

# Elektronentomographie – von einer statischen 3D- zu einer dynamischen 4D-Methode

Dang Sheng Su\*

Dynamik · Elektronenmikroskopie · Elektronentomographie · Nanomaterialien · Stroboskopie

**W**ir Menschen sind es gewohnt, unsere Umgebung in drei Dimensionen zu sehen – unsere Wahrnehmung ist auf eine dreidimensionale (3D) Welt ausgerichtet. Im realen Leben ist die Zeit, die vierte Dimension, unsichtbar, aber ein stetiger Begleiter. Die vierdimensionale (4D) Wahrnehmung und Erfahrung ist allgegenwärtig in unserem täglichen Leben, scheinbar jedoch nicht überall in Physik, Chemie und Biologie – und im Besonderen nicht bei Abläufen im Nanometer- und Millisekundenbereich. Hier benötigen wir eine besondere technische Ausstattung zur Beobachtung und Aufzeichnung. Die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) ist ohne Zweifel eine der beiden leistungsstärksten Methoden zur Abbildung von Nanostrukturen mit einer Auflösung unter 0.1 nm, sie liefert jedoch nur zweidimensionale (2D) Mikrophotographien der untersuchten Objekte (Biomoleküle, Viren, anorganische Materialien). Die dritte Dimension entlang der Projektionsachse geht ebenso verloren wie jegliche zeit-aufgelöste Information im Submillisekundenbereich.

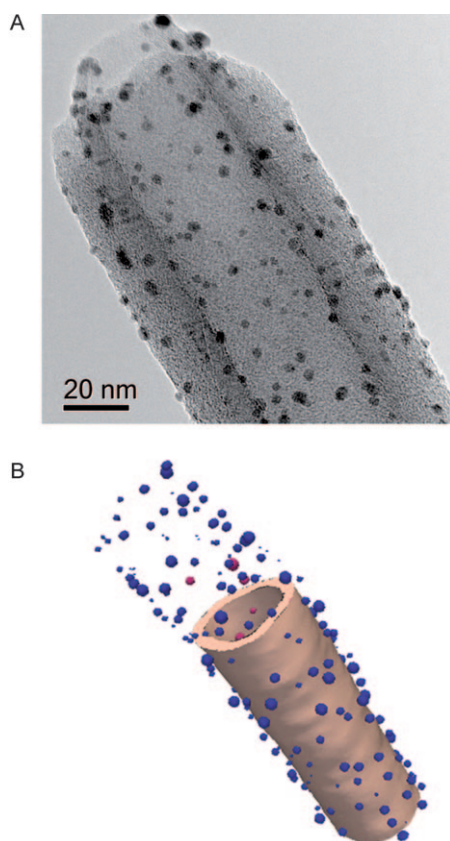
Der Ansatz, ausgehend von 2D-TEM-Mikrophotographien wieder 3D-Ansichten zu erstellen, wurde zunächst von Biologen, Biophysikern und Biochemikern verfolgt. Schon in den 1960er Jahren rekonstruierten Klug et al. hoch symmetrische 3D-Biostrukturen aus einer oder mehreren Projektionen,<sup>[1]</sup> während Hoppe et al. auch eine unsymmetrische Proteinstruktur entschlüsseln konnten.<sup>[2]</sup> Hart klärte im Jahr 1968 die 3D-Struktur des Tabakmosaikvirus anhand einer Reihe von TEM-Abbildungen mit verschiedenen Neigungswinkeln („Neigungsserie“) mit einer Auflösung von 0.3 nm auf.<sup>[3]</sup> Für komplett unsymmetrische Objekte entwickelten Gordon et al. eine algebraische Rekonstruktionstechnik (ART).<sup>[4]</sup> Zahlreiche theoretische Verfeinerungen folgten, z. B. die Bildrekonstruktion von Zwick und Zeitler,<sup>[5]</sup> sowie die Rekonstruktion mithilfe orthogonaler Funktionen von Zeitler.<sup>[6]</sup> Während die 3D-Elektronentomographie somit als fester Bestandteil der biologischen Forschung etabliert war,<sup>[7]</sup> strahlte die Wirkung seitdem auch auf andere Forschungs-

