

测定微小晶体结构的电子晶体学图像处理技术^{* 1)}

李方华[†]

(中国科学院物理研究所 北京凝聚态物理国家实验室 北京 100080)

摘要 介绍了2005年国家自然科学奖二等奖获奖项目“微小晶体结构测定的电子晶体学研究”。研究目的是建立一种借助高分辨电子显微像测定晶体结构的新方法。为此提出了高分辨电子显微学与衍射晶体学相结合的思想,在实现此思想的过程中,研究了像衬的规律,得出实用的像衬公式和理论,阐明了不同种类原子像衬与晶体厚度的关系,而且用理论指导实验,观察到晶体中锂原子的像衬。以此理论为依据,把衍射晶体学中的多种分析方法特色是直接法引入到高分辨电子显微学中,建立了一套全新的电子晶体学图像处理技术,开发了相应的可视化专用软件包,并应用于测定多个未知晶体结构。文中逐一介绍了研究工作全过程的关键问题和研究结果。

关键词 电子晶体学,晶体结构,电子衍射,高分辨电子显微学,图像处理,像衬理论,直接法,最大熵

Electron crystallographic image processing techniques of structure determination for minute crystals

LI Fang-Hua[†]

(Institute of Physics, Beijing National Laboratory of Condensed Matter Physics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

Abstract The project “Electron crystallography study on the structure determination of minute crystals” that won a Second Class National Natural Science Award in 2005 is described. The aim of the research was to set up a new method of crystal structure determination by means of high-resolution electron microscope images. For this purpose an idea to combine high-resolution electron microscopy and diffraction crystallography was proposed. To realize this idea the principles of image contrast were investigated, a practical equation of image intensity was derived and the corresponding image contrast theory developed. The variation of image contrast with crystal thickness for different kinds of atoms was elucidated. This led to the successful observation of the image contrast of lithium atoms. Based on this theory various analysis methods developed in diffraction crystallography were introduced into high-resolution electron microscopy, and a completely new technique named electron crystallographic image processing was established. This technique has been utilized to determine the structure of several new crystals, and a corresponding special visualized software package has been developed. An overview of the key points and results obtained in the project are presented.

Keywords electron crystallography, crystal structure, electron diffraction, high-resolution electron microscopy, image processing, image contrast theory, direct methods, maximum entropy

1 引言

本文的微小晶体指尺寸小于 $1\mu\text{m}$,不适于借助X射线单晶体衍射分析方法测定其结构的晶体。电子晶体学是借助电子射线与晶体的相互作用研究晶体结构的科学。1927年发现电子衍射现象之后,电子衍射结构分析逐渐发展成为研究物质结构的重要

* 国家自然科学基金(批准号:18874064,19274063,19574073,19674072)资助项目、国家自然科学基金重点基金(批准号:19634020)资助项目、中国科学院重点基金资助项目、国家重点基础研究发展计划资助项目

1) 本项研究工作持续20余年,做出重要贡献的人员有李方华、范海福、方正华、胡建军、汤栋、黄达祥、王怀斌、郑朝德、蒋华、刘骏、陆斌、杨世新等共31人

[†] Email: lifh@aphy.iph.ac.cn

手段之一. 上世纪 70 年代初期, 报道了能直接观测晶体中原子团的高分辨电子显微像, 从而开辟了一种测定晶体结构的新途径, 它建立在直接观察的实验基础上, 截然不同于衍射方法.

