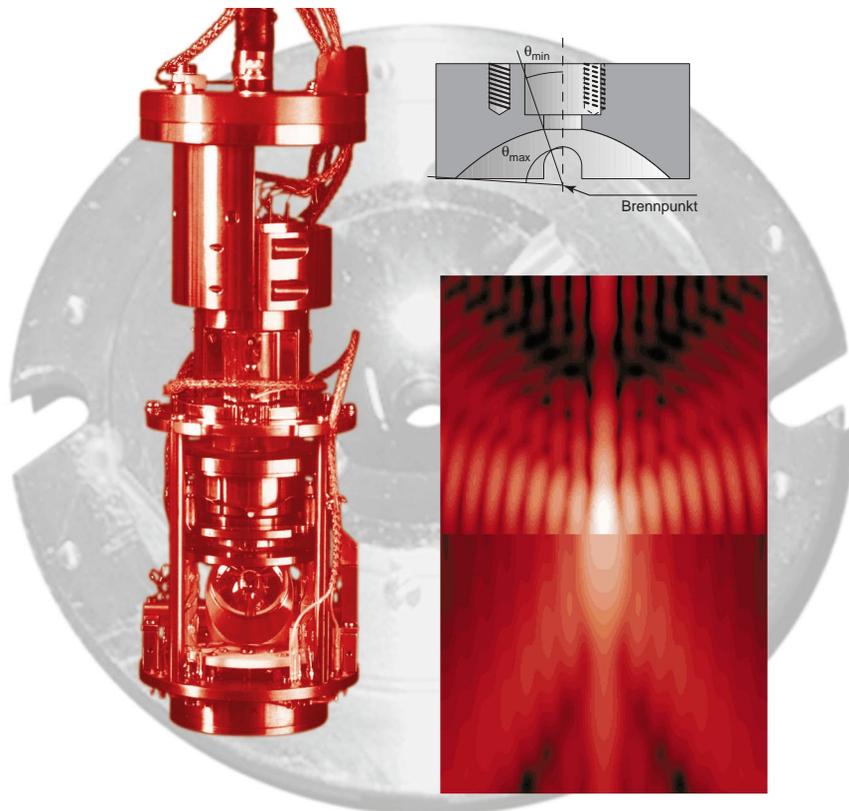


Mikroskopie mit Parabolspiegeloptik

Theorie, Aufbau und Charakterisierung eines kombinierten konfokalen und nahfeld-optischen Mikroskops für die Einzelmolekül-Spektroskopie bei tiefen Temperaturen



Mikroskopie mit Parabolspiegeloptik

Theorie, Aufbau und Charakterisierung eines
kombinierten konfokalen und nahfeld-optischen
Mikroskops für die Einzelmolekül-Spektroskopie
bei tiefen Temperaturen

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

vorgelegt von

Dipl.-Phys. M. Andreas Lieb

aus Schaffhausen, Schweiz

eingereicht beim Fachbereich 8
der Universität Siegen
Siegen, 2001

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der
Naturwissenschaften an der Universität Siegen:

Referent: Prof. Dr. Alfred J. Meixner

Korreferent: PD Dr. Stefan W. Hell, Göttingen

Tag der mündlichen Prüfung: 10. Dezember 2001

Diese Dissertation erscheint gleichzeitig in gedruckter Form bei Books on Demand GmbH, Norderstedt unter der ISBN: 3-8311-3424-3.

© 2002 by **Andreas Lieb, Siegen, Schaffhausen**

Alle Rechte liegen beim Autor.

Für Regula

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	1
1 Grundlagen.....	3
1.1 Optische Einzelmolekül-Spektroskopie	3
1.1.1 Historischer Überblick	3
1.1.2 Grundlagen	4
1.2 Konfokale Mikroskopie	7
1.2.1 Beugungsgrenze	7
1.2.2 Aufbau eines konfokalen Mikroskops	8
1.2.3 Methoden zur Steigerung der Auflösung	9
1.3 Nahfeld-Mikroskopie	10
1.3.1 Methoden der Nahfeld-Erzeugung	10
1.3.2 Aufbau eines Nahfeld-Mikroskops	12
1.4 Literaturverzeichnis.....	14
2 Parabolspiegel-Optik.....	17
2.1 Einleitung.....	17
2.2 Homogenes Medium.....	18
2.2.1 Fokussierung	18
2.2.2 Einzelmolekül-Abbildung	30
2.2.3 Diskussion und Zusammenfassung	41
2.3 Grenzflächen in der Nähe des Fokusses	41
2.3.1 Fokussierung	41
2.3.2 Einzelmolekül-Abbildung	47
2.3.3 Diskussion und Zusammenfassung	50
2.4 Feldverstärkung.....	51
2.4.1 Theorie	51
2.4.2 Numerische Feldberechnungen	55
2.4.3 Einzelmolekül-Abbildung	59
2.4.4 Diskussion und Zusammenfassung	59
2.5 Literaturverzeichnis.....	60
3 Aufbau des Mikroskops	63
3.1 Design-Konzepte	63
3.1.1 Fernfeldoptische Mikroskope	63
3.1.2 Nahfeldoptische Mikroskope	64
3.1.3 Konzept des Mikroskops	66
3.2 Übersicht.....	67
3.3 Mikroskop-Kopf.....	68
3.3.1 xy-Motormodul	70
3.3.2 Zwischenmodul	71
3.3.3 z-Motormodul	72

3.4 Externe Optik und Detektion	75
3.4.1 <i>Aufbau</i>	75
3.4.2 <i>Justage</i>	79
3.5 Lichtquellen	80
3.6 Kryo- und Vakuumanlage	82
3.6.1 <i>Kryostat</i>	82
3.6.2 <i>Vakuumanlage</i>	83
3.6.3 <i>Betrieb</i>	84
3.7 Steuerung und Datenaufnahme	86
3.7.1 <i>Mikroskop-Steuerung</i>	86
3.7.2 <i>Abstandsregelung</i>	86
3.7.3 <i>Kryostaten-Steuerung</i>	88
3.8 Literaturverzeichnis	89
3.9 Materialverzeichnis	91
4 Experimente	93
4.1 Einleitung	93
4.2 Optische Experimente mit dem Parabolspiegel	93
4.2.1 <i>Abbildung außerhalb der optischen Achse</i>	94
4.2.2 <i>Abbildung im Fokus</i>	97
4.3 Konfokale Mikroskopie	99
4.3.1 <i>Berechnung der Intensitätsverteilung</i>	99
4.3.2 <i>Messungen bei Raumtemperatur</i>	100
4.3.3 <i>Messungen bei tiefer Temperatur</i>	101
4.4 Einzelmolekül-Spektroskopie	103
4.4.1 <i>Absorptionsspektroskopie</i>	104
4.4.2 <i>Fluoreszenzspektroskopie</i>	105
4.5 Scherkraft-Mikroskopie	106
4.5.1 <i>Messungen bei Raumtemperatur</i>	106
4.5.2 <i>Messungen bei tiefer Temperatur</i>	107
4.6 Literaturverzeichnis	109
Zusammenfassung und Ausblick	111
Anhang	115
A Berechnung der Diffraktionsintegrale für einen Parabolspiegel	115
B Feldkomponenten und Diffraktionsintegrale für ein Objektiv	116
C Diffraktionsintegrale für nicht achsenparallele Beleuchtung	117
D Das Feld eines Dipols, der durch ein Objektiv abgebildet wird	118
E Der Exponentialterm in den Feldkomponenten des Bildes eines Dipols	119
F Herleitung der Longitudinal- und Lateralvergrößerung	120
G Die Diffraktionsintegrale für einen Dipol im Parabolspiegel	121

H Fokussierung durch eine Grenzfläche.....	122
I Die Programme zur Berechnung der optischen Felder	125
J Literaturverzeichnis	128
Danksagung.....	129

EINLEITUNG

Die Erfindung des Raster-Tunnel-Mikroskops 1980 durch Binnig und Rohrer [1] und dessen Weiterentwicklungen zum Raster-Kraft-Mikroskop [2], Raster-Nahfeld-Mikroskop [3] und weiterer Raster-Sonden-Mikroskope hat enorme neue Möglichkeiten zur Erforschung der Materie auf dem Maßstab von einzelnen Atomen und Molekülen eröffnet. Nur wenig später hat die erste optische Detektion von einzelnen Molekülen im Festkörper bei tiefer Temperatur¹ durch Kador und Moerner 1989 [4] neue Möglichkeiten in der optischen Spektroskopie zur Verfügung gestellt. Die Untersuchung einzelner Moleküle erlaubt es, Informationen über Prozesse zu gewinnen, die im Ensemble durch die Mittelung über viele Moleküle verloren gehen.

Obwohl mittlerweile einzelne Moleküle auch bei Raumtemperatur optisch untersucht werden können, was gerade für biologische Proben wichtig ist, bieten spektroskopisch hochaufgelöste Tieftemperatur-Experimente immer noch einige interessante Vorteile. (1) Die tiefe Temperatur führt dazu, dass die Absorptionslinien von verschiedenen ausgewählten Systemen extrem schmalbandig (einige 10^{-3} cm^{-1}) werden und die Absorptions-Querschnitte Werte von etwa 10^4 nm^2 annehmen, also ein Vielfaches der physikalischen Größe des Moleküls. Dieser starke Resonanzeffekt macht die Detektion des Signals einzelner Moleküle wesentlich einfacher als bei Raumtemperatur. (2) Bei tiefer Temperatur ist auch die Diffusion der zu untersuchenden Moleküle eingefroren, so dass einzelne Moleküle fast unbegrenzt lange untersucht werden können. (3) Die Lage der sehr schmalen Absorptionslinien ist zudem extrem empfindlich gegen äußere Einflüsse, so dass ihre Beobachtung Aufschluss über Prozesse in der lokalen Umgebung der Moleküle geben kann. (4) Bei tiefen Temperaturen sind zudem viele thermische Prozesse eingefroren oder zumindest stark verlangsamt, so dass nicht nur am selben Molekül über längere Zeit Messungen gemacht werden können, sondern dasselbe Quantensystem auch über längere Zeit in denselben Zuständen beobachtet werden kann.

Die Kombination von spektroskopisch höchster Auflösung bei tiefer Temperatur mit räumlich höchster Auflösung durch die Verwendung von Fernfeld- oder Nahfeld-Methoden ist in mancher Hinsicht interessant. Zum einen spielen sich viele Prozesse in der Natur zwischen Molekülen ab, die sich in nächster Nähe zueinander befinden, sich jedoch spektroskopisch unterscheiden, zum anderen besitzen die optischen Felder der Nahfeld-Mikroskopie räumliche Dimensionen, die in der Größenordnung der Absorptions-Querschnitte einzelner Moleküle bei tiefer Temperatur liegen, was quantenoptische Experimente mit einzelnen Molekülen und Photonen ermöglicht.

In dieser Dissertation wird der Aufbau eines kombinierten konfokalen und nahfeld-optischen Mikroskops für den Temperaturbereich zwischen 1,8 und 300 K beschrieben. Das Mikroskop benutzt einen Parabolspiegel zum Fokussieren und Sammeln von Licht, da Mikroskop-Objektive bei tiefer Temperatur nur bedingt eingesetzt werden können. Parabolspiegel mit *kleiner* numerischer Apertur sind sehr gebräuchlich im Teleskopbau und in der Telekommunikation. Spiegel mit *hoher* numerischer Apertur hingegen wurden lediglich als effiziente Sammeloptik in der Einzelmolekül-Spektroskopie verwendet [5], als Abbildungsoptik wurden sie jedoch gemieden, weil sie außerhalb der optischen Achse sehr schlechte Abbildungseigenschaften besitzen und ihre Herstellung schwierig war. Die Eigenschaften eines Parabolspiegel-Mikroskops mit hoher numerischer Apertur sind wenig bekannt, weshalb sie in dieser Arbeit ausführlich untersucht werden. In einem geeigneten konfokalen Aufbau zeigen sie

¹ Mit tiefer Temperatur sind hier und im Folgenden Temperaturen von etwa 2 K gemeint.

hervorragende Eigenschaften, insbesondere auch für Tieftemperatur- und Nahfeld-Anwendungen, wie gezeigt werden wird. Deshalb wird im hier beschriebenen Mikroskop ein Parabolspiegel eingesetzt.

Im ersten Kapitel wird eine Einführung in die Grundlagen der Einzelmolekül-Spektroskopie und der konfokalen sowie der nahfeld-optischen Mikroskopie gegeben, im zweiten Kapitel folgt eine Abhandlung über die Eigenschaften von Parabolspiegel-Mikroskopen, im dritten Kapitel wird das aufgebaute Mikroskop beschrieben und im vierten Kapitel wird ein Überblick über die durchgeführten Experimente und die Möglichkeiten des Mikroskops gegeben.

Für den Aufbau und die Inbetriebnahme eines Gerätes dieser Größe und Komplexität ist die Zusammenarbeit von mehreren Personen nötig. Das Mikroskop ist an der Universität Basel konzipiert und teilweise aufgebaut worden, wobei Prof. Dr. G. Tarrach¹ in der Anfangsphase mitgewirkt hat. Nach einem Umzug wurde es dann an der Universität Siegen weiterentwickelt. Die Berechnungen zur Feldverstärkung an Metallspitzen in Kapitel 2.4 wurden zusammen mit Prof. Dr. L. Novotny² ausgeführt. Die Experimente in Kapitel 4 sind größtenteils zusammen mit Dipl.-Phys. A. Drechsler³ und teilweise mit Dipl.-Chem. C. Debus⁴ durchgeführt worden. Dipl.-Phys. A. Drechsler wird in seiner Dissertation die durchgeführten Experimente ausführlich besprechen.

Literaturverzeichnis

- [1] G. Binnig, H. Rohrer, Ch. Gerber und E. Weibel, "Tunneling through a controllable vacuum gap," *Appl. Phys. Lett.* **40**, 178-180 (1982).
- [2] G. Binnig, C. F. Quate und Ch. Gerber, "Atomic Force Microscopy," *Phys. Rev. Lett.* **56**, 930-933 (1986).
- [3] D. W. Pohl, W. Denk und M. Lanz, "Optical stethoscopy: Image recording with resolution $\lambda/20$," *Appl. Phys. Lett.* **44**, 651-653 (1984).
- [4] W. E. Moerner und L. Kador, "Optical detection and spectroscopy of single molecules in a solid," *Phys. Rev. Lett.* **62**, 2535-2538 (1989).
- [5] T. Basché, W. E. Moerner, M. Orrit und U. P. Wild (Herausgeber), *Single-molecule optical detection, imaging and spectroscopy*, (VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Deutschland, 1996).

¹ Prof. Dr. G. Tarrach, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago de Chile, Chile.

² Prof. Dr. L. Novotny, University of Rochester, Rochester NY, USA.

³ Dipl.-Phys. A. Drechsler, Universität Siegen.

⁴ Dipl.-Chem. C. Debus, Universität Siegen.

1 GRUNDLAGEN

In diesem Kapitel werden die Grundlagen der Einzelmolekül-Spektroskopie und Mikroskopie und der dazu verwendeten mikroskopischen Methoden kurz besprochen. Insbesondere werden die konfokale und die nahfeldoptische Mikroskopie eingeführt. Dies sind jedoch nicht die einzigen Methoden, mit denen einzelne Moleküle untersucht werden können. In den letzten zwanzig Jahren wurden durch die Erfindung des Raster-Tunnel-Mikroskops (STM¹) durch Binnig und Rohrer und des Raster-Kraft-Mikroskops (AFM²) durch Binnig, Quate und Gerber weitere Methoden zur Untersuchung von einzelnen Atomen und Molekülen entwickelt. Mit dem AFM ist es zum Beispiel möglich geworden, chemische Bindungskräfte zwischen zwei Atomen zu messen [1.1], oder das Entfalten einzelner Biomoleküle zu untersuchen [1.2]. Hier sollen jedoch nur optische Methoden besprochen werden.

1.1 Optische Einzelmolekül-Spektroskopie

1.1.1 Historischer Überblick

Einzelne Atome, respektive Ionen, wurden erst Jahrzehnte, nachdem ihre Existenz allgemein anerkannt wurde, erstmals mit hochauflösenden Elektronenmikroskopen abgebildet. Optisch wurden sie zum ersten Mal vor knapp 25 Jahren in der Gasphase in schwachen Atomstrahlen [1.3] oder in elektromagnetischen Fallen [1.4], [1.5] untersucht. Bis einzelne Moleküle in kondensierter Materie untersucht werden konnten, dauerte es länger, da (1) das Lösungsmittel oder die Matrix ein Hintergrundsignal erzeugen können, das das Signal des zu untersuchenden einzelnen Moleküls leicht überdecken kann und (2) ein einzelnes Molekül in der Regel nur eine begrenzte Anzahl von Photonen aussendet, bevor es entweder bei Raumtemperatur photochemisch zerstört wird oder bei tiefer Temperatur spektral diffundiert. Zum ersten Mal wurden einzelne Moleküle in kondensierter Materie in Flüssigkeit detektiert. Die Moleküle wurden anhand der intensiven Photonen-Emission detektiert, die entsteht, wenn sie in einer Kapillare einen Laserfokus durchqueren [1.6]. Für die ersten Messungen wurden große biologische Moleküle benutzt, die mit vielen Farbstoffmolekülen markiert waren. Die Methoden wurden dann weiter verfeinert, bis auch die Detektion von einzelnen Molekülen gelang. Die ersten Messungen in einem Festkörper bei tiefer Temperatur sind 1989 von Kador und Moerner gemacht worden [1.7]. Sie verwendeten ein Doppel-Modulations-Absorptionsverfahren. Bernard und Orrit verwendeten als erste 1990 die Fluoreszenzabsorptions-Spektroskopie mit einem besseren Signal-zu-Rausch-Verhältnis [1.8]. Diese Entwicklungen führten zu einer ganzen Reihe von Experimenten, die in den Übersichtsartikeln [1.9]-[1.12] zusammengefasst sind.

Die ersten einzelnen Moleküle bei Raumtemperatur wurden 1993 von Betzig und Chichester mit einem Nahfeldmikroskop untersucht [1.13]. Dies führte dazu, dass die Methoden der optischen Einzelmolekül-Detektion einen wesentlich breiteren Anwendungsbereich gefunden haben, da unter Standardbedingungen oder sogar unter physiologischen Bedingungen gearbeitet werden kann. Eine noch weitere Verbreitung fanden die Methoden der optischen Einzelmolekül-Detektion, als festgestellt wurde, dass auch mit konfokaler Mikroskopie einzelne Moleküle beobachtet werden können [1.14]-[1.17]. In den letzten Jahren sind eben-

¹ Das Akronym steht für die englische Bezeichnung *Scanning Tunneling Microscope*.

² Das Akronym steht für die englische Bezeichnung *Atomic Force Microscope*.

falls einige Übersichtsartikel erschienen, die die große Breite der Anwendungen und Entwicklungen zeigen [1.18]-[1.25].

1.1.2 Grundlagen

Hier soll nur eine kurze Einführung in die wichtigsten Grundlagen der Fluoreszenz-Spektroskopie gegeben werden. Eine ausführliche Darstellung findet man zum Beispiel bei Lakowicz [1.26].

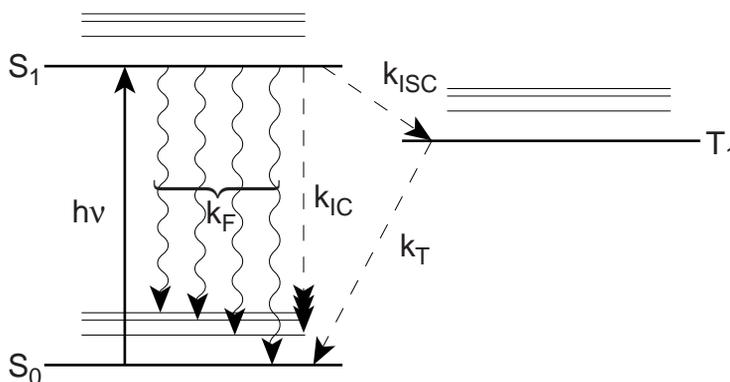


Abbildung 1.1. Schema der elektronischen Energieniveaus eines Moleküls (Jablonski-Diagramm). Das Schema zeigt den elektronischen Singulett-Grundzustand S_0 , den ersten angeregten Singulettzustand S_1 und den energetisch am niedrigsten liegenden Triplettzustand T_1 , sowie einige Vibrationsniveaus für alle elektronischen Zustände. Ein Laser pumpt den (0-0) Übergang mit der Energie $h\nu$. k_F ist die Fluoreszenzrate, k_{IC} die Rate der inneren Konversion, k_{ISC} die Übergangsrate vom Singulett- in den Triplettzustand und $k_T = (\tau_T)^{-1}$ die Triplett-Entvölkerungsrate, wobei τ_T die Triplett-Lebensdauer ist. Die wellenförmigen Pfeile zeigen Fluoreszenz-Übergänge, die aus dem vibronischen Grundzustand von S_1 in verschiedene vibronische Zustände von S_0 erfolgen.

In Abbildung 1.1 ist das Energieniveau-Schema eines Farbstoffmoleküls, das Jablonski-Diagramm, dargestellt. Durch Absorption eines Photons $h\nu$ des Anregungslichtes geht das Molekül von seinem elektronischen Singulett-Grundzustand¹ S_0 in den ersten elektronisch angeregten Singulettzustand S_1 über. Anregungen in höhere Vibrationsniveaus sind grundsätzlich möglich. Bei tiefer Temperatur werden meistens Systeme untersucht, bei denen der (0-0)-Übergang – also der Übergang in den vibronischen Grundzustand – sehr schmalbandig und stark absorbierend ist, der Übergang in höher angeregte vibronische Zustände jedoch breitbandig – da die Zustände an die Gitterschwingungen (Phononen) der Matrix gekoppelt sind – und bei schmalbandiger Anregung nur wenig absorbierend. Deshalb wird hier nur der (0-0)-Übergang besprochen. Anregung in energetisch höher liegende elektronische Niveaus sollen ebenfalls ausgeschlossen werden. Vom ersten elektronisch angeregten Zustand S_1 kann das Molekül innerhalb von Nanosekunden durch Aussenden eines Fluoreszenzphotons entsprechender Energie in einen vibronisch angeregten Zustand des elektronischen Grundzustandes S_0 übergehen. Unter strahlungsloser Abgabe der Kern-Schwingungsenergie gelangt das Molekül anschließend wieder in den Grundzustand. Die Fluoreszenz liegt damit bei einer größeren Wellenlänge als die Anregung, so dass sie im Experiment mit Farbfiltern vom Anregungslicht getrennt werden kann. Dies ist die Ursache für die hohe Empfindlichkeit der Fluoreszenz-Spektroskopie.

¹ Stabile Farbstoffmoleküle besitzen meistens eine gerade Anzahl von Elektronen. Im Grundzustand sind die Spins der Elektronen fast immer gepaart. Der Grundzustand ist damit ein Singulettzustand. Bei angeregten Zuständen kann der Spin des angeregten Elektrons antiparallel ($S = 0$, Singulett) oder parallel ($S = 1$, Triplett) zum Gesamtspin der übrigen Elektronen stehen.

Aus dem angeregten Zustand S_1 kann das Molekül auch strahlungslos durch Übergang in ein isoenergetisches vibronisches Niveau des elektronischen Grundzustandes und Abgabe der Kern-Schwingungsenergie an die Umgebung in den Grundzustand zurückkehren. Dieser Vorgang wird als *Internal Conversion* (IC) bezeichnet.

Eine dritte Möglichkeit ist der Übergang in den Triplettzustand T_1 (*Inter System Crossing*, ISC). Die Übergangsrates k_{ISC} in den Triplettzustand ist jedoch relativ klein, da der Übergang spinverboten ist. Aus dem Triplettzustand kann das Molekül strahlungslos oder unter Abgabe eines Phosphoreszenz-Photons in den Grundzustand zurückkehren. Da auch der Übergang $T_1 \rightarrow S_0$ spinverboten ist, hat der Triplettzustand eine deutlich längere Lebensdauer τ_T als der Singulettzustand. Typische Lebensdauern liegen im Bereich von Millisekunden bis Sekunden.

Ein für die Einzelmolekül-Spektroskopie geeignetes Molekül muss mit einer möglichst hohen Rate Fluoreszenzphotonen emittieren, damit sein Signal nicht im Untergrund verschwindet, und es muss sehr photostabil sein – dies ist bei tiefen Temperaturen meistens gegeben, ist aber für Raumtemperatur-Experimente von Bedeutung –. Das heißt, es muss einen großen Absorptions-Querschnitt und damit eine große Oszillatorstärke, eine kleine IC-Rate und eine kleine ISC-Rate haben. Eine kleine ISC-Rate ist besonders wichtig, da der Triplettzustand langlebig ist und das Molekül während der Zeit, in der es sich im Triplettzustand befindet, keine Fluoreszenzphotonen mehr aussenden kann.

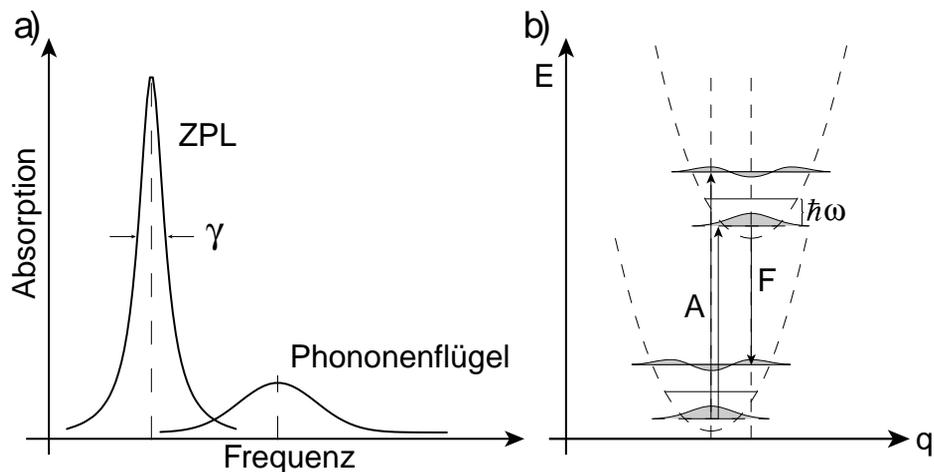


Abbildung 1.2. a) Schematische Darstellung des Absorptionsprofils des $S_1 \leftarrow S_0$ Übergangs eines einzelnen Moleküls bei tiefer Temperatur. Die schmalbandige Nullphononen-Linie ZPL liegt energetisch tiefer als der breitbandige Phononenflügel. Die Fläche unter der ZPL-Kurve ist bei schwacher Elektron-Phonon-Kopplung deutlich größer als die Fläche unter dem Phononenflügel. Die Breite des Phononenflügels ist ebenfalls nicht maßstäblich dargestellt. b) Energiediagramm zur Erklärung des Absorptionsprofils in Abhängigkeit von der Kernverschiebung q des angeregten Zustandes. Die Phononenfrequenz ist ω . Gezeigt ist ein Nullphononen- und einen Zweiphononen-Übergang in der Absorption (A) und ein Zweiphononen-Übergang in der Fluoreszenz (F).

Im Folgenden soll noch etwas genauer auf spezielle Tieftemperatur-Eigenschaften eingegangen werden. Für die Tieftemperatur-Spektroskopie werden meistens Systeme mit schwacher Elektron-Phonon-Kopplung ausgewählt, weil sie eine sehr schmale Absorptionslinie zeigen und damit Experimente mit höchster spektraler Auflösung ermöglichen. Das Absorptionsprofil eines Moleküls mit schwacher Elektron-Phonon-Kopplung besteht bei tiefer Temperatur aus einer sehr schmalbandigen ($\gamma \approx 10^{-3} \text{ cm}^{-1}$), stark absorbierenden (Absorptionsquerschnitt

$\sigma \approx 10^4 \text{ nm}^2$) Nullphononen-Linie ZPL¹ vom rein elektronischen Übergang und einem breiten Phononenflügel, der durch zusätzliche Anregung von Phononen oder lokalen Gitterschwingungen entsteht (siehe Abbildung 1.2a, [1.27] und [1.28]). Der rein elektronische Übergang wird deshalb schmalbandig, weil es wegen der tiefen Temperatur kaum Störungen durch die Umgebung gibt. Bei gewissen Molekül/Festkörper-Kombinationen ist die Breite γ der ZPL nur durch die Lebensdauer τ_{S1} des angeregten Zustandes bedingt, es besteht also praktisch keine Kopplung an die Umgebung.

Die Abhängigkeit des Absorptionsprofils von der Anregungs-Wellenlänge lässt sich mit dem Frank-Condon Prinzip erklären. Die Gleichgewichts-Geometrien eines Moleküls im Grundzustand und im angeregten Zustand stimmen nicht überein, da durch die elektronische Anregung Bindungen gelockert werden. Die Minima der Potenzialkurven liegen deshalb bei vielen Molekülen bei unterschiedlichen Kernabständen q , wie Abbildung 1.2b zeigt. Der Elektronenübergang ($\sim 10^{-15} \text{ s}$) erfolgt im Vergleich zu den Schwingungen der trägen Atomkerne ($\sim 10^{-12} \text{ s}$) so schnell, dass sich der Abstand zwischen den Kernen während des Übergangs kaum ändert. Nach dem Franck-Condon-Prinzip erfolgen die Elektronen-Übergänge bei der Anregung „senkrecht“, also bei konstantem q . Für den Absorptions-Querschnitt bedeutet dies, dass Übergänge zwischen vibronischen Grund- und Anregungs-Zuständen dann am wahrscheinlichsten sind, wenn die Wellenfunktionen am meisten überlappen. Alle anderen Übergänge haben eine geringere Intensität.

Moleküle, die bei tiefer Temperatur eine spektral sehr schmale ZPL zeigen haben eine minimale Verschiebung q zwischen Grund- und Anregungs-Zuständen. Deshalb haben sie eine maximale Überlappung der Wellenfunktionen für die Phononen-Grundzustände und nur einen geringen Überlapp für höher angeregte phononische Niveaus. Dies erzeugt die im Verhältnis zum Phononenflügel sehr intensive ZPL.

Durch unterschiedliche lokale Umgebungen der Farbstoff-Moleküle im Festkörper entsteht eine Verteilung der Übergangsfrequenzen des (0-0)-Übergangs. Diese wird als inhomogene Verbreiterung bezeichnet. Die inhomogene Verbreiterung ist folglich in einem amorphen Festkörper größer als in einem Kristall, der durch die hohe Ordnung nur eine begrenzte Anzahl von verschiedenen lokalen Umgebungen für das Farbstoff-Molekül aufweist. Die inhomogen verbreiterte Absorptionsbande ist für Moleküle mit schmaler ZPL um einige Größenordnungen breiter als die ZPL, was eine spektrale Selektion mit einem schmalbandigen Farbstofflaser ermöglicht.

Um die Fluoreszenz *einzelner* Moleküle in einem Festkörper überhaupt sehen zu können, dürfen sie nur in großer Verdünnung vorhanden sein, damit nur ein einzelnes angeregt werden kann. Um die Zahl der Moleküle, die angeregt werden können, einzuschränken, wird das Anregungslicht stark fokussiert und damit das Probenvolumen verkleinert. Mit fernfeldoptischen Methoden sind Probenvolumina zwischen etwa $100 \mu\text{m}^3$ und $1 \mu\text{m}^3$ gebräuchlich. Mit nahfeld-optischen Methoden lässt sich das Probenvolumen etwa um weitere drei Größenordnungen reduzieren. Bei tiefer Temperatur ist zusätzlich eine spektrale Selektion über die Anregungs-Wellenlänge möglich, so dass die Konzentration der Moleküle etwa 10^{-7} mol/l betragen kann.

¹ Das Akronym steht für die englische Bezeichnung *Zero Phonon Line*.

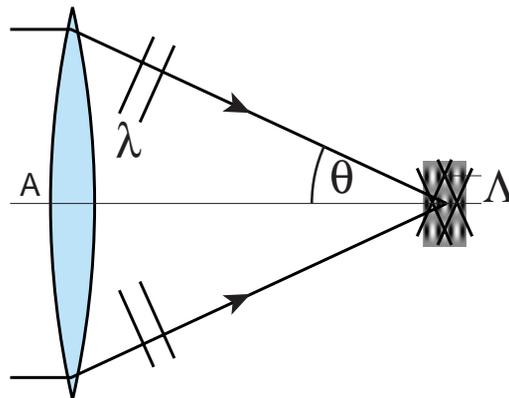


Abbildung 1.3. Überlagerung zweier ebener Wellen gleicher Wellenlänge λ mit halbem Öffnungswinkel θ . Im Überlagerungsgebiet zeigt die Intensität quer zur Achse eine räumlich und zeitlich periodische Struktur mit der räumlichen Periode Λ . Das unterlegte Bild im Fokus zeigt die Intensitätsverteilung, die mit der Zeit nach rechts läuft.

1.2 Konfokale Mikroskopie

1.2.1 Beugungsgrenze

Die klassischen Methoden in der Mikroskopie haben eine durch die Wellennatur des Lichts verursachte begrenzte räumliche Auflösung. Das Entstehen dieser Beugungsgrenze soll nun im folgenden kurz erklärt werden¹.

Dazu werden zuerst zwei ebene Wellen gleicher Wellenlänge λ_0 betrachtet, die sich unter einem halben Öffnungswinkel θ überlagern, wie in Abbildung 1.3 dargestellt ist. Im Überlagerungsgebiet zeigt die Intensität quer zur Achse A eine räumlich und zeitlich periodische Struktur mit einer räumlichen Periode Λ . Mit der Zeit läuft diese Intensitätsverteilung in Richtung der Achse A weiter. In einer fest stehenden Ebene quer zur Achse entsteht somit eine stehende Welle. Die Periode Λ kann leicht aus dem halben Öffnungswinkel θ und der Wellenlänge $\lambda = \lambda_0/n$, wobei n der Brechungsindex im Überlagerungsgebiet der Wellen ist, berechnet werden. Es gilt:

$$\Lambda = \frac{\lambda_0/2}{n \sin \theta}. \quad (1.1)$$

Wenn nicht nur zwei ebene Wellen überlagert werden, sondern, wie das beim Fokussieren mit einer Linse üblich ist, eine Kugelwelle auf den Fokus zuläuft, so kann dieses Problem ähnlich angegangen werden. Gemäß dem Huygensschen Prinzip ist die Kugelwelle, die durch die Linse gebildet wird, die Einhüllende von vielen schwachen Kugelwellen, sogenannten Elementarwellen, die von jedem Punkt auf der Linse ausgehen. In einem Gebiet um den Fokus der Linse können diese Elementarwellen als ebene Wellen aufgefasst werden, solange die Brennweite f der Linse viel größer ist als die Wellenlänge λ , und das Gebiet um den Fokus viel kleiner ist als f . Die einlaufende Kugelwelle wird also in ebene Wellen zerlegt, die aus verschiedenen Winkeln θ auf den Fokus zulaufen². Werden immer zwei zusammengefasst, wie in Abbildung 1.3, so bilden diese in der fokalen Ebene jeweils stehende Wellen mit unterschiedlicher Periode Λ . Überlagert man nun alle, so interferieren sie *im* Fokus konstruktiv, da alle Anteile hier die gleiche Phase haben. Weit weg vom Fokus interferieren sie destruktiv wegen der verschiedenen Perioden Λ . Der Durchmesser des Interferenzmaximums im Fokus

¹ Eine mathematische Herleitung der Beugungsgrenze ist in Abschnitt 2.4.1 zu finden.