bereiche aus.<sup>[8]</sup> Eine starke Triebkraft war und ist die zügige Entwicklung der Nanowissenschaften und insbesondere auch der Katalyse,<sup>[8,9]</sup> wo die 3D-Morphologie von Nanostrukturen und z. B. die räumliche Verteilung von Nanopartikeln auf Trägern immens zum Verständnis bestimmter physikalischer Eigenschaften beitragen. Dies ermöglicht das Design bestimmter Strukturen und Eigenschaften. Die Entwicklung der Elektronenmikroskopie, und hier insbesondere die Verfügbarkeit großflächiger CCD-Kameras, die Automatisierung der Mikroskope und schließlich die Steigerung der Rechenleistung von Computern, gewährleistet den notwendigen Stand der Technik für die hochauflösende Elektronentomographie mit einem breiten Anwendungsfeld.<sup>[10]</sup> Staunend blicken wir zurück auf Hart, der seinerzeit lediglich 12 neigungsveränderte Abbildungen zur 3D-Rekonstruktion zur Verfügung hatte.<sup>[3]</sup>

Kohlenstoff-Nanoröhren (CNTs) mit bestimmten Ausmaßen und Strukturen können Materialien in ihrem Inneren aufnehmen, was besondere Eigenschaften hervorrufen kann („confinement effect“).<sup>[11]</sup> Die gezielte Platzierung von Metallpartikeln im Inneren der CNTs ist schon anspruchsvoll genug,<sup>[12]</sup> eine noch größere Herausforderung ist allerdings die anschließende Charakterisierung, ob die Partikel tatsächlich im Inneren oder auf der äußeren Oberfläche der CNTs abgeschieden wurden. Eine einfache 2D-Elektronenmikrographie hilft hier nicht weiter; die 3D-Information in Richtung des Elektronenstrahls ist verloren (Abbildung 1 A). Dennoch kann ein 3D-Tomogramm, das die räumliche Verteilung der Metallpartikel wiedergibt, aus einer Neigungsserie von 2D-Projektionen rekonstruiert werden (Abbildung 1 B).<sup>[13]</sup>

So weit so gut – allerdings zeigen Mikrophotographie und Tomogramm in Abbildung 1 (ebenso wie alle anderen bis hier zitierten Studien) ein statisches Objekt und somit einen zeitlich gemittelten Gleichgewichtszustand der Struktur. Jegliche Dynamik, z. B. Dehnungsbewegungen der CNT-Träger oder transiente Prozesse der Partikel, wenn vorhanden, können in derartigen Experimenten nicht abgebildet werden. In einem kürzlich in *Science* publizierten Beitrag realisierten Zewail et al. erstmals die 4D-Elektronentomographie.<sup>[14]</sup> Die Integration der Zeit als vierte Dimension ermöglicht die Visualisierung dynamischer Abläufe in einem nanoskaligen Ortsraum und in Echtzeit. Dies erfordert die Aufnahme einer Neigungsserie von 2D-Projektionen eines Objekts (wie bei der üblichen 3D-Tomographie) innerhalb

[\*] Dr. D. S. Su  
Institute of Metal Research, Chinese Academy of Sciences  
72 Wenhua Road, 110016 Shenyang (Volksrepublik China)  
und  
Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft  
Faradayweg 4–6, 14195 Berlin (Deutschland)  
Fax: (+49) 308-413-4401  
E-Mail: dangsheng@fhi-berlin.mpg.de