然而, 并非每一幅高分辨电子显微像(以下简称像或高分辨像)均直接反映被观察晶体的结构, 仅当试样很薄(通常厚度小于 10 nm), 且拍摄于特定的物镜聚焦条件的像才直接反映晶体结构, 这种像称结构象. 30 多年来, 人们习惯用尝试法(又称模型法)借助像测定晶体结构. 为此首先选试样的某个薄区拍摄一系列不同聚焦条件的像, 从中挑选出结构象, 参照结构象构建一个或多个可能的晶体结构模型, 针对每个模型计算一系列不同聚焦条件和不同试样厚度的模拟像, 再逐一比较每个系列的模拟像与实验像, 以确定正确的结构模型. 显然, 此法要求试样较耐辐照, 否则难以拍摄一系列像, 同时需事先具备初步的结构信息, 作为挑选结构象的依据. 而且, 结构象的分辨率受电子显微镜(以下简称电镜)分辨本领所限, 在像上往往不能区分全部原子, 如只见金属氧化物中的金属原子, 看不见氧原子. 因此, 若建立一种新的测定晶体结构方法, 克服尝试法的局限性, 必将拓宽高分辨电子显微学的应用范围.

在高分辨电镜中, 电子衍射花样和像分别形成于物镜的后焦面和像面, 二者在数学上互为傅里叶变换, 在携带的结构信息上互相补充. 从像的傅里叶变换能得到衍射波, 包括波的振幅和相位, 波的数目取决于像的分辨率. 衍射花样只含衍射波振幅, 没有波相位信息, 可是所含衍射波的数目较多. 图 1 给出傅里叶空间(即衍射晶体学的倒易空间)的两个同心圆, 小圆半径对应于像分辨率(等于像分辨率的倒数), 大圆半径对应于衍射分辨极限. 像所携带的结构信息分布在小圆之内, 衍射花样的信息分布在大圆之内. 对于 200 kV 的电镜, 像分辨率超不过 0.2 nm, 而衍射分辨极限可达 0.1 nm 或更小, 于是对应于衍射花样与对应于像的衍射波数目之比约为 4:1. 不难理解, 基于衍射花样与像所携带结构信息的互补性, 把衍射数据补充到像中有可能提高像的分辨率, 其中缺失的高散射角波相位可望借助 X 射线衍射结构分析中的相位扩展技术而求得. 此外, 值得尝试利用衍射结构分析的技巧, 把任意一幅不直接反映晶体结构的像转换为晶体的结构图像.

于是, 欲克服传统尝试法的局限性, 新建立的结构测定方法应同时利用衍射花样与像所携带的结构信息, 并引用衍射晶体学的分析方法^[1,2]. 换言之,

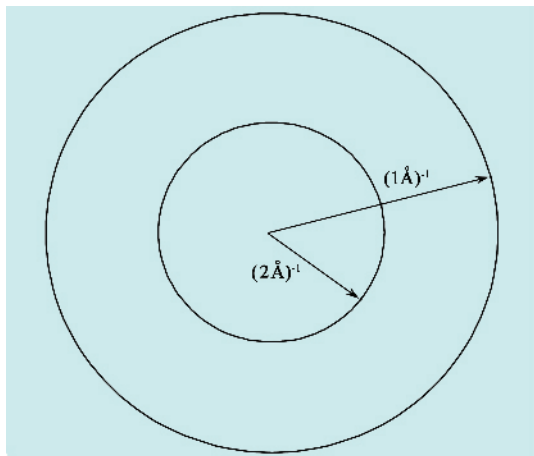


图 1 像和衍射花样所携带结构信息互补的示意图. 两个同心圆位于傅里叶空间(即倒易空间)

新方法应建立在衍射晶体学与电子显微学相结合的基础上, 在性质上应属于电子晶体学的图像处理.

衍射晶体学的各种结构分析方法是针对 X 射线衍射建立的, 适用于运动学衍射的情况, 不考虑入射波与衍射波之间以及各衍射波之间的相互作用. 而电子衍射的动力学性质不可忽略, 如何把电子衍射强度合理地纳入衍射晶体学的结构分析中是需要解决的关键问题之一. 上述“从像的傅里叶变换能得到衍射波”的说法对应于高分辨电子显微学中最简单的像衬理论, 被称为弱相位物体近似. 此理论只适用于极薄的晶体, 即弱相位物体, 认为电子与物体作用之后, 仅波相位发生微弱变化, 波振幅的变化可忽略不计. 然而, 用于拍摄像的实际晶体较厚, 不可能为弱相位物体. 另一方面, 严格的像衬理论又不能给出像衬与晶体结构之间的解析表达式, 不便于实际应用. 于是, 建立一个适合于实际晶体厚度且实用的像衬理论是另一个需要解决的关键问题.