² Diese Zerlegung entspricht der Debye-Näherung [1.29].

ist abhängig vom halben Öffnungswinkel θ_{max} des Objektivs und von der Wellenlänge λ_0 des Lichts. Er wird etwas größer sein, als die nach Gleichung (1.1) für θ_{max} berechnete Periode, da dies die kürzeste Periode ist. Die anderen Paare ebener Wellen mit $\theta < \theta_{max}$ erzeugen eine längere Periode. Eine exakte Berechnung ergibt für den *Radius* r des Interferenzmaximums bis zum ersten Minimum [1.30]

$$r = 1,22 \frac{\lambda_0 / 2}{n \sin \theta_{max}}, \quad (1.2)$$

ist also um den Faktor 2,44 größer. Die Größe $n \sin \theta_{max}$ wird als numerische Apertur *NA* der Linse bezeichnet. Sie bestimmt zusammen mit der Wellenlänge die erreichbare Auflösung.

Die Beugungsgrenze ist mit klassischer Weitfeld-Mikroskopie aber schwer zu erreichen. Da die ganze Probe gleichmäßig beleuchtet wird, ist in der Bildebene des Mikroskops nicht nur Licht aus der fokalen Ebene in der Probe vorhanden sondern auch Licht aus Bereichen darüber und darunter. Dies verursacht ein starkes Hintergrundsignal und damit einen geringen Kontrast und führt zu einer reduzierten Auflösung. Dieses Problem wird durch die konfokale Mikroskopie gelöst, die im folgenden Abschnitt besprochen wird.

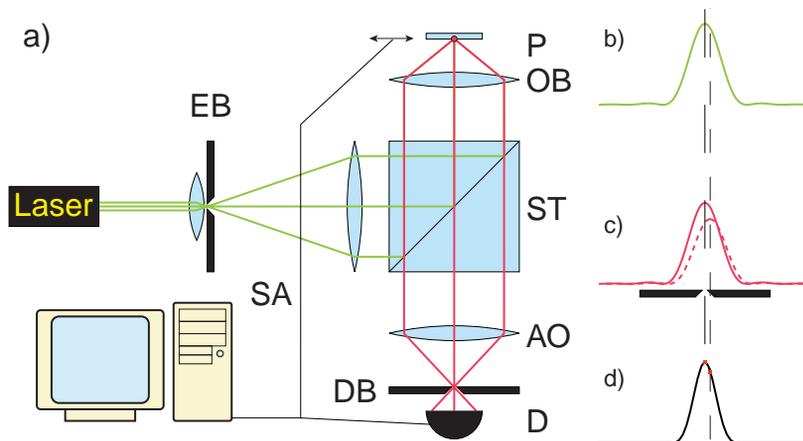


Abbildung 1.4. a) Aufbau eines konfokalen Mikroskops mit folgenden Komponenten: Laser, EB: Eintritts-Lochblende, SA: Strahlaufweiter, ST: Strahlteiler, OB: Objektiv, P: Probe, AO: Abbildungsobjektiv, DB: Detektor-Lochblende und D: Detektor. b) Intensitätsverteilung im Fokus, c) Intensitätsverteilung des Probenobjekts auf der Detektorblende und d) vom Detektor gemessene Intensitätsverteilung beim Bewegen des Probenobjekts durch den Fokus.

1.2.2 Aufbau eines konfokalen Mikroskops

Es gibt verschiedene Möglichkeiten ein konfokales Mikroskop aufzubauen [1.31]. Hier wird nur der Aufbau besprochen, der auch für das in Kapitel 3 besprochene Mikroskop benutzt wurde. Es ist ein Aufbau, der in Reflexion arbeitet und bei dem die Probe bewegt wird (siehe Abbildung 1.4).

Das Licht eines Lasers wird benutzt, um die Probe zu beleuchten. Es wird mit einem Strahlaufweiter mit Eintritts-Lochblende, die als Raumfilter dient, auf die Größe der Eintrittspupille des Objektivs aufgeweitet. Über einen Strahlteiler wird es zum Objektiv geleitet, das es auf die Probe fokussiert. Das von einem Probenobjekt gestreute¹ Licht wird vom selben Objektiv gesammelt und durch den Strahlteiler auf das Abbildungsobjektiv gelenkt. Das Abbildungsobjektiv fokussiert das Licht in die Ebene der Detektor-Lochblende, hinter der es von

¹ Streuung ist hier in einem weiteren Sinne zu verstehen: Elastische und inelastische Streuung, aber auch Fluoreszenz.

einem Detektor registriert wird. Eintritts- und Detektor-Lochblende werden so justiert, dass der Laserstrahl denselben Ort beleuchtet, den der Detektor durch Abbildungsobjektiv und Objektiv beobachtet, sie sind konfokal. So erhält man nur Information über diesen einen Objektpunkt. Um ein Bild zu erzeugen, wird nun die Probe rasterförmig durch den Laserfokus bewegt und für alle Punkte des Rasters die gemessene Intensität aufgezeichnet. Mit einem Rechner können die gemessenen Intensitätswerte wieder als Bild dargestellt werden.

Der Unterschied zu einem klassischen Reflexions-Mikroskop ist, dass nicht ein ganzes Bildfeld gleichzeitig abgebildet wird, sondern die Probe punktweise abgetastet wird. Die konfokale Methode hat folgende Vorteile:

(1) Die laterale Auflösung ist größer. Der Laserfokus in der Probe besitzt eine laterale beugungsbegrenzte Ausdehnung gemäß Gleichung (1.2) (siehe Abbildung 1.4b). Ein punktförmiges Probenobjekt erzeugt in der Detektorblenden-Ebene ebenfalls ein beugungsbegrenztes Bild (Airy-Muster, Abbildung 1.4c). Wenn der Durchmesser der Lochblende viel kleiner ist als der beugungsbegrenzte Durchmesser des Bildes, so kann dessen Profil durch Rastern der Probe genau ausgemessen werden. Da dabei aber der Objektpunkt durch die Intensitätsverteilung des Laserfokusses bewegt wird, wird eine Gewichtung der Intensitätsverteilung des Bildes mit der Anregungsintensität gemessen¹. Das vom Detektor gemessene Intensitätsprofil des Punktobjekts (Abbildung 1.4d) weist eine kleinere Breite auf, als das beugungsbegrenzte Profil in der Detektorblenden-Ebene. Die Auflösung kann gegenüber der klassischen Weitfeld-Mikroskopie um einen Faktor $\sqrt{2}$ verbessert werden [1.31].

(2) Die Tiefenauflösung ist größer. Wenn klassische Weitfeld-Mikroskopie benutzt wird, ist die Probe in ihrer ganzen Dicke homogen ausgeleuchtet. Damit erzeugt jedes Punktobjekt unabhängig von seiner Lage in der Probe Streulicht, das in die Bildebene abgebildet wird. Je nach Lage des Objekts ist das Bild jedoch unscharf, das heißt es zeigt eine größere Breite und eine kleinere Maximalintensität in der Bildebene. Im konfokalen Mikroskop entsteht auch hier eine Faltung mit der Intensitätsverteilung des Laserfokusses, die eine wesentliche Vergrößerung der Tiefenauflösung bewirkt.

(3) Weil die Probe nur punktförmig beleuchtet wird und das Objekt ebenfalls nur punktförmig beobachtet wird, können größere Kontraste erreicht werden, da kein Streulicht von benachbarten Punkten der Intensität eines Bildpunktes überlagert ist. Diese starke Reduktion des Hintergrundsignals führt dazu, dass die Beugungsgrenze erreicht werden kann.

Für die Einzelmolekül-Detektion wird der Detektorblenden-Durchmesser in der Regel so groß gewählt, dass etwa 84 % des mit dem Objektiv von einem Molekül gesammelten Lichts vom Detektor registriert werden². Man verliert dabei jedoch etwas an Auflösung, erreicht aber eine wesentlich höhere Detektionseffizienz (siehe dazu auch [1.32]).

Eine ausführliche Abhandlung über die konfokale Mikroskopie kann zum Beispiel in [1.31] gefunden werden.

1.2.3 Methoden zur Steigerung der Auflösung

Die klassischen Methoden der Mikroskopie sind in ihrer maximalen räumlichen Auflösung durch Beugungserscheinungen beschränkt. Für viele Anwendungen ist aber eine Auflösung bis in den Bereich von einigen Nanometern, was der Größe einzelner Moleküle entspricht, wünschenswert. Dies kann erreicht werden, indem die Wellenlänge in den UV- oder Röntgenbereich verkürzt wird. Die höheren Energien dieser Strahlung können aber die Proben beschädigen. Der sichtbare Bereich des elektromagnetischen Spektrums ist zudem besonders interessant, da bei diesen Energien sehr viele elektronische Anregungen stattfinden. Es

¹ Für eine punktförmige Detektor-Lochblende erhält man gerade das Quadrat der Intensitätsverteilung im Fokus. Für größere Detektorblenden muss eine zusätzliche Faltung mit der Blendenfunktion berücksichtigt werden.

² Der Detektorblenden-Durchmesser entspricht dann dem Durchmesser der Airy-Scheibe, also dem Durchmesser des beugungsbegrenzten Fokusses bis zum ersten Minimum (siehe [1.30]).

ist also wünschenswert, die räumliche Auflösung mit sichtbarem Licht bis in den Nanometerbereich zu verbessern. Mit *klassischen* Fernfeld-Techniken ist das aber wegen der Beugungsgrenze, wie oben besprochen, nicht möglich.

Zur Steigerung der optischen Auflösung wurden in den letzten zehn Jahren verschiedene *neue* Fernfeld-Methoden entwickelt. Durch Verwendung nichtlinearer Prozesse, wie Zweiphotonen- oder Dreiphotonen-Absorption kann die Auflösung verbessert werden [1.33], [1.34], [1.32]. Die Antwort der Probe hängt in diesem Fall quadratisch oder kubisch von der Intensität ab. Die Anregungseffizienz ist also proportional zum Quadrat respektive zur dritten Potenz der beugungsbegrenzten Intensitätsverteilung im Fokus und hat damit eine kleinere Halbwertsbreite. Die Verwendung von zwei sich auf beiden Seiten der Probe gegenüber liegenden Objektiven, einem sogenannten 4Pi-Mikroskop, bringt ebenfalls eine Verbesserung der Auflösung, insbesondere in axialer Richtung [1.35]. Im Fokus entsteht eine stehende Welle, mit einer axialen Halbwertsbreite von etwa einer viertel Wellenlänge. Die Kombination von beiden Techniken sorgt für eine weitere Verbesserung [1.36]-[1.38]. Eine ausführlichere vergleichende Abhandlung über neue Konzepte zur Auflösungssteigerung mit Hilfe von einander entgegenlaufenden Wellen ist in [1.39], [1.40] zu finden. Ein anderer Weg ist die stimulierte Anregungslöschung STED¹ [1.41]-[1.44]: Hier wird mit einem ersten kurzen fokussierten Puls eine Besetzungsinversion der Farbstoffmoleküle, die sich im Fokus befinden, erzeugt. Ein zweiter Puls wird durch geeignete Phasenplatten vor dem Objektiv so geformt, dass die Intensität den geometrischen Fokus schalenförmig umschließt, im Fokus selbst aber ein Minimum aufweist. Der zweite Puls bringt die angeregten Moleküle zur stimulierten Emission, die nicht detektiert wird. Nur Moleküle in einem sehr engen Bereich um den geometrischen Fokus bleiben im angeregten Zustand, da der zweite Puls hier ein Intensitätsminimum aufweist. Die Fluoreszenz dieser Moleküle wird detektiert und liefert eine räumliche Auflösung von etwa 100 nm in allen Raumrichtungen [1.43].

Zur Auflösungssteigerung wurden nebst den oben erwähnten Fernfeld-Techniken auch sogenannte Nahfeld-Methoden entwickelt. Sie machen sich zunutze, dass ein einzelnes strahlendes Atom oder Molekül in seiner nächsten Umgebung sehr wohl eine Feldverteilung erzeugt, die deutlich stärker lokalisiert ist als auf einen Bereich von etwa einer halben Wellenlänge. Diese Lokalisierung wird durch die Nahfeld-Anteile verursacht². Die Beugungsgrenze kann also überwunden werden, indem im Nahfeld einer Strahlungsquelle gearbeitet wird. Es gibt verschiedene Ansätze, dies zu tun, die im Folgenden genauer besprochen werden.

1.3 Nahfeld-Mikroskopie

1.3.1 Methoden der Nahfeld-Erzeugung

Allen Methoden gemeinsam ist, dass entweder eine Nahfeld-Quelle oder ein Nahfeld-Detektor die Probe rasterförmig abtastet und ein Bild Punkt für Punkt aufgezeichnet wird, wie in der konfokalen Mikroskopie. Ebenfalls gemeinsam ist ihnen, dass nur Oberflächen von Festkörpern untersucht werden können, da die Nahfeld-Quelle oder der Nahfeld-Detektor an den Probenort gebracht werden muss.

1.3.1.1 Nahfelderzeugung

Aperturmethode

Ein winzig kleines Loch ($\emptyset < \lambda$) in einem Metallschirm, der mit Licht beleuchtet wird, wird sehr nahe an die Probe ($d < \lambda$) gebracht (siehe Abbildung 1.5a). Damit wird im Nahfeld des

¹ Das Akronym steht für den englischen Begriff *Stimulated Emission Depletion*.

² Siehe auch Abschnitt 2.4.1.

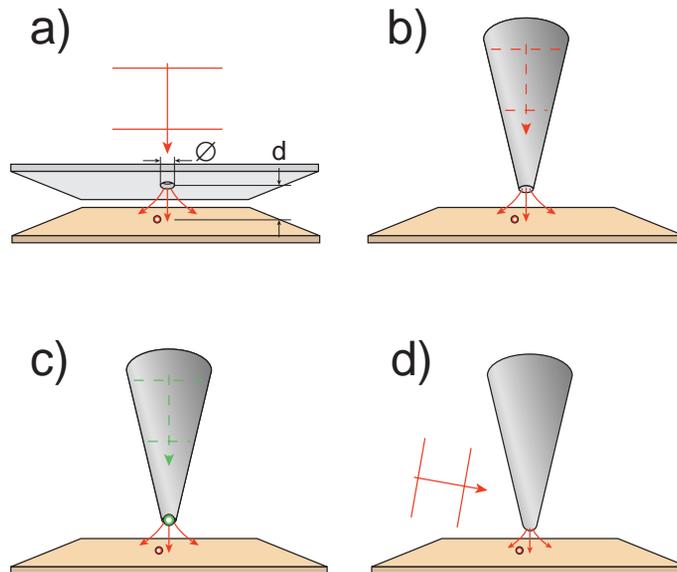


Abbildung 1.5. Schematische Darstellung verschiedener nahfeld-optischer Methoden. a) Metallschirm mit Loch (nach Syngé, [1.45]), b) seitlich mit Metall beschichtete Glasfaser-Spitze mit Loch am Ende [1.49], c) einzelnes leuchtendes Molekül an der Spitze einer beleuchteten Glasfaser [1.53] und d) Feldverstärkung an einer Metallspitze [1.59].

Loches gearbeitet. Diese Idee stammt von Syngé und wurde 1928 publiziert [1.45]. Damals konnte sie allerdings technisch nicht umgesetzt werden. 1972 ist es Ash und Nicholls gelungen, das Prinzip mit Mikrowellen umzusetzen [1.46]. Pohl [1.47] und Lewis [1.48] ist es 1984 erstmals gelungen, diese Idee mit sichtbarem Licht umzusetzen. Pohl verwendete dazu allerdings kein Loch in einem Metallschirm, sondern eine metallbeschichtete Quarzpyramide mit einem kleinen Loch an der Pyramidenspitze. Heute sind Spitzen gebräuchlich, die aus Glasfasern nach einem Verfahren, das auf Betzig zurückgeht [1.49], hergestellt werden (siehe Abbildung 1.5b). Dazu werden Glasfasern erhitzt und zu scharfen Spitzen ausgezogen, deren Abrissfläche einen Durchmesser von etwa 100 nm hat. In ihnen kann Licht bis zur Spitze gelangen. Damit das Licht nicht seitlich als evaneszentes Feld aus dem Glaskörper austritt, wird die Glasfaser von der Seite mit Metall bedampft. Dies ist die zur Zeit am weitesten verbreitete Methode der Nahfeldoptik¹ mit Aperturspitzen, mit denen eine räumliche Auflösung von etwa 50 nm erreicht werden kann². Mittlerweile sind auch mikrofabrizierte Spitzen hergestellt worden, die eine Auflösung bis etwa 30 nm erreichen [1.50]. Eine Übersicht über die Aperturmethode kann bei Hecht et al. gefunden werden [1.23].

Diese Methode wird auch als Nahfeld-Sammelmethode benutzt³, indem die Spitze nicht zum Beleuchten benutzt wird, sondern zum Detektieren. Die Spitze wird dabei ins Nahfeld einer Quelle gebracht und misst die lokale Intensität mit einer räumlichen Auflösung unterhalb der Beugungsgrenze [1.51], [1.52].

¹ Nahfeldoptik wird meistens mit dem aus dem englischen stammenden Akronym SNOM oder NSOM (*Scanning Near-field Optical Microscopy*) bezeichnet.

² Die erreichbare Auflösung wird kleiner als der Durchmesser der Abrissfläche, da beim Bedampfen das Metall über die Abrisskante in die Aperturfläche hinein wächst.

³ Die Methode wird dann als *Photon Scanning Tunneling Microscopy* (PSTM) oder *Scanning Tunneling Optical Microscopy* (STOM) bezeichnet.

Molekülmethode

Statt eines Lochs in einem Schirm kann auch ein einzelnes leuchtendes Molekül oder Atom benutzt werden, das in unmittelbarer Nähe über der Probe gehalten wird (Abbildung 1.5c). In diesem Fall wird das Nahfeld des Moleküls zur Verbesserung der Auflösung benutzt. Dieser Ansatz wurde 2000 erstmals von Sandoghdar umgesetzt [1.53]. Er benutzte ein Terrylen-Molekül in einem *p*-Terphenylkristall, der an einer Nahfeld-Aperturspitze befestigt war. Das Molekül wurde bei tiefer Temperatur durch die Nahfeldspitze schmalbandig zur Fluoreszenz angeregt, und das Fluoreszenzlicht wurde für die eigentliche Messung benutzt. Heckl und Mitarbeiter haben bereits 1995 ein ähnliches Prinzip umgesetzt, das einen Nanokristall aus lumineszierendem porösem Silizium am Ende einer Spitze als Lichtquelle benutzt [1.54]. Diese Methoden sind allerdings noch nicht verbreitet.

Feldverstärkung

Eine weitere Möglichkeit ein Nahfeld zu erzeugen, besteht darin, eine Metallspitze oder ein anderes kleines Metallpartikel in den Fokus eines Laserstrahls zu bringen (Abbildung 1.5d). Die Spitze oder das Metallpartikel wirken dann als Antenne, die wiederum ein Nahfeld erzeugt, das lokal deutlich stärker ist als das eingestrahlte Feld. Es entsteht eine Feldverstärkung durch den Spitzeneffekt. Damit gelingt es ebenfalls, eine stärkere Konzentration des Feldes zu erreichen. Das Problem bei dieser Methode ist, dass das Feld zwar ein intensives, stark lokalisiertes Maximum hat, aber trotzdem im ganzen fokalen Volumen Intensität vorhanden ist, die ein großes Hintergrundsignal verursachen kann. Es gibt aber mittlerweile eine ganze Reihe von Arbeiten zu dieser Methode [1.55]-[1.77]. Zur Unterdrückung des Hintergrunds wurden verschiedene Lock-In-Techniken oder nichtlineare Prozesse benutzt.

1.3.2 Aufbau eines Nahfeld-Mikroskops

Der Aufbau eines Nahfeld-Mikroskops soll hier anhand eines Apertur-Nahfeld-Mikroskops besprochen werden (siehe Abbildung 1.6a). Der Aufbau für die anderen Methoden ist sehr ähnlich und wird hier nicht gesondert erklärt.

Das Licht eines Lasers wird in eine Glasfaser eingekoppelt, an deren Ende sich die Nahfeld-Spitze befindet. Mit dieser wird die Probe beleuchtet. Das von einem Probenobjekt gestreute Licht wird von einem Objektiv mit großem Öffnungswinkel θ gesammelt und in die Ebene der Detektor-Lochblende fokussiert, hinter der es von einem Detektor registriert wird. Die Detektor-Lochblende wird hier so justiert, dass die Nahfeldspitze denselben Ort beleuchtet, den der Detektor durch das Objektiv beobachtet. Das Sammeln von Licht, das die Probe unter großem Winkel θ verlässt, ist für die Auflösung und den Kontrast der entstehenden Bilder von großer Bedeutung [1.78]. Auch hier wird ein konfokaler Aufbau zur Unterdrückung von Streulicht gewählt.

Der Unterschied zum konfokalen Mikroskop ist, dass die Probe nicht mit einem Objektiv beleuchtet wird, sondern mit einer Nahfeldspitze, deren Feldverteilung eine räumliche Ausdehnung hat, die kleiner ist als die beugungsbegrenzte Fokusgröße des konfokalen Mikroskops (siehe Abbildung 1.6b). Auch hier ist das vom Detektor gemessene Intensitätsprofil (Abbildung 1.6d) eine Gewichtung des Bildes des Objekts auf der Detektorblende (Abbildung 1.6c) mit dem Intensitätsprofil des Nahfelds¹.

Die Tiefenauflösung des Nahfeld-Mikroskops ist ebenfalls besser, da das Nahfeld der Spitze auch in axialer Richtung eng begrenzt ist [1.79]. Allerdings können nur Oberflächen untersucht werden, wie schon erwähnt wurde.

¹ Da in der Nahfeld-Mikroskopie in der Regel wenig Licht vorhanden ist, wird die Detektor-Lochblende so groß gewählt wie die Airy-Scheibe des Bildes, so dass hier zusätzlich die Faltung mit der Blendenfunktion berücksichtigt werden muss.

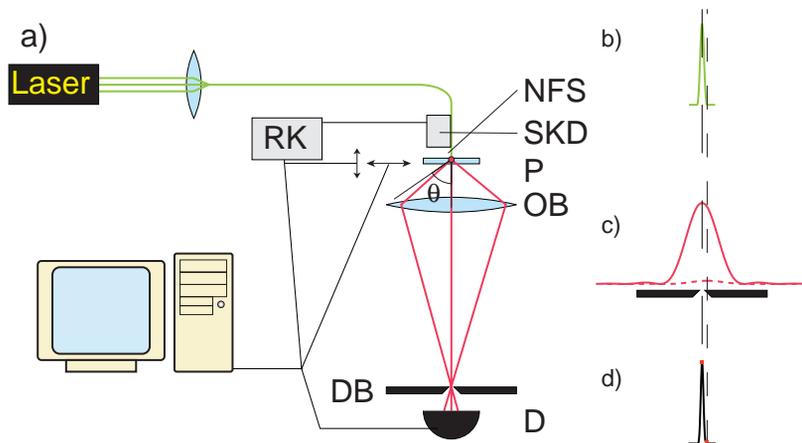


Abbildung 1.6. a) Aufbau eines nahfeld-optischen Mikroskops mit folgenden Komponenten: Laser, NFS: Nahfeldspitze, P: Probe, SKD: Scherkräft-Detektion, RK: Regelkreis, der den Abstand Spitze-Probe konstant hält, OB: Objektiv, DB: Detektor-Lochblende und D: Detektor. b) Intensitätsverteilung des Probenobjekts auf der Detektorblende und d) vom Detektor gemessene Intensitätsverteilung beim Bewegen des Probenobjekts unter der Spitze.

Scherkraft-Regelung

Um das Nahfeld nutzen zu können, muss die Nahfeld-Quelle in einen Abstand d zur Probe gebracht werden, der deutlich kleiner ist als die Wellenlänge λ des verwendeten Lichts. Sie darf auch nicht in die Probe eindringen, da sonst die Probe oder die Spitze beschädigt werden können. Sie muss also in einem konstanten Abstand d zur Probe gehalten werden. Zu diesem Zweck wird heute fast ausschließlich folgende Methode verwendet: Die Nahfeld-Spitze wird quer zur Probe in Schwingung versetzt. Beim Annähern an die Probe treten in einem Abstand von etwa 20 nm Scherkräfte auf, die die Schwingung der Spitze dämpfen. Durch Messung und Regelung der Schwingungs-Amplitude oder der Phase gegenüber dem Anregungssignal kann der Abstand zwischen Spitze und Probe bei etwa 5 bis 10 nm konstant gehalten werden¹. Es sei hier noch angemerkt, dass die Scherkräft-Methode stark der Nichtkontakt-Rasterkraftmikroskopie gleicht.

Zur Messung der Schwingungsamplitude der Spitze wurden verschiedene Verfahren entwickelt [1.80]–[1.88]. Sehr gebräuchlich ist es, Modulationen des Streulichts eines auf die Spitze fokussierten Laserstrahls bei der Anregungsfrequenz der Spitze zu messen [1.80], [1.81]. Eine mittlerweile ebenfalls weit verbreitete Methode besteht darin, die Spitze auf eine Quarz-Stimmgabel zu kleben, wie sie für Uhren benutzt wird, und die Stimmgabel mit einem Piezo in Resonanz zum Schwingen anzuregen. Die durch die mechanische Schwingung der Quarz-Stimmgabel induzierten Spannungen an den Stimmgabel-Elektroden sind ein Maß für die Amplitude [1.83]. Der Vorteil dieser Methode ist, dass sie keine weiteren Lichtquellen benötigt und dass sie sehr kompakt aufgebaut werden kann.

Als Nebenprodukt der Abstandsregelung entsteht ein Topographiebild der Probenoberfläche, das zusätzliche Information liefert. Die Topographie der Probenoberfläche kann aber auch auf das optische Signal übersprechen, insbesondere wenn transmittiertes oder reflektiertes Licht untersucht werden sollen. Dieses Übersprechen der Topographie kann zu Fehlinterpretationen führen, wie in [1.89] ausführlich besprochen wird. Für die Untersuchung der Fluoreszenz einzelner Moleküle sind diese Störungen jedoch nicht so gravierend, da die Moleküle in der Regel in ein Probenmaterial eingebettet werden können, das sehr eben ist.

¹ Wenn jedoch unterschiedliche Materialien an der Probenoberfläche unterschiedliche Scherkräfte hervorrufen, bleibt der Abstand nicht wirklich konstant.

1.4 Literaturverzeichnis

- [1.1] M. A. Lantz, H. J. Hug, R. Hoffmann, P. J. A. van Schendel, P. Kappenberger, S. Martin, A. Baratoff, H.-J. Güntherodt, "Quantitative measurement of short-range chemical bonding forces," *Science* **291**, 2580-2583 (2001).
- [1.2] F. Oesterhelt, D. Oesterhelt, M. Pfeiffer, A. Engel, H. E. Gaub und D. J. Müller, "Unfolding pathways of individual bacteriorhodopsins," *Science* **288**, 143-146 (2000).
- [1.3] H. J. Kimble, M. Dagenais und L. Mandel, "Photon antibunching in resonance fluorescence," *Phys. Rev. Lett.* **39**, 691-695 (1977).
- [1.4] W. Neuhauser, M. Hohenstatt, P. E. Toschek und H. Demelt, "Localized visible Ba⁺ mono-ion oscillator," *Phys. Rev. A* **22**, 1137-1141 (1980).
- [1.5] F. Diedrich und H. Walter, "Nonclassical radiation from a single stored ion," *Phys. Rev. Lett.* **58**, 203-206 (1980).
- [1.6] E. B. Shera, N. K. Seitzinger, L. M. Davis, R. A. Keller und S. A. Soper, "Detection of single fluorescent molecules", *Chem. Phys. Lett.* **174**, 553-557 (1990).
- [1.7] W. E. Moerner und L. Kador, "Optical detection and spectroscopy of single molecules in a solid," *Phys. Rev. Lett.* **62**, 2535-2538 (1989).
- [1.8] M. Orrit und J. Bernard, "Single pentacene molecules detected by fluorescence excitation in a *p*-terphenyl crystal," *Phys. Rev. Lett.* **65**, 2716-2718 (1990).
- [1.9] W. E. Moerner und T. Basché, "Optical spectroscopy of single impurity molecules in solids," *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **32**, 457-476 (1993).
- [1.10] W. E. Moerner, "High-resolution optical spectroscopy of single molecules in solids," *Acc. Chem. Res.* **29**, 563-571 (1996).
- [1.11] E. Geva, P. D. Reilly und J. L. Skinner, "Spectral dynamics of individual molecules in glasses and crystals," *Acc. Chem. Res.* **29**, 579-584 (1996).
- [1.12] T. Plakhotnik, E. A. Donley und U. P. Wild, "Single-molecule spectroscopy," *Annu. Rev. Phys. Chem.* **48**, 181-212 (1997).
- [1.13] E. Betzig und R. J. Chichester, "Single molecules observed by near-field scanning optical microscopy," *Science* **262**, 1422-1425 (1993).
- [1.14] S. Nie, D. T. Chiu und R. N. Zare, "Probing individual molecules with confocal fluorescence microscopy," *Science* **266**, 1018-1021 (1994).
- [1.15] J. K. Trautman und J. J. Macklin, "Time-resolved spectroscopy of single molecules using near-field and far-field optics," *Chem. Phys.* **205**, 221-229 (1996).
- [1.16] T. Funatsu, Y. Harada, M. Tokunaga, K. Saito und T. Yanagida, "Imaging of single fluorescent molecules and individual ATP turnovers by single myosin molecules in aqueous solution," *Nature* **374**, 555-559 (1995).
- [1.17] J. J. Macklin, J. K. Trautman, T. D. Harris und L. E. Brus, "Imaging and time-resolved spectroscopy of single molecules at an interface," *Science* **272**, 255-258 (1996).
- [1.18] X. S. Xie, "Single-molecule spectroscopy and dynamics at room temperature," *Acc. Chem. Res.* **29**, 598-606 (1996).
- [1.19] P. M. Goodwin, W. P. Ambrose und R. A. Keller, "Single molecule detection in liquids by laser-induced fluorescence," *Acc. Chem. Res.* **29**, 607-613 (1996).
- [1.20] X. S. Xie und J. K. Trautman, "Optical studies of single molecules at room temperature," *Annu. Rev. Phys. Chem.* **49**, 441-480 (1998).
- [1.21] W. E. Moerner und M. Orrit, "Illuminating single molecules in condensed matter," *Science* **283**, 1670-1676 (1999).
- [1.22] S. Weiss, "Fluorescence spectroscopy of single biomolecules," *Science* **283**, 1676-1683 (1999).
- [1.23] B. Hecht, B. Sick, U. P. Wild, V. Deckert, R. Zenobi, O. J. F. Martin und D. W. Pohl, "Scanning near-field optical microscopy with aperture probes: Fundamentals and applications," *J. Chem. Phys.* **112**, 7761-7774 (2000).
- [1.24] P. Tamarat, F. Jelezko, C. Brunel, A. Maali, B. Lounis und M. Orrit, "Non-linear optical response of single molecules," *Chem. Phys.* **245**, 121-132 (1999).
- [1.25] P. Tamarat, A. Maali, B. Lounis und M. Orrit, "Ten years of single-molecule spectroscopy," *J. Phys. Chem. A* **104**, 1-16 (2000).
- [1.26] J. R. Lakowicz, *Principles of fluorescence spectroscopy*, 2nd edition, (Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, USA, 1999).
- [1.27] K. K. Rebane und L. A. Rebane, "Basic principles and methods of persistent spectral hole-burning," in *Persistent spectral hole-burning: Science and applications*, W. E. Moerner (Herausgeber), Topics in current physics **44**, 17-77 (Springer, Berlin, 1988).
- [1.28] D. Haarer, "Photochemical hole-burning in electronic transitions," in *Persistent spectral hole-burning: Science and applications*, W. E. Moerner (Herausgeber), Topics in current physics **44**, 79-125 (Springer, Berlin, 1988).
- [1.29] J. J. Stannnes, *Waves in focal regions*, (Hilger, Bristol, UK, 1986), Teil IV, Kapitel 12.