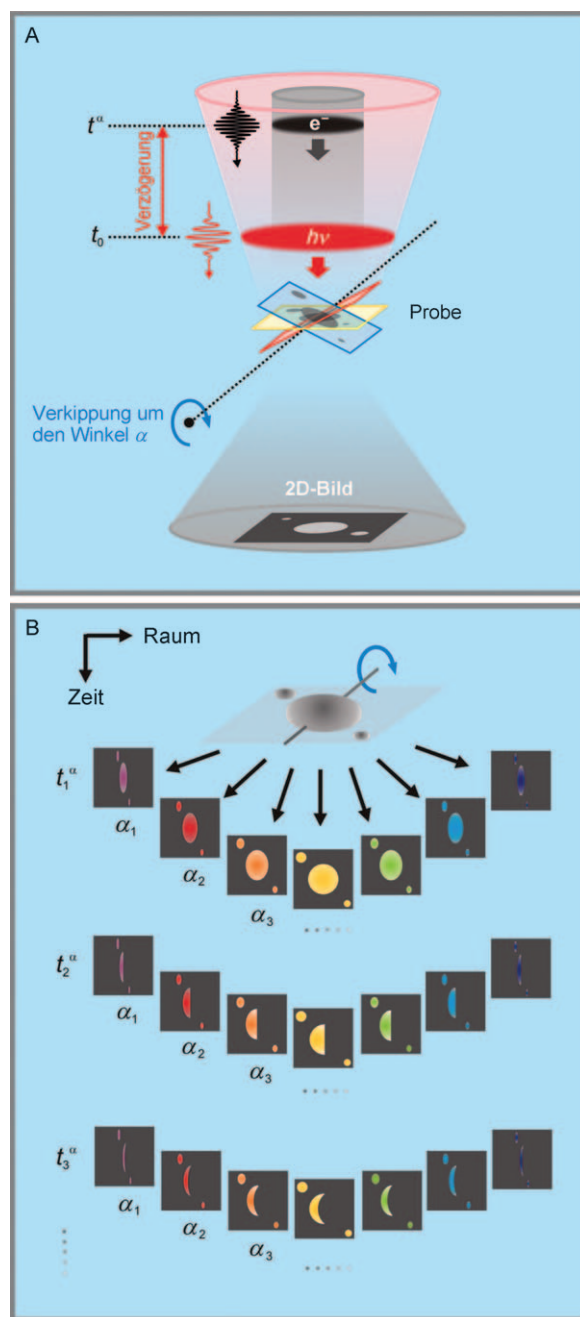
**Abbildung 1.** A) 2D-TEM-Abbildung einer Kohlenstoff-Nanoröhre (CNT) mit Nickel-Nanopartikeln. Informationen zur Lage der Partikel inner- oder außerhalb der CNT sind der Projektion nicht zu entnehmen. B) Rekonstruiertes Tomogramm aus einer Neigungsserie. Rosa: CNT; rot: Ni-Partikel innerhalb der CNT; blau: Ni-Partikel auf der äußeren Oberfläche. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [13].

eines definierten Zeitintervalls mit einer zeitlichen Auflösung, die groß genug ist, um transiente Abläufe am Objekt zu erfassen. Die rekonstruierten 3D-Tomogramme als Funktion der Zeit ergeben dann schließlich das 4D-Tomogramm. Die wissenschaftliche Bedeutung dieser Arbeit liegt in der Kombination aus hoher räumlicher Auflösung eines üblichen Elektronenmikroskops und zeitlicher Auflösung zur Verfolgung von Prozessen auf der Ebene einzelner Atome.<sup>[15]</sup>

Da die herkömmliche TEM keine zeitliche Auflösung unterhalb des Millisekundenbereichs ermöglicht, haben Ze-wail et al. die ultraschnelle Elektronenmikroskopie (UEM) durch Kombination eines modifizierten Elektronenmikroskops mit einem ultraschnellen Laser erreicht.<sup>[16]</sup> Das Prinzip beruht auf zeitlich definierten, kohärenten Paketen einzelner Elektronen (oder Elektronenpulsen), die im Femtosekundenabstand freigesetzt werden.<sup>[17]</sup> Diese neuartige UEM wurde bereits erfolgreich bei der zeitauflösenden Abbildung und Beugung<sup>[18]</sup> sowie bei der zeitauflösenden Elektronenenergieverlust/-gewinn-Spektroskopie angewendet.<sup>[19]</sup>

Für die 4D-Elektronentomographie wird die zeitliche Dimension somit in die Einzeltomogramme eingefügt, die jeweils eine komplette Neigungsserie umfassen. Diese Abbildungen im Ortsraum und in Echtzeit werden stroboskopisch mit kohärenten Paketen einzelner Elektronen erhalten.