然而, 在解决像衬理论和动力学电子衍射两个关键问题之前, 有必要先考察理想的薄晶体(弱相位物体)和理想的衍射条件(运动学衍射)下, 衍射晶体学与高分辨电子显微学相结合的效果. 为此需首先建立有关算法, 并借助一个理想晶体的计算像(称模拟像)和计算电子衍射强度, 来检验所提科学思想的正确性和方法的可行性. 于是, 从衍射晶体学与高分辨电子显微学两个分支学科相交叉的构思开始, 以理想条件下的电子晶体学图像处理研究作为序曲, 陆续展开整个研究项目的各个篇章. 横向上解决二者相交叉的存在问题和开发相应的软件, 纵向上不断完善图像处理的方法, 并应用于未知晶体结构的测定.

本文下面的第 2 至 6 节介绍了这一项目的主要研究内容和结果.

2 理想条件下的电子晶体学二步图像处理技术

为克服前人方法的局限性,并使像能显示全部原子,上世纪 70 年代,本项目提出两个思想(1)把电子衍射花样与像相结合,以提高像分辨率^[1](2)引用 X 射线衍射分析中的 Sayre 方程,把一幅任意聚焦条件的像转换为晶体的结构图像^[2].因为轻原子组成的薄晶体较接近弱相位物体,1985 年选择主要由碳、氮、氧原子组成的有机晶体氯代酞菁铜(分子模型见图 2(a))进行试验,把直接法相位扩展技术应用到极薄晶体的模拟像,结合相应的计算电子衍射强度对像作图像处理,证明能实现第一个思想,能使像的分辨率从 0.2 nm 提高至 0.1 nm^[3].1986 年,建立了借助 X 衍射分析中的 Sayre 方程进行解卷处理的算法,仍用氯代酞菁铜晶体的弱相位物体模拟像进行试验,证明能实现第二个思想,可以把任意一幅像转换为晶体的结构图像^[4].至此在高分辨电子显微学与衍射晶体学相结合的基础上,初步建成了一个电子晶体学的图像处理技术,它包含两个步骤:第一步是解卷处理,第二步是相位扩展处理(见图 2(b)).通过解卷处理,可以把任意一幅原本不直接反映晶体结构的像(图 2(b)左下)转换为反映晶体结构的图像(右下),称解卷像,但因显微镜分辨本领不够高,解卷像上只见铜和氯原子,看不见碳和氮原子.再结合电子衍射强度进行相位扩展处理,把图像分辨率从 0.2 nm 提高到 0.1 nm,可以看清楚碳和氮原子(右上),而且很接近理论计算的分辨率 0.1 nm 的晶体结构图像(左上).

1990 年,用日本学者 Uyeda 提供的氯代酞菁铜晶体实验像,检验了解卷和相位扩展二步图像处理技术的有效性^[5],证明适用于主要由轻原子组成的薄晶体.

3 像衬度的赝弱相位物体近似理论

理论上,上述图像处理技术只适用于弱相位物体(极薄的物体,远薄于实际的电镜试样,例如原子序居中的原子组成的物体厚度需小于 2 nm).为了能应用于一般的实际晶体,我们研究了像的衬度理论.