- [1.30] M. Born und E. Wolf, *Principles of Optics*, 7th edition, (Cambridge University Press, Cambridge, 1999), Kapitel 8.5.2.
- [1.31] T. Wilson and C. J. R. Sheppard, *Theory and Practice of Scanning Optical Microscopy*, (Academic Press, London, 1984).
- [1.32] P. D. Higdon, P. Török und T. Wilson, "Imaging properties of high aperture multiphoton fluorescence scanning optical microscopes," *J. Microsc.* **193**, 127-141 (1999).
- [1.33] W. Denk, J. H. Strickler und W. W. Webb, "Two-photon laser scanning fluorescence microscopy," *Science* **248**, 73-76 (1990).
- [1.34] S. W. Hell, K. Bahlmann, M. Schrader, A. Soini, H. Malak, I. Gryczynski und J. R. Lakowicz, "Three-photon excitation in fluorescence microscopy," *J. Biomed. Opt.* **1**, 71-74 (1996).
- [1.35] S. Hell und E. H. K. Stelzer, "Properties of a 4Pi confocal fluorescence microscope," *J. Opt. Soc. Am. A* **9**, 2159-2166 (1992).
- [1.36] S. Hell und E. H. K. Stelzer, "Fundamental improvement of resolution with a 4Pi-confocal fluorescence microscope using two-photon excitation," *Opt. Commun.* **93**, 277-282 (1992).
- [1.37] S. W. Hell, S. Lindek und E. H. K. Stelzer, "Enhancing the axial resolution in far-field light-microscopy -2-photon 4pi confocal fluorescence microscopy," *J. Mod. Opt.* **41**, 675-681 (1994).
- [1.38] S. W. Hell, M. Schrader und H. T. M. Van der Voort, "Far-field fluorescence microscopy with three-dimensional resolution in the 100-nm range," *J. Microsc.* **187**, 1-7 (1997).
- [1.39] M. Nagorni und S. W. Hell, "Coherent use of opposing lenses for axial resolution increase in fluorescence microscopy. I. Comparative study of concepts," *J. Opt. Soc. Am. A* **18**, 36-48 (2001).
- [1.40] M. Nagorni und S. W. Hell, "Coherent use of opposing lenses for axial resolution increase. II. Power and limitation of nonlinear image restoration," *J. Opt. Soc. Am. A* **18**, 49-54 (2001).
- [1.41] S. W. Hell und J. Wichmann, "Breaking the diffraction resolution limit by stimulated-emission - stimulated-emission-depletion fluorescence microscopy," *Opt. Lett.* **19**, 780-782 (1994).
- [1.42] T. A. Klar und S. W. Hell, "Subdiffraction resolution in far-field fluorescence microscopy," *Opt. Lett.* **24**, 954-956 (1999).
- [1.43] T. A. Klar, S. Jakobs, M. Dyba, A. Egner und S. W. Hell, "Fluorescence microscopy with diffraction resolution limit broken by stimulated emission," *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **97**, 8206-8210 (2000).
- [1.44] T. A. Klar, M. Dyba und S. W. Hell, "Stimulated emission depletion microscopy with an offset depleting beam," *Appl. Phys. Lett.* **78**, 393-395 (2001).
- [1.45] E. H. Syngé, "A suggested method for extending microscopic resolution into the ultra-microscopic region," *Phil. Mag.* **6**, 356-362 (1928).
- [1.46] E. A. Ash und G. Nicholls, "Super-resolution aperture scanning microscope," *Nature* **237**, 510-513 (1972).
- [1.47] D. W. Pohl, W. Denk und M. Lanz, "Optical stethoscopy: Image recording with resolution $\lambda/20$," *Appl. Phys. Lett.* **44**, 651-653 (1984).
- [1.48] A. Lewis, M. Isaacson, A. Harootunian, A. Murray, "Development of a 500 Å spatial resolution light microscope. I. Light is efficiently transmitted through $\lambda/16$ diameter apertures," *Ultramicroscopy* **13**, 227 - 231 (1984).
- [1.49] E. Betzig, J. K. Trautmann, T. D. Harris, J. S. Weiner und R. L. Kostelak, "Breaking the diffraction barrier: optical microscopy on a nanometric scale," *Science* **251**, 1468-1470 (1991).
- [1.50] R. Eckert, J. M. Freyland, H. Gersen, H. Heinzelmann, G. Schurmann, W. Noell, U. Stauffer, N. F. de Rooij, "Near-field fluorescence imaging with 32 nm resolution based on microfabricated cantilevered probes," *Appl. Phys. Lett.* **77**, 3695-3697 (2000).
- [1.51] D. Courjon, K. Sarayedine und M. Spajer, "Scanning tunneling optical microscopy," *Opt. Commun.* **71**, 23-28 (1989).
- [1.52] R. C. Reddick, R. J. Warmack und T. L. Ferrell, "New form of scanning optical microscopy," *Phys. Rev. B* **39**, 767-770 (1989).
- [1.53] J. Michaelis, C. Hettich, J. Mlynek und V. Sandoghdar, "Optical microscopy using a single-molecule light source," *Nature* **405**, 325-328 (2000).
- [1.54] H. Göttlich und W. M. Heckl, "A novel probe for near field optical microscopy based on luminescent silicon," *Ultramicroscopy* **61**, 145 - 153 (1995).
- [1.55] J. Wessel, "Surface-enhanced optical microscopy," *J. Opt. Soc. Am. B* **2**, 1538-1541 (1985).
- [1.56] U. C. Fischer und D. W. Pohl, "Observation of single-particle plasmons by near-field optical microscopy," *Phys. Rev. Lett.* **62**, 458 - 461 (1989).
- [1.57] W. Denk und D. W. Pohl, "Near-field optics: microscopy with nanometer-size fields," *J. Vac. Sci. Technol., B* **9**, 510-513 (1991).
- [1.58] M. Specht, J. D. Pedarnig, W. M. Heckl und T. W. Hänsch, "Scanning plasmon near-field microscope," *Phys. Rev. Lett.* **68**, 476 - 479 (1992).
- [1.59] S. Kawata und Y. Inoué, "Scanning probe optical microscopy using a metallic probe tip," *Ultramicroscopy* **57**, 313-317 (1995).
- [1.60] F. Zenhausern, M. P. O'Boyle und H. K. Wickramasinghe, "Apertureless near-field optical microscope," *Appl. Phys. Lett.* **65**, 1623-1625 (1994).
- [1.61] A. A. Gorbunov und W. Pompe, "Thin film nanoprocessing by laser/STM combination," *Phys. Status Solidi A* **145**, 333-338 (1994).

- [1.62] P. Gleyzes, A. C. Boccarda und R. Bachelot, "Near field optical microscopy using a metallic vibrating tip," *Ultramicroscopy* **57**, 318-322 (1995).
- [1.63] F. Zenhausern, Y. Martin und H. K. Wickramasinghe, "Scanning interferometric apertureless microscopy: optical imaging at 10 angstrom resolution," *Science* **269**, 1083-1085 (1995).
- [1.64] J. Jersch und K. Dickmann, "Nanostructure fabrication using laser field enhancement in the near field of a scanning tunneling microscope tip," *Appl. Phys. Lett.* **68**, 868-870 (1996).
- [1.65] A. Lareh, R. Bachelot, P. Gleyzes und A. C. Boccarda, "Infrared-reflection-mode near-field microscopy using an apertureless probe with a resolution of $\lambda/600$," *Opt. Lett.* **21**, 1315 - 1317 (1996).
- [1.66] F. Keilmann, D. W. van der Weide, T. Eickelkamp, R. Merz und D. Stöckle, "Extreme sub-wavelength resolution with a scanning radio-frequency transition microscope," *Opt. Commun.* **129**, 15 - 18 (1996).
- [1.67] O. J. F. Martin und Ch. Girard, "Controlling and tuning strong optical field gradients at a local probe microscope tip apex," *Appl. Phys. Lett.* **70**, 705-707 (1997).
- [1.68] L. Novotny, E. J. Sánchez und X. S. Xie, "Near-field optical imaging using metal tips illuminated by higher-order Hermite-Gaussian beams," *Ultramicroscopy* **71**, 21-29 (1998).
- [1.69] J. Jersch, F. Demming, L. J. Hildenhagen und K. Dickmann, "Field enhancement of optical radiation in the nearfield of scanning probe microscope tips," *Appl. Phys. A* **66**, 29-34 (1998).
- [1.70] A. V. Bragas, S. M. Landi und O. E. Martínez, "Laser field enhancement at the scanning tunneling microscope junction measured by optical rectification," *Appl. Phys. Lett.* **72**, 2075-2077 (1998).
- [1.71] H. F. Hamann, A. Gallagher und D. J. Nesbitt, "Enhanced sensitivity near-field scanning optical microscopy at high spatial resolution," *Appl. Phys. Lett.* **73**, 1469-1471 (1998).
- [1.72] E. J. Sánchez, L. Novotny und X. S. Xie, "Near-field fluorescence microscopy based on two-photon excitation with metal tips," *Phys. Rev. Lett.* **82**, 4014-4017 (1999).
- [1.73] T. Sugiura, S. Kawata und T. Okada, "Fluorescence imaging with a laser trapping scanning near-field optical microscopy," *J. Microsc.* **194**, 291-294 (1999).
- [1.74] V. Sandoghdar und J. Mlynek, "Prospects of apertureless SNOM with active probes," *J. Opt. A* **1**, 523-530 (1999).
- [1.75] B. Knoll und F. Keilmann, "Near-field probing of vibrational absorption for chemical microscopy," *Nature* **399**, 134-137 (1999).
- [1.76] Y. Kawata, C. Chu und W. Denk, "Feasibility of molecular-resolution fluorescence near-field microscopy using multi-photon absorption and field enhancement near a sharp tip," *J. Appl. Opt.* **85**, 1294 - 1301 (1999).
- [1.77] A. V. Zayats und V. Sandoghdar, "Apertureless scanning near-field second-harmonic microscopy," *Opt. Commun.* **178**, 245-249 (2000).
- [1.78] B. Hecht, *Forbidden light scanning near-field optical microscopy*, (Doktorarbeit, Universität Basel, 1996; Hartung-Gorre Verlag, Konstanz, 1996).
- [1.79] L. Novotny, D. W. Pohl und B. Hecht, "Light confinement in scanning near-field optical microscopy," *Ultramicroscopy* **61**, 1-9 (1995).
- [1.80] E. Betzig, P. L. Finn und J. S. Weiner, "Combined shear force and near-field scanning optical microscopy," *Appl. Phys. Lett.* **60**, 2484-2486 (1992).
- [1.81] R. Toledo-Crow, P. C. Yang, Y. Chen und M. Vaez-Iravani, "Near-field differential scanning optical microscope with atomic force regulation," *Appl. Phys. Lett.* **60**, 2957-2959 (1992).
- [1.82] E. Betzig, P. L. Finn und J. S. Weiner, "Combined shear force and near-field scanning optical microscopy," *Appl. Phys. Lett.* **60**, 2484-2486 (1992).
- [1.83] K. Karrai und R. D. Grober, "Piezoelectric tip-sample distance control for nearfield optical microscopes," *Appl. Phys. Lett.* **66**, 1842-1844 (1995).
- [1.84] G. Tarrach, M. A. Bopp, D. Zeisel und A. J. Meixner, "Design and construction of a versatile scanning near-field optical microscope for fluorescence imaging of single molecules," *Rev. Sci. Instrum.* **66**, 3569-3575 (1995).
- [1.85] B. Hecht, D. W. Pohl, H. Heinzlmann und L. Novotny, "'Tunnel' near-field optical microscopy: TNOM-2," in *Photons and local probes*, NATO ASI Series, Serie E, Vol. **300**, O. Marti und R. Möller (Herausgeber), (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Niederlande, 1995), Seite 93-107.
- [1.86] J.-K. Leong und C. C. Williams, "Shear force microscopy with capacitance detection for near-field scanning optical microscopy," *Appl. Phys. Lett.* **66**, 1432-1434 (1995).
- [1.87] R. Brunner, A. Bietsch, O. Hollricher und O. Marti, "Distance control in near-field optical microscopy with piezoelectrical shear-force detection suitable for imaging in liquids," *Rev. Sci. Instrum.* **68**, 1769-1772 (1997).
- [1.88] M. Pfeffer, P. Lambelet und F. Marquis-Weible, "Shear-force detection based on an external cavity laser interferometer for a compact scanning near-field optical microscope," *Rev. Sci. Instrum.* **68**, 4478-4482 (1997).
- [1.89] B. Hecht, H. Bielefeldt, Y. Inouye, D. W. Pohl und L. Novotny, "Facts and artifacts in near-field optical microscopy," *J. Appl. Phys.* **81**, 2492-2498 (1997).

2 PARABOLSPIEGEL-OPTIK¹

2.1 Einleitung

Das klassische fokussierende Element für die Mikroskopie ist das Mikroskop-Objektiv, das aus vielen Linsen aufgebaut ist und Licht durch Brechung an den Linsenoberflächen fokussiert. Es wird wegen des großen Sichtfeldes und der hervorragenden Auflösung benutzt, die man damit erreicht. Diese wird durch den hohen Grad an Korrekturen von Abbildungsfehlern gewonnen, der bei modernen Objektiven erreicht wird, und durch eine hohe numerische Apertur NA von bis zu 1,4 (mit einem Immersionsöl mit Brechungsindex 1,518) [2.2]. Bei Temperaturen von wenigen Kelvin können aber keine Immersions-Flüssigkeiten benutzt werden². Um trotzdem mit hoher numerischer Apertur arbeiten zu können, verwendet das Mikroskop, das in dieser Arbeit beschrieben wird, anstelle eines Objektivs einen Parabolspiegel mit einer numerischen Apertur von 0,998, der das Licht durch Reflexion fokussiert. Parabolspiegel mit *kleiner* numerischer Apertur sind sehr gebräuchlich im Teleskopbau (sowohl im Radiowellen-Bereich als auch im Sichtbaren) und auch in der Telekommunikation. Spiegel mit hoher numerischer Apertur wurden zwar als effiziente Sammeloptik in der Einzelmolekül-Spektroskopie [2.3]-[2.7] verwendet, als Abbildungssystem wurden sie jedoch gemieden, weil sie außerhalb der optischen Achse sehr schlechte Abbildungseigenschaften haben. Parabolspiegel fokussieren einen parallelen Strahl, der sich entlang der optischen Achse ausbreitet, auf einen Punkt. Dies gilt allerdings nur in der Näherung der geometrischen Optik. Im Rahmen dieser Näherung sind sie also ideal fokussierend. Der Nachteil ist, dass schon kleine Abweichungen der Ausbreitungsrichtung von der Spiegelachse oder der Parallelität des zu fokussierenden Strahles große Bildfehler erzeugen und damit das Bildfeld eng begrenzen.

Die konfokale Mikroskopie ist eine Punkt zu Punkt Abbildungstechnik und muss Aberrationen deshalb nur für *einen* Objektpunkt korrigieren. Diese Bedingung kann ein Parabolspiegel in einem konfokalen Mikroskop exakt erfüllen, indem die *Probe* rasterförmig bewegt wird und damit der Fokus auf der optischen Achse bleibt. Zudem lässt sich eine hohe numerische Apertur ohne chromatische Aberrationen mit vertretbarem Aufwand³ erreichen, da nur die Spiegelfläche den Strahl ablenkt und diese über einen weiten Spektralbereich hochreflektierend gemacht werden kann.

In diesem Kapitel sollen in einem ersten Teil für ein homogenes Medium die Fokussierungseigenschaften und die Einzelmolekül-Abbildungseigenschaften eines Parabolspiegels mit hoher numerischer Apertur für lineare und für radiale⁴ Polarisation untersucht und mit denen eines aplanatischen⁵ Objektivs verglichen werden. Es wird gezeigt werden, dass ein

¹ Teile dieses Kapitels sind in [2.1] publiziert worden.

² Als Immersions-Flüssigkeiten werden Wasser, Glycerin und spezielle Immersionsöle verwendet, deren Erstarungspunkt deutlich über den gewünschten tiefen Temperaturen von etwa 2 K liegt. Es gibt Möglichkeiten eine Festkörper-Immersion zu realisieren. Diese haben aber einen kleinen Sammelwinkel (siehe Abschnitt 3.1, [2.8], [2.9]) oder schlechte Abbildungs-Eigenschaften [2.10].

³ Um eine hohe numerische Apertur mit einem Mikroskopobjektiv zu erreichen, müssen die Abbildungsfehler der Linsen korrigiert werden, die bei größerer numerischer Apertur zunehmen. Dies führt zu Objektiven mit einer großen Anzahl von Einzellinsen (9 Einzellinsen, das heißt 18 Oberflächen, sind typisch für ein gut korrigiertes Objektiv [2.2]).

⁴ Bei radial polarisiertem Licht ist der elektrische Feldvektor bezüglich der optischen Achse immer radial orientiert [2.11].

⁵ Als *aplanatisch* bezeichnet man ein Objektiv, wenn es die sogenannte Abbe-Sinusbedingung erfüllt: $r = f \sin\theta$, wobei r der Abstand eines Strahls von der optischen Achse ist, bevor er vom Objektiv abgelenkt wird, f die

Parabolspiegel mit hoher numerischer Apertur, der mit radial polarisiertem Licht beleuchtet wird, im Fokus eine longitudinale elektrische Feldkomponente erzeugt, die etwa viermal stärker ist, als die in der Nähe des Fokusses ebenfalls vorhandenen transversalen Komponenten. Diese Eigenschaft ist interessant für alle Anwendungen, in denen eine longitudinale Feldkomponente wesentlich ist, zum Beispiel (1) für starke lokale Feldverstärkung an einer scharfen Metallspitze in der Nahfeldoptik [2.12]-[2.14], oder (2) für dreidimensional polarisationssensitive Spektroskopie an Nanopartikeln oder einzelnen Molekülen. Für die konfokale Abbildung eines Dipolstrahlers, wie zum Beispiel eines einzelnen Moleküls, erweist sich die Verwendung von radial polarisiertem Licht mit einer reduzierten Anregungsapertur als besonders geeignet, um einfach die dreidimensionale Orientierung des Übergangs-Dipolmoments zu bestimmen.

In einem zweiten Teil wird der Einfluss einer dielektrischen Grenzfläche, wie der Probenoberfläche, auf die Fokussier- und Einzelmolekül-Abbildungseigenschaften eines Parabolspiegels untersucht. Es zeigt sich, dass die starke longitudinale Feldkomponente oberhalb der Probenoberfläche erhalten bleibt, darunter aber wesentlich weniger ausgeprägt ist. Einzelne Dipolstrahler, die im Probenmaterial eingebettet sind, werden wegen der Totalreflexion eines Teils des Lichtes an der Probenoberfläche weniger effizient detektiert.

In einem dritten Teil wird der Einfluss einer in den Fokus gebrachten Metallspitze zur Erzeugung eines Nahfeldes und damit zur Auflösungssteigerung bis deutlich unterhalb der Beugungsgrenze diskutiert. Ein parabolischer Hohlspiegel, der mit radial polarisiertem Licht beleuchtet wird, ist dafür sehr geeignet. Einzelne Moleküle, die nahe an der Probenoberfläche liegen, können damit mit höchster Auflösung von etwa 15 nm abgebildet werden¹. Die dreidimensionale Orientierung ihres Übergangsdipolmoments kann auch mit dieser Methode noch bestimmt werden.

2.2 Homogenes Medium

2.2.1 Fokussierung

In diesem Abschnitt werden die Fokussier-Eigenschaften eines Parabolspiegels für linear und radial polarisiertes einfallendes Licht in einem homogenen Medium besprochen. Das im folgenden Kapitel besprochene Mikroskop benutzt jedoch einen parabolischen Metallspiegel, der das Licht auf eine Probe fokussiert. Der Fokus liegt also nicht in einem homogenen Medium sondern in der Nähe einer Grenzfläche. Die grundlegenden Unterschiede zwischen Parabolspiegel und Objektiv, sowie der Formalismus zur Berechnung der Feldverteilung in der Umgebung des Fokusses, sollen hier aber zuerst für ein homogenes Medium erläutert werden. Im folgenden Abschnitt 2.3 wird dann der Einfluss einer Grenzfläche diskutiert.

Der grundlegende Formalismus zur Behandlung von polarisiertem Licht in der Nähe des Fokusses eines optischen Systems mit großer Fresnelzahl² wurde 1959 von Wolf [2.15] und Richards und Wolf [2.16] beschrieben. Sie verwendeten dabei die Debye-Näherung [2.17], also eine Zerlegung des einfallenden elektromagnetischen Feldes in ein Winkelspektrum von

Brennweite und θ der Winkel, unter dem der Strahl auf den Fokus zuläuft, nachdem er vom Objektiv abgelenkt wurde (siehe auch Abbildung 2.1). Aplanatische Objektive haben die Eigenschaft, dass ein Lichtstrahl, der unter einem Winkel gegenüber der optischen Achse einfällt, lediglich an einer anderen Stelle fokussiert wird und in erster Näherung keine Abbildungsfehler die Bildgüte verschlechtern. Das aplanatische Objektiv ist ein theoretisches Konstrukt, wird für Berechnungen aber immer benutzt. Reale Objektive zeigen oft eher ein Verhalten gemäß der Tangensbedingung $r = f \tan\theta$ als gemäß der Sinusbedingung $r = f \sin\theta$, wie Sheppard in [2.49] erwähnt.

¹ Diese Grenze stellt noch keine theoretische Grenze dar. Sie ist bedingt durch den praktisch erreichbaren Radius der Spitze und den Abstand, mit dem die Spitze über der Probe gehalten werden kann.

² Die Fresnelzahl eines optischen Systems ist definiert als $N = r^2/\lambda z$, wobei r der Aperturradius, λ die Wellenlänge und z die fokale Länge ist. Die im Folgenden benutzte Debye-Näherung ist nur gültig für Systeme mit großer Fresnelzahl [2.17], da Anteile des Lichts, die an der Apertur gebeugt werden, vernachlässigt werden.

ebenen Wellen¹, betrachten das elektrische Feld aber als Vektorfeld. Die Anpassungen dieser Theorie für radial polarisiertes Licht werden in Referenz [2.11] behandelt. Grundlegende Arbeiten zur beugungsbegrenzten Fokussierung mit Parabolspiegeln wurden bereits 1920 von Ignatovsky publiziert [2.19]. Numerische Rechnungen für linear polarisierte ebene Wellen als Anregungslicht wurden von Sheppard [2.20] und ausführlicher von Barakat [2.21] veröffentlicht. Eine ganz neue Arbeit von Varga und Török behandelt Parabolspiegel mit beliebigen Öffnungswinkeln, insbesondere auch mit Öffnungswinkeln größer als 90° [2.22], [2.23].

Im Folgenden wird der Parabolspiegel mit einem aplanatischen Objektiv verglichen und die Besonderheiten des Spiegels werden herausgearbeitet. Abbildung 2.1 zeigt einen Parabolspiegel und ein aplanatisches Objektiv, die beide eine geometrische Apertur von $\sin\theta = 1,0$ haben. Hier ist zu bemerken, dass die Brennweite f_m des Spiegels nur halb so groß ist, wie die des Objektivs². Beide haben aber denselben Apertur-Durchmesser. Deshalb erreichen die Strahlen am Rand des Strahlenbündels beide den Fokus unter einem Winkel θ von 90° ³. Der Parabolspiegel lenkt einen Strahl, der einen Abstand r von der optischen Achse hat, zu einem großen Winkel θ_m um. Derselbe Strahl wird vom Objektiv so gebrochen, dass er den Fokus unter einem deutlich kleineren Winkel θ_o erreicht. Das bedeutet, dass wegen der Energieerhaltung im Parabolspiegel ein großer Teil der einfallenden Strahlung den Fokus unter großem Winkel erreicht, während das Gegenteil für das Objektiv gilt. Das hat deutlich erkennbare Konsequenzen, wie später gezeigt wird.

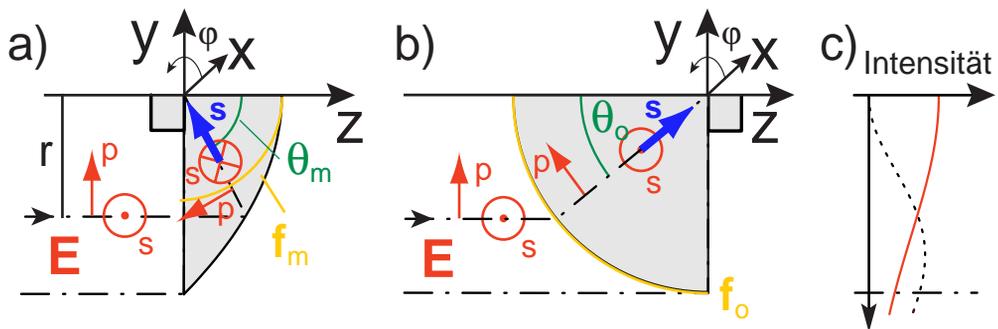


Abbildung 2.1: Geometrie der Abbildung mit a) einem Parabolspiegel und b) einem aplanatischen Objektiv, das die Abbe-Sinusbedingung erfüllt: $r = f_o \sin\theta_o$. Ein Strahl, der einen Abstand r von der optischen Achse (z) hat, trifft unter einem Winkel θ_m auf die Probe. Derselbe Strahl trifft im Objektiv unter dem deutlich kleineren Winkel θ_o auf die Probe auf. Die senkrechten Komponenten (s) des elektrischen Feldes \mathbf{E} wechseln bei der Reflexion an der Spiegeloberfläche das Vorzeichen, bei der Brechung durch das Objektiv geschieht dies nicht. p bezeichnet die parallele Komponente des Feldes \mathbf{E} , f_m und f_o bezeichnen die fokalen Kugeln und s ist ein Einheitsvektor, der von der fokalen Kugel zum Fokus hin zeigt. c) zeigt die Intensitätsverteilung, die für linear (ausgezogene Linie) und radial polarisiertes Licht (gebogene Linie) benutzt wurden.

¹ In der Debye-Näherung werden nur die ebenen Wellen berücksichtigt, die eine Ausbreitungsrichtung haben, welche durch den Öffnungskegel begrenzt ist, der von der Apertur und dem Fokus aufgespannt wird. An der Aperturkante gebeugtes Licht wird also vernachlässigt. Solange dieser Anteil klein ist, was bei großer geometrischer Apertur der Fall ist, ist die Näherung gut. Wenn die geometrische Apertur aber zum Beispiel sehr klein wird, sind die Anteile des Lichts, die an der Aperturkante gebeugt werden, nicht mehr vernachlässigbar [2.17]. Es treten Abweichungen auf, die eine Asymmetrie der Feldverteilung bezüglich der fokalen Ebene bewirken und es tritt eine Verschiebung des Fokusses in axialer Richtung auf [2.18]. Die Theorie ist also zum Beispiel für Röntgenoptiken mit einer typischen numerischen Apertur von 10^{-4} nicht anwendbar.

² In der Abbildung sind die fokalen Kugeln eingezeichnet. Das sind Kugeln mit dem Radius der Brennweite f um den Fokus.

³ Das liegt daran, dass die Strahlen, abhängig von ihrem Abstand von der optischen Achse, vom Spiegel und vom Objektiv unterschiedlich abgelenkt werden. Für einen Parabolspiegel gilt der Zusammenhang $r_m = 2 f_m \tan(\theta_m/2)$, während für das aplanatische Objektiv die Abbe-Sinusbedingung gilt $r_o = f_o \sin\theta_o$. Für $\theta = 90^\circ$ ergibt sich für $r_m = r_o$ gerade $2 f_m = f_o$.

Ein zweiter Unterschied ist, dass die Reflexion an der Spiegeloberfläche für die Komponenten des elektrischen Feldes, die senkrecht zur Einfallsebene polarisiert sind (s-polarisiert), einen Phasensprung von π bewirkt. Dies geschieht nicht bei der Brechung durch das Objektiv. Zu bemerken ist auch das umgekehrte Vorzeichen der p-polarisierten¹ x,y-Komponente: Sie zeigt im Objektiv zur optischen Achse und im Spiegel weg von ihr. Dies hat jedoch nur geringe Konsequenzen. Zudem kann man in Abbildung 2.1 auch gut sehen, dass longitudinale Komponenten in der Nähe des Fokusses wegen der großen numerischen Apertur entstehen.

2.2.1.1 Theorie

Einleitend wird ein kurzer Überblick über die Gleichungen gegeben, die zur Berechnung des optischen Feldes in der Nähe des Fokusses benötigt werden. Eine ausführlichere Abhandlung ist im Anhang A für einen Parabolspiegel und bei [2.15]-[2.17] für ein Objektiv zu finden. Insbesondere sollen hier die Unterschiede zwischen Objektiv und Parabolspiegel herausgearbeitet werden.

Bei optischen Frequenzen trägt nur das elektrische Feld zur Wechselwirkung mit der Materie bei (Streuung, Fluoreszenz, optische Anregung, Polarisation etc.). Deshalb wird nur das elektrische Feld besprochen. Für das magnetische Feld gelten immer ähnliche Formeln, die mit den gleichen Überlegungen abgeleitet werden können.

Abbildung 2.1 zeigt das verwendete Koordinatensystem zur Beschreibung von Spiegel und Objektiv. Startpunkt der Berechnungen ist die Beschreibung des einfallenden Lichtfeldes durch ein Winkelspektrum von ebenen Wellen auf der fokalen Kugel f_m , respektive f_o . Als fokale Kugel wird die Kugel bezeichnet, die ihren Mittelpunkt im Brennpunkt hat und deren Radius der Brennweite entspricht. Der zeitunabhängige Teil des elektrischen Feldes² in einem Punkt P (in Polarkoordinaten r_p , θ_p und φ_p) in der Nähe des Fokusses – der zugleich der Ursprung des Koordinatensystems sein soll – kann dann in Polarkoordinaten folgendermaßen angegeben werden [2.15]³

$$\mathbf{E}(P) = -\frac{ikf}{2\pi} \iint_{\Omega} \mathbf{E}_f(\theta, \varphi) e^{iks \cdot \mathbf{r}_p} \sin \theta d\theta d\varphi, \quad (2.1)$$

wobei k die Wellenzahl (im Medium), f die Brennweite, Ω der Raumwinkel, unter dem die Apertur vom Fokus aus gesehen erscheint, \mathbf{E}_f das elektrische Feld auf der fokalen Kugel, und \mathbf{s} ein Einheitsvektor in Ausbreitungsrichtung ist. Die Winkel θ und φ sind in Abbildung 2.1, definiert. Durch Einsetzen von \mathbf{E}_f , welches mit den Gesetzen der geometrischen Optik berechnet wird, und Integration über den Azimutwinkel φ , erhält man die Ausdrücke für das Feld an einem Punkt P . Dies ist im Anhang A für einen ideal leitenden Parabolspiegel und in [2.24] für ein aplanatisches Objektiv gezeigt.

Lineare Polarisation

Für entlang der x-Achse linear polarisiertes Licht sind die Feldkomponenten in einem Parabolspiegel gegeben durch

¹ p-polarisiert bedeutet in der Einfallsebene polarisiert.

² Das elektrische Feld zu einer bestimmten Zeit t erhält man, indem der zeitunabhängige Teil mit $\exp(-i\omega t)$ multipliziert wird, wobei ω die Kreisfrequenz ist, und vom Resultat der Realteil genommen wird.

³ Gleichung (2.1) berücksichtigt die allen Strahlen gemeinsame Phase nicht, die durch die Länge des optischen Weges bedingt ist. Diese Phase wird auch im Folgenden nie mitgeschrieben und bei der Berechnung des elektrischen Feldes auf der fokalen Kugel nicht berücksichtigt. Da sie allen Strahlen gemeinsam ist, hat sie auch keinen Einfluss auf das Resultat.

$$\begin{aligned}
E_x &= \frac{ikf}{2} (I_{0,l} + I_{2,l} \cos 2\varphi_p), \\
E_y &= \frac{ikf}{2} I_{2,l} \sin 2\varphi_p, \\
E_z &= -kf I_{1,l} \cos \varphi_p.
\end{aligned} \tag{2.2}$$

Die Integrale $I_{0,l}$, $I_{1,l}$ und $I_{2,l}$ sind dabei folgendermaßen definiert

$$\begin{aligned}
I_{0,l} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} l_0(\theta) \frac{2 \sin \theta}{1 + \cos \theta} (1 + \cos \theta) J_0(kr_p \sin \theta \sin \theta_p) e^{-ikr_p \cos \theta \cos \theta_p} d\theta, \\
I_{1,l} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} l_0(\theta) \frac{2 \sin^2 \theta}{1 + \cos \theta} J_1(kr_p \sin \theta \sin \theta_p) e^{-ikr_p \cos \theta \cos \theta_p} d\theta, \\
I_{2,l} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} l_0(\theta) \frac{2 \sin \theta}{1 + \cos \theta} (1 - \cos \theta) J_2(kr_p \sin \theta \sin \theta_p) e^{-ikr_p \cos \theta \cos \theta_p} d\theta,
\end{aligned} \tag{2.3}$$

wobei die J_n Besselfunktionen erster Gattung mit Ordnung n sind. α_1 ist der Öffnungswinkel des Spiegels, α_0 der kleinste Winkel, unter dem noch Licht fokussiert wird und der nicht von der Probe abgeschattet wird. θ ist der in Abbildung 2.1 mit θ_m bezeichnete Winkel. $l_0(\theta) = N \exp(-r^2(\theta)/w_0^2)$ ist die Amplitudenverteilung des elektrischen Feldes des beleuchtenden Laserstrahls. Die Normierungskonstante N wird später verwendet, um den Spiegel und das Objektiv quantitativ zu vergleichen. r ist der Abstand von der optischen Achse, wie in Abbildung 2.1 bezeichnet, und w_0 ist der Radius der Strahltaille (waist) des einfallenden Gauß-Strahls.

Die Herleitung für ein aplanatisches Objektiv findet man bei Richards und Wolf [2.16] oder bei Stammes [2.24]. Resultate sind im Anhang B aufgeführt. Hier soll nur auf die Unterschiede zwischen Parabolspiegel und Objektiv eingegangen werden. Der erste und wichtigste ist der Apodisierungsfaktor $2/(1+\cos\theta)$ beim Spiegel und $\cos^{1/2}\theta$ beim Objektiv. Dieser Faktor beschreibt die Energieerhaltung. Alle Energie, die durch ein senkrecht zum Strahl stehendes Flächenelement im parallelen Strahlengang fließt, muss durch das entsprechende Flächenelement auf der fokalen Kugel f_m fließen. Eine Herleitung des Apodisierungsfaktors ist im Anhang A für den Parabolspiegel gezeigt. Der zweite Unterschied ist das Vorzeichen der x- und y-Komponente, das vom Phasensprung an der Spiegelfläche herrührt. Die z-Komponente wird nur von p-polarisierten Komponenten erzeugt und zeigt deshalb keinen Phasensprung. Daraus ergibt sich der Effekt, dass die Drehrichtung des elektrischen Feldvektors¹ in einer Ebene senkrecht zur x,y-Ebene umgedreht ist. Ein dritter Unterschied ist das negative Vorzeichen im Exponenten, das die umgekehrte Fortpflanzungs-Richtung des Lichts im Parabolspiegel widerspiegelt.

Radiale Polarisation

Im folgenden werden die Resultate für radial polarisierte Beleuchtung besprochen. Theoretische Abhandlungen über inhomogene Polarisations-Verteilungen, wie radial polarisiertes Licht, werden in der Literatur ausführlich besprochen [2.11], [2.25]-[2.30]². Sie können durch geeignete Maßnahmen am Laserresonator entweder direkt mit einem Laser erzeugt werden [2.32], oder mit verschiedenen interferometrischen Methoden aus linear oder zirkular polarisiertem Licht erzeugt werden [2.33]-[2.38]³. Für radial polarisierte Beleuchtung erhält man

¹ Das elektrische Feld zeigt in der Umgebung des Fokusses auch für lineare Polarisation ein elliptisch polarisiertes Verhalten [2.16], ([2.1], Abbildung 4).

