

·成果简介·

微小晶体结构测定的电子晶体学研究*

李方华

(中国科学院物理研究所,北京 100080)

[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

引言

(1) 历史背景和目的:此处微小晶体指尺寸小于 $1\ \mu\text{m}$,不宜用 X 射线单晶体衍射分析方法测定结构的晶体。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。20 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(以下简称像),从而开辟了一种晶体结构分析的新途径,它建立在直接观察的实验基础上,截然不同于传统的衍射方法。

然而,并非任意一幅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 $10\ \text{nm}$),且拍摄于特定聚焦条件的像才直接反映晶体结构,这种像称结构像。三十多年来,人们习惯用尝试法(又称模型法)借助像测定晶体结构。然而,此法要求试样较耐辐照,并需事先具备初步的结构信息。而且,像的分辨率受电子显微镜(以下简称电镜)分辨本领所限,往往不能区分全部原子。若能建立一种新的测定晶体结构方法,克服尝试法的全部局限性,势必大大拓宽高分辨电子显微学的应用。

(2) 科学思路:在电镜中,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,所携带的结构信息相互补充。从像的傅里叶变换能得到衍射波,包括波的振幅和相位。衍射花样则只含衍射波振幅,没有相位信息,但是所含衍射波的数目多。对于 $200\ \text{kV}$ 的电镜,对应于衍射花样与对应于像的衍射波数目之比约等于 $4:1$ 。若把电子衍射数据补充到像中将可能大幅度地提高像的分辨率,但是为此需要求出高散射角的波相位。在 X 射线衍射晶体学中有扩展波相位的技术,是否

可用于电子晶体学?另外,是否能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?

如果以上两个问题能得到正面的回答,将可建立一个新的结构测定方法,以克服传统方法的局限性。新方法将同时利用衍射花样和像所携带的结构信息,并引用衍射晶体学的分析技术。换言之,新方法将建立在衍射晶体学与高分辨电子显微学相结合的基础上,在性质上属于电子晶体学的图像处理。

(3) 关键问题:衍射晶体学的各种结构分析方法乃针对 X 射线衍射所建立,适用于运动学衍射的情况,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晶体结构的衍射分析中是需要解决的关键问题之一。其次,“从像的傅里叶变换能得到衍射波”的说法只适用于极薄的晶体,对应于最简单的像衬理论,称弱相位物体近似。然而,用于拍摄像的实际晶体不满足弱相位物体近似。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,建立一个针对实际晶体且实用的像衬理论是又一个需要解决的关键问题。

(4) 研究路线:显然,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)与理想的衍射条件(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。为此需首先建立初步的算法,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二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

* 2005 年度国家自然科学基金二等奖获奖项目。

本文于 2006 年 12 月 4 日收到。

究入手,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关键问题和开发相应的软件,纵向上不断完善图像处理的方法,开发专用的软件,并应用于未知晶体的测定。

1 理想条件下的二步图像处理技术

为了克服前人方法的局限性,并使像能显示全部原子,本项目于20世纪70年代后期提出两个想法:(1)把电子衍射花样与像相结合,以提高像分辨率;(2)引用X射线衍射分析技术,把一幅原本不直接反映晶体结构的像转换为晶体结构图像。1985年用氯代酞菁铜晶体(分子模型见图1(a))的弱相位物体模拟像进行试验,结合电子衍射强度用直接法相位扩展技术对像作图像处理,证明能实现第一

个思想^[1]。1986年建立了借助衍射分析中的 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^[2]。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(见图1(b)),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。通过解卷处理可以把任意一幅本来不直接反映晶体结构的像(图1(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,看不清碳和氮原子。再经过相位扩展处理,把图像分辨率从0.2 nm 提高到0.1 nm,可清楚地显示碳和氮原子(右上),且很接近理论计算的晶体结构图像(左上)。