上世纪 80 年代前期,在测定铈钡氟碳酸盐矿物的晶体结构时,仔细研究了直接反映晶体结构的像

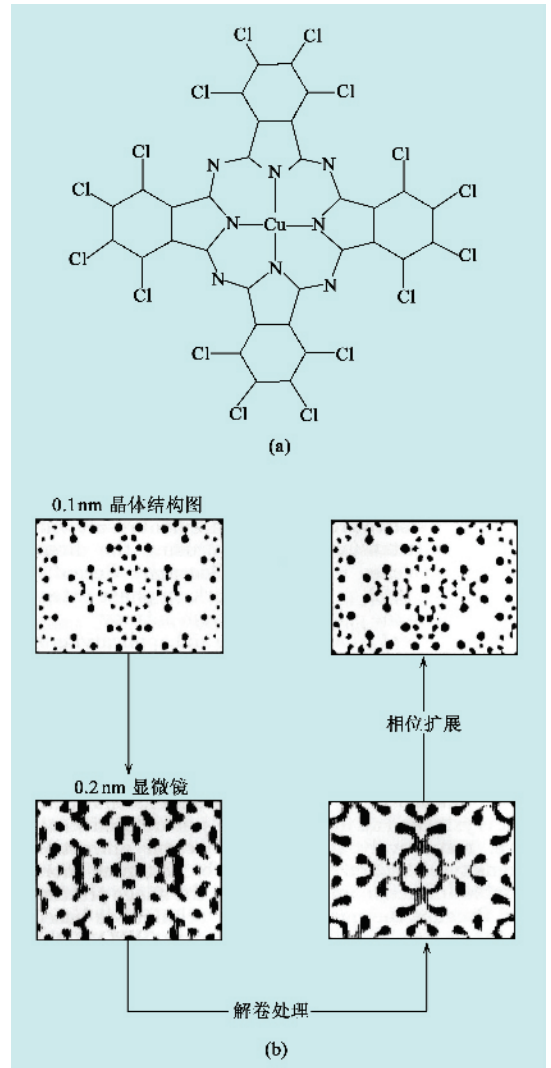


图 2 (a) 氯代酞菁铜晶体的平面分子模型 (b) 电子晶体学二步图像处理示意图

衬度随晶体厚度的变化,总结了原子序不同的原子在像上的衬度规律.发现轻原子衬度随晶体厚度增加而明显增加,能达到与重原子相比的程度,厚度继续上升达一定值(大于 6 nm)时,重原子衬度反转^[6].于是,即使不满足弱相位物体近似,只要晶体厚度小于 6 nm,像仍能正确显示晶体中原子的位置,故能用于测定晶体结构.只不过不同种类原子的像衬与原子序数之间无单调关系.

随后,着手从理论上探讨上述实验规律是否有普遍性.为此在前人(Cowley 和 Moodie)借助物理光学导出的动力学电子衍射理论^[7]的基础上,推导出一个比较实用的像强度表达式^[8],相应的衬度理论称为“赝弱相位物体近似”.该理论不仅支持所总结的实验规律,而且首次阐明电镜下观察的实际晶体中不同种类原子的像衬随晶体厚度的变化规律.随

着晶体厚度增加,最初轻原子衬度相对上升,重原子衬度相对下降,厚度大于临界值时,重原子衬度反转。紧接着配合该理论设计了 $\text{Li}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ 晶体高分辨电镜的实验,观察了像衬度随晶体厚度的变化,证实了该理论的正确性。同时,在理论的指导下,首次从像上直接观察到晶体中锂原子的衬度,这是迄今用高分辨电镜直接观察到的最轻原子^[9]。

特别需要指出的是,此理论及其所指导的实验研究说明衍射晶体学与高分辨电子显微学的结合是合理的,于是从高分辨电子显微学的角度,为上一节介绍的电子晶体学二步图像处理技术应用于实际晶体建立了理论依据。