² Ein radial polarisierter Bessel-Gauß-Strahl ist Lösung der Vektorwellengleichung $\nabla \times \nabla \times \mathbf{E} - k^2 \mathbf{E} = 0$, neben der allgemein bekannten Lösung des linear polarisierten Gauß-Strahls [2.26] und weiterer Lösungen, wie zum Beispiel der Hermite-Gauß-, der Laguerre-Gauß- und Bessel-Strahlen [2.31].

³ Eine besonders elegante und einfache Möglichkeit zur Erzeugung von radial polarisiertem Licht sei hier angeführt:

für die elektrischen Feldkomponenten an einem Punkt P in der Nähe des Fokusses eines ideal leitenden Parabolspiegels:

$$\begin{aligned} E_r &= k f I_{1,r}, \\ E_a &= 0, \\ E_z &= -i k f I_{0,r}. \end{aligned} \quad (2.4)$$

Die radiale Symmetrie zeigt sich in der radialen Komponente E_r und der azimutalen Komponente E_a . Die Integrale sind hier folgendermaßen definiert:

$$\begin{aligned} I_{0,r} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} l_0(\theta) \frac{2 \sin^2 \theta}{1 + \cos \theta} J_0(kr_P \sin \theta \sin \theta_P) e^{-i kr_P \cos \theta \cos \theta_P} d\theta, \\ I_{1,r} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} l_0(\theta) \frac{\sin(2\theta)}{1 + \cos \theta} J_1(kr_P \sin \theta \sin \theta_P) e^{-i kr_P \cos \theta \cos \theta_P} d\theta, \end{aligned} \quad (2.5)$$

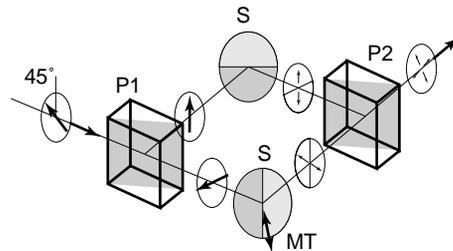
mit der Feldverteilung $l_0(\theta) = N \exp(-r^2(\theta)/w_0^2) J_1(2 r(\theta)/w_0)$ eines Bessel-Gauß-Strahls. Die entsprechenden Gleichungen für ein Objektiv sind im Anhang B aufgeführt.

Es sind dieselben Unterschiede zwischen Spiegel und Objektiv zu sehen wie für lineare Polarisation, außer dass es nur p-polarisierte Komponenten gibt und damit der Phasensprung von π nicht mehr auftritt.

2.2.1.2 Numerische Feldberechnungen

Die im folgenden vorgestellten Feldberechnungen sind für den Spezialfall eines ideal reflektierenden¹ Parabolspiegels mit einer Brennweite f von 4,5 mm und einer numerischen Apertur von 1,515 (Ölimmersion mit $n_{öl} = 1,518$) berechnet, was einem halben Öffnungswinkel von $86,4^\circ$ entspricht, wie ihn auch der verwendete Hohlspiegel hat. Für den hier berechneten Fall müsste ein Immersionsspiegel aus Glas mit einer hochreflektierenden Verspiegelung hergestellt werden, wie er zum Beispiel von Orrit und Mitarbeitern verwendet wird [2.39].

In den Berechnungen wurde für den Parabolspiegel ein Teil des Strahls im Zentrum durch eine Probe mit 3 mm Durchmesser abgeblockt, was $\alpha_0 = 18,9^\circ$ entspricht². Obwohl die Feldverteilungen für ein Objektiv bekannt sind, sollen sie hier in einer konsistenten Darstel-



Linear polarisiertes Licht wird unter 45° mit einem polarisierenden Strahlteiler (P1) auf zwei Arme eines modifizierten Mach-Zehnder-Interferometers aufgeteilt. Zwei Spezialspiegel (S) reflektieren das Licht zum zweiten polarisierenden Strahlteiler (P2). Die Spiegel haben auf der einen Hälfte eine zusätzliche Schicht von einer Dicke, die die eine Strahlhälfte um die halbe Wellenlänge phasenverschiebt. Der eine Spiegel muss beweglich gelagert sein (MT), um den relativen Gangunterschied der beiden Arme zu korrigieren. Am Ausgang entsteht radial polarisiertes Licht, wenn man die in der Skizze gezeigte Anordnung verwendet.

¹ Der Einfluss eines realen Spiegelmaterials auf die Phase des reflektierten Lichts ist klein. Die maximale Phasendifferenz für p- und s-polarisierte Anteile für Reflexionswinkel zwischen 0° und 45° ist für Aluminium bei optischen Wellenlängen kleiner als etwa $\lambda/50$ und wird deshalb vernachlässigt.

² Das ist der Durchmesser des von uns verwendeten Probenträgers. Es ist prinzipiell möglich, ihn noch kleiner zu machen, was aber die Handhabung und Probenpräparation erheblich erschweren würde.

lung zum direkten Vergleich auch berechnet werden. Für das Objektiv wurde ebenfalls die Brennweite $f = 4,5$ mm benutzt und eine numerische Apertur von 1,40 (Ölimmersion mit $n_{öl} = 1,518$) verwendet, was einem halben Öffnungswinkel von $67,3^\circ$ entspricht. Diese Werte sind typisch für ein Objektiv mit hoher numerischer Apertur.

Lineare Polarisation

Der beleuchtende Strahl hat ein Gaußprofil, wie in Gleichung (2.3) beschrieben, mit einem Strahltaillen-Radius w_0 , der dem 1,5-fachen des Eintrittspupillen-Radius entspricht. Es übersteigt den Rahmen dieser Arbeit, den optimalen Wert dieses Parameters zu besprechen. Der hier gewählte Wert ist ein Kompromiss zwischen homogener Ausleuchtung der Eintrittspupille und guter Ausnutzung der im Laserstrahl vorhandenen Energie.

Die folgenden Abbildungen zeigen jeweils Energiedichte-Verteilungen des elektrischen Feldes in der Umgebung des Fokusses. Die Energiedichte des elektrischen Feldes ist $u_E = \epsilon_0/2 |\mathbf{E}|^2$, also proportional zu $|\mathbf{E}|^2$.

Abbildung 2.2a und Abbildung 2.2e zeigen für ein aplanatisches Objektiv und einen Parabolspiegel Linien konstanten $|\mathbf{E}|^2$ in der x,y-Ebene eines fokussierten Gauß-Strahls, der entlang der x-Achse linear polarisiert ist. Zur Darstellung wird eine logarithmische Skala benutzt, die einen Unterschied von Faktor zwei zwischen benachbarten Konturlinien hat¹. Das Maximum der Skala ist jeweils die Maximalintensität von $|\mathbf{E}|^2$. Zur besseren Interpretation des Intensitätsprofils sind die von den Konturlinien umschlossenen Flächen mit Grauwerten gefüllt. Man sieht, dass (1) wegen der größeren numerischen Apertur die Größe des fokalen Flecks² im Spiegelfokus leicht reduziert, dafür aber stärker verzerrt ist gegenüber dem Objektiv, (2) dass die Energie im Spiegelfokus weniger gut im zentralen Fleck konzentriert ist, sondern in einem größeren Bereich rund um den Fokus verteilt ist. Dies wird durch die Intensität hervorgerufen, die vorwiegend unter größeren Winkeln einfällt. Diese bildet eine stehende Welle in der x,y-Ebene aus. (3) Die y- und z-Komponenten sind im Spiegel ebenfalls stärker als im Objektiv, wie man in Abbildung 2.2c, g und d, h sieht. Diese Beiträge senkrecht zur eigentlichen Polarisationsrichtung sind in der konventionellen Polarisations-Mikroskopie störend, können aber für die Einzelmolekül-Detektion auch genutzt werden, was später noch besprochen wird.

Abbildung 2.3 zeigt Schnitte von $|\mathbf{E}|^2$ durch die optische Achse. Das Objektiv zeigt eine longitudinale Ausdehnung des Fokusses mit einer Halbwertsbreite (FWHM³) von $1,51 \lambda/n$. Der Fokus im Parabolspiegel ist dagegen deutlich enger begrenzt und hat eine FWHM von nur $1,00 \lambda/n$. Die Ursache ist auch hier wieder der hohe Anteil der Energie, die unter großen Einfallswinkeln den Fokus erreicht. Beim Objektiv fällt ein großer Teil des Lichtes entlang eines Kegelmantels mit einem halben Öffnungswinkel von etwa 30° ein. Dieser Öffnungswinkel beträgt beim Parabolspiegel etwa 50° (siehe dazu auch Abbildung 2.4). Das Interferenzgebiet dieser kegelförmig einfallenden Strahlung liegt beim Objektiv mehr entlang der optischen Achse und beim Parabolspiegel mehr in der x,y-Ebene (was in Abbildung 2.2 zu sehen war).

¹ Ein quantitativer Vergleich zwischen Objektiv und Parabolspiegel folgt auf Seite 27.

² Mit fokalem Fleck ist hier und im Folgenden der Bereich zwischen Hauptmaximum und erstem Minimum gemeint.

³ Die Abkürzung steht für den englischen Ausdruck *Full Width at Half Maximum*.

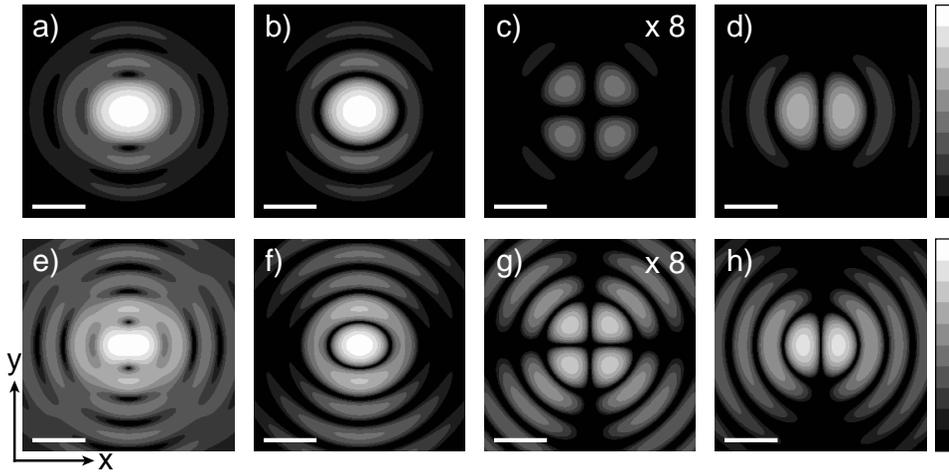


Abbildung 2.2. Linien konstanten $|E|^2$ in der x,y -Ebene eines fokussierten Gauß-Strahls, der in x -Richtung linear polarisiert ist. In der oberen Zeile für ein aplanatisches Objektiv ($NA = 1,40$, $n = 1,518$, $f_o = 4,5$ mm) und in der unteren Zeile für einen Parabolspiegel ($NA = 1,515$, $n = 1,518$, $f_m = 4,5$ mm). In a) und e) ist $|E|^2$, in b) und f) $|E_x|^2$, in c) und g) $|E_y|^2 \times 8$ und in d) und h) $|E_z|^2$ dargestellt. Es wird eine logarithmische Skala verwendet, die einen Faktor zwei zwischen benachbarten Konturlinien hat. Die Länge des Balkens entspricht der Wellenlänge λ dividiert durch den Brechungsindex n .

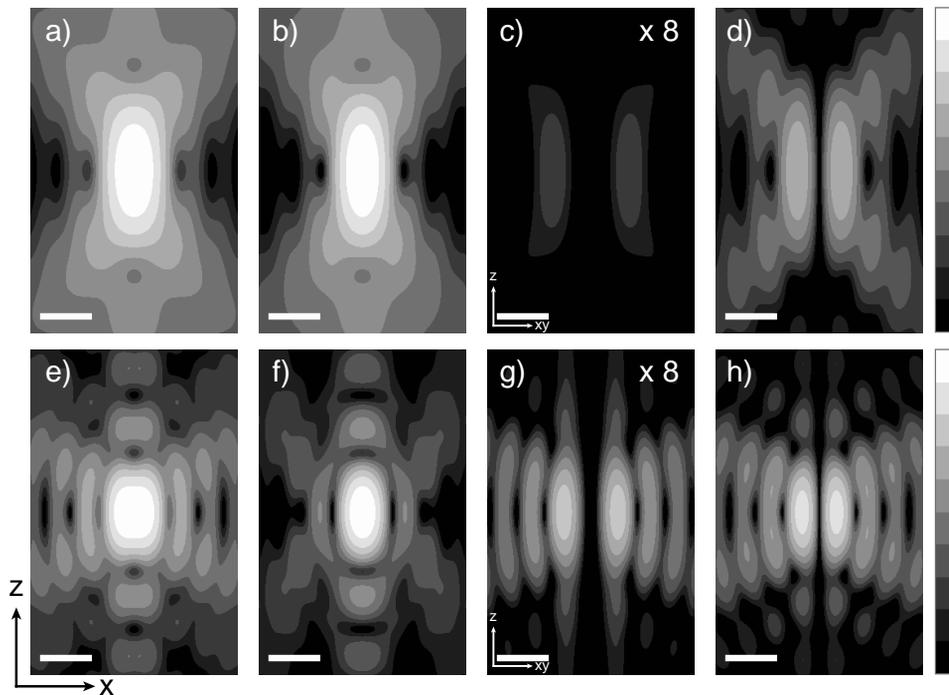


Abbildung 2.3. Linien konstanten $|E|^2$ in der Nähe des Fokusses eines Gauß-Strahls, der in x -Richtung linear polarisiert ist. In der oberen Zeile für ein aplanatisches Objektiv und in der unteren Zeile für einen Parabolspiegel. In a) und e) ist $|E|^2$ in der x,z -Ebene, in b) und f) $|E_x|^2$ in der x,z -Ebene, in c) und g) $|E_y|^2 \times 8$ in der Ebene, die von der z -Achse und der Diagonalen in der x,y -Ebene aufgespannt wird, und in d) und h) ist $|E_z|^2$ dargestellt. Es wird eine logarithmische Skala verwendet, die einen Unterschied von Faktor zwei zwischen benachbarten Konturlinien hat. Die Länge des Balkens entspricht der Wellenlänge λ dividiert durch den Brechungsindex n .

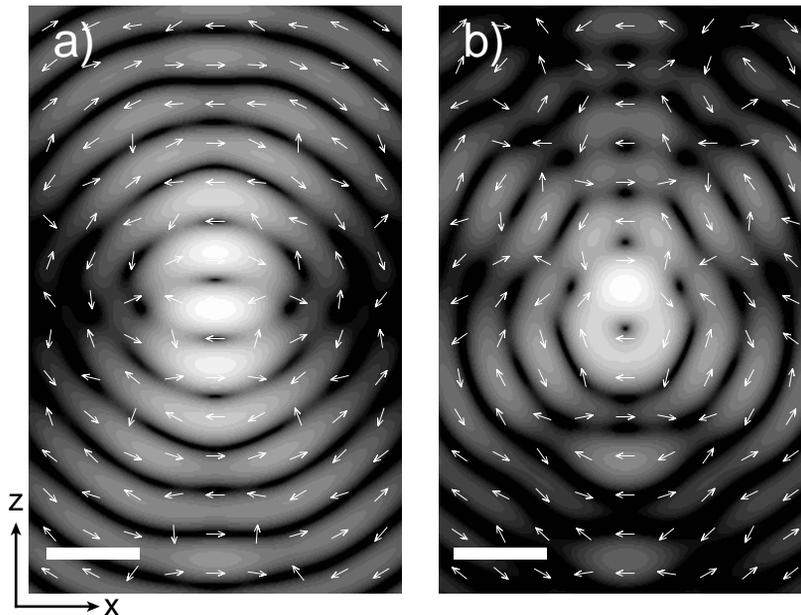


Abbildung 2.4. Konturlinienbild¹ von $|\text{Re}(\mathbf{E}(t))|^2$ in der x,z -Ebene in der Nähe des Fokusses eines Objektivs (a) und eines Parabolspiegels (b) für lineare Polarisation entlang der x -Achse. Es wird eine logarithmische Skala verwendet, die einen Unterschied von Faktor $\sqrt{2}$ zwischen benachbarten Konturlinien hat. Die Vektoren zeigen die Richtung des elektrischen Feldes an. Die Zeit t beträgt $1/6$ der optischen Periode. Die Länge des Balkens entspricht der Wellenlänge λ/n .

Abbildung 2.4 ist eine Momentaufnahme des elektrischen Feldes in der Nähe des Fokusses eines entlang der x -Achse linear polarisierten Gauß-Strahls für ein Objektiv (a) und einen Parabolspiegel (b). Eine Konturlinien-Darstellung von $|\text{Re}(\mathbf{E}(t))|^2$ in der x,z -Ebene ist mit den Orientierungen des Feldvektors an verschiedenen Punkten überlagert (wobei Re den Realteil bezeichnet).

Die Bildung der Interferenz zwischen den Strahlen aus den Richtungen, aus denen ein Großteil der Energie herkommt ist erkennbar, tritt im Film Fig. 4 in [2.1] aber deutlicher hervor. Die in Abbildung 2.4 gezeigten Wellenfronten konnten im Fall eines Objektivs von Schrader und Hell [2.40] auch gemessen werden.

Radiale Polarisation

Für die radial polarisierte Beleuchtung wurde ein Bessel-Gauß-Strahl, ebenfalls mit einem Strahltaillenradius $w_0 = 3/2 \times$ Eintrittspupillen-Radius verwendet.

Abbildung 2.5 und Abbildung 2.6 vergleichen $|\mathbf{E}|^2$ in der Nähe des Fokusses eines Objektivs und eines Parabolspiegels in der x,y -Ebene und senkrecht dazu für radial polarisiertes einfallendes Licht. Hier gibt es deutliche Unterschiede zwischen Objektiv und Parabolspiegel: Der zentrale Fleck ist im Parabolspiegel sehr deutlich kleiner als im Objektiv. Durch Vergleich der radialen und der longitudinalen Komponenten wird die Ursache dieses Unterschieds klar: Die radialen Komponenten entstehen durch das Licht, das unter kleinen Winkeln θ einfällt, die longitudinale Komponente durch das Licht aus den großen Winkeln (siehe Abbildung 2.6b, c, e und f). Wegen der großen numerischen Apertur und der Konzentration der Energie in den großen Winkeln erzeugt der Parabolspiegel vorwiegend longitudinale

¹ Ein Film von Abbildung 2.4 ist in ([2.1], Abbildung 4) publiziert.

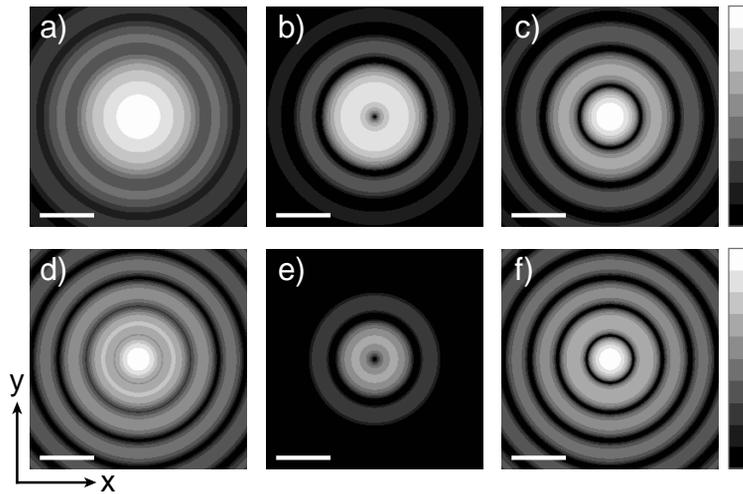


Abbildung 2.5. Linien konstanten $|E|^2$ in der x,y -Ebene eines fokussierten, radial polarisierten Bessel-Gauß-Strahls. In der oberen Zeile für ein aplanatisches Objektiv und in der unteren Zeile für einen Parabolspiegel. In a) und d) ist $|E|^2$, in b) und e) die Radialkomponente $|E_r|^2$ und in c) und f) ist die longitudinale Komponente $|E_z|^2$ dargestellt. Es wird eine logarithmische Skala verwendet, die einen Faktor zwei zwischen benachbarten Konturlinien hat. Die Länge des Balkens entspricht der Wellenlänge λ/n .

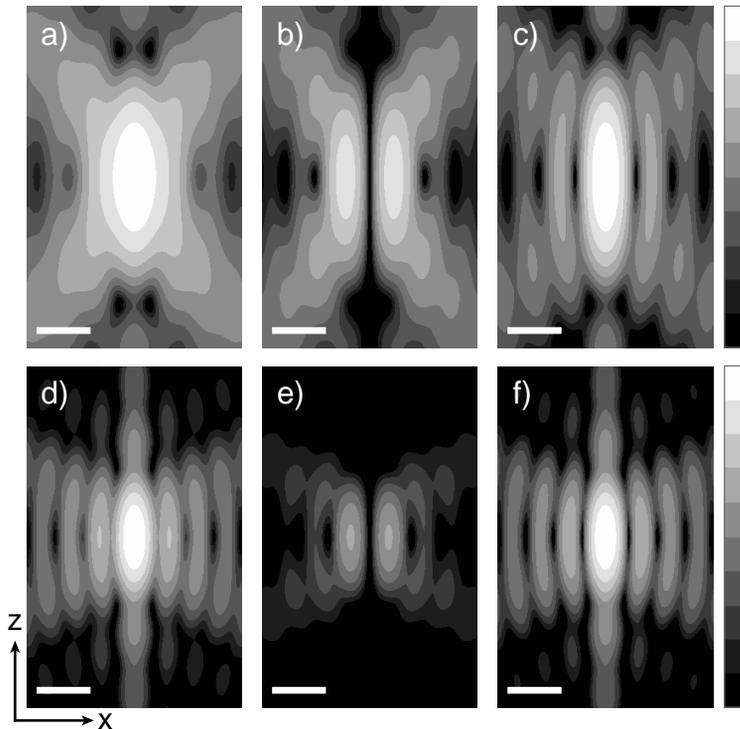


Abbildung 2.6. Linien konstanten $|E|^2$ in der x,z -Ebene in der Nähe des Fokusses eines radial polarisierten Bessel-Gauß-Strahls. In der oberen Zeile für ein aplanatisches Objektiv und in der unteren Zeile für einen Parabolspiegel. In a) und d) ist $|E|^2$, in b) und e) die Radialkomponente $|E_r|^2$ und in c) und f) ist die Longitudinalkomponente $|E_z|^2$ dargestellt. Es wird eine logarithmische Skala verwendet, die einen Faktor zwei zwischen benachbarten Konturlinien hat. Die Länge des Balkens entspricht der Wellenlänge λ/n .

Komponenten, während das Objektiv longitudinale und radiale Komponenten von vergleichbarer Intensität erzeugt. Der ausgedehnte fokale Fleck im Objektiv entsteht durch Überlagerung der zentral liegenden longitudinalen Komponenten mit den ringförmigen radialen Komponenten. Auch hier zeigt der fokale Fleck im Parabolspiegel eine deutlich kleinere longitudinale Ausdehnung als im Objektiv (Spiegel: FWHM = $1,18 \lambda/n$, Objektiv: FWHM = $1,65 \lambda/n$). Das Verhältnis zwischen longitudinal polarisierter und radial polarisierter Intensität beträgt 14,3 für den Parabolspiegel und nur 3,50 für das Objektiv.

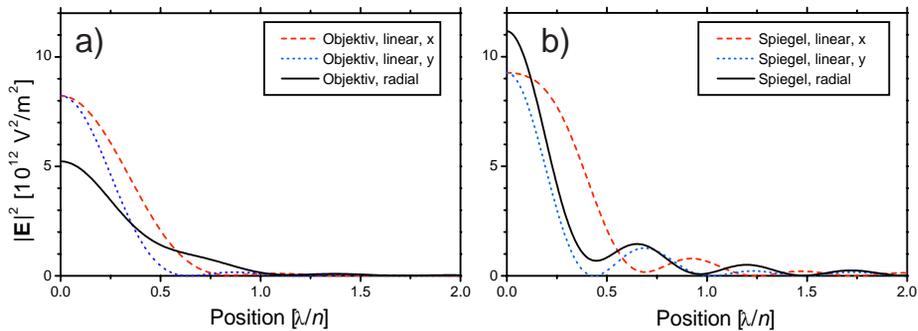


Abbildung 2.7. Abhängigkeit von $|E|^2$ vom Abstand vom Fokus in der x,y-Ebene eines Objektivs (a) und eines Parabolspiegels (b) für lineare Polarisation entlang der x-Richtung (Schnitt entlang der x-Achse ---, Schnitt entlang der y-Achse ---) und für radiale Polarisation (—). In beiden Diagrammen ist die vom Objektiv, respektive dem Parabolspiegel fokussierte Intensität auf 1 mW normiert. Damit lässt sich die Feldstärke direkt als $\sqrt{|E|^2}$ ablesen.

Quantitativer Vergleich

Um den Parabolspiegel und das Objektiv quantitativ zu vergleichen, muss die Intensität, die vom Spiegel oder vom Objektiv effektiv fokussiert wird, normiert werden. In Abbildung 2.7 sind die Intensitäten in beiden Fällen auf 1 mW normiert. Der Parabolspiegel zeigt im Fokus eine leicht größere Intensität für linear polarisierte Beleuchtung und eine deutlich größere Intensität für radiale Beleuchtung verglichen mit dem aplanatischen Objektiv.

In Abbildung 2.7b sind die Nebenmaxima, die im Parabolspiegel recht ausgeprägt sind, gut zu sehen. Das erste Nebenmaximum hat noch etwa 13 % der Intensität des Hauptmaximums.

Gut zu sehen ist auch eine Phasenverschiebung der Nebenmaxima für linear polarisiertes Licht entlang der Polarisations-Richtung (x) und senkrecht dazu (y). Sie kommt dadurch zustande, dass alle einlaufenden Wellen aus der $\pm y$ -Richtung im Fokus konstruktiv interferieren, die unter großem Winkel θ aus der $\pm x$ -Richtung einlaufenden aber destruktiv.

2.2.1.3 Abbildungsfehler: Entstehung von Koma

Der Nachteil eines Parabolspiegels ist, dass er starke Koma zeigt, wenn er nicht exakt entlang der Spiegelachse beleuchtet wird. Eine kleine Ungenauigkeit beim Justieren der Strahlrichtung des Beleuchtungsstrahls hat schon eine starke Verzerrung der Feldverteilung in der Umgebung des Fokusses zur Folge. Deshalb ist eine exakte Justage unabdingbar, wenn ein Parabolspiegel eingesetzt werden soll. Abbildung 2.8¹ zeigt $|E|^2$ im Bereich des Fokusses eines Parabolspiegels, der mit radial polarisiertem Licht² mit einer Wellenlänge von 500 nm beleuchtet wird, für verschiedene Einfallswinkel des Lichts. Der Einfallswinkel wurde von 0°

¹ Abbildung 2.8 ist in [2.1] auch als Film mit weiteren Zwischenbildern dargestellt.

² Berechnungen mit linear polarisiertem Licht führen auf vergleichbare Ergebnisse.

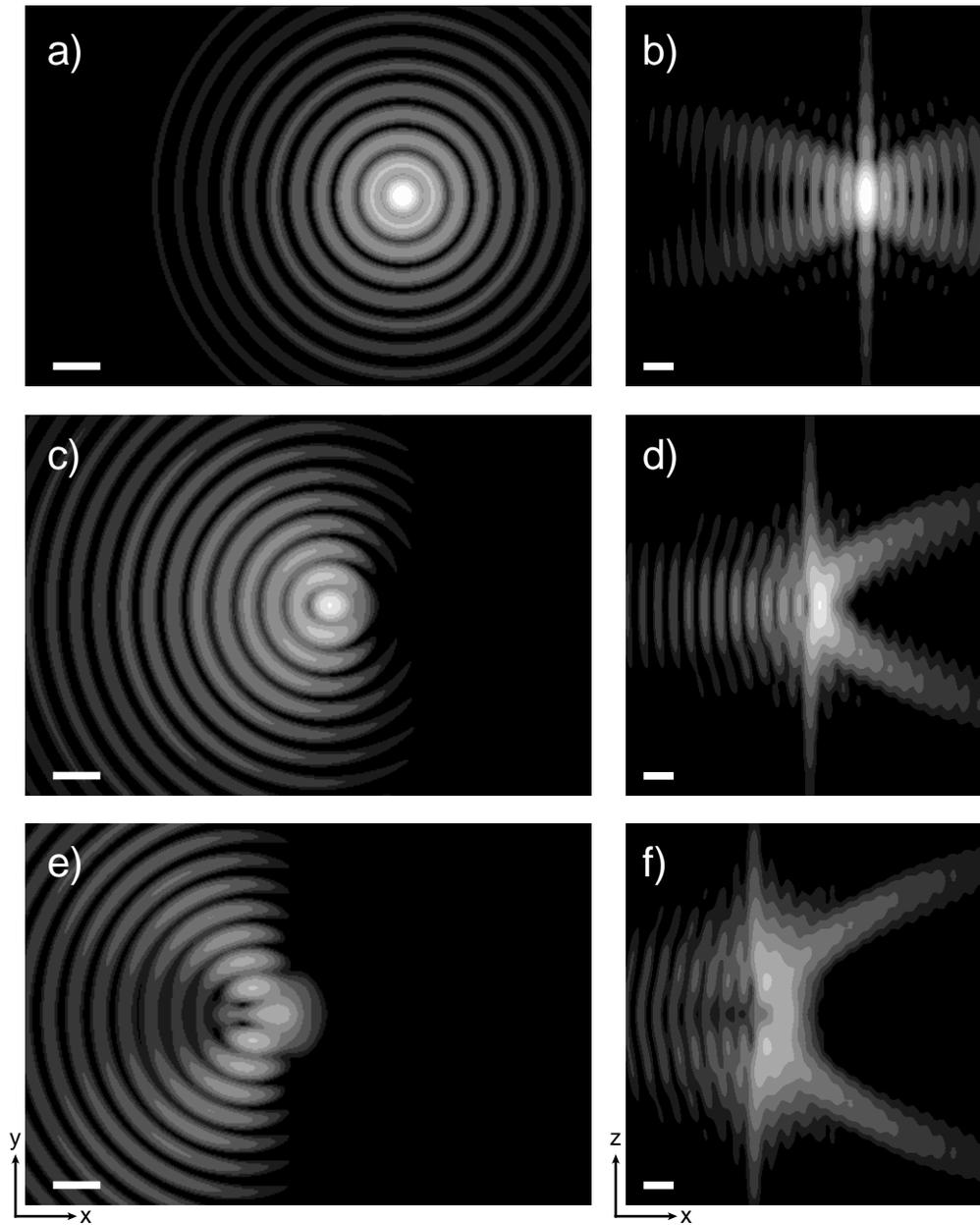


Abbildung 2.8. Linien konstanten $|E|^2$ in der Umgebung des Fokus eines Parabolspiegels, der mit radial polarisiertem Licht beleuchtet wird, für verschiedene Winkel des einfallenden Lichts (a) und b): 0° , c) und d): $0,00637^\circ$ und e) und f): $0,00955^\circ$) zwischen Spiegelachse und \mathbf{k} -Vektor. Bild a), c) und e) zeigen Schnitte in der x,y -Ebene und b), d) und f) Schnitte in der x,z -Ebene. Es wird eine logarithmische Skala verwendet, die einen Faktor zwei zwischen benachbarten Konturlinien hat. Die Länge des Balkens entspricht der Wellenlänge, die hier 500 nm beträgt, dividiert durch den Brechungsindex n .

auf der optischen Achse in Schritten von $0,00637^\circ$ in Richtung der positiven x-Achse vergrößert. Um das Feld in der Umgebung des Fokusses zu berechnen, muss ein zusätzlicher Phasenterm¹ in die Integrale von Gleichung (2.1) eingefügt werden. Dieser Phasenterm berücksichtigt die Verkippung der einfallenden Wellenfront gegenüber der Normalebene der Spiegelachse. Integriert wird dann wieder über das Feld auf der fokalen Kugel f_m , wie von Sheppard vorgeschlagen [2.41]. Ein Einfallswinkel von mehr als etwa $0,006^\circ$ bewirkt schon eine starke Asymmetrie der Feldverteilung und eine Abnahme der Maximalintensität auf weniger als die Hälfte. Deshalb muss die Propagationsrichtung des einfallenden Lichts so ausgerichtet werden, dass sie um weniger als $0,006^\circ$ von der Spiegelachse abweicht. Diese Genauigkeit kann mit Umlenkspiegeln, die mit Mikrometer-Schrauben verkippert werden können, erreicht werden.

2.2.1.4 Unterschiede zwischen Parabolspiegel und Objektiv

An diesem Punkt soll noch einmal allgemein auf die Unterschiede zwischen Parabolspiegel und Objektiv eingegangen werden. Wie schon erwähnt, unterscheiden sich die beiden Systeme durch die Funktion, die den Abstand r eines Strahls von der optischen Achse vor dem optischen System mit dem Einfallswinkel θ desselben Strahls nach Verlassen des optischen Systems verknüpft. Für den Parabolspiegel gilt $r = 2f \tan(\theta/2)$, für das Objektiv $r = f \sin\theta$. Diese Funktion ist für den Parabolspiegel fast linear im Bereich von $\theta = 0^\circ \dots 90^\circ$, für das Objektiv hingegen nicht, wie in Abbildung 2.9a dargestellt ist. Dies hat Auswirkungen auf die Winkelverteilung, mit der die Energie den Fokus erreicht, was zu unterschiedlichen Apodisierungs-faktoren führt. Für eine Beleuchtung exakt auf der Achse sind das die einzigen Unterschiede. Das bedeutet aber, dass durch den Einbau eines geeigneten Amplitudenfilters die Winkelverteilung der Intensität eines Objektivs mit einem Parabolspiegel simuliert werden kann und umgekehrt. Der Unterschied ist so gesehen nur noch, dass ein Parabolspiegel mit deutlich höherem Öffnungswinkel hergestellt werden kann als ein Objektiv.