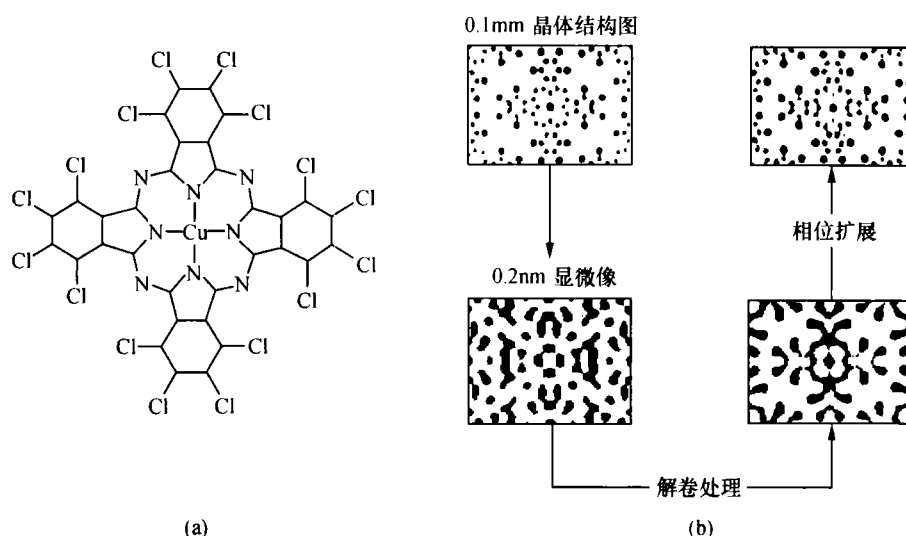


图1 (a) 氯代酞菁铜晶体的平面分子模型, (b) 电子晶体学二步图像处理示意图

1990年用日本学者 N. Uyeda 提供了氯代酞菁铜晶体的实验像,检验了解卷和相位扩展的二步图像处理技术的有效性^[3]。

2 像衬理论——赝弱相位物体近似

理论上,此图像处理技术只适用于“弱相位物体”(厚度远小于实际的电镜试样),为应用于实际晶体,研究了像衬理论。

80年代前期,本项目详尽地研究了直接反映晶体结构的像衬度随晶体厚度的变化,总结了不同重量原子在像上的衬度规律。发现随着晶体厚度增加,轻原子衬度上升的速度比重原子快,厚度继续上升达一定值(临界厚度)时,重原子衬度反转。随后着手从理论上证明上述规律的普适性,1985年在前人借助物理光学导出的动力学电子衍射理论的基础上,推导出一个实用的像强度表达式^[4],相应的衬度理论称为“赝弱相位物体近似”。该理论首次阐明实

际晶体中不同重量原子的像衬随晶体厚度的变化规律,能指导实验择优观察不同原子量的原子,这是该理论的第一个用途。 $\text{Li}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ 晶体实验的像衬规律证实了理论的正确性^[5],且首次从晶体的结构像上直接观察到锂原子的衬度,这是迄今用高分辨电镜直接观察到的最轻原子。

该理论说明,为了测定晶体结构,在厚度小于临界值时,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,为上述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。这是理论的第二个用途。

3 全新的电子晶体学图像处理技术

3.1 电子衍射强度的经验校正方法与电子晶体学的相位扩展处理技术

高分辨电子显微像(以下简称高分辨像)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,超出微弱相位物体近似的适用范围。此外,尚有多种因素导致电子衍射强度不符合运动学理论。本项目提出了一个同时校正各种因素的经验方法,使校正后的衍射强度尽量接近运动学衍射的情况,从而能运用于X射线衍射分析中。方法的核心是借助所对应的高分辨像校正电子衍射强度,并借鉴了X射线晶体学中的重原子法及Wilson统计分析,这是高分辨电子显微学与衍射晶体学的又一次交叉。

在校正电子衍射强度的运作中,衍射强度校正与相位扩展处理合为一体,循环进行,直至得出正确的晶体结构投影图为止。这样组成的相位扩展处理专门针对电子射线,是电子晶体学的相位扩展处理技术。