4 实用电子晶体学图像处理技术

4.1 动力学电子衍射强度的经验校正和电子衍射的相位扩展处理方法

电子与物体的相互作用很强,电子散射的动力学效应一般不可避免。可以认为,对于满足赝弱相位物体近似的晶体,其衍射应属于赝运动学情况。高分辨像摄自试样上的一个小区域,容易选择薄区,使之满足上述赝弱相位物体近似。电子衍射花样摄自较大的区域,厚度多不均匀,总体上厚度往往超过临界值,于是超出赝弱相位物体近似的适用范围,对应的衍射不属于赝运动学的。而且,在电子衍射分析中,不应把 Ewald 球面近似为平面,故衍射强度不正比于结构因数的平方。此外,尚有许多其他因素,如晶格畸变、电子辐照损伤等等,增加了电子衍射强度对运动学的偏离。为了使实际晶体的电子衍射强度能用于相位扩展处理中,本项目提出了一个同时校正各种因素的经验方法,使校正后的电子衍射强度尽量接近运动学情况。方法的核心是借助所对应的高分辨像以校正电子衍射强度,并借鉴了 X 射线衍射分析中的重原子法和 Wilson 统计技术^[10]。

在实际运作中,把衍射强度校正与 X 射线衍射分析中的相位扩展处理组合成针对电子衍射的相位扩展处理方法。根据从像上显示出的重原子位置,可以计算出仅包含该部分原子的结构因数,称之为偏结构因数。在相位扩展过程中,循环修正偏结构因数和衍射强度,直到所得的晶体结构图像能合理地显示出全部原子为止。用高温超导体 $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_{7-x}$ 晶体的实验数据检验此方法,证明很有效(图 3)^[10]。

动力学衍射效应的一个特征是强衍射相对地减弱,弱衍射增强。逐轮校正后的电子衍射强度恰恰是

强衍射逐渐加强,弱衍射逐渐减弱,反映了动力学衍射效应的逆过程。Ewald 球的曲率使低衍射角区的衍射相对增强,校正后明显渐弱,反映了 Ewald 球曲率效应的逆过程。所以,此经验校正方法对降低动力学衍射效应和 Ewald 球曲率效应很有效,后来成功地应用于未知晶体结构的测定。

4.2 高分辨像的最大熵解卷处理

1991 年,把信息论中的最大熵原理引入到图像处理中,建立了高分辨像的最大熵解卷处理技术^[11],借助氯代酞菁铜晶体的模拟像检验了技术的有效性。此后,进一步研究了解卷过程中出现的物理现象,如形式上的“多解”与傅里叶像的关系、各种输入电子光学参量误差的自动补偿、电势负值的影响及其解决方法等,肯定了最大熵解卷处理技术有很强的功能^[12]。1992 年,成功地用于测定 $\text{K}_2\text{O} \cdot 7\text{Nb}_2\text{O}_5$ 的晶体结构^[13],这是用最大熵解卷和相位扩展处理技术测定的第一个未知晶体结构。

4.3 实用电子晶体学图像处理过程及举例

最大熵解卷处理和结合电子衍射强度校正的相位扩展组成了实用的电子晶体学图像处理技术。图 3 以正交晶系晶体 $\text{Bi}_2(\text{Sr}_{0.9}\text{La}_{0.1})_2\text{CoO}_y$ 为例,给出测定未知晶体结构的过程示意图。图 3 左上为沿晶体 a 轴拍摄的一幅高分辨像,经过了滤波和对称平均处理,分辨率为 0.2 nm 。像的衬度不直接反映晶体结构。经过解卷处理得到解卷像(图 3 左下),像的衬度直接反映晶体的结构,每个 Bi 原子显示为一个黑点,但是由于电镜的分辨本领不够高,不能分辨类钙钛矿层(PLB)中的全部原子。图 3 右上图是与实验像相对应的电子衍射花样,从解卷像(图 3 左下)出发,联合电子衍射强度校正和相位扩展处理,得到图 3 右下图的高分辨率结构象,像分辨率从 0.2 nm 提高至 0.1 nm ,图中每个原子(包括氧原子)均显示为一个黑点^[14]。

5 可视化专用软件包 VEC(Visual Computing in Electron Crystallography)