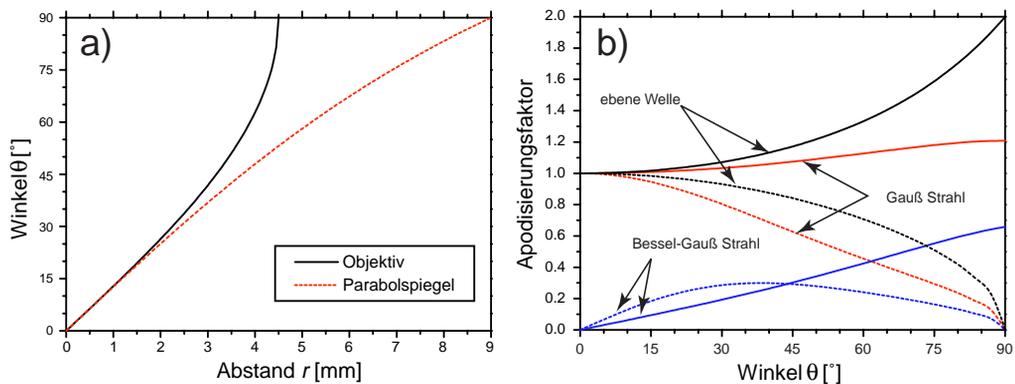


Abbildung 2.9. a) Zusammenhang zwischen Abstand von der optischen Achse r und Einfallswinkel θ für ein Objektiv (—) und einen Parabolspiegel (---). b) Effektive Apodisierungsfaktoren für verschiedene Anregungsfeldverteilungen: ebene Welle, **Gauß-Strahl** und **Bessel-Gauß-Strahl**, beide mit $w_0 = 3/2 \times$ Pupillenradius. Jeweils für ein aplanatisches Objektiv (gestrichelte Linie) und einen Parabolspiegel (ausgezogene Linie).

¹ Wenn nur sehr kleine Einfallswinkel berechnet werden sollen, so ändert sich die Strahlrichtung nur geringfügig und damit bleibt auch die Intensität, die aus einer bestimmten Richtung einfällt nahezu gleich. Die Phase auf der fokalen Kugel ändert sich jedoch deutlich. Näherungsweise kann also das Feld in der Umgebung des Fokus berechnet werden, indem nur der zusätzliche Phasenterm $\exp[-i k 2f \tan(\theta/2) \cos(\varphi) \tan(\alpha)]$ in Gleichung (2.1) eingefügt wird, wobei α der Winkel der Einfallrichtung gegenüber der Spiegelachse und der positiven x-Achse ist. Auch hier kann die Integration über den Azimutwinkel analytisch gelöst werden, wie im Anhang C gezeigt wird.

In den oben besprochenen Fällen wurde immer mit einer realistischen Feldverteilung im anregenden Strahl gearbeitet, also mit einem Gauß-Strahl oder einem Bessel-Gauß-Strahl. Diese beeinflussen die Winkelverteilung der einfallenden Intensität mit. In Abbildung 2.9b sind deshalb die effektiven Apodisierungsfaktoren, also das Produkt des geometrischen Apodisierungsfaktors mit der Feldverteilung des einfallenden Strahls für verschiedene Fälle dargestellt. Für den Gauß-Strahl ist die Energiedichte als Funktion des Einfallswinkels θ für den Parabolspiegel fast konstant, für das Objektiv zeigt sie eine etwa lineare Abnahme und fällt für den Einfallswinkel $\theta = 90^\circ$ auf Null ab. Für den Bessel-Gauß-Strahl steigt sie für den Parabolspiegel etwa linear an und zeigt für das Objektiv eine konvexe Form mit einem Maximum bei etwa 40° . Um die gesamte Energie, die unter einem bestimmten Winkel auf den Fokus einfällt, zu berechnen, muss noch über den Winkel φ integriert werden, was einer Multiplikation mit $2\pi \sin\theta$ entspricht. Dadurch wird der Einfluss der großen Winkel verstärkt. Dies alles zeigt nochmals deutlich, dass beim Parabolspiegel wesentlich mehr Licht unter großen Winkeln einfällt und dass das der wesentliche Unterschied zwischen Spiegel und Objektiv ist bei achsenparalleler Beleuchtung.

Für eine nicht achsenparallele Beleuchtung ergeben sich weitere Unterschiede, nämlich die Verzerrungen des Fokus im Parabolspiegel, wie sie in Abbildung 2.8 dargestellt sind. Im Falle des Objektivs ergibt sich lediglich eine Verschiebung, aber keine Verzerrung bei kleinen Abweichungen.

2.2.2 Einzelmolekül-Abbildung

Die Untersuchung von fluoreszierenden Einzelmolekülen stößt auf wachsendes Interesse und insbesondere ist in letzter Zeit auch die Bestimmung der Orientierung ihrer Übergangs-Dipolmomente gelungen [2.42] - [2.48]. Im folgenden wird die Detektion von einzelnen Dipolstrahlern in einer homogenen Umgebung besprochen. Die Dipolstrahler werden mit einem optischen System abgebildet, das aus einem Parabolspiegel oder einem aplanatischen Objektiv mit hoher numerischer Apertur als Sammeloptik und einem aplanatischen Objektiv mit kleiner numerischer Apertur zur Abbildung besteht¹. Ein Detektor mit einer begrenzten empfindlichen Fläche² misst die Intensität im Bildfokus und ergänzt so das konfokale System. Allgemeine Berechnungen an telezentrischen Systemen wurden von Sheppard [2.49] durchgeführt. Von ihm stammt auch eine ähnliche Arbeit für ein aplanatisches Objektiv als Sammeloptik [2.50]. Kürzlich wurde von Enderlein ebenfalls eine ähnliche Arbeit für ein aplanatisches Objektiv publiziert [2.51].

2.2.2.1 Grundlagen

Die Unterschiede zwischen Objektiv und Parabolspiegel sind auch hier wieder der Apodisierungsfaktor, der Phasensprung um π für s-polarisierte Komponenten und die Aberrationen für einen Dipolstrahler, der außerhalb des Fokusses liegt. Das elektrische Fernfeld eines Dipolstrahlers kann in SI-Einheiten als

$$\mathbf{E}_{de} = \frac{1}{\sqrt{4\pi\epsilon_0}} k^2 (\mathbf{s}_m \times \mathbf{p}) \times \mathbf{s}_m \cdot \frac{1}{r} \cdot \exp(i kr - \omega t) \quad (2.6)$$

geschrieben werden, wobei ϵ_0 die Permeabilität des Vakuums, k die Wellenzahl, \mathbf{p} das Übergangsdipolmoment, \mathbf{s}_m ein Einheitsvektor, der in die Beobachtungsrichtung zeigt, r der Abstand des Beobachtungspunktes vom Dipol, ω die Kreisfrequenz und t die Zeit ist [2.52].

¹ Das Objektiv mit kleiner numerischer Apertur hat die Funktion der Tubuslinse im auf ∞ korrigierten Mikroskop.

² Wie zum Beispiel die im Kapitel 3.4 beschriebenen Avalanche-Photodioden oder eine Lochblende, die vor dem Detektor platziert ist.

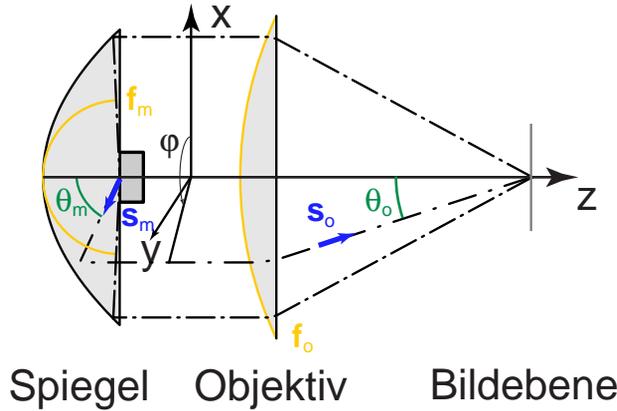


Abbildung 2.10. Schematische Darstellung der konfokalen Abbildungsgeometrie eines Punktdipols, der im Fokus eines Parabolspiegels mit Brennweite f_m liegt. \mathbf{s}_m ist ein Einheitsvektor, der vom Fokus zur Spiegelfläche zeigt. Das parallel gerichtete Licht wird mit einem Objektiv, das eine Brennweite f_o hat wieder fokussiert. \mathbf{s}_o ist ein Einheitsvektor, der von der fokalen Kugel des Objektivs zum Bildfokus auf der optischen Achse zeigt.

Senkrechte Komponenten (s-polarisiert, mit \perp indiziert) machen den Phasensprung von π , parallele Komponenten (p-polarisiert, mit \parallel indiziert) hingegen nicht. Aus den Gleichungen (2.1) und (2.6) und unter Vernachlässigung des konstanten Phasenfaktors, der für den gesamten optischen Weg steht, kann das elektrische Feld in einem Punkt P in der Umgebung des Bildfokusses hergeleitet werden. Da nur kleine Verschiebungen aus dem Fokus berechnet werden sollen, kann hier die gleiche Näherung gemacht werden, wie schon bei der Behandlung der Fokussierung von Licht, das nicht exakt entlang der Spiegelachse einfällt (Kapitel 2.2.1.3): Kleine Verschiebungen äußern sich nur in der Phase aber kaum in der Amplitude. Deshalb wird nur der Einfluss auf die Phase berücksichtigt:

$$\mathbf{E}(\mathbf{r}_o) = -\frac{ik_0^3 f_o}{\sqrt{16\pi^3 \epsilon_o}} \int_{\theta_{o,\min}}^{\theta_{o,\max}} \int_0^{2\pi} \frac{(1 + \cos \theta_m)}{2f_m} \sqrt{\cos \theta_o} \left[(\mathbf{p} \cdot \mathbf{e}_{m,\parallel}) \mathbf{e}_{o,\parallel} - (\mathbf{p} \cdot \mathbf{e}_{\perp}) \mathbf{e}_{\perp} \right] \cdot \exp(i k_o (\mathbf{r}_o \mathbf{s}_o - n_m \mathbf{r}_m \mathbf{s}_m)) \sin \theta_o d\theta_o d\varphi, \quad (2.7)$$

wobei f_m und f_o die Brennweiten von Spiegel und Abbildungsobjektiv sind. Eine schematische Darstellung der Abbildungsgeometrie mit den Winkeln θ_m und θ_o ist in Abbildung 2.10 gezeigt. k_o ist die Vakuumwellenzahl, n_m der Brechungsindex des Spiegelmaterials, \mathbf{r}_m ist der Vektor vom geometrischen Fokus des Spiegels zum Ort des Dipols und \mathbf{r}_o der Vektor, der vom geometrischen Fokus des Objektivs zum Beobachtungspunkt P zeigt. Die Einheitsvektoren \mathbf{e}_{\perp} , $\mathbf{e}_{m,\parallel}$, $\mathbf{e}_{o,\parallel}$, \mathbf{s}_m und \mathbf{s}_o sind folgendermaßen definiert:

$$\begin{aligned} \mathbf{e}_{\perp} &= (-\sin \varphi, \cos \varphi, 0), \\ \mathbf{e}_{m,\parallel} &= (\cos \theta_m \cos \varphi, \cos \theta_m \sin \varphi, \sin \theta_m), \\ \mathbf{e}_{o,\parallel} &= -(\cos \theta_o \cos \varphi, \cos \theta_o \sin \varphi, \sin \theta_o), \\ \mathbf{s}_m &= (\sin \theta_m \cos \varphi, \sin \theta_m \sin \varphi, -\cos \theta_m), \\ \mathbf{s}_o &= -(\sin \theta_o \cos \varphi, \sin \theta_o \sin \varphi, -\cos \theta_o). \end{aligned} \quad (2.8)$$

$2/(1 + \cos\theta_m)$ ist der Apodisierungsfaktor des Spiegels, $\cos^{1/2}\theta_o$ der des Objektivs. Der Term in den eckigen Klammern gibt die Richtung des elektrischen Feldes auf der fokalen Kugel des Objektivs an. Der Exponentialfaktor berücksichtigt Wegdifferenzen für Punkte außerhalb des Spiegel- und des Objektivfokusses¹, und $\sin\theta_o d\theta_o d\varphi$ ist das Raumwinkelelement. Unter Verwendung der Vergrößerung $M = f_o/f_m$ können θ_m und die Integrationsgrenzen folgendermaßen geschrieben werden:

$$\begin{aligned}\theta_m &= 2 \arctan\left(\frac{M}{2} \sin\theta_o\right), \\ \theta_{o,\max} &= \arcsin\left(\frac{2}{M} \cdot \tan\left(\frac{\arcsin(NA_m/n_m)}{2}\right)\right), \\ \theta_{o,\min} &= \arcsin(r_{Probe}/f_o)\end{aligned}\quad (2.9)$$

wobei NA_m die numerische Apertur des Spiegels ist, n_m der Brechungsindex des Spiegelmaterials und r_{Probe} der Radius des zentralen Kreises, der von der Probe verdeckt ist.

Wenn als Sammeloptik ebenfalls ein aplanatisches Objektiv² verwendet wird, so gilt die lineare Gleichung $\sin\theta_m = M \sin\theta_o$. Der Effekt der Bewegung des Dipols weg von der optischen Achse kann also auch erzeugt werden, indem das Bild des Dipols im Fokus um $-M n_m$ mal die Verschiebung des Dipols verschoben wird³. Das sieht man, wenn man den Exponentialterm in Gleichung (2.7) genau analysiert. Die Abhängigkeit von $\sin\theta_m$ von $\sin\theta_o$ ist stark nichtlinear für den Parabolspiegel (siehe Gleichung (2.9)). In der Detektorebene sind die Intensitätsverteilungen von Molekülen, die nicht im Fokus liegen, deshalb verzerrt.

Um die Intensität zu berechnen, die ein feststehender Detektor im geometrischen Fokus des Objektivs beim Bewegen des Dipolstrahlers misst, muss die Intensität des elektrischen Feldes (siehe Gleichung (2.7)) über die Detektorfläche integriert werden. Das Verhältnis der detektierten Intensität zur gesamten vom Dipol emittierten in Abhängigkeit von der Lage des Dipols ist die Sammeffizienz-Funktion (*Collection Efficiency Function*, CEF). Wenn die numerische Apertur des fokussierenden Objektivs klein ist, sind das elektrische und das magnetische Feld, das vom Dipol in der Umgebung des Bildfokusses erzeugt wird, 1) nahezu senkrecht zueinander und 2) stehen ihre Beträge in einem fast konstanten Verhältnis. Der Energiefluss $1/(2\mu_o) \text{Re}(\mathbf{E} \times \mathbf{B}^*)$ ist also näherungsweise proportional zu $\mathbf{E} \cdot \mathbf{E}^*$ (der Stern steht für das komplex konjugierte und μ_o ist die Permeabilität des Vakuums). Es ist also ausreichend, das elektrische Feld auf dem Detektor zu kennen. Die vom Detektor gemessene Intensität ist dann proportional zum Integral $\int_A \mathbf{E} \cdot \mathbf{E}^* da$ über die Detektorfläche A . Weil die Feldverteilung des Dipols in der Detektorebene stark von der *Position* des Dipols abhängt, muss die Feldverteilung für jede Position berechnet werden, um die Sammeffizienz-Funktion zu bestimmen. Um den Rechenaufwand zu reduzieren, können aber Symmetrien des Problems berücksichtigt werden⁴ und die Integration über den Azimutwinkel φ kann analytisch gemacht werden, wie im Anhang G gezeigt wird.

¹ Eine Herleitung des Phasenterms wird im Anhang E gegeben.

² Siehe dazu die Arbeit von Enderlein [2.51] und die zusammengefassten Resultate im Anhang D.

³ Siehe die Herleitung im Anhang F.

⁴ 1.) Die Sammeffizienz-Funktion eines beliebig orientierten Dipols kann als kohärente Überlagerung von drei Dipolen, die in Richtung der Koordinatenrichtungen x , y und z orientiert sind, mit geeigneten Gewichten berechnet werden. 2.) Verschiebungen in die negativen Koordinatenrichtungen können aus denen in die positiven Koordinatenrichtungen abgeleitet werden. 3.) Die ausgenutzten Symmetrien für die Dipole, die in Richtung der Koordinatenrichtungen x , y und z orientiert sind und in der x,y -Ebene liegen sind zudem: a) Ein z -orientierter Dipol zeigt eine Rotationssymmetrie, und b) die Feldverteilung eines entlang der y -Achse orientierten Dipols, der im Punkt (u, v, w) liegt, kann aus der eines entlang der x -Achse orientierten Dipols bestimmt werden, der in (v, u, w) liegt.

Die Fluoreszenzrate $R(\mathbf{r}_m)$ eines Dipolstrahlers, der in \mathbf{r}_m liegt, ergibt sich als

$$R(\mathbf{r}_m) = c|\mathbf{p} \cdot \mathbf{E}(\mathbf{r}_m)|^2, \quad (2.10)$$

wenn die Intensitäten genügend klein sind, dass Sättigungseffekte vernachlässigt werden können [2.53]. $\mathbf{E}(\mathbf{r}_m)$ ist der elektrische Feldvektor des anregenden Feldes am Ort \mathbf{r}_m des Dipols, \mathbf{p} das Absorptions-Dipolmoment und c eine Konstante. Bei den folgenden Berechnungen wird angenommen, dass das Absorptions-Dipolmoment und das Emissions-Dipolmoment gleich sind und die Fluoreszenzausbeute eins ist. Die konfokale Abbildung eines elektrischen Dipolstrahlers kann also berechnet werden, indem die Sammeleffizienz-Funktion mit der Fluoreszenzrate multipliziert wird, die durch das beleuchtende elektrische Feld erzeugt wird.

2.2.2.2 Numerische Feldberechnungen

Alle numerischen Berechnungen sind für einen Parabolspiegel mit einer Brennweite von 4,5 mm, einer numerischen Apertur von 1,515 (Immersionstyp, Brechungsindex 1,518) und einem von der Probe abgeschatteten Zentrum von 3 mm Durchmesser gemacht. Das Objektiv, mit dem der Parabolspiegel verglichen wird und das ebenfalls als Sammeloptik benutzt wird, hat ebenfalls eine Brennweite von 4,5 mm, die numerische Apertur ist 1,40 (Immersionstyp, Brechungsindex 1,518)¹. Es sind also die gleichen Werte wie im vorhergehenden Kapitel. Das Objektiv, das den parallelen Strahl auf den Detektor fokussiert, hat eine Brennweite von 225 mm, was eine Vergrößerung von $M = 50$ ergibt. Die vom parallelen Strahl ausgeleuchtete Apertur ist klein – für den Parabolspiegel $NA = 0,0375$, für das Objektiv $NA = 0,0184$ – und damit ist die näherungsweise Berechnung des Energieflusses durch $c\mathbf{E}\mathbf{E}^*$ gut (wobei c eine Konstante ist). Die Fresnelzahl ist trotzdem noch groß (≈ 600 respektive ≈ 150 bei einer Wellenlänge von 500 nm) und die Debye-Näherung ist damit noch anwendbar.

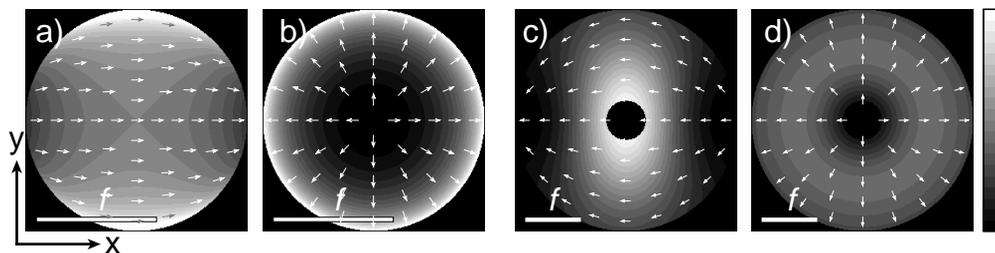


Abbildung 2.11. Konturlinien-Bilder von $|\mathbf{E}|^2$ im parallelen Strahl hinter einem Objektiv, a) und b), und hinter einem Parabolspiegel, c) und d). Das Feld wird von einem Dipolstrahler im Fokus erzeugt, der entlang der x-Achse orientiert ist, a) und c), oder entlang der z-Achse, b) und d). Die Vektoren zeigen die Richtung des elektrischen Feldes an. Es wird eine lineare Skala verwendet, die einen Abstand von 0,05 zwischen zwei benachbarten Konturlinien hat. Das Maximum der Skala (1,0) ist für a) und b) das doppelte der Intensität im Zentrum bei $\theta = 0^\circ$ und für c) und d) die Intensität im Zentrum (ohne Abschattung durch die Probe). Die Länge des Balkens entspricht der Brennweite f .

Feldverteilung im parallelen Strahl

Unter Vereinfachung der Gleichung (2.7) kann die Feldverteilung im parallelen Strahl, vor der Abbildung mit dem Objektiv, bestimmt werden². Auch hier zeigen sich die Unterschiede zwischen Parabolspiegel und Objektiv.

¹ Da die Dipolstrahler in einer homogenen Umgebung liegen sollen, also weit weg von Grenzflächen, unterscheiden sich die folgenden Resultate von denen in [2.47], da dort angenommen wird, dass die Dipolstrahler an der Grenzfläche Probensträger/Luft liegen.

² Man erhält für den Parabolspiegel am Ort $\mathbf{r}_p = r(\cos\varphi, \sin\varphi, 0)$, unter Vernachlässigung einer konstanten Phase:

Das Objektiv weist, wenn es als Sammelohtik eingesetzt wird, im parallelen Strahl am Rand eine sehr hohe Energiedichte auf (Abbildung 2.11). Das liegt daran, dass der Bereich der großen Winkel in einem schmalen Ring am Rand des parallelen Strahls konzentriert wird, gemäß $r = f \sin \theta$. Für den Parabolspiegel gilt $r = 2 f \tan \theta / 2$, was im Bereich von 0° bis 90° fast linear ist. Zudem muss eine Abnahme zum Rand hin berücksichtigt werden, da die Energie mit zunehmendem θ auf einen immer größeren Kreisring verteilt wird. Beides zusammen ergibt die inversen Apodisierungs-Funktionen, für das Objektiv also $\cos^{-1/2} \theta$, was für $\theta \rightarrow 90^\circ$ divergiert. Besonders deutlich wird das für einen Dipol, der entlang der z-Achse orientiert ist. Für den Parabolspiegel ist es $(1 + \cos \theta) / 2$, also eine leichte Abnahme zum Rand hin. Durch den Probenträger wird im Spiegel der zentrale Bereich abgedeckt. Für einen Dipolstrahler, der in der Ebene liegt, wird dadurch der Bereich der größten Energiedichte abgedeckt. Da die Fläche jedoch klein ist, ist es trotzdem nur relativ wenig, was verloren geht, nämlich nur 8,3 % des vom Spiegel gesammelten Lichts.

An Abbildung 2.11 ist ersichtlich, dass es durch Messen der Energiedichte-Verteilung im aufgeweiteten Strahl möglich ist, die Orientierung eines Dipolstrahlers zu bestimmen, wie das in abgewandelter Form auch schon gemacht worden ist [2.42], [2.54]¹.

An dieser Stelle sei noch auf die Ähnlichkeit zwischen der Intensitäts- und Polarisations-Verteilung von radial polarisiertem Licht und dem Licht hingewiesen, das von einem Dipol emittiert wird, der entlang der z-Achse orientiert ist.

Abbildungsfehler und Licht-Sammeleffizienz

Mit Gleichung (2.7) lassen sich nun auch die Bilder einzelner Moleküle im Fokus des abbildenden Systems berechnen. In Abbildung 2.12 ist $|\mathbf{E}|^2$ im Bildfokus dargestellt, wie es von einem Molekül erzeugt wird, das im Fokus eines Objektivs, a – c, oder im Fokus eines Parabolspiegels, d – f, liegt. Abhängig von der Dipolorientierung erhält man verschiedene Feldverteilungen. Wird das Molekül um eine Wellenlänge λ/n von der optischen Achse weg bewegt, so wird die Feldverteilung im Fall des Objektivs lediglich um $-M \lambda/n$ verschoben² (nicht dargestellt). Wird dasselbe mit einem Molekül im Parabolspiegelfokus gemacht, so wird die Symmetrie der resultierenden Feldverteilung reduziert, wie in Abbildung 2.12g – i dargestellt (siehe auch [2.49]).

Die weißen, respektive schwarzen Kreise in Abbildung 2.12a, c, d und f haben einen Durchmesser von $1,22 \lambda/NA_o$, was dem Durchmesser der Airy-Scheibe entspricht, die von einer ebenen Welle erzeugt wird³. Für einen Dipol, der in der x,y-Ebene orientiert ist, fällt

$$\mathbf{E}(\mathbf{r}_p) = \frac{k^2}{\sqrt{4\pi\epsilon_o}} \frac{(1 + \cos \theta_m)}{2f_m} \left[(\mathbf{p} \cdot \mathbf{e}_{m,\parallel}) \mathbf{e}_{p,\parallel} - (\mathbf{p} \cdot \mathbf{e}_\perp) \mathbf{e}_\perp \right] \cdot \exp(-i k \mathbf{r}_m \cdot \mathbf{s}_m)$$

mit den gleichen Definitionen wie in Gleichung (2.7), mit der Ausnahme, dass $\mathbf{e}_{p,\parallel}$ gleich $\mathbf{e}_{o,\parallel}$ mit $\theta_o = 0$ ist. k ist die Wellenzahl im Medium und θ_m wird über die Gleichung $\theta_m(r) = 2 \arctan(r/(2f_m))$ eingesetzt. Für das Objektiv muss $\cos^{-1/2} \theta_m$ anstelle von $(1 + \cos \theta_m) / 2$ stehen und $\theta_m(r)$ wird als $\theta_m = \arcsin(r/f_m)$ definiert.

¹ Es wurde nicht direkt im aufgeweiteten Strahl detektiert, sondern hinter dem Fokus, wo der Strahl-Durchmesser noch klein ist.

² Da die Verschiebung Δ aus dem Fokus nur sehr klein ist ($\Delta \ll f_o$), sind auch für ein gutes reales Objektiv keine Aberrationen vorhanden.

³ Die Airy-Scheibe ist der zentrale helle Fleck bis zum ersten Minimum des Beugungsmusters, das entsteht, wenn eine ebene Welle an einer kreisförmigen Blende gebeugt und dann abgebildet wird. Es handelt sich dabei um eine paraxiale Näherung, die das Feld nur als skalares Feld behandelt. Die erste Berechnung stammt von G. B. Airy und ist 1835 erschienen. Näheres findet man in [2.55].

Nebenbei sei hier noch erwähnt, dass erste Berechnungen, die ohne die erwähnten Näherungen auskommen, von V. S. Ignatovsky stammen (1919), der auch die ersten Berechnungen für einen Parabolspiegel mit großer numerischer Apertur gemacht hat [2.19].

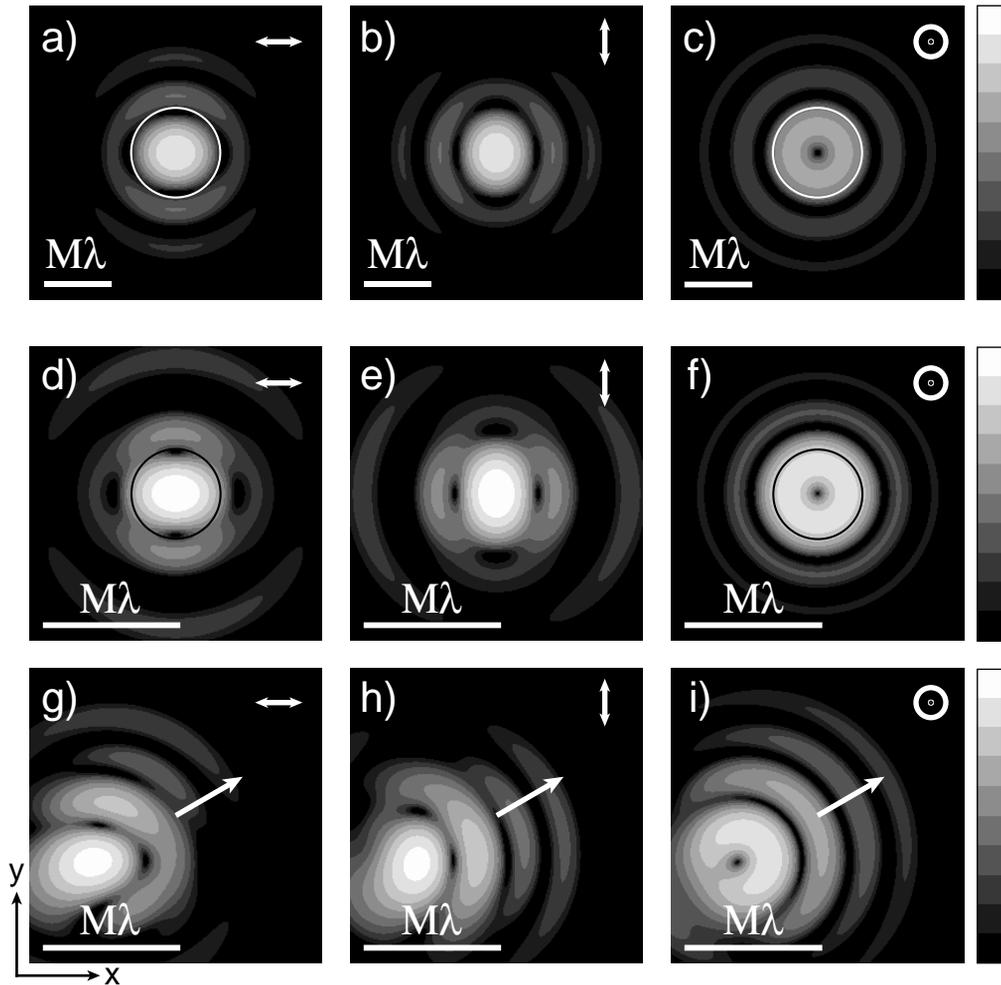


Abbildung 2.12. Konturlinien-Bilder von $|E|^2$, für einen Dipolstrahler in der Umgebung des Bildfokusses für ein Objektiv, a) – c), und einen Parabolspiegel, d) – i), als Sammelohtik. In den Bildern a) – f) liegt der Dipol im Fokus bei $\mathbf{r}_m = (0, 0, 0)$ und ist entlang der x,y- und z-Richtung orientiert. In den Bildern g) – i) liegt der Dipol außerhalb der optischen Achse am Ort $\mathbf{r}_m = \lambda/n (\cos 30^\circ, \sin 30^\circ, 0)$, wie es durch die Pfeile angedeutet ist. Die weißen oder schwarzen Kreise in den Bildern a), c), d) und f) haben einen Durchmesser von $1,22 \lambda/NA_o$, was dem Durchmesser der Airy-Scheibe entspricht. Es wird eine logarithmische Skala verwendet, die einen Faktor zwei zwischen benachbarten Konturlinien hat. Die Länge des Balkens entspricht der Vergrößerung M mal der Vakuum-Wellenlänge.

fast alle Energie des Hauptmaximums in diesen Kreis¹. Für einen Dipol, der entlang der z-Achse orientiert ist, ist das nicht der Fall. Insbesondere für den Parabolspiegel fällt ein beträchtlicher Teil nicht in den Kreis. Um das Licht von z-orientierten Dipolstrahlern effizient zu detektieren, ist es also nötig, den Durchmesser des Detektors, den man sonst so groß wie

¹ Hier sei noch angemerkt, dass sich die Größe der Airy-Scheibe für das Objektiv und den Parabolspiegel deutlich unterscheiden. Der Durchmesser des Strahls auf dem abbildenden Objektiv ist in den beiden Fällen stark verschieden und damit die NA . Das hat zur Folge, dass die einfache Näherungsformel $d = M d_o$ zur Berechnung des Airy-Scheiben-Radius d am Ort des Detektors aus dem Airy-Scheiben-Radius d_o am Ort des Moleküls und der Vergrößerung M für den Parabolspiegel nicht anwendbar ist.

die Airy-Scheibe machen würde¹, auf Kosten einer leicht reduzierten Auflösung geringfügig zu vergrößern. Für die im Folgenden berechneten Resultate wurde ein Faktor 1,2 für den Parabolspiegel und ein Faktor 1,05 für das Objektiv verwendet. So werden etwa 98 % des Lichts, das innerhalb des ersten Minimums liegt detektiert. Beim Objektiv genügt dieser kleinere Faktor, da die numerische Apertur kleiner ist. Damit ergibt sich eine Nachweis-Effizienz von 0,39 für einen longitudinal orientierten und von 0,37 für einen lateral orientierten Dipolstrahler im Parabolspiegel. Mit dem Objektiv erhält man lediglich eine Nachweis-Effizienz von 0,30 für den lateral orientierten und 0,16 für den longitudinal orientierten Dipolstrahler. Die für alle Orientierungen des Dipolstrahlers gleich hoch bleibende Sammeleffizienz für den Parabolspiegel ist in Abbildung 2.13 deutlich zu sehen. Das Objektiv zeigt dagegen die reduzierte Sammeleffizienz, die für longitudinale Orientierung zusätzlich reduziert ist.

Abbildung 2.13 zeigt Konturlinien-Bilder der Sammeleffizienz-Funktion für verschieden orientierte Dipolstrahler, entweder in der x,y -Ebene, a und c, oder in der x,z -Ebene, b und d, für ein Objektiv, a und b und einen Parabolspiegel, c und d. Es sind nur Orientierungen des Dipols dargestellt mit einem Azimutwinkel φ zwischen 0° und 90° und einem Polarwinkel θ zwischen 0° und 90° . Orientierungen außerhalb dieser Grenzen können durch Symmetrieeoperationen erhalten werden.

Die Ursache für die Asymmetrie der Sammeleffizienz-Funktion in der x,y -Ebene für einen Dipol, der ebenfalls in der x,y -Ebene orientiert ist, liegt in der Asymmetrie der dazugehörigen Feldverteilung (siehe Abbildung 2.12), diese wiederum wird durch die $\sin^2\theta$ -Richtungsabhängigkeit der Dipolstrahlung verursacht. Eine Verlängerung des Hauptmaximums in x -Richtung hat zum Beispiel eine Stauchung der Sammeleffizienz in dieser Richtung zur Folge. Die Punktsymmetrie der Sammeleffizienz-Funktion in der x,z -Ebene kann mit geometrischer Optik verstanden werden: Energie, die vor dem Fokus auf der linken Seite zu finden ist, taucht hinter dem Fokus auf der rechten auf (Abbildung 2.13b und d, $\theta = 45^\circ$, $\varphi = 0^\circ$ und $\varphi = 45^\circ$).