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技术,证明很有效^[6]。即使实验衍射强度的畸变很大,经过校正之后,亦颇接近运动学衍射的情况,最终得到了全部原子(含氧原子)显示于正确值的晶体结构图^[6]。

3.2 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电子晶体学图像处理中,建立了高分辨像的最大熵解卷处理技术^[7],借助氯代酞菁铜晶体的理论计算像检验了技术的有效性。后来,对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、多种电子光学参量自动地得到补偿、电势负值的影响等作了深入分析和讨论,说明最大熵解卷处理技术有很强的功能^[8]。1992年以来成功地应用于若干个晶体结构的测定。

3.3 实用电子晶体学图像处理技术

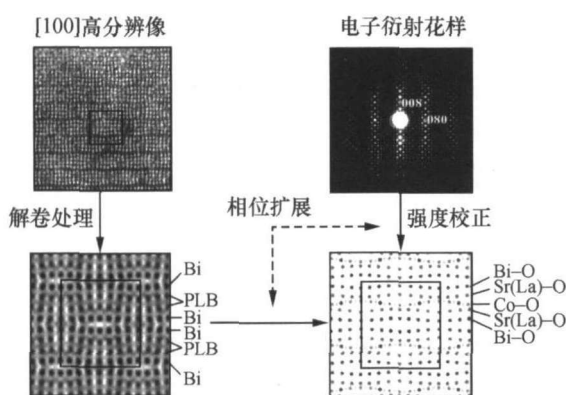


图2 实用电子晶体学图像处理示意图

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全新的电子晶体学图像处理技术。图2以 $\text{Bi}_2(\text{Sr}_{0.9}\text{La}_{0.1})_2\text{CoO}_y$ 晶体的结构测定为例,说

明图像处理的过程和结果。该晶体结构由Bi-O双层和钙钛矿层交替叠合而成。左上图是四方晶体沿 a 轴拍摄的高分辨像,矩形表示一个晶胞,像分辨率0.2 nm,此像不直接反映晶体的结构。对它作最大熵解卷处理,得解卷像(左下),它直接反映晶体沿 a 轴的投影结构,每个铋原子显示为一个黑点。由于电镜的分辨本领不够高,分辨不开类钙钛矿层(PLB)中的原子。右上是对应于左上的电子衍射花样,结合解卷像和经过校正的电子衍射数据,进行相位扩展处理,得右下的晶体结构图,分辨率提高至0.1 nm,图中每个原子(包括氧原子)均显示为一个黑点^[9]。

3.4 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6个晶体结构,计有 $\text{K}_2\text{O} \cdot 7\text{Nb}_2\text{O}_5$ ^[9]、 $\text{Bi}_4(\text{Sr}_{0.75}\text{La}_{0.25})_8\text{Cu}_5\text{O}_y$ ^[9]、 $\text{K}_5\text{Nb}_{17}\text{O}_{45}$ ^[9]、 $\text{Bi}_2(\text{Sr}_{0.9}\text{La}_{0.1})_2\text{CoO}_y$ ^[9]、 $(\text{Pb}_{0.5}\text{Sr}_{0.3}\text{Cu}_{0.2})\text{Sr}_2(\text{Ca}_{0.6}\text{Sr}_{0.4})\text{Cu}_2\text{O}_y$ ^[10]和 $(\text{Y}_{0.6}\text{Ca}_{0.4})(\text{SrBa})(\text{Cu}_{2.5}\text{B}_{0.5})\text{O}_{7-x}$ ^[11]。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。在完成结构的测定中,不断完善和发展图像处理技术,例如使之适用于超结构的测定和确定掺杂原子的有序置换等^[9, 11]。

3.5 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^[12]。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外推试验,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。

4 可视化的专用程序包 VEC (Visual Computing in Electron Crystallography)

VEC程序包用C++和Fortran语言编写而成,可以在MS Windows 95、98、NT和2000下运行,并配有详细的在线使用教程,功能强,使用方便。论文

应邀发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^[13]。图 3 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,分布在 61 个国家和地区。

