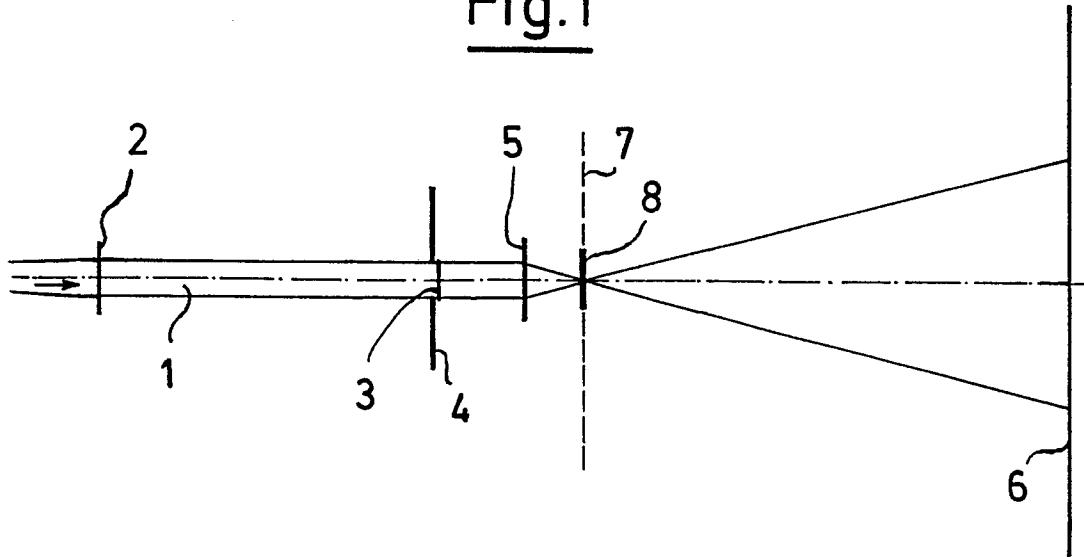


Fig.2

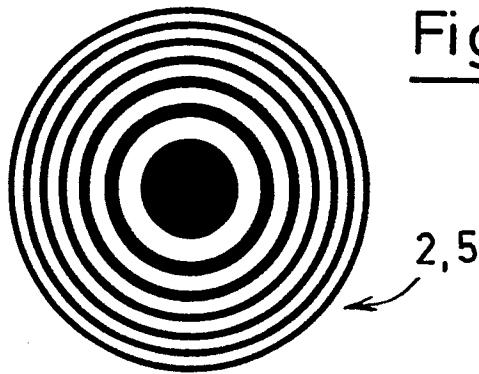


Fig.3

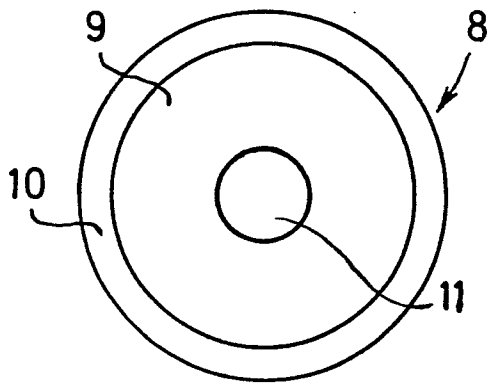


Fig.4