Wie in Abbildung 2A dargestellt, wird die Probe im neigungsverstellbaren Probenhalter eines UEM fixiert, um die Serie von 2D-Projektionen des Objekts in einer vorgegebenen Zeit zu messen. Je nach der Zeitskala der zu beobachtenden Abläufe werden die Aufnahmen für die einzelnen



**Abbildung 2.** A) Konzept der zeitauflösenden 4D-Elektronentomographie. Die Heizpulse (als Taktgeber bei  $t_0$ ) bewirken eine Strukturänderung, während die zeitversetzten Elektronenpulse die Struktur (bei  $t^\alpha$ ) unter dem gegebenen Neigungswinkel  $\alpha$  abbilden. B) Für jeden Heizpuls wird ein Tomogramm aus der entsprechenden Neigungsserie erstellt. In dieser Arbeit wurde  $\alpha$  im Bereich von  $-58$  bis  $+58^\circ$  in  $1^\circ$ -Schritten variiert. Die Zeitskala reicht vom Mikro- bis in den Femtosekundenbereich. Fast 4000 Einzelaufnahmen ermöglichen die Betrachtung der zeitlichen Änderung in der Form einer Filmsequenz. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [14]. Copyright 2010, AAAS.

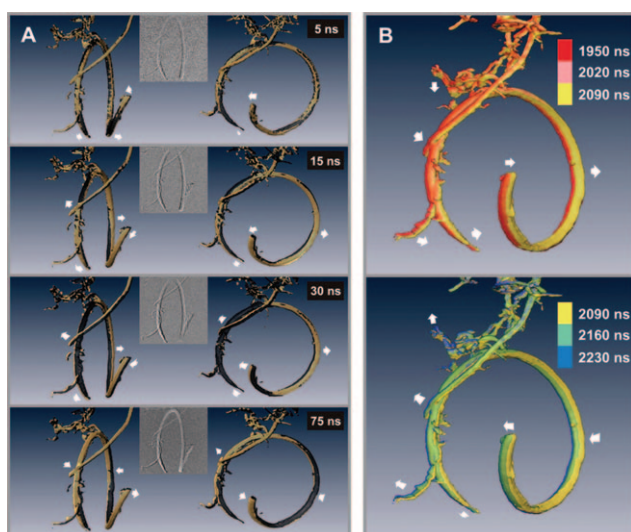
Neigungswinkel mit Zeitintervallen im Femto- bis in den Nanosekundenbereich gemacht. Abbildung 2B zeigt die Konstruktion der Tomogramme aus den einzelnen 2D-Projektionen bei verschiedenen Winkeln und Zeiten. Die Berücksichtigung der Zeitskala resultiert in einer Erhöhung der Dimensionalität. Somit wird eine zu einem bestimmten Zeitpunkt aufgenommene 2D-Projektion zu einem 3D-Einzelbild, und ein aus den entsprechenden 2D-Projektionen konstruiertes 3D-Tomogramm stellt ein 4D-Einzelbild dar.

Die 4D-Elektronentomographie ermöglicht die Zusammenstellung von Filmsequenzen, welche die Objekte in Bewegung zeigen und somit eine Untersuchung von Strukturen außerhalb des Gleichgewichts und transienten Strukturänderungen. Die neuartige Methode wurde anhand einer spiralförmigen CNT vorgeführt, wobei die 4D-Tomographie verschiedene Bewegungsmodi – etwa eine „Atmungs“- oder „Wackel“-Bewegung – mit Resonanzfrequenzen bis 30 MHz aufzeigte (Abbildung 3). Die mechanische und morphologi-

licht die Untersuchung transientser Zustände von Materialien sowie dynamischer Strukturänderungen in großen molekularen Objekten und biologischen Systemen unter kontrollierten Bedingungen. Der Einsatz der 4D-Elektronentomographie an katalytisch aktiven Materialien unter niedrigen Drücken reaktiver Gase würde einen Einblick in die strukturelle Dynamik katalytischer Prozesse unter den Reaktionsbedingungen gewährleisten. Eine 4D-Visualisierung des Verhaltens von nanostrukturierten Katalysatoren während der Reaktion könnte zu bahnbrechenden Erkenntnissen und Entdeckungen in Katalyse, Chemie und Nanowissenschaften führen.