VEC 程序使用教程(电子版)

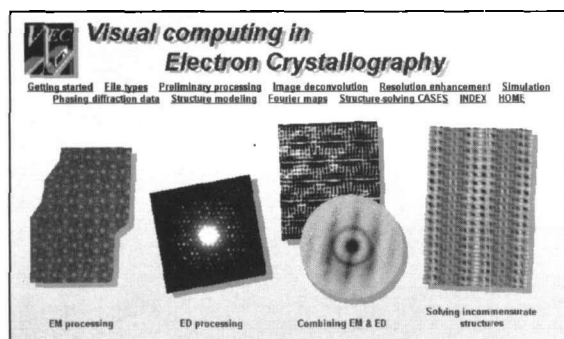


图 3 VEC 程序使用教程电子版的封面

VEC 软件包的功能有:(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,从而得到反映样品的结构图像;(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,以及晶体结构中全部原子的位置;(5) 构建晶体结构模型,计算结构因数和高分辨的结构图像,进行傅里叶修正等。

5 小结和效果

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。实现此思想的过程中,在系统研究像衬规律的基础上导出实用的像衬公式,得出实用的像衬理论。该理论阐明不同重量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微学中,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。

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。在高分辨电子显微学领域中,另一项与此目的近似的研究为“出射波重构的变焦技术”,由欧洲学者所创建。二者均属于求解高分辨电子显微学的逆问题,均属于高分辨电子显微像的图像处理,但是二者基于不同的像衬理论。而且,他们从一系列不同离焦条件的像出发,我们则用一幅像及其相应的电子衍射花样;他们得到的是试样后表面的出射波,故属于电子光学求逆,我们直接得到晶体的投影结构,属于电子晶体学求逆。

本项研究工作持续二十余年,先后获得 4 项国家面上基金(18874064、19274063、19574073、19674072)、1 项国家重点基金(19634020)、以及中国科学院重点基金和国家重大基础研究规划(“973”)的资助。

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显微学家在多种重要国际期刊引用,给予高度评价。曾应邀在国际性学术会议上做报告 31 次,其中系列性国际会议的报告 12 次,国际讲习班的 10 次,其余 9 次。

(项目参加者为李方华、范海福、万正华、胡建军、汤栋、黄达祥、王怀斌、郑朝德、蒋华、刘骏、陆斌、杨世新等 31 人)

参 考 文 献

- [1] H F Fan, Z Y Zhong, C D Zheng. Image processing in high resolution electron microscopy using the direct method, I. Phase Extension. *Acta Cryst.* 1985(A41): 163—165.
- [2] F S Han, H F Fan, F H Li. Image processing in high resolution electron microscopy, II. Image Deconvolution. *Acta Cryst.* 1986(A42): 353—356.
- [3] H F Fan, S B Xiang, F H Li. Image resolution enhancement by combining information from electron diffraction pattern and micrograph. *Ultramicroscopy*, 1991(36): 361—365.
- [4] F H Li, D Tang. Pseudo weak phase object in high resolution electron microscopy, I. Theory. *Acta Cryst.* 1985(A41): 376—382.
- [5] D Tang, C M Teng, J Zou et al. Pseudo weak phase object approximation in HREM, II. Feasibility of directly observing Li ions. *Acta Cryst.* 1986(B42): 340.
- [6] D X Huang, W Liu, Y X Gu et al. A method of electron diffraction intensity correction. *Acta Cryst.* 1996(A52): 152—157.
- [7] J J Hu, F H Li. Maximum entropy image deconvolution in high resolution electron microscopy. *Ultramicroscopy*, 1991(35): 339—350.