VEC 软件包用 C++ 和 Fortran 语言编写而成,可以在 MS Windows 95、98、NT 和 2000 下运行,并具有详细的在线使用教程,功能强,使用方便,应邀发

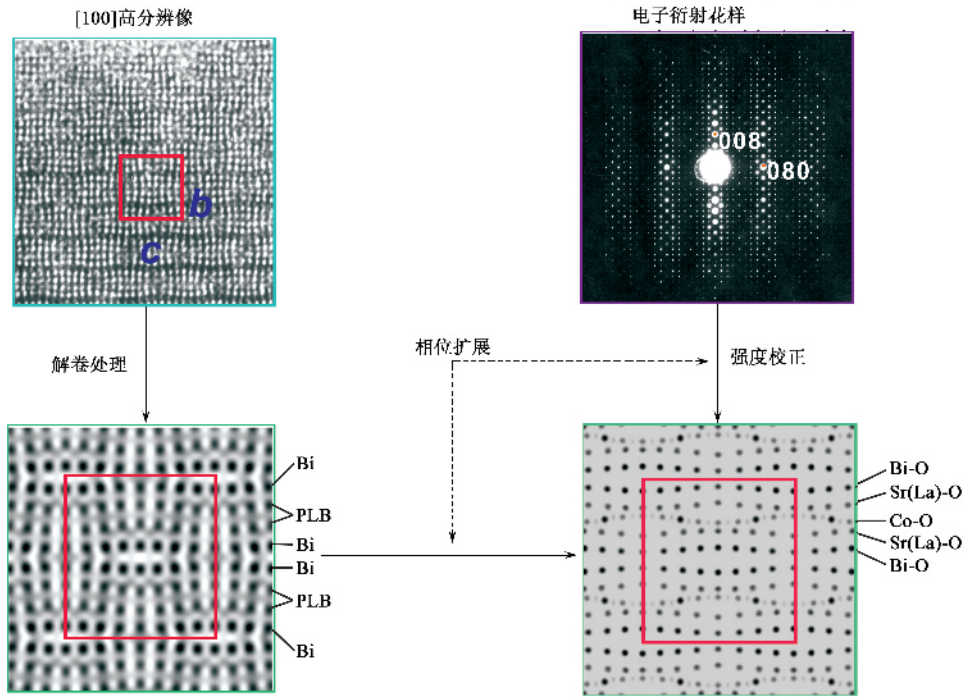


图3 电子晶体学二步图像处理测定 $\text{Bi}_2(\text{Sr}_{0.9}\text{La}_{0.1})_2\text{CoO}_y$ 晶体结构示意图(左上图是高分辨像,矩形表示一个晶胞;左下图是解卷像,每个铋原子显示为一个黑点,PLB表示类钙钛矿层;右上是对应于左上的电子衍射花样;右下图是最后所得的晶体结构图,图中每个原子(包括氧原子)均显示为一个黑点)

表于德国出版的国际性晶体学期刊 *Z. Kristallographie* 纪念创刊 125 周年的“电子晶体学”专辑上^[15]。图4是VEC程序使用教程(电子版)的封面。VEC软件包下载和在线使用教程网址为:<http://cryst.iphy.ac.cn>。截至2004年2月,有560多人下载VEC,他们分布在61个国家和地区。

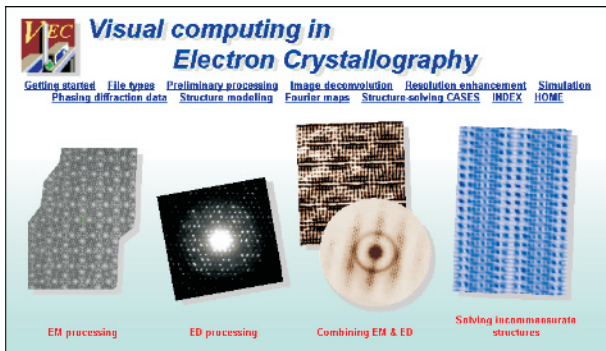


图4 VEC程序使用教程(电子版)的封面

VEC软件包具有以下功能(1)高分辨像的预处理,包括对像进行比例缩放、衬度调节、旋转、选区、切割、傅里叶滤波、对称平均等(2)电子衍射花样数据的处理,包括对衍射花样进行指标化、衍射强度积分测量等(3)对单张高分辨电子显微像进行解卷处理,得到反映样品的低分辨率结构图像(4)