Wegen dieser Asymmetrien ist die Auflösungsgrenze keine Konstante, sondern abhängig von der Orientierung der Dipole. Die Sammeleffizienz-Funktion zeigt bei der Halbwertsbreite nur geringe Asymmetrie. Es ist deshalb sinnvoll, die Auflösung mit den Halbwertsbreiten zu beschreiben und nicht mit dem ersten Minimum, was sonst üblich ist.

Die Halbwerts-Breiten sind für den Parabolspiegel trotz der vergrößerten Detektorfläche kleiner als für das Objektiv, was wiederum an der größeren numerischen Apertur des Parabolspiegels liegt.

Sammeleffizienz	FWHM x -Richtung	FWHM y -Richtung	FWHM z -Richtung
Objektiv, p x -orientiert	1,35 λ/n	1,34 λ/n	2,11 λ/n
Objektiv, p z -orientiert	1,23 λ/n	1,23 λ/n	1,70 λ/n
Spiegel, p x -orientiert	1,08 λ/n	1,16 λ/n	1,50 λ/n
Spiegel, p z -orientiert	1,24 λ/n	1,24 λ/n	1,25 λ/n

Tabelle 2.1. Halbwerts-Breiten der Sammeleffizienz-Funktion für einen Dipolstrahler **p**, der entlang der x -Achse, oder entlang der z -Achse orientiert ist, und der mit einem Objektiv oder mit einem Parabolspiegel abgebildet wird. Die Halbwerts-Breiten sind in Wellenlängen λ im Medium angegeben.

¹ Wenn der Detektor gerade die Größe der Airy-Scheibe hat, ist das ein guter Kompromiss zwischen Auflösung und Detektionseffizienz. Innerhalb der Airy-Scheibe sind etwa 84 % des gebeugten Lichts konzentriert. Da hier einzelne Dipolstrahler detektiert werden sollen, muss möglichst viel Licht gesammelt werden. In der konfokalen Mikroskopie, wenn keine einzelnen Dipolstrahler detektiert werden müssen, kann die Detektorfläche, die als Lochblende (*Pinhole*) dient, zur Verbesserung der Auflösung noch stärker verkleinert werden [2.56].

Sammeleffizienz

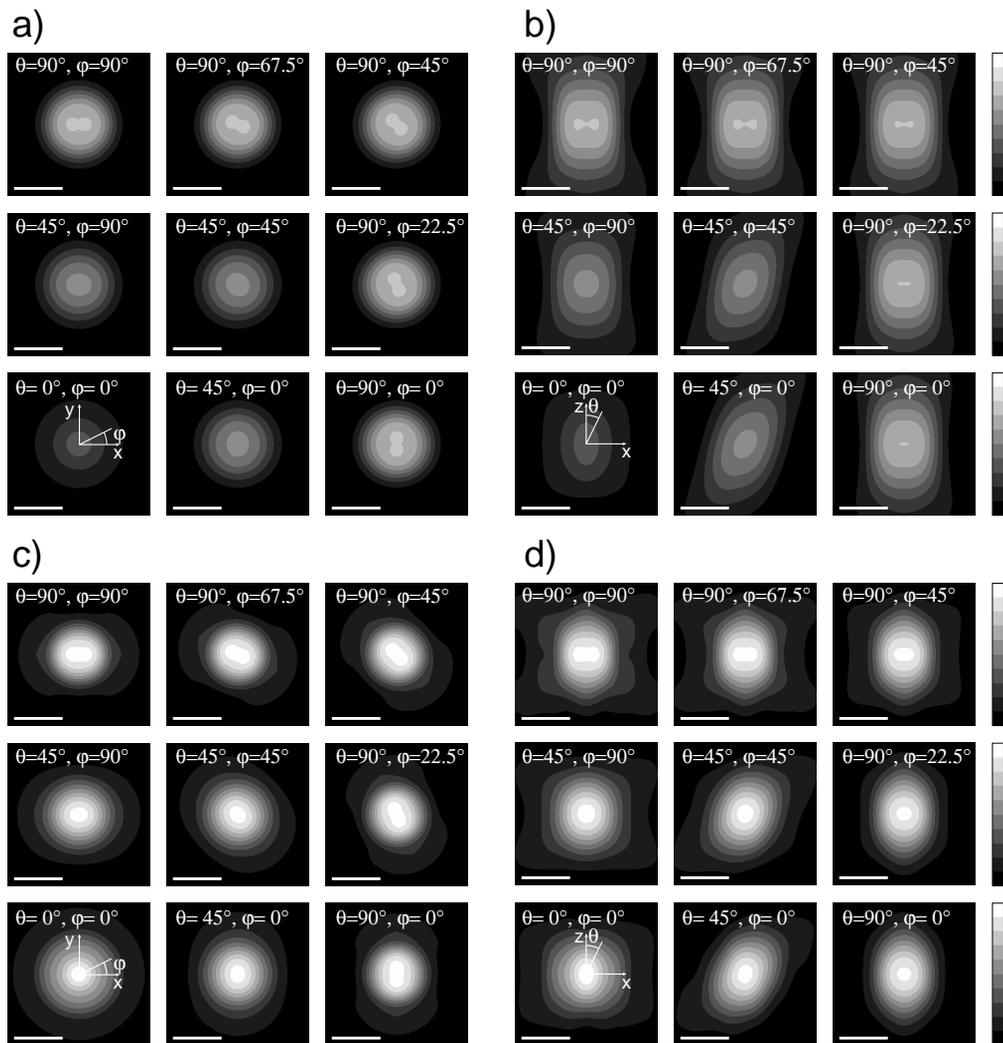


Abbildung 2.13. Konturlinienschnittbilder der Sammeleffizienz-Funktion für verschiedene Orientierungen eines Punkt-Dipolstrahlers. a) und b) für ein Objektiv, c) und d) für einen Parabolspiegel. a) und c) zeigen Schnitte in der x,y -Ebene, b) und d) Schnitte in der x,z -Ebene. Die Winkel θ und φ zwischen dem Übergangs-Dipolmoment \mathbf{p} und dem Koordinatensystem sind in den unteren linken Bildern dargestellt. Ihre Werte stehen jeweils am oberen Rand der Bilder. Es wird eine *lineare* Intensitätsskala verwendet mit einer Differenz von 0,04 zwischen benachbarten Konturlinien. Das Maximum der Skala entspricht einer Sammeleffizienz von 0,4. Die Länge des Balkens entspricht der Wellenlänge λ/n .

Konfokale Abbildung

Wenn die Sammeleffizienz mit einer Anregungs-Feldverteilung gemäß Gleichung (2.10) kombiniert wird, können konfokale Bilder eines einzelnen Dipolstrahlers, also eines einzelnen fluoreszierenden Moleküls, berechnet werden. Abbildung 2.14 zeigt berechnete konfokale Bilder für linear polarisiertes Anregungslicht für ein Objektiv und einen Parabolspiegel für verschiedene Orientierungen des Dipols. Es sind Bilder gezeigt sowohl für eine Rasterbewegung des Moleküls in der x,y -Ebene, a und c , als auch in der x,z -Ebene, b und d . Man sieht, dass die verschiedenen Orientierungen des Dipolstrahlers verschiedene Intensitäts-Verteilungen im konfokalen Bild erzeugen. Gemäß Gleichung (2.10) bildet der Dipol die Projektion des elektrischen Feldes auf seine Orientierung ab, gewichtet mit der Sammeleffizienz. Der Dipol kann also dazu verwendet werden, die Feldverteilung im Fokus zu messen (vergleiche auch Abbildung 2.2 und Abbildung 2.3). Aus der Intensitäts-Verteilung lässt sich also die Orientierung des Dipolstrahlers bestimmen¹. Im Experiment wird es aber sehr schwierig, die verschieden orientierten Dipole gleichzeitig mit einem vernünftigen Signal-zu-Rausch-Verhältnis zu detektieren, da die Maximalintensitäten für entlang der x , y und z -Achse orientierte Dipole über etwa zwei Größenordnungen für den Parabolspiegel und für das Objektiv sogar über etwa drei Größenordnungen verteilt sind². Hier ist der Parabolspiegel dem Objektiv überlegen, da die Feldkomponenten senkrecht zur eigentlichen Polarisationsrichtung deutlich stärker sind.

Der Parabolspiegel zeigt auch eine bessere Auflösung als das Objektiv, bedingt durch die größere numerische Apertur. Tabelle 2.2 zeigt die Halbwerts-Breiten der konfokalen Bilder für einen Dipolstrahler, der entlang der Polarisationsrichtung, also der x -Richtung, orientiert ist.

Es gibt verschiedene Möglichkeiten, das Problem der großen Intensitäts-Unterschiede, die bei linear polarisierter Anregung auftreten, zu lösen. Hier wird die Möglichkeit besprochen, radial polarisiertes Licht dazu zu verwenden³. Wird radial polarisiertes Licht mit dem Parabolspiegel benutzt, so unterscheiden sich die Intensitäten der longitudinalen und lateralen Felder aber ebenfalls um eine Größenordnung. Dieses Verhältnis lässt sich reduzieren, indem die Apertur des Anregungslichts verkleinert wird. Im Falle des Objektivs ist dieses Verhältnis schon relativ nahe bei eins, wie in Abschnitt 2.2.1.2 (Seite 25) besprochen wurde.

Fleckgrößen	FWHM x -Richtung	FWHM y -Richtung	FWHM z -Richtung
Objektiv, \mathbf{p} x -orientiert	0,60 λ/n	0,55 λ/n	1,24 λ/n
Spiegel, \mathbf{p} x -orientiert	0,48 λ/n	0,41 λ/n	0,86 λ/n

Tabelle 2.2. Halbwerts-Breiten der Fleckgröße der konfokalen Abbildung eines Dipolstrahlers \mathbf{p} , der entlang der x -Achse orientiert ist und mit x -linear polarisiertem Licht beleuchtet wird und der mit einem Objektiv oder mit einem Parabolspiegel abgebildet wird. Die Halbwerts-Breiten sind in Wellenlängen λ im Medium angegeben.

¹ Kürzlich wurde von Fourkas ein neues Verfahren vorgeschlagen, bei dem lediglich die Intensität bei drei verschiedenen Polarisationswinkeln simultan gemessen wird, um daraus die Orientierung zu bestimmen [2.57]. Dies erlaubt eine sehr schnelle Bestimmung der Orientierung.

² Für den Parabolspiegel sind die Verhältnisse der Maximalintensitäten für entlang der x , y und z -Achse orientierte Dipole $I_{\max, x} : I_{\max, y} : I_{\max, z} = 1 : 0,016 : 0,30$, für das Objektiv sind sie $I_{\max, x} : I_{\max, y} : I_{\max, z} = 1 : 0,002 : 0,037$

³ Es gibt aber auch andere, wie zum Beispiel [2.47]. In dieser Arbeit wird linear polarisiertes Licht verwendet. Um die starken x -Komponenten zu reduzieren, wird eine ringförmige Blende im Anregungsstrahl eingebaut, so dass das Licht nur unter großem Polarwinkel θ die Probe erreicht. Zudem befinden sich die zu untersuchenden Moleküle an einer Glas-Luft Grenzfläche. An dieser Grenzfläche werden die y - und die z -Komponente zusätzlich verstärkt.

Lineare Polarisation

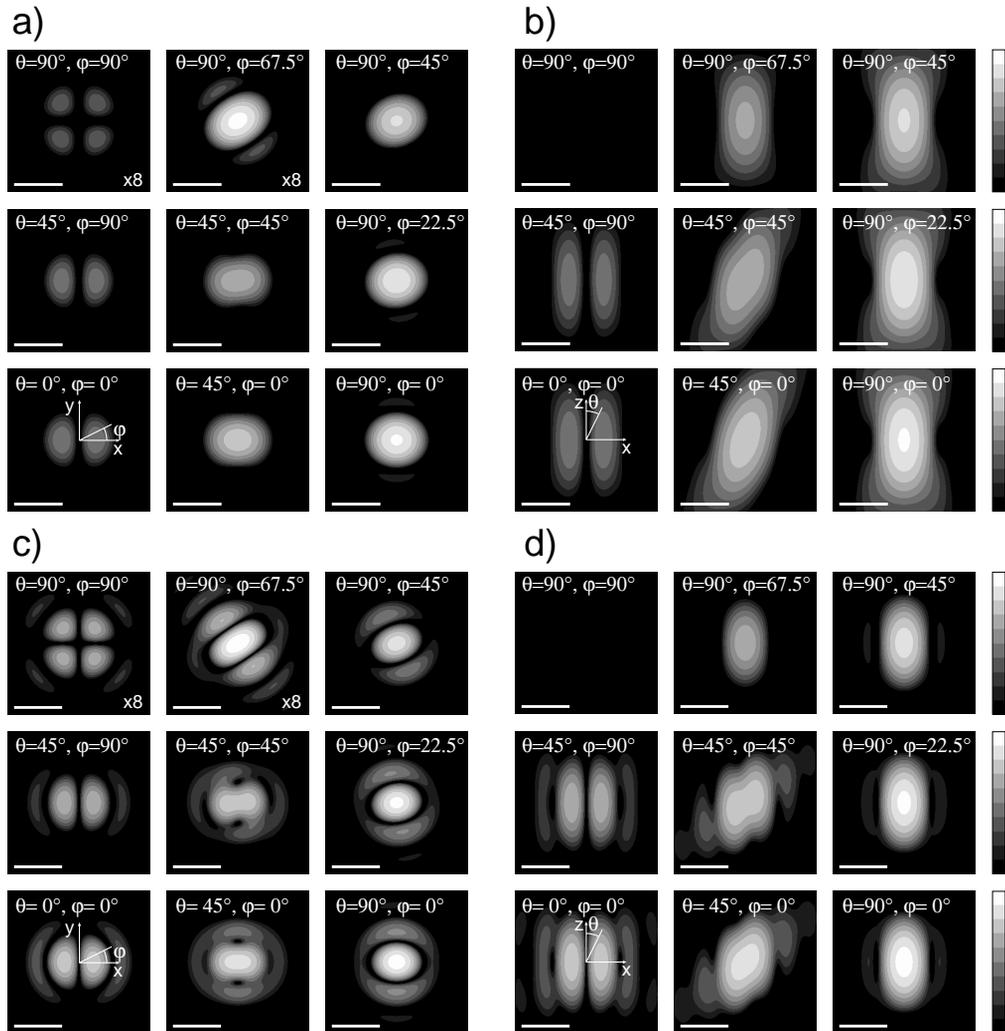


Abbildung 2.14. Konfokale Bilder, $|E|^2$, eines Punktdipol-Strahlers für verschiedene Orientierungen des Dipols für linear entlang der x -Achse polarisiertes Anregungslicht für ein Objektiv, a) und b) und einen Parabolspiegel, c) und d). In a) und c) wird der Dipol in der x,y -Ebene rasterförmig bewegt, in b) und d) in der x,z -Ebene. Die Achsen x , y , und z sowie die Dipolorientierungs-Winkel θ und φ sind jeweils in den unteren linken Teilbildern gezeigt. Es wird eine logarithmische Skala verwendet, die einen Faktor zwei zwischen benachbarten Konturlinien hat. Die Teilbilder für das Objektiv und den Parabolspiegel sind in a) und b) sowie in c) und d) jeweils alle gleich skaliert, wobei das Maximum der Skala gegeben ist durch den Maximalwert des Dipols, der entlang der x -Achse orientiert ist und mit einer Detektionseffizienz von 0,5 detektiert wird. Die Länge des Balkens entspricht der Wellenlänge λ/n .

Radiale Polarisation

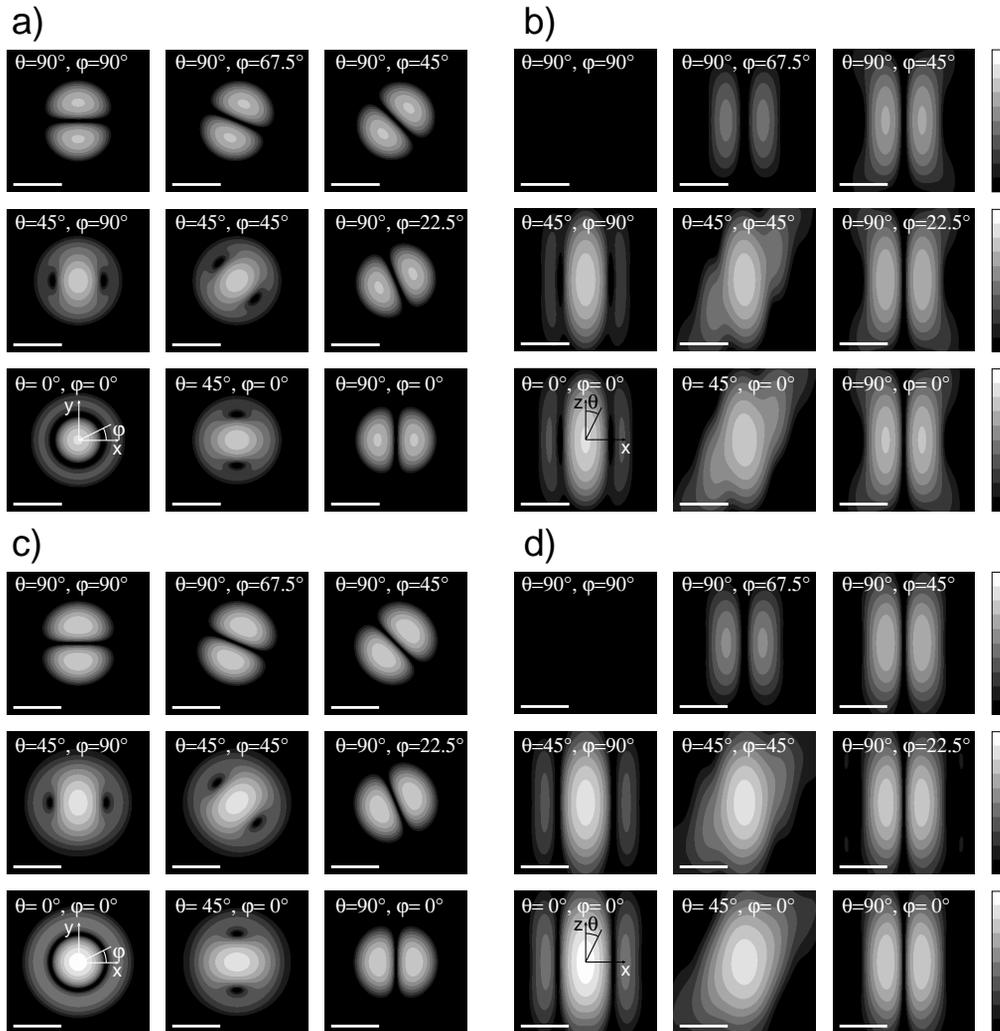


Abbildung 2.15. Konfokale Bilder, $|E|^2$, eines Punkt-Dipolstrahlers für verschiedene Orientierungen des Dipols für radial polarisiertes Anregungslicht für ein Objektiv, a) und b) und einen Parabolspiegel, c) und d). In a) und c) wird der Dipol in der x,y -Ebene bewegt, in b) und d) in der x,z -Ebene. Für den Parabolspiegel wird eine reduzierte Apertur von 1,21 für den Anregungsstrahl benutzt. Die Achsen x , y , und z sowie die Dipolorientierungswinkel θ und φ sind jeweils in den unteren linken Teilbildern gezeigt. Es wird eine logarithmische Skala verwendet, die einen Faktor zwei zwischen benachbarten Konturlinien hat. Die Teilbilder für das Objektiv und den Parabolspiegel sind in a) und b) sowie in c) und d) jeweils alle gleich skaliert, wobei das Maximum der Skala gegeben ist durch den Maximalwert des Dipols, der entlang der x -Achse orientiert ist und mit einer Detektionseffizienz von 0,5 detektiert wird. Die Länge des Balkens entspricht der Wellenlänge λ/n .

Abbildung 2.15 zeigt konfokale Bilder eines Dipolstrahlers, der mit einem Objektiv, a und b, und einem Parabolspiegel mit reduzierter Anregungsapertur von $NA_m = 1,21$, c und d, gerechnet wurden. Das Verhältnis zwischen Eintrittspupille und Strahltaile w_0 des Bessel-Gauß-Strahls wurde bei der Reduktion der Anregungsapertur konstant gehalten. Das Verhältnis der in der Ebene polarisierten Intensität zur longitudinal polarisierten ist in diesem Fall für den Parabolspiegel 0,44. Durch die Reduktion der Anregungsapertur muss eine leichte Reduktion der Auflösung in Kauf genommen werden, dafür lässt sich aus der Intensitäts-Verteilung im konfokalen Bild die Orientierung des Dipols leicht bestimmen. Um den Polarwinkel θ zu bestimmen, muss die Intensitäts-Verteilung quantitativ analysiert werden, der Azimutwinkel φ kann an der Orientierung des Bildes abgelesen werden.

2.2.3 Diskussion und Zusammenfassung

Es konnte gezeigt werden, dass ein Immersions-Parabolspiegel mit hoher numerischer Apertur eine sehr gute Tiefen- und Lateral-Auflösung besitzt. Um einen scharfen Fokus zu erzeugen, ist jedoch die Justage des Spiegels gegenüber dem Anregungslicht kritisch wegen der starken Koma.

Mit radial polarisiertem Licht kann ein beugungsbegrenzter, symmetrischer Fokus erzeugt werden. Die Auflösung erreicht die von Airy mit der skalaren Feldtheorie berechnete Grenze, die mit linear polarisiertem Licht nicht erreicht werden kann. Im Fokus hat das elektrische Feld eine starke longitudinale und nur kleine störende laterale Komponenten. Diese Eigenschaft kann für gewisse nahfeldoptische Anwendungen zur Feldverstärkung mit Metallspitzen genutzt werden, wie im Abschnitt 2.4 besprochen wird.

Die longitudinale Komponente in Kombination mit linear polarisiertem Licht in zwei zueinander senkrechten Richtungen bietet die Möglichkeit, Partikel im Nanometer-Maßstab oder einzelne Moleküle mit optischen Feldern in den drei Raumrichtungen zu untersuchen.

Die Verwendung eines Parabolspiegels mit hoher numerischer Apertur für die Einzelmolekül-Detektion ist besonders deshalb interessant, weil die Moleküle nahezu unabhängig von ihrer Orientierung mit einer sehr hohen Sammeleffizienz von knapp 40 % detektiert werden können. Um die Orientierung der Moleküle zu bestimmen, ist radial polarisiertes Anregungslicht bei reduzierter Anregungsapertur besonders geeignet¹.

2.3 Grenzflächen in der Nähe des Fokusses

2.3.1 Fokussierung

Der Parabolspiegel, der in unserem Tieftemperatur-Mikroskop verwendet wird, ist ein Hohlspiegel aus einer Aluminium-Legierung. Unsere Proben sind typischerweise auf Glas aufgebracht oder in einem transparenten Polymer oder einer transparenten Matrix eingebettet. Die elektrischen Felder, denen ein Molekül unter diesen Bedingungen ausgesetzt ist, sind deshalb nicht die, die im Abschnitt 2.2.1.1 berechnet wurden, da die Grenzfläche zwischen dem Glas – oder dem Polymer – und der Luft die elektrischen Felder beeinflusst. Der Einfluss lässt sich aber gut mitberücksichtigen, da das einfallende elektrische Feld in der im Abschnitt 2.2.1.1 verwendeten Debye-Näherung in ein Spektrum von ebenen Wellen zerlegt wird. Das Reflexions- und Brechungsverhalten von ebenen Wellen an ebenen Grenzflächen kann durch die Fresnelschen Reflexions- und Transmissions-Koeffizienten und das Snelliussche Brechungsgesetz [2.59] einfach berücksichtigt und in die im Abschnitt 2.2.1.1 vorgestellten Formeln integriert werden. Das Problem ist aus der Mikroskopie bekannt. Biologische Proben werden oft in wässriger Lösung untersucht, so dass hier ebenfalls auf eine Grenzfläche zwischen zwei Dielektrika fokussiert werden muss. Die Gleichungen werden für einen Parabolspiegel im

¹ Novotny zeigte kürzlich die Orientierungs-Bestimmung einzelner Moleküle mit radial polarisiertem Licht [2.58]. Er verwendete eine konfokales Mikroskop mit einem Objektiv mit hoher numerischer Apertur.

Anhang H hergeleitet, für ein aplanatisches Objektiv findet man sie in [2.60]-[2.65]. Grundsätzlich sind sie ähnlich wie die aus Abschnitt 2.2.1.1. Für Punkte auf der Seite der Grenzfläche, aus der der beleuchtende Strahl einfällt, kommt ein Term dazu, der die Reflexion berücksichtigt. Für Punkte auf der anderen Seite ist es eine Gewichtung mit den Transmissions-Koeffizienten.

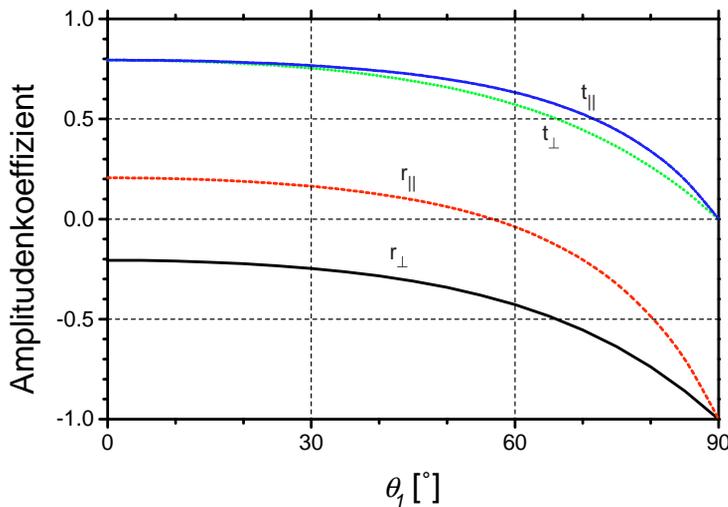


Abbildung 2.16. Amplitudenkoeffizienten für die Reflexion (r_{\perp} , r_{\parallel}) und die Transmission (t_{\perp} , t_{\parallel}) durch eine dielektrische Grenzschicht mit den Brechungsindizes $n_1 = 1.0$ und $n_2 = 1.518$ in Abhängigkeit vom Einfallswinkel θ_1 .

Die Werte der Reflexions- und Transmissions-Koeffizienten sind in Abbildung 2.16 für eine Grenzfläche mit $n_1 = 1.0$ und $n_2 = 1.518$ gezeigt. In Abschnitt 2.2.1.2 wurde gezeigt, dass die einfallende Strahlung im Parabolspiegel vorwiegend aus einem Winkelbereich um $\theta_1 \approx 50^\circ$ einfällt. Die Resultate werden also vorwiegend von den Fresnelschen Koeffizienten um 50° beeinflusst. In diesem Bereich hat der Reflexions-Koeffizient für parallel zur Einfallsebene polarisierte Strahlung (p-polarisiert) einen Nulldurchgang. Für die p-polarisierten Anteile ändert sich also wenig.

2.3.1.1 Numerische Feldberechnungen

Im folgenden werden die Feldverteilungen für einen parabolischen Hohlspiegel, wie er in unserem Mikroskop eingebaut ist, berechnet (siehe Seite 72). Es werden die Feldverteilungen mit und ohne eingebaute Glasprobe (Brechungsindex $n_2 = 1,518$) miteinander verglichen. Der Spiegel hat eine numerische Apertur von $NA = 0,998$, was einem halben Öffnungswinkel von $86,4^\circ$ entspricht, und eine Brennweite f von 4,5 mm. Der Probenhalter mit Radius $r = 1,5$ mm bedeckt das Zentrum des Spiegels, so dass der kleinste Winkel unter dem Licht auf die Probe fällt $\alpha_0 = 18,9^\circ$ ist. Dies sind also die gleichen Parameter wie im Abschnitt 2.2.1.2, außer dass der Spiegel kein konvexer Glasspiegel mehr ist, sondern ein Hohlspiegel mit Brechungsindex $n_1 = 1.0$ (Luft). Die Feldverteilungen für den Fall ohne Probe sind also die gleichen wie im Abschnitt 2.2.1.2. Sie sind allerdings skaliert, da das Material zwischen Spiegelfläche und Probe nicht mehr Glas ($n_1 = 1.518$) sondern Luft ($n_1 = 1.0$) ist. Sie werden hier nur nochmals gezeigt um den direkten Vergleich zu haben.

Lineare Polarisation

Für die Berechnungen wurde wieder ein Gauß-Strahl mit einem Strahlradius w_0 von $3/2 \times$ Pupillenradius benutzt.

In Abbildung 2.17 sind Konturlinien-Bilder von $|\mathbf{E}|^2$ in der x,y-Ebene dargestellt. Durch den Einfluss der Grenzfläche wird die Größe des zentralen Flecks leicht beeinflusst. Während die Halbwerts-Breiten (FWHM) ohne Grenzfläche in x-Richtung $0,77 \lambda$ und in y-Richtung $0,39 \lambda$ betragen, sind sie mit Grenzfläche in x-Richtung $0,86 \lambda$ und in y-Richtung $0,44 \lambda$, also geringfügig größer. Auffallend ist, dass die x-Komponente des Feldes fast kreisförmig ist, und dass die y-Komponente fast vollständig verschwindet (Das Verhältnis der Maximalwerte der y-Komponente mit und ohne Glasprobe beträgt $0,00026:1$). Beides hat dieselbe Ursache, da sowohl die Asymmetrie, als auch die y-Komponente durch das Integral $I_{2,1}$ erzeugt werden (siehe Gleichung (2.2) und (A.36)). Dieses Integral verschwindet im betrachteten Fall fast. Die Ursache dafür ist, dass die Phase des reflektierten s-polarisierten Lichts um π gegenüber dem einfallenden verschoben ist und die Oberfläche für den Einfallswinkel von $\theta \approx 50^\circ$ schon gut reflektiert und damit die Feldstärke an der Grenzfläche reduziert. Der Beitrag der p-polarisierten Komponente zur y-Komponente ist proportional zu $\cos\theta$ und für den Einfallswinkel von $\theta \approx 50^\circ$ gerade so groß, dass die Feldstärke in y-Richtung an der Oberfläche fast null wird. Diese extreme Unterdrückung der y-Komponenten ist also bedingt durch die gewählten Parameter. Allgemein gültig ist aber, dass die y-Komponenten in Systemen mit hoher NA geschwächt werden.

Betrachtet man die Schnitte entlang der optischen Achse (siehe Abbildung 2.18), so sieht man, dass die x-Komponente der Intensität stetig in das Medium mit dem höheren Brechungsindex übergeht, die z-Komponente aber einen Sprung macht, wie das die Maxwell'schen Gleichungen verlangen. Zudem sieht man die Brechung: das Licht erreicht den Fokus unter einem großen Einfallswinkel, verlässt ihn aber unter einem kleineren Winkel. Dies hat auch zur Folge, dass die longitudinale Ausdehnung des Fokus im höher brechenden Material wesentlich größer ist. Außerdem ist zu sehen, dass wegen der Reflexion an der Oberfläche die maximale Intensität nicht mehr im geometrischen Fokus an der Grenzfläche erreicht wird, sondern darüber (siehe Abbildung 2.18e).

Radiale Polarisation

Für radial polarisiertes Licht wurde wie im Abschnitt 2.2.1.2 (Seite 25) ein Bessel-Gauß-Strahl mit einem Strahlradius w_0 von $3/2 \times$ Pupillenradius benutzt.

Da radial polarisiertes Licht bei der Reflexion an der Spiegeloberfläche nur p-polarisierte Komponenten hat und diese an der Probenoberfläche für einen mittleren Einfallswinkel von $\theta \approx 50^\circ$ kaum reflektiert werden, ändert sich an den Feldverteilungen in der x,y-Ebene nur wenig. Es wird deshalb darauf verzichtet, die Feldverteilungen darzustellen.

Schnitte durch die x,z-Ebene (Abbildung 2.19) zeigen, dass die sehr starke z-Komponente des elektrischen Feldes auch mit eingebauter Glasprobe im Gebiet oberhalb der Probe erhalten bleibt. Da die z-Komponente aber einen Sprung an der Grenzfläche macht, wird sie im Glas beträchtlich geschwächt. Für die z-Komponente auf beiden Seiten der Grenzfläche gilt [2.66]:

$$\varepsilon_1 E_{z_1} = \varepsilon_2 E_{z_2}, \quad (2.11)$$

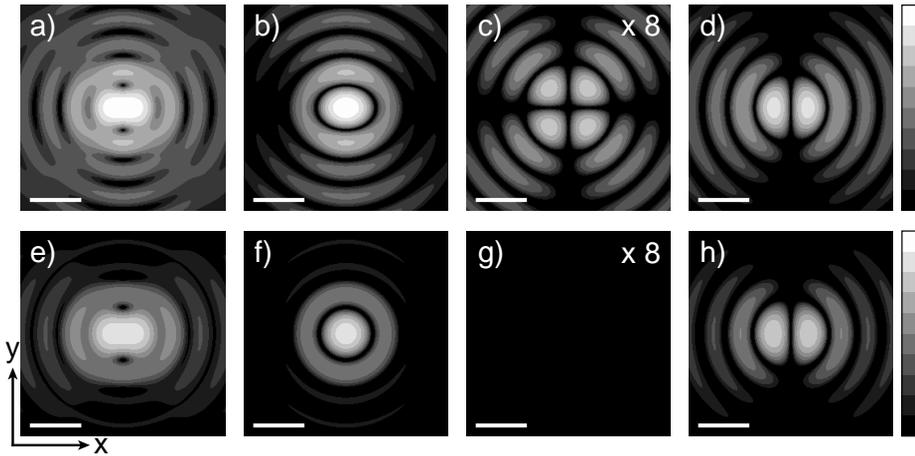


Abbildung 2.17. Linien konstanten $|\mathbf{E}|^2$ in der x,y -Ebene eines mit einem Parabolspiegel ($NA = 0,998$, $n = 1,0$, $f_m = 4,5$ mm) fokussierten Gauß-Strahls, der in x -Richtung linear polarisiert ist. In der oberen Zeile ohne und in der unteren Zeile mit einer Probe ($n = 1,518$) im Fokus. In diesem Fall liegt der Schnitt direkt oberhalb der Grenzfläche. In a) und e) ist $|\mathbf{E}|^2$, in b) und f) $|E_x|^2$, in c) und g) $|E_y|^2 \times 8$ und in d) und h) $|E_z|^2$ dargestellt. Es wird eine logarithmische Skala verwendet, die einen Faktor zwei zwischen benachbarten Konturlinien hat. Die Länge des Balkens entspricht der Vakuum-Wellenlänge λ .