- [8] D X Huang, W Z He, F H Li. Multiple solution in maximum entropy deconvolution of high resolution electron microscope images. *Ultramicroscopy*, 62(1996): 141—148.
- [9] 李方华. 李方华论文选集. 2001, 115—172(或 *Ultramicroscopy*, 1992(41): 387; 1997(70): 13; *J Electron Microscopy*, 1997(46): 375; *Micro*, 1999(30): 417).
- [10] J Liu, F H Li, Z H Wan et al. Electron crystallographic image processing investigation and superstructure determination for $(\text{Pb}_{0.5}\text{Sr}_{0.5}\text{Cu}_{0.2})\text{Sr}_2(\text{Ca}_{0.6}\text{Sr}_{0.4})\text{Cu}_2\text{O}_y$. *Acta Cryst*, 2001(A57): 540—547.
- [11] H B Wang, H Jiang, F H Li et al. A study on position of boron atoms in $(\text{Y}_{0.6}\text{Ca}_{0.4})(\text{Sr}, \text{Ba})(\text{Cu}_{2.5}\text{B}_{0.5})\text{O}_{7-\delta}$. *Acta Cryst*, 2002(A58): 494—501.
- [12] S X Yang, F H Li. Image deconvolution for protein crystals. *Ultramicroscopy*, 2000(85): 51—59.
- [13] Z H Wan, Y D Liu, Z Q Fu et al. Visual computing in electron crystallography. *Zeitschrift für Kristallographie*, 2003(218): 308—315.

ELECTRON CRYSTALLOGRAPHY STUDY ON STRUCTURE DETERMINATION FOR MINUTE CRYSTALS

Li Fanghua

(*Institute of Physics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080*)

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

·资料·信息·

国家自然科学基金委员会-广东省人民政府联合基金成功实施

近年来,国家自然科学基金委员会(以下简称自然科学基金委)为发挥科学基金导向和协调作用,通过设立联合基金,引导社会科技资源支持基础研究。

在2006年年初全国科技大会召开期间,自然科学基金委陈宜瑜主任与广东省宋海副省长分别代表我委与广东省人民政府共同签订了《国家自然科学基金委员会-广东省人民政府关于共同设立自然科学基金“联合基金”的框架协议》(以下简称NSFC-广东联合基金)。

NSFC-广东联合基金每年经费投入总量为5000万元,是自然科学基金委迄今经费资助量最大的一项联合基金。该项联合研究基金作为国家自然科学基金的组成部分,其主要目的是利用科学基金面向全国的优势,吸引和凝聚全国优秀科学家,紧密围绕制约广东和珠江三角洲区域经济社会发展的重大关键科学问题,开展基础性、前瞻性和战略性研究,促进广东科技发展,从而推进地区自主创新能力的提升,带动人才队伍的建设。这一举措,开创了国家引导、支持地方开展基础研究的先河,对建立创新型国家的机制起到了非常好的作用。

联合资助双方根据科学基金项目管理模式,结合本联合基金的特点,制定了《国家自然科学基金

委-广东省政府自然科学联合基金实施细则》。

2006年9月,自然科学基金委向全国发布2006年项目指南,引导全国科学家进行项目申请。当年正式受理申请项目787项,其中重点项目749项,面上项目38项;分布在全国24个省市自治区的164个项目依托单位的8700余人参与了这次申请。在这些申请中,广东省牵头申请项目占56.04%,其他省牵头申请项目占43.96%,其中,广东省牵头的申请项目中又有33.79%是与其他省共同申请,其他省牵头的申请项目中有47.40%与广东省共同申请。由此可见,NSFC-广东联合基金很好地促进了广东省内及与全国其他省的科学家之间的合作,对学科交叉和人才队伍培养具有明显的带动作用。

2006年11月底,NSFC-广东联合基金管理办公室统一组织了该联合基金的项目评审会。评审会严格按照自然科学基金委重点项目(面上项目)的答辩评审方式进行。经过NSFC-广东联合基金管理委员会的会议审议,39项重点项目,2项面上项目获得2006年度NSFC-广东联合基金资助。国家自然科学基金委员会与广东省人民政府联合发出项目批准通知。

(计划局 朱蔚彤 陈钟 刘权 何鸣鸿 供稿)