结合高分辨像和衍射花样得到的信息进行相位扩展,提高像的分辨率,从而测定高分辨率的晶体结构(5)构造晶体结构模型,计算结构因数及对高分辨的结构图像进行傅里叶修正等。

6 电子晶体学图像处理技术的应用

6.1 新晶体的结构测定

应用上述图像处理技术,先后成功地测定了六个晶体结构,计有 $\text{K}_2\text{O} \cdot 7\text{Nb}_2\text{O}_5$ ^[13]、 $\text{Bi}_2(\text{Sr}_{0.9}\text{La}_{0.1})_2\text{CoO}_y$ ^[14]、 $\text{Bi}_4(\text{Sr}_{0.75}\text{La}_{0.25})_8\text{Cu}_5\text{O}_y$ ^[16]、 $\text{K}_4\text{Nb}_{17}\text{O}_{45}$ ^[17]、 $(\text{Pb}_{0.5}\text{Sr}_{0.3}\text{Cu}_{0.2})\text{Sr}_2(\text{Ca}_{0.6}\text{Sr}_{0.4})\text{Cu}_2\text{O}_y$ ^[18]和 $(\text{Y}_{0.6}\text{Ca}_{0.4}\text{SrBa}\text{Cu}_{2.5}\text{B}_{0.5})\text{O}_{7-x}$ ^[19]。这些晶体中,除K和Nb的复合氧化物之外,均为高温超导体或与之相关的化合物。晶体或者尺寸很小,或者很难得到单相试样,难以用其他方法测定晶体的结构。 $\text{Bi}_4(\text{Sr}_{0.75}\text{La}_{0.25})_8\text{Cu}_5\text{O}_y$ 、 $\text{Bi}_2(\text{Sr}_{0.9}\text{La}_{0.1})_2\text{CoO}_y$ 、 $(\text{Pb}_{0.5}\text{Sr}_{0.3}\text{Cu}_{0.2})\text{Sr}_2(\text{Ca}_{0.6}\text{Sr}_{0.4})\text{Cu}_2\text{O}_y$ 三个化合物都有超结构,重点研究测定超结构的图像处理技术。 $(\text{Y}_{0.6}\text{Ca}_{0.4}\text{SrBa}\text{Cu}_{2.5}\text{B}_{0.5})\text{O}_{7-x}$ 的研究重点是硼原子对铜原子置换的有序无序问题。于是,在电子晶体学图像处理的应用过程中不断地进一步发展和完善了

原有的方法和技术。

6.2 应用于蛋白质晶体

尽管 X 射线衍射是测定蛋白质晶体结构的主要方法,但是当难以生长尺寸足够大的晶体时,特别是对于膜蛋白,电子晶体学方法有其优越性。本项目针对蛋白质晶体晶胞大、参与成像的衍射束数目大的特点,改进了原有的解卷处理方法,使之亦适用于生物晶体。方法试用于抗生蛋白链菌素的模拟像,证明解卷处理可以应用于蛋白质晶体^[20]。然后,试把直接法相位扩展应用于抗生蛋白链菌素的模拟像,所得晶体结构图与理论结构模型一致,并把分辨率从 0.30 nm 提高至 0.25 nm。借助美国生物大分子成像国家中心提供的实验数据进行相位扩展试验,亦得到预期结果。说明本项目建立的电子晶体学图像处理技术,可望应用于蛋白质晶体结构测定。