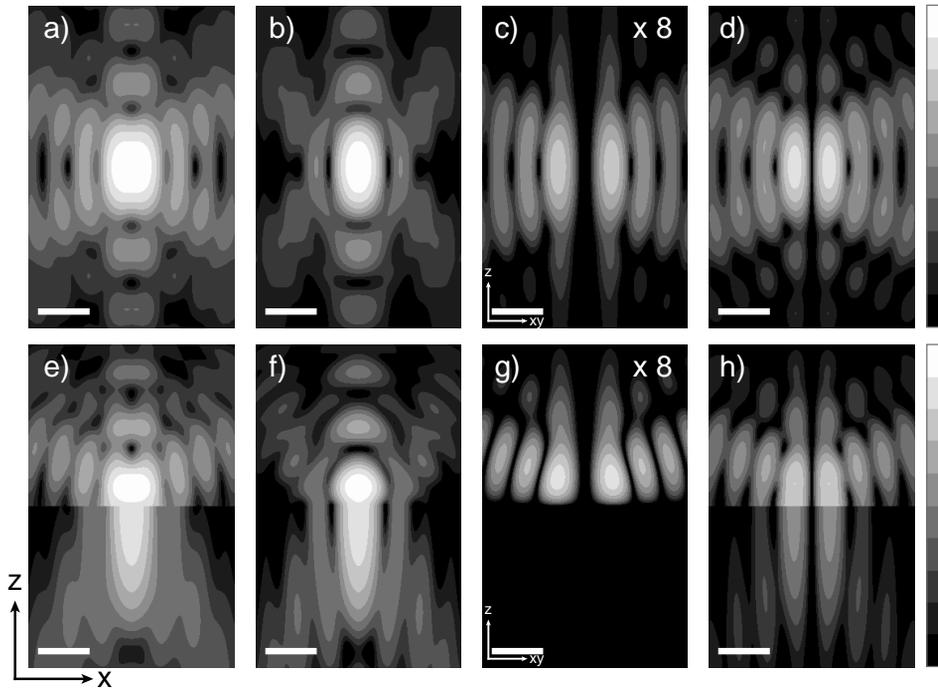


Abbildung 2.18. Linien konstanten $|\mathbf{E}|^2$ in der x,z -Ebene eines mit einem Parabolspiegel ($NA = 0,998$, $n = 1,0$, $f_m = 4,5$ mm) fokussierten Gauß-Strahls, der in x -Richtung linear polarisiert ist. In der oberen Zeile ohne und in der unteren Zeile mit einer Probe ($n = 1,518$) im Fokus. In a) und e) ist $|\mathbf{E}|^2$ in der x,z -Ebene, in b) und f) $|E_x|^2$ in der x,z -Ebene, in c) und g) $|E_y|^2 \times 8$ in der Ebene, die von der z -Achse und der Diagonalen in der x,y -Ebene aufgespannt wird, und in d) und h) ist $|E_z|^2$ dargestellt. Es wird eine logarithmische Skala verwendet, die einen Faktor zwei zwischen benachbarten Konturlinien hat. Die Länge des Balkens entspricht der Wellenlänge λ .

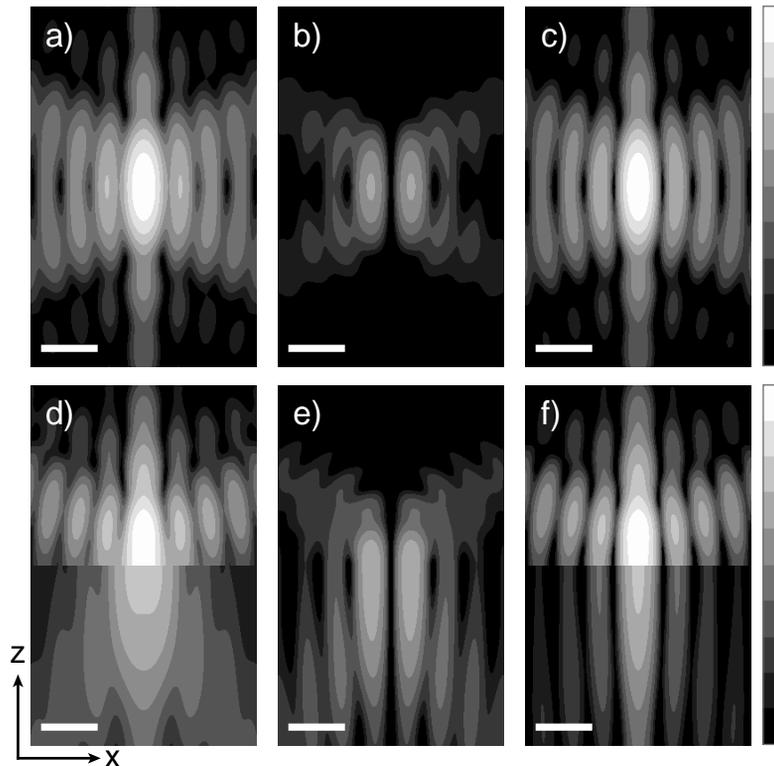


Abbildung 2.19. Linien konstanten $|E|^2$ in der x,z -Ebene in der Nähe des Fokusses eines Parabolspiegels für einen radial polarisierten Bessel-Gauß-Strahl. In der oberen Zeile ohne und in der unteren Zeile mit einer Probe ($n = 1,518$) im Fokus. In a) und d) ist $|E|^2$, in b) und e) die Radialkomponente $|E_r|^2$ und in c) und f) ist die Longitudinal-Komponente $|E_z|^2$ dargestellt. Es wird eine logarithmische Skala verwendet, die einen Faktor zwei zwischen benachbarten Konturlinien hat. Die Länge des Balkens entspricht der Wellenlänge λ .

wobei ε_i die relative Dielektrizitäts-Konstante des entsprechenden Mediums ist, die über $\varepsilon_i = n_i^2$ mit dem Brechungsindex verknüpft ist. Für den Intensitätssprung der z -Komponente an der dielektrischen Grenzfläche folgt daraus, dass $I_{z2} = (n_1/n_2)^4 I_{z1} = 0,188 I_{z1}$ ist. Die z -Komponente wird also deutlich geschwächt.

Eine Momentaufnahme ($|\text{Re}(\mathbf{E}(t))|^2$, siehe Abbildung 2.20) zeigt, wie die große longitudinale Ausdehnung des Fokusses im Glas zustande kommt. Die unter großem Einfallswinkel einlaufenden Wellen werden gebrochen und verlassen den Fokus unter einem kleinen Winkel gegenüber der Flächennormalen. Es bildet sich ein Interferenzgebiet im Glas, das entlang der z -Achse ausgedehnt ist (wie das auch für das Objektiv wegen der kleineren numerischen Apertur der Fall war. Siehe Abschnitt 2.2.1.2).

Quantitativer Vergleich

Für einen quantitativen Vergleich wird in Abbildung 2.21 die Intensität entlang der optischen Achse für lineare und radiale Polarisation mit und ohne Probe betrachtet.

Für linear polarisierte Anregung gibt es entlang der optischen Achse keine z -Komponente. Deshalb ist die Intensität entlang der Achse stetig. Sie beträgt an der Oberfläche der Probe aber nur noch 46 % der Intensität ohne Probe. Die longitudinale Ausdehnung (HWHM¹) des Fokusses im Glas (n_2) ist $1,31 \lambda$ gegenüber $0,5 \lambda$ ohne Probe.

¹ Half width at half maximum, die Hälfte der Halbwertsbreite.

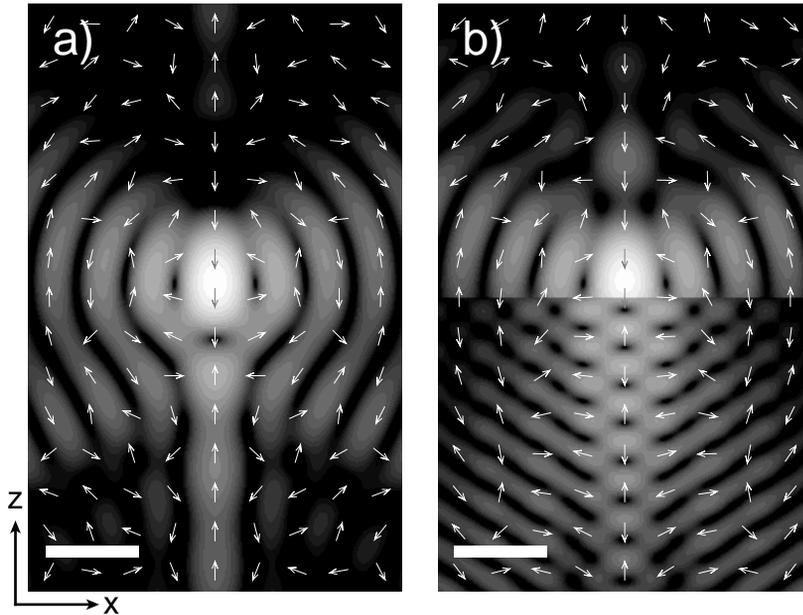


Abbildung 2.20. Konturlinien-Bilder von $|\text{Re}(\mathbf{E}(t))|^2$ in der x,z -Ebene in der Nähe des Fokusses eines Parabolspiegels ohne (a) und mit Probe ($n = 1,518$) (b) für radiale Polarisation. Es wird eine logarithmische Skala verwendet, die einen Unterschied von Faktor $\sqrt{2}$ zwischen benachbarten Konturlinien hat. Die Vektoren zeigen die Richtung des elektrischen Feldes an. Die Zeit t im zeitabhängigen Term $\exp(-i\omega t)$ beträgt $\pi/3\omega$. Die Länge des Balkens entspricht der Wellenlänge λ .

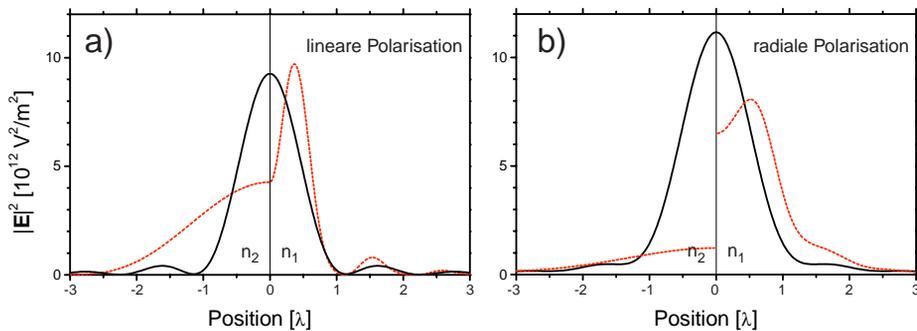


Abbildung 2.21. Abhängigkeit von $|\mathbf{E}|^2$ vom Abstand vom Fokus entlang der z -Achse eines Parabolspiegels für lineare Polarisation (a) und radiale Polarisation (b) ohne (—) und mit Probe (---). In beiden Abbildungen ist die vom Parabolspiegel fokussierte Intensität auf 1 mW normiert. Damit lässt sich die Feldstärke direkt als $\sqrt{|\mathbf{E}|^2}$ aus den Abbildungen ablesen.

Für radiale Polarisation beträgt die longitudinale Ausdehnung des Fokus im Glas $1,62 \lambda$ gegenüber $0,83 \lambda$ ohne Probe. Die Intensität an der Probenoberfläche beträgt oben ($n_1 = 1,0$) 58 % der Intensität ohne Probe, im Glas aber nur noch 11 %. Um die Vorteile einer starken z -Komponente des Feldes in der Probe nutzen zu können, ist der Hohlspiegel also nicht geeignet. Solange man das starke longitudinale Feld nur über der Probe benötigt hingegen schon. Eine Anwendung, die dies nutzt, wird im folgenden Kapitel 2.4 dargestellt.

2.3.2 Einzelmolekül-Abbildung

Für einzelne Moleküle, die in ein Dielektrikum eingebettet sind und nahe bei einer dielektrischen Grenzfläche liegen müssen drei Dinge berücksichtigt werden. (1) Die Reflexion und Brechung der emittierten Strahlung an der dielektrischen Grenzfläche bewirkt, dass die Winkelverteilung der emittierten Strahlung nicht mehr Dipolcharakteristik aufweist. (2) Die Interferenz von reflektiertem und direkt abgestrahltem Licht ändert die insgesamt emittierte Strahlungsleistung¹ (3) Nahfeldanteile des elektromagnetischen Feldes können ins Fernfeld übertragen werden. Dies ist allerdings nur möglich, wenn sich der Dipol im Medium mit dem kleineren Brechungsindex befindet. Zur korrekten Berechnung der Strahlungsverteilung in diesem Fall müssen also die Nahfeldanteile mitberücksichtigt werden. Hier soll der Fall untersucht werden, in dem der Dipol in ein Dielektrikum (n_p) eingebettet ist, das eine Grenzfläche zu Vakuum ($n_o = 1$) hat. Der Einfluss einer dielektrischen Grenzfläche auf das Strahlungsverhalten eines klassischen Dipols ist in der Literatur theoretisch [2.67] - [2.70], [2.7] und experimentell [2.71] beschrieben worden. In unserem Fall ist der Dipol auf der Seite der Grenzfläche mit dem höheren Brechungsindex eingebettet und wird auf der Seite mit dem kleineren Brechungsindex detektiert. Die evaneszenten Anteile des Dipolfeldes bleiben also auch jenseits der Grenzfläche evaneszent und verschwinden im Fernfeld. Da im Raum jenseits der Grenzfläche keine Interferenz auftreten kann, ist die Winkelverteilung der Intensität auch unabhängig vom Abstand d zwischen Dipol und Grenzfläche. Nur die insgesamt abgestrahlte Leistung und die Winkelverteilung der Phase sind abhängig vom Abstand² d des Dipols von der Grenzfläche.

Analog zur Formulierung in Abschnitt 2.2.2.1 erhält man in diesem Fall für das Feld auf dem Detektor (siehe Abbildung 2.10)

$$\mathbf{E}(\mathbf{r}_o) = -\frac{ik_0^3 f_o}{\sqrt{16\pi^3 \epsilon_o}} \int_{\theta_{o,\min}}^{\theta_{o,\max}} \int_0^{2\pi} \frac{(1 + \cos \theta_m)}{2f_m} \sqrt{\cos \theta_o} \frac{1}{n_p} \sqrt{\frac{\cos \theta_m}{\cos \theta_p}} \left[(\mathbf{p} \cdot \mathbf{e}_{p,\parallel}) t_p \mathbf{e}_{o,\parallel} - (\mathbf{p} \cdot \mathbf{e}_{\perp}) t_s \mathbf{e}_{\perp} \right] \exp\left(ik_0(\mathbf{r}_o \mathbf{s}_o - \mathbf{r}_m \mathbf{s}_m)\right) \sin \theta_o d\theta_o d\varphi \quad (2.12)$$

mit folgenden Definitionen für die Einheitsvektoren \mathbf{e}_{\perp} , $\mathbf{e}_{p,\parallel}$, $\mathbf{e}_{o,\parallel}$, \mathbf{s}_m und \mathbf{s}_o

$$\begin{aligned} \mathbf{e}_{\perp} &= (-\sin \varphi, \cos \varphi, 0), \\ \mathbf{e}_{p,\parallel} &= (\cos \theta_p \cos \varphi, \cos \theta_p \sin \varphi, \sin \theta_p), \\ \mathbf{e}_{o,\parallel} &= -(\cos \theta_o \cos \varphi, \cos \theta_o \sin \varphi, \sin \theta_o), \\ \mathbf{s}_m &= (\sin \theta_m \cos \varphi, \sin \theta_m \sin \varphi, -\cos \theta_m), \\ \mathbf{s}_o &= -(\sin \theta_o \cos \varphi, \sin \theta_o \sin \varphi, -\cos \theta_o). \end{aligned} \quad (2.13)$$

Dabei ist n_p der Brechungsindex des Probenmaterials, in das der Dipol eingebettet ist, θ_o der Polarwinkel im Abbildungsobjektiv, θ_m der Polarwinkel im Parabolspiegel und θ_p der über das Snelliussche Gesetz mit θ_m verknüpfte Polarwinkel im Probenmaterial³. t_p und t_s sind die

¹ Eine anschauliche Erklärung dieses Einflusses auf die insgesamt emittierte Leistung findet man bei Drexhage [2.72].

² Die Winkelverteilung des Lichtes, das in das Medium n_p abgestrahlt wird, zeigt hingegen wegen der Interferenzen mit dem reflektierten Licht eine starke Abhängigkeit vom Abstand d [2.67], [2.72].

³ Für die Winkelfunktionen von θ_p gilt: $\sin \theta_p = 1/n_p \sin \theta_m$ und $\cos \theta_p = (1 - (1/n_p \sin \theta_m)^2)^{1/2}$.

Transmissions-Koeffizienten nach ([2.68], Seite 1616)¹ und r_z ist die z-Komponente der Position des Dipols. Die übrigen Größen sind wie in Abschnitt 2.2.2.1 definiert. Der Term $1/n_p (\cos\theta_m/\cos\theta_p)^{1/2}$ berücksichtigt die Auffächerung des vom Dipol emittierten Lichts durch die Brechung an der Grenzfläche, die eine Änderung der Energiedichte pro Raumwinkel-Element bewirkt. Die Herleitung wird analog zur Herleitung des Apodisierungsfaktors gemacht (siehe Anhang A). Gleichung (2.12) gilt nur für einen Dipol, der direkt unter der Probenoberfläche liegt. Wenn der Dipol tiefer in der Probe liegt, müssen die unterschiedlich langen Wege im Probenmaterial für verschiedene Polarwinkel θ berücksichtigt werden². Dieser zusätzliche Phasenterm hat eine Krümmung der Wellenfront zur Folge. Solange der Dipol aber nicht zu tief unter der Probenoberfläche sitzt, ist der Einfluss gering³. Durch den Übergang des emittierten Lichts vom optisch dichteren Medium ins optisch dünnere geht durch Totalreflexion an der Grenzfläche ein Teil des Lichts für die Detektion verloren.

Zur Berechnung der Sammeleffizienz muss der Einfluss vom Abstand d des Dipols von der Grenzfläche und von seiner Orientierung auf die insgesamt abgestrahlte Leistung berücksichtigt werden [2.67], [2.68]⁴.

2.3.2.1 Numerische Feldberechnungen

Für die folgenden Berechnungen wurde der Hohlspiegel angenommen, der im beschriebenen Mikroskop eingebaut ist (siehe Kapitel 3) und dessen Daten im Abschnitt über die Fokussierung durch eine Grenzfläche (2.3.1.1) angegeben worden sind. Das vom Spiegel gesammelte Licht wird mit einem Abbildungsobjektiv mit der Brennweite $f_o = 225$ mm abgebildet. Die Probe hat einen Brechungsindex von $n_p = 1,518$. Das Molekül soll direkt unter der Grenzfläche liegen, so dass die Wellenfront, die den Spiegel verlässt, keine Krümmung hat. Der Grenzwinkel der Totalreflexion beträgt für den Probe/Vakuum-Übergang $41,4^\circ$. Licht, das unter größeren Winkeln emittiert wird, kann die Probe nicht verlassen. Da der Parabolspiegel

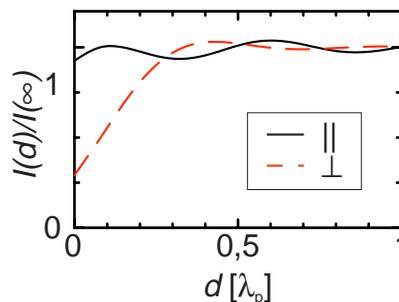
¹ Die hierzu benutzten Fresnelschen Transmissions-Koeffizienten sind:

$$t_s = \frac{2\sqrt{n_p \cos\theta_p \cos\theta_m}}{n_p \cos\theta_p + n_m \cos\theta_m}, \quad t_p = \frac{2\sqrt{n_p \cos\theta_p \cos\theta_m}}{n_m \cos\theta_p + n_p \cos\theta_m}.$$

² Dies geschieht durch einen zusätzlichen Phasenterm: $i k d(n_p \cos(\theta_m - \theta_p) - 1) / \cos\theta_p$, wobei d die Dicke des Probenmaterials über dem Dipol ist. Der erste Summand beschreibt den Beitrag zur Phase durch den Weg im Probenmaterial, der zweite korrigiert den Beitrag des Weges, der dann *nicht* im Medium *über* der Probe durchlaufen wird. Diese Korrektur gilt aber nur, solange $d \ll f$ ist, wobei f die Brennweite des Spiegels ist.

³ Da die Moleküle in der Regel in dünne Filme (~ 50 nm) eingebettet oder direkt auf eine Glasoberfläche aufgebracht werden, ist dies erfüllt.

⁴ Der Einfluss des Abstandes d des Dipols von der Grenzfläche sei hier für den Fall $n_p = 1,518$ und $n_o = 1$ nach Lukosz [2.67] gezeigt:



Dargestellt ist das Verhältnis der insgesamt abgestrahlten Leistung eines elektrischen Dipolstrahlers mit Abstand d von der Grenzfläche zur abgestrahlten Leistung ohne Grenzfläche. Der Dipol ist senkrecht (\perp) oder parallel (\parallel) zur Grenzfläche orientiert. Der Abstand d ist in Wellenlängen λ_p im Medium n_p angegeben.

eine hohe numerische Apertur von 0,998 hat, kann aber fast alles Licht, das die Probe verlässt, gesammelt und auf den Detektor abgebildet werden (vergleiche Abbildung 2.10).

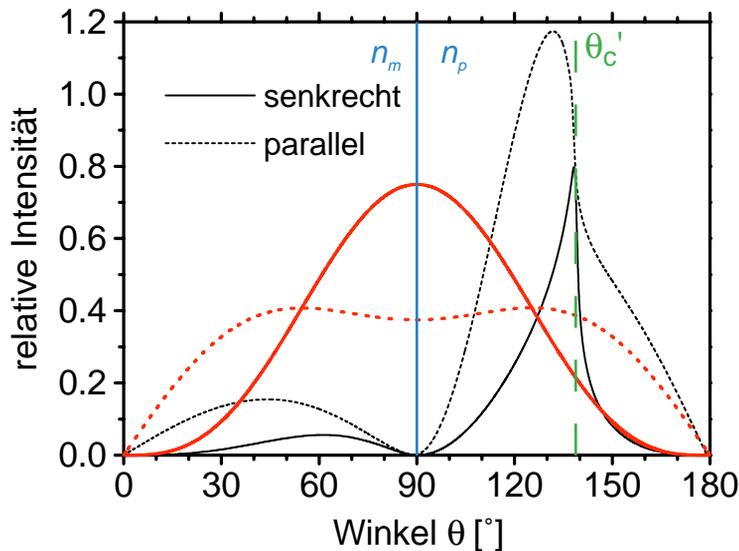


Abbildung 2.22. Abhängigkeit der von einem elektrischen Dipol emittierten Intensität vom Polarwinkel θ für einen Dipol im unendlich ausgedehnten Medium ($n_p = 1,518$) (fette Linien) und für einen Dipol an einer Grenzfläche ($n_m = 1,0 / n_p = 1,518$) (feine Linien). Jeweils dargestellt für einen Dipol, der parallel ($\theta = 90^\circ$, ---) und einen der senkrecht ($\theta = 0^\circ$, —) zur Grenzfläche liegt. Der Winkel θ_c' eines an der Grenzfläche unter dem Grenzwinkel der Totalreflexion reflektierten Lichtstrahls ist durch die senkrechte gestrichelte Linie bei $138,8^\circ$ gegeben.

Die Verteilung der Intensität des Lichts in Abhängigkeit vom Polarwinkel θ des Dipols \mathbf{p} gegenüber der Spiegelachse ist in Abbildung 2.22 dargestellt. Wenn der Dipol an einer Grenzfläche liegt, wird Licht vorwiegend in die Probe emittiert. Das in die Probe emittierte Licht liegt zur Mehrheit bei Winkeln, die größer sind als der Winkel der Totalreflexion. Dieser Anteil kann also eine ebene Probenplatte nicht mehr verlassen.

Abbildung 2.23 zeigt Bilder der Intensitätsverteilung im Fokus des Abbildungsobjektivs für ein Molekül, das in einem homogenen Medium emittiert ($n_p = 1,518$) und ein Molekül, das an der Probe ($n_p = 1,518$) / Vakuum-Grenzfläche emittiert und im geometrischen Fokus des Spiegels liegt. Die insgesamt abgestrahlte Leistung eines parallel zur Grenzfläche bei $d = 0$ liegenden Dipols beträgt 92,6 % der ohne Grenzfläche abgestrahlten und 29,1 % für einen senkrecht zur Oberfläche stehenden Dipol. Ein Detektor mit Durchmesser¹ $D = 1,2 \cdot 1,22 \lambda / NA_o$ hat damit eine Sammeffizienz (CEF) von 0,12 für den Dipol, der parallel zur Probenoberfläche bei $d = 0$ liegt gegenüber 0,37 für einen Dipol im homogenen Medium. Für einen Dipol, der entlang der z-Achse orientiert ist, beträgt die Sammeffizienz ebenfalls nur 0,12 gegenüber 0,39 ohne Grenzfläche.

Der entlang der z-Achse orientierte Dipol strahlt seine Energie vorwiegend in der x,y-Ebene ab. Ein Großteil des Lichts wird an der Grenzfläche totalreflektiert und nur ein relativ kleiner Anteil verlässt das Probenmaterial und erreicht schließlich den Detektor. Das totalreflektierte Licht interferiert aber teilweise destruktiv mit dem direkt abgestrahlten. Deshalb wird insgesamt deutlich weniger Licht vom Dipol emittiert als in einem homogenen Medium. Vom insgesamt emittierten Licht kann deshalb trotzdem relativ viel gesammelt werden.

¹ Der Durchmesser entspricht dem Durchmesser der Airy-Scheibe multipliziert mit 1,2, um das Licht von Dipolen, die entlang der z-Achse orientiert sind, ebenfalls gut detektieren zu können (siehe Abschnitt 2.2.2.2, Seite 34).

Die Intensitätsverteilung für einen entlang der x-Achse orientierten Dipol zeigt im Medium schon fast eine Kreissymmetrie (Abbildung 2.23b), wie das für den paraxialen Fall erwartet würde. Da nur Licht aus einem relativ kleinen Raumwinkel-Element gesammelt wird ($d\Omega_p \approx \pi/2$), zeigt die Strahlung in diesem Raumwinkelbereich schon eine Intensitätsverteilung, die nur noch wenig vom Azimutwinkel φ abhängt.

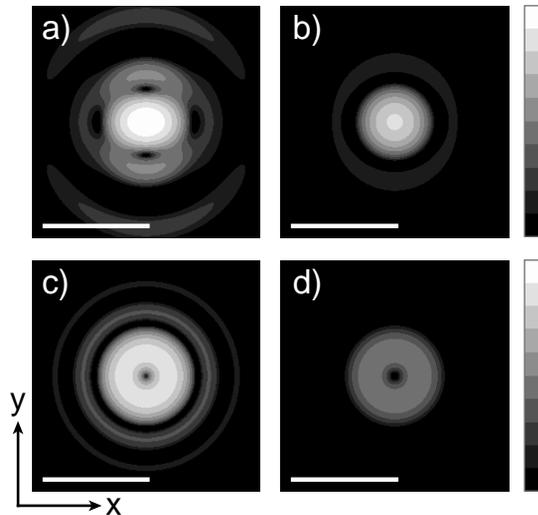


Abbildung 2.23. Konturlinien-Bilder von $|E|^2$ für einen Dipolstrahler in der Umgebung des Bildfokusses. Der Dipol ist in a) und c) im Vakuum und in b) und d) an der Grenzfläche einer Probe mit Brechungsindex $n_p = 1,518$ eingebettet. In den Bildern a) und b) liegt der Dipol entlang der x-Achse, in c) und d) entlang der z-Achse. Es wird eine logarithmische Skala verwendet, die einen Faktor zwei zwischen benachbarten Konturlinien hat. Die Länge des Balkens entspricht der Vergrößerung M mal der Vakuum-Wellenlänge.

2.3.3 Diskussion und Zusammenfassung

Es konnte gezeigt werden, dass ein parabolischer *Hohlspiegel*, mit dem eine dielektrische Probe beleuchtet wird, wie es in unserem Mikroskop geschieht, eine gute Lateralauflösung besitzt. Die Probenoberfläche reduziert jedoch die Tiefenauflösung in der Probe gegenüber einem Immersionsspiegel deutlich.

Bei der Beleuchtung mit linear polarisiertem Licht tritt an der Probenoberfläche eine deutliche Schwächung der Intensität senkrecht zur Anregungsrichtung auf.

Mit radial polarisiertem Licht kann über der Probe immer noch ein sehr kleiner Fokus mit einem starken longitudinalen Feld und nur kleinen lateralen Feldkomponenten erzeugt werden. Unter der Probenoberfläche wird die longitudinale Komponente aber deutlich geschwächt. Dem Einsatz dieser Konfiguration für nahfeldoptische Anwendungen mit Feldverstärkung an Metallspitzen steht dies aber nicht im Weg, da die starke longitudinale Komponente nur über der Probe, wo die Spitze eingebaut werden kann, benötigt wird.

Messungen von Molekülen in der Nähe von dielektrischen Grenzflächen sind schwieriger zu interpretieren, da eine Abhängigkeit der Sammeffizienz vom Abstand zur Grenzfläche und von der Orientierung des Moleküls besteht. Die Sammeffizienz ist kleiner als ohne Grenzfläche, da ein Teil des Lichts an der Grenzfläche totalreflektiert wird und die Probe nicht mehr verlassen kann. Das totalreflektierte Licht kann aber destruktiv mit dem direkt in die Probe abgestrahlten Licht des Moleküls interferieren. So ist für einen senkrecht zur Grenzfläche orientierten Dipol die insgesamt detektierte Leistung wegen der Totalreflexion zwar deutlich reduziert, die Sammeffizienz ändert sich aber wesentlich weniger, weil destruktive Interferenz die insgesamt vom Molekül abgestrahlte Leistung reduziert. Immersi-

onssysteme, die auf der Seite des höheren Brechungsindex sammeln können, sind dem hier besprochenen Aufbau deutlich überlegen [2.7], [2.69]. Für Tieftemperatur-Anwendungen können aber keine Immersionssysteme¹ verwendet werden. Die Verwendung von Luft-Objektiven anstelle des parabolischen Hohlspiegels ist, was die Sammeleffizienz anbelangt, nicht ratsam. Auch die Luft-Objektive sind durch die Totalreflexion an der Probe-Luft-Grenzfläche – auf beiden Seiten der Probe – limitiert. Zusätzlich können sie aber nur mit einem kleineren Öffnungswinkel hergestellt werden² und dürfen nicht mit gekitteten Linsen aufgebaut sein³, was die Grenzen des technisch Machbaren reduziert. Mit einem Luft-Objektiv kann dann wegen der kleineren NA also nur ein Teil des Lichts, das die Probe verlässt, gesammelt werden, mit dem Parabolspiegel fast alles⁴. Für Tieftemperatur-Anwendungen ist der Parabolspiegel also einem Objektiv wegen der hohen numerischen Apertur, die erreicht werden kann, überlegen. Sammelt das Objektiv von der Probenrückseite, so sind die Unterschiede nicht mehr so ausgeprägt. Der Parabolspiegel zeigt aber immer noch Vorteile, insbesondere für Dipole, die senkrecht zur Probenoberfläche orientiert sind⁵.

Der Einsatz eines konkaven Parabolspiegels mit hoher numerischer Apertur kann auch Vorteile haben in der Femtosekunden-Spektroskopie, da er keine chromatische Aberration hat und deshalb Femtosekunden-Pulse, die eine große spektrale Breite haben, gut fokussieren kann.

2.4 Feldverstärkung

2.4.1 Theorie

Bis jetzt sind nur klassische Methoden der Mikroskopie besprochen worden. Es konnte gezeigt werden, dass mit einem Parabolspiegel die Auflösung dank der hohen numerischen Apertur die Beugungsgrenze erreichen kann. Für viele Anwendungen ist aber eine Auflösung bis in den Bereich von einigen Nanometern, was der Größe einzelner Moleküle entspricht, wünschenswert. Ein Parabolspiegel, der mit radial polarisiertem Licht beleuchtet wird und in dessen Fokus sich eine Metallspitze befindet, ist eine vielversprechende Kombination für Feldverstärkung an einer Metallspitze. Dies soll im folgenden etwas genauer besprochen werden. Zuerst soll der theoretische Hintergrund für die Fern- und Nahfeld-Mikroskopie sowie die Beugungsgrenze der klassischen Mikroskopie gegeben werden⁶.

2.4.1.1 Ebene-Wellen-Darstellung

Der zeitunabhängige Teil eines monochromatischen elektrischen Feldes $\mathbf{E}(\mathbf{r})$, $\mathbf{r} = (x, y, z)$, das sich in positiver z -Richtung ausbreitet, hat im quellfreien Gebiet $z \geq 0$ in einer Ebene mit festem z ein zweidimensionales Fourier-Spektrum $\hat{\mathbf{E}}(\mathbf{k}_{\parallel}, z)$ [2.75]⁷. Dabei sind $\mathbf{k}_{\parallel} = (k_x, k_y)$

¹ In Abschnitt 3.1.1 wird besprochen werden, dass es Möglichkeiten gibt, eine Festkörper-Immersion zu benutzen, die zwar eine höhere Sammeleffizienz ermöglichen, aber andere Schwierigkeiten mit sich bringen.

² Gute Luft-Objektive haben einen halben Öffnungswinkel von etwa 58° ($NA = 0,85$).

³ Gekittete Linsen haben wegen der unterschiedlichen Expansionskoeffizienten von Kitt und Glas eine starke Neigung, beim Abkühlen auf tiefe Temperaturen zu zerspringen.