Eingegangen am 27. Juli 2010

Online veröffentlicht am 8. Oktober 2010



**Abbildung 3.** 4D-tomographische Darstellung der Bewegung einer CNT. A) Repräsentative 3D-Momentaufnahmen der CNT nach relativ kurzer Zeit. Jede in 3D wiedergegebene Struktur wird aus zwei verschiedenen Winkeln gezeigt. Ein Bezugsvolumen ( $t=0$  ns, schwarz) ist in jede Abbildung eingefügt, um die Abweichung vom Anfangszustand hervorzuheben. Pfeile in den Abbildungen zeigen in die Bewegungsrichtung. B) Visualisierung der Strukturen zu späteren Zeitpunkten. Die zeitliche Entwicklung der Bewegungsabläufe ist mit unterschiedlichen Farben kenntlich gemacht. Die „Wackel“-Bewegung des CNT-Rings ist mit Pfeilen gekennzeichnet. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [14]. Copyright 2010, AAAS.

sche Dynamik von MWCNT kann mithilfe von 4D-Tomographie bestimmt werden, indem die Frequenzänderung verschiedener Resonanzen, induziert durch Laserimpuls-Heizen, untersucht wird.

Die neu entwickelte 4D-Tomographie kann dynamische Abläufe auf der Nanometerebene visualisieren. Sie ermög-

- [1] a) D. J. De Rosier, A. Klug, *Nature* **1968**, 217, 130–134; b) R. A. Crowther, L. A. Amos, J. T. Finch, D. J. Derosier, A. Klug, *Nature* **1970**, 226, 421–425.
- [2] W. Hoppe, R. Langer, G. Knesch, C. Poppe, *Naturwissenschaften* **1968**, 55, 333–336.
- [3] R. G. Hart, *Science* **1968**, 159, 1464–1467.
- [4] R. Gordon, R. Bender, G. T. Herman, *J. Theor. Biol.* **1970**, 29, 471–481.
- [5] a) M. Zwick, E. Zeitler, *Optik* **1973**, 38, 550–565; b) E. Zeitler, *Optik* **1974**, 39, 396–415.
- [6] E. Zeitler in *Electron Tomography* (Hrsg.: J. Frank), Plenum, New York, **1992**, S. 63.
- [7] a) A. J. Koster, R. Grimm, D. Typke, R. Hegerl, A. Stoschek, J. Walz, W. Baumeister, *J. Struct. Biol.* **1997**, 120, 276–308; b) V. Lucic, F. Forster, W. Baumeister, *Annu. Rev. Biochem.* **2005**, 74, 833–865; c) R. McIntosh, D. Nicastro, D. Mastrorade, *Trends Cell Biol.* **2005**, 15, 43–51.
- [8] J. M. Thomas, P. A. Midgley, *ChemCatChem* **2010**, 2, 783–798.
- [9] G. Mobus, B. J. Inkson, *Mater. Today* **2007**, 10, 18–25.
- [10] a) H. Friedrich, P. E. de Jongh, A. J. Verkleij, K. P. de Jong, *Chem. Rev.* **2009**, 109, 1613–1629; b) P. A. Midgley, E. P. W. Ward, A. B. Hungria, J. M. Thomas, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, 36, 1477–1494.
- [11] a) X. L. Pan, Z. L. Fan, W. Chen, Y. J. Ding, H. Y. Luo, X. H. Bao, *Nat. Mater.* **2007**, 6, 507–511; b) X. L. Pan, X. H. Bao, *Chem. Commun.* **2008**, 6271–6281.
- [12] E. Castillejos, P. J. Deboutiere, L. Roiban, A. Solhy, V. Martinez, Y. Kihn, O. Ersen, K. Philippot, B. Chaudret, P. Serp, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 2567–2571; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 2529–2533.
- [13] J. P. Tessonnier, O. Ersen, G. Weinberg, C. Pham-Huu, D. S. Su, R. Schlögl, *ACS Nano* **2009**, 3, 2081–2089.
- [14] O. H. Kwon, A. H. Zewail, *Science* **2010**, 328, 1668–1673.
- [15] A. H. Zewail, *Science* **2010**, 328, 187–193.
- [16] A. H. Zewail, J. M. Thomas, *4D Electron Microscopy*, Imperial College Press, London, **2010**.
- [17] a) B. Barwick, H. S. Park, O. H. Kwon, J. S. Baskin, A. H. Zewail, *Science* **2008**, 322, 1227–1231; b) F. Carbone, O. H. Kwon, A. H. Zewail, *Science* **2009**, 325, 181–184.
- [18] P. Baum, A. H. Zewail, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, 104, 18409–18414.
- [19] B. Barwick, D. J. Flannigan, A. H. Zewail, *Nature* **2009**, 462, 902–906.