7 结束语

为了消除前人用高分辨电子显微像测定晶体结构的方法之局限性,提出了高分辨电子显微学与衍射晶体学相结合的思想。在实现此思想的过程中,从实验出发研究总结了像衬的规律,在证明该规律有普遍性的同时,导出实用的像衬公式,得出实用的像衬理论。该理论阐明不同种类原子像衬与晶体厚度的关系,在理论指导下观察到晶体中锂原子的像衬,是迄今观察到的最轻原子。以此理论为依据,把衍射晶体学中的多种分析方法特别是直接法引入到高分辨电子显学中,建立了一套全新的电子晶体学图像处理技术,是分析高分辨电子显微像多种新方法的有机组合。图像处理技术包含新建立的基于最大熵原理的解卷处理方法、电子衍射强度的经验校正方法、以及把后者与直接法相位扩展处理相结合所形成的电子晶体学相位扩展处理。图像处理技术应用于多个未知晶体结构(含超结构)的测定,以及掺杂

原子置换等。开发了专用软件包。以上科学思想、研究路线,以及取得的理论和技术成果均为自主创新。共发表期刊论文 36 篇,其中 12 篇发表在晶体学方面最重要的国际期刊 *Acta Cryst.*, 8 篇发表在电子显微学方面最重要的国际期刊 *Ultramicroscopy*。论文被国际著名晶体学家和电子显微学家在多种重要国际期刊中引用,给予高度评价。曾在国际性学术会议上做邀请报告 31 次。

参 考 文 献

- [1] 李方华. 物理学报, 1977, 26 :194[Li F H. *Acta physica Sinica*, 1977, 26 :194(in Chinese)]
- [2] 李方华, 范海福. 物理学报, 1979, 28 :267[Li F H, Fan H F. *Acta Physica Sinica*, 1979, 28 :267(in Chinese)]
- [3] Han H F, Zhong Z Y, Zheng C D, Li F H. *Acta Cryst.*, 1985, A41 :163
- [4] Han F S, Fan H F, Li F H. *Acta Cryst.*, 1986, A42 :353
- [5] Fan H F, Xiang S B, Li F H. *Ultramicroscopy*, 1991, 36 :361
- [6] Li F H, Hashimoto H. *Acta Cryst.*, 1984, B40 :454
- [7] Cowley J M, Moodie A F. *Acta Cryst.*, 1957, 10 :609
- [8] Li F H, Tang D. *Acta Cryst.*, 1985, A41 :376
- [9] Tang D, Teng C M, Zou J, Li F H. *Acta Cryst.*, 1986, B42 :340
- [10] Huang D X, Liu W, Gu Y X *et al.* *Acta Cryst.*, 1996, A52 :152
- [11] Hu J J, Li F H. *Ultramicroscopy*, 1991, 35 :339
- [12] Huang D X, He W Z, Li F H. *Ultramicroscopy*, 1996, 62 :141
- [13] Hu J J, Li F H, Fan H F. *Ultramicroscopy*, 1992, 41 :387
- [14] Jiang H, Li F H, Mao Z Q. *Micro*, 1999, 30 :417
- [15] Wan Z H, Liu Y D, Fu Z Q *et al.* *Zeitschrift für Kristallographie*, 2003, 218 :308
- [16] Lu B, Li F H, Wan Z H *et al.* *Ultramicroscopy*, 1997, 70 :13
- [17] Jiang H, Teng C M, He W Z, Li F H. *J. Electron Microscopy*, 1997, 46 :375
- [18] Liu J, Li F H, Wan Z H, Fan H F. *Acta Cryst.*, 2001, A57 :540
- [19] Wang H B, Jiang H, Li F H *et al.* *Acta Cryst.*, 2002, A58 :494
- [20] Yang S X, Li F H. *Ultramicroscopy*, 2000, 85 :51