⁴ Ein Ausweg zum Sammeln von möglichst viel Licht ist die Verwendung eines halbkugelförmigen Probenhalters aus Glas in Kombination mit einem elliptischen Spiegel, wie das von Hecht [2.73] (für andere Zwecke) und [2.74] schon benutzt wurde, oder eines Glasparabolspiegels als Sammeloptik [2.4], [2.7]. Dabei treten aber andere Probleme auf, insbesondere wegen der Abbildungsfehler der Spiegel beim Rastern.

⁵ Für ein Objektiv mit $NA = 0,85$ können nur 5 % des Lichts eines senkrecht zur Probenoberfläche orientierten Dipolstrahlers detektiert werden. Dafür können 15 % des Lichts eines parallel zur Oberfläche orientierten Dipols detektiert werden.

⁶ Die Darstellung der Theorie folgt [2.75] und [2.76].

⁷ Dies gilt nur unter der Voraussetzung, dass die Energie $\int_A |\mathbf{E}(\mathbf{r})|^2 d\mathbf{k}_{\parallel}$ in der Ebene A mit $z = \text{konstant}$ endlich ist. Zudem muss $\mathbf{E}(\mathbf{r})$ einige weitere Bedingungen erfüllen (siehe [2.75], Abschnitt 2.5).

reelle räumliche Wellenvektoren parallel zu dieser Ebene. Das elektrische Feld kann in der Ebene also folgendermaßen ausgedrückt werden

$$\mathbf{E}(\mathbf{r}) = \frac{1}{2\pi} \iint \hat{\mathbf{E}}(\mathbf{k}_{\parallel}, z) \exp(i \mathbf{k}_{\parallel} \cdot \mathbf{r}_{\parallel}) d\mathbf{k}_{\parallel}, \quad (2.14)$$

wobei $\mathbf{r}_{\parallel} = (x, y)$ ist, also die räumlichen Koordinaten in der Ebene. Das elektrische Feld $\mathbf{E}(\mathbf{r})$ muss nun die Helmholtzgleichung

$$(\nabla^2 + k^2) \mathbf{E}(\mathbf{r}) = 0 \quad (2.15)$$

erfüllen, wobei k die Wellenzahl ist. Setzt man nun Gleichung (2.14) in Gleichung (2.15) ein, so erhält man eine lineare Differentialgleichung zweiter Ordnung für die Entwicklung der Fourier-Komponenten $\hat{\mathbf{E}}(\mathbf{k}_{\parallel}, z)$ in der z -Richtung

$$\left(\frac{d^2}{dz^2} + k_z^2 \right) \hat{\mathbf{E}}(\mathbf{k}_{\parallel}, z) = 0 \quad (2.16)$$

mit

$$k_z = \sqrt{k^2 - |\mathbf{k}_{\parallel}|^2}. \quad (2.17)$$

Die allgemeine Lösung von Gleichung (2.16) hat die Form

$$\hat{\mathbf{E}}(\mathbf{k}_{\parallel}, z) = \mathbf{A}_1(\mathbf{k}_{\parallel}) \exp(i k_z z) + \mathbf{A}_2(\mathbf{k}_{\parallel}) \exp(-i k_z z), \quad (2.18)$$

wobei die \mathbf{A}_i beliebige Funktionen von \mathbf{k}_{\parallel} sind. Das Vorzeichen im Exponenten muss aber so gewählt werden, dass das Integral in Gleichung (2.14) konvergiert. Das entspricht gerade der Randbedingung, dass \mathbf{E} im Unendlichen verschwindet. Liegen die Quellen des elektrischen Feldes $\mathbf{E}(\mathbf{r})$ im Halbraum $z \leq 0$, dann wird aus Gleichung (2.14) unter Berücksichtigung von Gleichung (2.18)

$$\mathbf{E}(\mathbf{r}) = \frac{1}{2\pi} \iint \mathbf{A}_1(\mathbf{k}_{\parallel}) \exp(i k_z z) \exp(i \mathbf{k}_{\parallel} \cdot \mathbf{r}_{\parallel}) d\mathbf{k}_{\parallel}. \quad (2.19)$$

Gleichung (2.19) stellt ein *Spektrum von ebenen Wellen* der Form $\mathbf{A} \cdot e^{i\mathbf{k}\mathbf{r}}$ dar. Dabei ist \mathbf{A} die Amplitude und $\mathbf{k} = (\mathbf{k}_{\parallel}, k_z)$ der Wellenvektor.

k_z kann abhängig von \mathbf{k}_{\parallel} reell oder imaginär sein (siehe Gleichung (2.17)). Für reelles k_z propagieren die Wellen in der Richtung von \mathbf{k} . Für imaginäres k_z zerfällt ihre Amplitude aber exponentiell für $z \geq 0$ (siehe Gleichung (2.19)). Der exponentielle Zerfall geschieht in Distanzen, die mit der Wellenlänge vergleichbar sind, die Welle propagiert also nicht in der z -Richtung und wird deshalb *evaneszent* genannt.

Damit wurde gezeigt, dass jede zweidimensionale elektrische Feldverteilung zerlegt werden kann in eine im allgemeinen unendliche Anzahl von einlaufenden und auslaufenden ebenen und evaneszenten Wellen. Für eine gegebene Feldverteilung in einer Ebene z kann mit Gleichung (2.18) die Feldverteilung während der Propagation in z -Richtung berechnet werden.

2.4.1.2 Die klassische Auflösungsgrenze

Betrachten wir nun eine räumlich stark konzentrierte Feldverteilung. Die Fourier-Komponenten dieser Feldverteilung haben dann wesentliche Anteile mit großem \mathbf{k}_{\parallel} . Deshalb entstehen gemäß Gleichung (2.17) evaneszente Wellen. Der exponentielle Zerfall der evaneszenten

Wellen in z -Richtung bewirkt deshalb einen Verlust von Auflösung bei der Propagation. Das soll im Folgenden noch etwas ausgeführt werden.

Wir betrachten die Feldverteilung $\mathbf{E}(x, y, 0)$ in der x, y -Ebene (bei $z = 0$), die ausgemessen werden soll. Dazu soll die Feldverteilung mit einem Detektor in der Ebene bei $z = d$ untersucht werden, um ein Bild der ursprünglichen Feldverteilung machen zu können¹. Das Fourier-Spektrum der Feldverteilung $\mathbf{E}(x, y, 0)$ sei $\hat{\mathbf{E}}_0(\mathbf{k}_\parallel)$. Um die Feldverteilung in der Ebene bei $z = d$ zu erhalten, benutzt man die allgemeine Lösung der Helmholtz-Gleichung (Gleichung (2.18)) und die Randbedingungen, dass das Fourier-Spektrum bei $z = 0$ gleich $\hat{\mathbf{E}}_0(\mathbf{k}_\parallel)$ sein muss und, dass bei $z = \infty$ das elektrische Feld verschwindet. Das ergibt für die Fourier-Komponenten (siehe Gleichung (2.19))

$$\hat{\mathbf{E}}(k_\parallel, d) = \hat{\mathbf{E}}_0(\mathbf{k}_\parallel) \exp(i k_z d). \quad (2.20)$$

Die Feldverteilung in der Ebene $z = d$ erhält man durch Rücktransformation

$$\mathbf{E}(x, y, d) = \frac{1}{2\pi} \iint \hat{\mathbf{E}}_0(\mathbf{k}_\parallel) e^{i(\mathbf{k}_\parallel \cdot \mathbf{r}_\parallel + k_z d)} d\mathbf{k}_\parallel. \quad (2.21)$$

Abhängig von \mathbf{k}_\parallel ist k_z entweder reell oder imaginär (Gleichung (2.17)). Für $k_\parallel^2 \leq k^2$ ist k_z reell und die Fourier-Komponenten sind propagierende ebene Wellen. Sie gehören zu Strukturen in der Feldverteilung, die größer sind als $1/k = \lambda/2\pi$. Diese Teile des Spektrums erreichen den Detektor immer, unabhängig davon, wie weit entfernt er ist. Für Strukturen, die kleiner sind als $1/k = \lambda/2\pi$, wird k_z imaginär und die Fourier-Komponenten sind evaneszente Wellen, die exponentiell mit der Distanz d zerfallen. Wenn d deutlich größer ist als $1/k$, tragen sie deshalb nicht mehr zum Bild bei. Die Propagation des Lichts in der z -Richtung entspricht also einer Tiefpass-Filterung.

Das führt nun direkt zur Auflösungsgrenze der klassischen Mikroskopie. Für eine zwei-dimensionale Probe ist die größte Fourier-Komponente, die im Fernfeld ($d \gg 1/k$) zum Bild beitragen kann, $k_{\max} = k$ und damit ist die kleinste Struktur, die abgebildet werden kann, von der Größenordnung

$$\Delta x = \frac{1}{k} = \frac{\lambda}{2\pi} \quad (2.22)$$

Dies stimmt gut mit der Auflösungsgrenze der klassischen Mikroskopie nach Rayleigh [2.77] überein²

$$\Delta x = 0,61 \frac{\lambda}{n \sin \theta}. \quad (2.23)$$

Die Unterschiede ergeben sich durch unterschiedliche Definition dessen, was unter „Auflösung“ verstanden wird, und durch Konstanten, die das abbildende System beschreiben.

Damit wird nun auch klar, dass die klassische Auflösungsgrenze überwunden werden kann, wenn man im Nahfeld arbeitet, wo die evaneszenten Anteile des Feldes, die die Information für die höhere Auflösung tragen, noch nicht abgeklungen sind³.

¹ In der Ebene bei $z = d$ könnte auch ein Linsensystem sein, das die Feldverteilung in eine andere Ebene abbildet.

² n ist der Brechungsindex des Probenmaterials und θ der halbe Öffnungswinkel (wie in den vorhergehenden Kapiteln).

³ Gemäß einer Arbeit von Pendry ist es sogar möglich, in Materialien mit negativem Brechungsindex evaneszente Wellen über eine gewisse, wenn auch kleine, Distanz zu übertragen [2.78].

2.4.1.3 Feldverstärkung an einer Spitze

Im Folgenden soll erläutert werden, warum radial polarisiertes Licht besonders interessant für Feldverstärkungs-Experimente ist. Betrachten wir zuerst eine Metallspitze, die in einem fokussierten elektrischen Wechselfeld liegt.

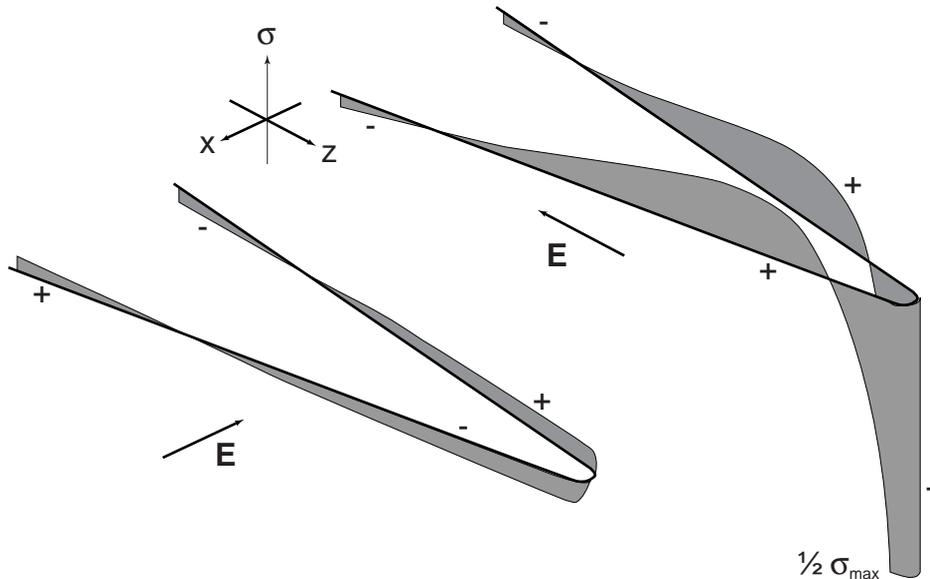


Abbildung 2.24. Oberflächenladungsdichten σ , die durch eine stehende elektromagnetische Welle in einer Metallspitze (Gold) induziert werden. Wenn der elektrische Feldvektor senkrecht zur Spitzenachse steht (links) hat die Oberflächenladungs-Welle einen Knoten an der Spitze; wenn er parallel zur Spitzenachse liegt (rechts), entsteht eine hohe Ladungsdichte am Spitzenende (nach [2.79]).

Liegt der elektrische Feldvektor senkrecht zur Spitzenachse, so wird auf beiden Seiten der Spitze eine relativ kleine Ladungsdichte mit entgegengesetztem Vorzeichen induziert. Diese weist deshalb am Spitzenende einen Knoten auf (Abbildung 2.24). Wenn der Feldvektor aber entlang der Spitzenachse liegt, wird am Spitzenende eine große Oberflächenladungs-Dichte σ induziert, die zu einer starken Feldverstärkung führt (siehe [2.12], [2.13], [2.79]). Um eine starke Feldverstärkung zu erhalten, ist es also notwendig, dass eine elektrische Feldkomponente in der Richtung der Spitzenachse vorhanden ist. Um den Hintergrund so klein wie möglich zu halten, ist es wünschenswert, wenn das elektrische Feld möglichst ganz in dieser Richtung polarisiert und möglichst stark konzentriert ist. Wie im Abschnitt 2.3.1.1 gezeigt, gelingt das mit radial polarisiertem Licht und einem Parabolspiegel sehr gut, mit einem Objektiv schon deutlich weniger gut¹.

Um die Feldverteilung in der Umgebung einer Metallspitze, die im Fokus eines Parabolspiegels über einer Probe positioniert ist, berechnen zu können, muss das anregende Feld in der Umgebung des Fokus bekannt sein. Mit diesem einfallenden Feld müssen dann die Maxwell-Gleichungen gelöst werden. Dafür werden numerische Methoden benutzt. Die Berechnung des anregenden Feldes wurde im vorangehenden Abschnitt 2.3.1.1 (Seite 43) besprochen. Die darauf aufbauende Lösung der Maxwell'schen Gleichungen wurde von Novotny²

¹ Novotny konnte zeigen, dass eine Auflösung von 30 nm erreicht werden kann. Er fokussierte einen Gauß-Strahl mit einem Objektiv auf eine asymmetrische Goldspitze und machte Zwei-Photonen-Anregungen an fluoreszierenden Molekülen [2.14].

² Lukas Novotny, The Institute of Optics, University of Rochester, Rochester, New York, USA.

mit der Multiple Multipole Methode (MMP) berechnet [2.80]¹. In MMP werden elektromagnetische Felder durch Entwicklungen in bekannte analytische Lösungen der Maxwell-Gleichungen² repräsentiert. Um die unbekanntenen Koeffizienten in der Reihenentwicklung zu bestimmen, müssen an diskreten Punkten an den Grenzen zwischen homogenen Gebieten Randbedingungen erfüllt werden. Die entstehenden Gleichungen für die Koeffizienten werden mit einer Kleinste-Quadrate-Minimierung optimiert. Hat man die Koeffizienten einmal bestimmt, so erhält man einen analytischen Ausdruck für das elektromagnetische Feld³.

Die MMP-Methode wurde ursprünglich für die Berechnung der Felder für den Antennenbau entwickelt, also für den Radio- bis Radar-Frequenzbereich. Die Materialkonstanten sind deshalb Kontinuumwerte und es wird keine Rücksicht auf die atomare Struktur der Materie genommen. Die Theorie hat also nur eine Gültigkeit bis zu Größen, für die die Kontinuumnäherung noch gut ist, das heißt bis zu etwa zehn Nanometern [2.81]⁴.

2.4.2 Numerische Feldberechnungen

Im folgenden werden die Feldverteilungen für einen parabolischen Hohlspiegel, wie er in unserem Mikroskop eingebaut ist (siehe Abschnitt 2.3.1.1) mit einer Goldspitze im Fokus und einer eingebauten Probe, die einen Brechungsindex von 1,518 hat, vorgestellt. Die Goldspitze hat einen halben Öffnungswinkel von 15° und einen Spitzenradius von 5 nm. Der Abstand der Spitze von der Probe beträgt 5 nm. Die Spitze wird mit Licht, das eine Wellenlänge von 800 nm hat, beleuchtet. Gold hat bei dieser Wellenlänge eine relative Dielektrizitäts-Konstante von $\epsilon = -24,1 + 1,5 i$, was außerhalb der Oberflächen-Plasmonenresonanz liegt⁵.

2.4.2.1 Konturlinien-Darstellungen

Das elektrische Feld zeigt direkt unter der Spitze eine sehr starke Intensität und Lokalisierung, die mit wachsendem Abstand von der Spitze schnell abnimmt (siehe Abbildung 2.26). Die radiale Symmetrie der Feldverteilung wird dabei durch die Spitze, die im Fokus steht, nicht gestört (siehe Abbildung 2.25). Die Feldverteilung wird von der longitudinalen Komponente dominiert, wie es am Ende einer Antenne zu erwarten ist. Das Magnetfeld ist wesentlich weniger stark räumlich konzentriert und weist eine azimutale Orientierung auf, wie das ebenfalls für eine Dipolantenne bekannt ist. An der Spitze entsteht eine Feldverstärkung um den Faktor 100, was einer Intensitätsverstärkung von 10000× gegenüber dem Fall ohne Goldspitze entspricht. Dieser Wert ist etwa zehnmal größer als publizierte Werte für ein Objektiv (1000× unter Verwendung einer asymmetrischen Spitze mit linear polarisiertem Licht [2.14], etwa 1000× unter Verwendung eines Hermite-Gauß (1,0) Strahls mit $NA_{\text{Luft}} = 0,25$ [2.12]).

Um im Fokus eines Objektivs eine Spitze positionieren zu können, muss die Probe von der der Spitze gegenüberliegenden Seite beleuchtet werden, da die Spitze nicht so einfach ins Objektiv integriert werden kann wie in den Parabolspiegel. Um starke longitudinale Komponenten zu erzeugen, muss, wie gezeigt wurde, viel Energie unter großem Einfallswinkel den Fokus erreichen. Für ein Objektiv lässt sich das nur damit erreichen, dass das Objektiv ringförmig beleuchtet wird. Unter großen Einfallswinkeln wird dann aber das Licht an der Grenz-

¹ Zur Berechnung des anregenden Feldes wurde ein Programm der zweiten Generation von mir benutzt (siehe Anhang I). Die Lösungen der Maxwellgleichungen wurden von Novotny berechnet.

² Die Lösung wird in Multipol-Eigenfunktionen der Vektor-Wellengleichung entwickelt.

³ Eine zusammengefasste Beschreibung von MMP kann auch in [2.81] gefunden werden.

⁴ Im Rahmen dieser Arbeit wird nur klassische Elektrodynamik angewendet. Einen Ansatz der darüber hinausgeht und fundamentale Grenzen für die räumliche Konzentration elektromagnetischer Felder aufzeigt findet man in [2.82].

⁵ Durch Oberflächenplasmon-Resonanzen kann es zu einer zusätzlichen Feldverstärkung an der Spitze kommen, die aber stark von der genauen Geometrie abhängt (siehe auch [2.83], [2.84]). Hier sollen eher allgemeine qualitative Resultate besprochen werden. Die Wellenlänge von 800 nm eignet sich zudem, um Zweiphotonen-Absorptions-Experimente zu machen, was eine praktisch hintergrundfreie Methode ist [2.14].

fläche zwischen Probe und Luft totalreflektiert und die Spitze wird nur vom exponentiell abfallenden evaneszenten Licht beleuchtet. Wenn sich die Spitze von der Probenoberfläche geringfügig entfernt, was durch die Abstandsregelung leicht passieren kann, nimmt also nicht nur das von der Spitze erzeugte Feld in der Probe ab, sondern auch das Feld, das die Spitze polarisiert. Im Parabolspiegel steht die Spitze nicht in einem evaneszenten Feld. Deshalb

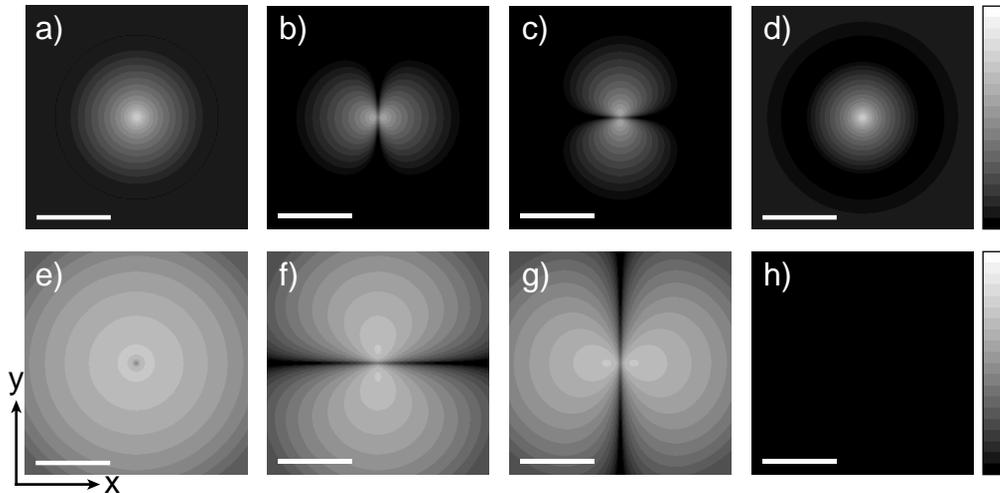


Abbildung 2.25. Nahfeld einer Goldspitze im Fokus eines Parabolspiegels, der mit einem radial polarisierten Bessel-Gauß-Strahl mit der Wellenlänge $\lambda = 800$ nm beleuchtet wird. Es sind Schnitte in einer Ebene parallel zur x,y -Ebene, 2 nm unter einer Probenoberfläche ($n = 1,518$), dargestellt. Der Spitzenradius der Goldspitze beträgt 5 nm, der Abstand zur Probenoberfläche ebenfalls 5 nm. In a) ist $|E|^2$, in b) $|E_x|^2$, in c) $|E_y|^2$, in d) $|E_z|^2$, in e) $|H|^2$, in f) $|H_x|^2$, in g) $|H_y|^2$ und in h) ist $|H_z|^2$ dargestellt. Es wird eine logarithmische Skala verwendet, die einen Faktor zwei zwischen benachbarten Konturlinien hat. Die Länge des Balkens entspricht 200 nm.

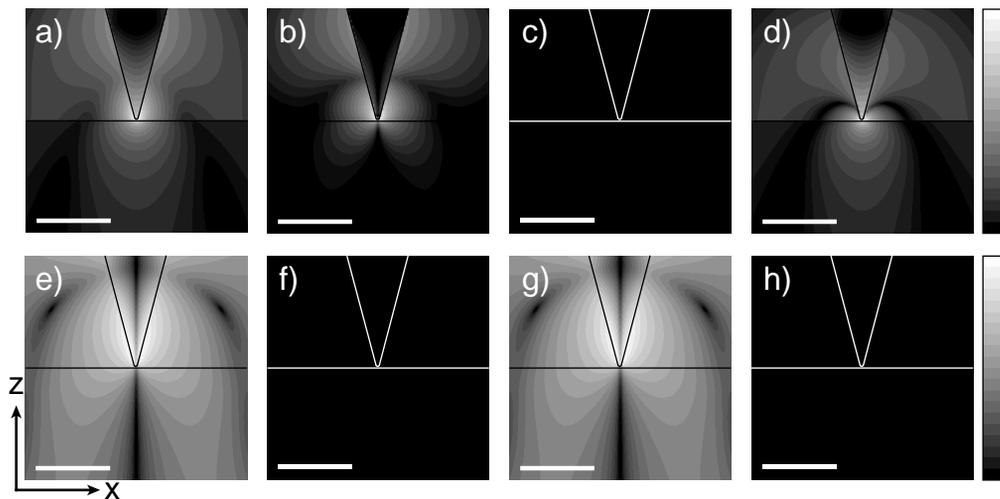


Abbildung 2.26. Nahfeld (in der x,z -Ebene) einer Goldspitze im Fokus eines Parabolspiegels, der mit einem radial polarisierten Bessel-Gauß-Strahl mit der Wellenlänge $\lambda = 800$ nm beleuchtet wird. In a) ist $|E|^2$, in b) $|E_x|^2$, in c) $|E_y|^2$, in d) $|E_z|^2$, in e) $|H|^2$, in f) $|H_x|^2$, in g) $|H_y|^2$ und in h) ist $|H_z|^2$ dargestellt. Es wird eine logarithmische Skala verwendet, die einen Faktor zwei zwischen benachbarten Konturlinien hat. Die Länge des Balkens entspricht 200 nm.

zeigt die elektrische Feldstärke des anregenden Feldes auch nur eine wesentlich kleinere Abhängigkeit vom Abstand zur Probenoberfläche (siehe Abbildung 2.19). Der Parabolspiegel hat also auch diesbezüglich Vorteile.

Abbildung 2.27 zeigt eine Momentaufnahme der Intensität des elektrischen Feldes mit eingezeichneten Feldvektoren. Die Feldlinien zeigen ebenfalls die Ähnlichkeit zu einem Dipolfeld. Zudem sieht man, dass die Oberflächenladungen eine stehende Welle bilden, mit einer Wellenlänge, die kleiner ist als die Wellenlänge des verwendeten Lichts. Sie zeigen also ein Verhalten von Oberflächenplasmonen, obwohl die Anregung deutlich außerhalb der Plasmonresonanz liegt [2.12].

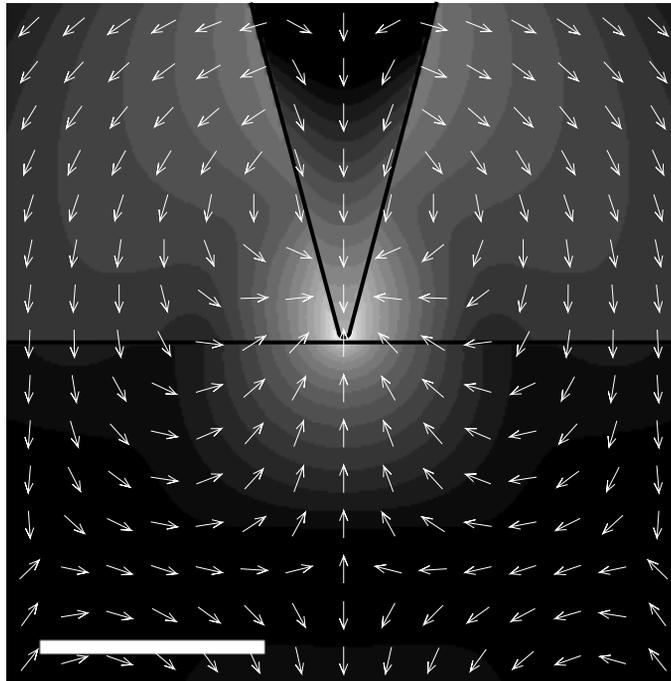


Abbildung 2.27. Konturlinienbild von $|\text{Re}(\mathbf{E}(t))|^2$ in der x,z -Ebene. Eine Goldspitze befindet sich im Fokus eines Parabolspiegels, der mit einem radial polarisierten Bessel-Gauß-Strahl mit der Wellenlänge $\lambda = 800$ nm beleuchtet wird. Es wird eine logarithmische Skala verwendet, die einen Faktor zwei zwischen benachbarten Konturlinien hat. Die Vektoren zeigen die Richtung des elektrischen Feldes an. Die Zeit t beträgt $1/6$ der optischen Periode. Die Länge des Balkens entspricht 200 nm.

2.4.2.2 Quantitative Analyse

Die starke Lokalisierung des Feldes in der Nähe der Spitze erlaubt eine Auflösung deutlich unterhalb der Beugungsgrenze. Die hohe Auflösung ist aber auf einen Bereich nahe an der Spitze gebunden und nimmt mit wachsendem Abstand von der Spitze schnell ab, wie Tabelle 2.3 zeigt. Zwei Nanometer über der Probenoberfläche, also drei Nanometer unter der Spitze, hat die Intensitätsverteilung noch eine Halbwerts-Breite von 1,4 % der Wellenlänge, also 11,2 nm, was etwa dem Durchmesser der Spitze entspricht. Dieses Resultat zeigt, was anschaulich klar ist, nämlich dass der Spitzenradius verantwortlich ist für die Auflösung. Je kleiner der Spitzenradius gemacht werden kann, desto besser wird die maximal erreichbare Auflösung.

Mit zunehmendem Abstand nimmt aber nicht nur die Auflösung ab, sondern auch die Intensität. Der große Sprung zwischen dem Wert zwei Nanometer über der Oberfläche zum Wert zwei Nanometer unter der Oberfläche ist dadurch zu erklären, dass sich die longitudi-

nale Komponente des Feldes gemäß Gleichung (2.11) an der Grenzfläche sprunghaft ändert. Dieser Sprung der Feldstärke hat einen Sprung der Intensität um einen Faktor 0,188 zur Folge. Zudem ändert sich der Abstand von der Spitze deutlich, nämlich von drei Nanometer auf sieben Nanometer. Der weitere Verlauf der Abnahme ist auch in Abbildung 2.28b gezeigt.

Das Verhältnis der maximalen Intensität, die in der x,y -Ebene polarisiert ist, zur longitudinal polarisierten ist zwei Nanometer über der Probenoberfläche noch 15,8, zwei Nanometer unter der Probenoberfläche nur noch 8,4 (siehe Abbildung 2.28a). Dies hat einen Vorteile für die Einzelmolekül-Abbildung, da das Intensitätsverhältnis $|E_x|^2/|E_z|^2$ näher bei eins liegt und damit unterschiedlich orientierte Dipole mit ähnlicher Intensität detektiert werden können.

Abstand zur Oberfläche	+2 nm	-2 nm	-10 nm	-22 nm
Fleckgrößen (FWHM)	0,014 λ	0,025 λ	0,048 λ	0,082 λ
Maximalintensität	1	0,058	0,010	0,0023

Tabelle 2.3. Halbwerts-Breiten der Fleckgröße und Maximalintensitäten für verschiedene Abstände d von der Probenoberfläche (positiv oberhalb der Grenzfläche, negativ im Medium n_p), die 5 nm unter einer mit radial polarisiertem Licht ($\lambda = 800$ nm) beleuchteten Goldspitze mit Spitzenradius 5 nm liegt. Die Halbwerts-Breiten sind in Vakuum-Wellenlängen λ angegeben, die Intensitäten relativ zur Intensität 2 nm über der Probenoberfläche.

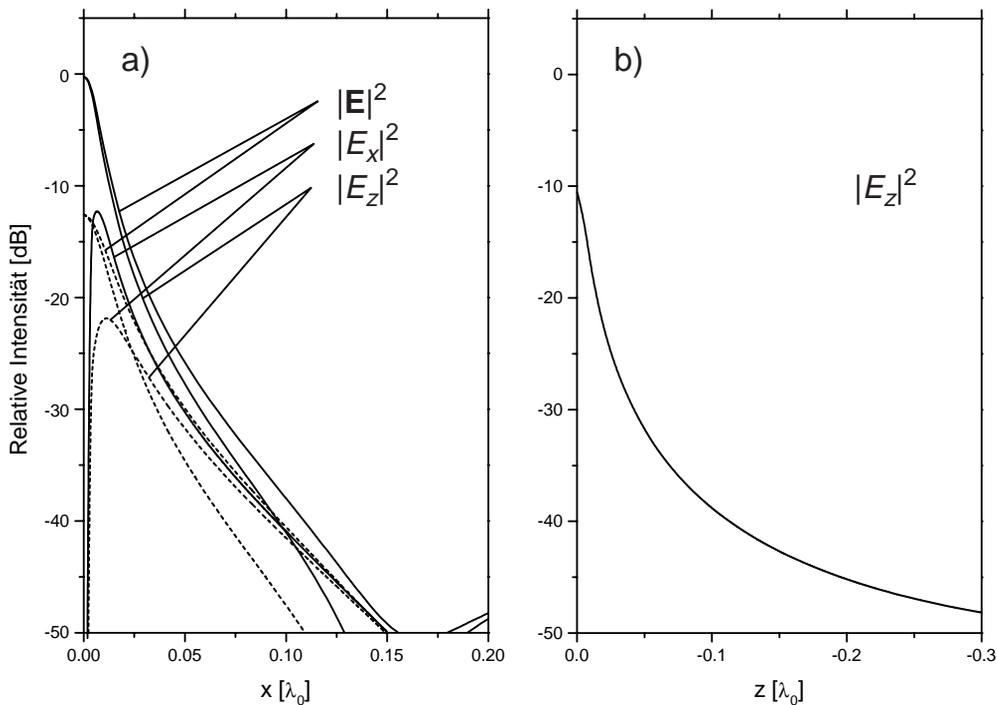


Abbildung 2.28. Abhängigkeit der Intensität vom Abstand vom Fokus eines Parabolspiegels, in dem sich eine Goldspitze 5 nm über einer Probenoberfläche befindet. a) in x -Richtung 2 nm über der Probenoberfläche (—) und 2 nm unter der Probenoberfläche (---) und b) in negativer z -Richtung. In a) sind jeweils $|E|^2$, $|E_x|^2$ und $|E_z|^2$ dargestellt, in b) nur $|E_z|^2$, da keine anderen Feldkomponenten vorhanden sind. Es wird eine logarithmische Intensitätsskala verwendet. Die Längenangaben sind in Vakuum-Wellenlängen λ .

Durch dissipative Prozesse im Gold wird die beleuchtete Spitze erhitzt. Wenn die Anregungsleistung aber nicht zu groß ist, kann die Erwärmung vernachlässigt werden [2.79]¹.

2.4.3 Einzelmolekül-Abbildung

Für die Einzelmolekül-Abbildung gilt grundsätzlich dasselbe wie für die konfokale Mikroskopie von Molekülen an einer Grenzfläche. Ein in die Probe eingebettetes Molekül emittiert auch hier wie im Abschnitt 2.3.2 beschrieben, also beeinflusst von der Totalreflexion an der Grenzfläche. Die Sammeleffizienz-Funktion ist somit dieselbe wie dort, ohne Berücksichtigung von Effekten, die durch die Metallspitze verursacht werden. Das anregende Feld ist hier aber das oben beschriebene. Da die Sammeleffizienz-Funktion breit ist im Verhältnis zur Anregungs-Feldverteilung, kann sie als ortsunabhängig angesehen werden. Das Bild eines Moleküls, das entlang einer der Koordinatenrichtungen orientiert ist, ergibt sich dann aus der Intensitätsverteilung, wie sie in Abbildung 2.25 dargestellt ist, multipliziert mit der Sammeleffizienz (für einen in der Ebene liegenden Dipol 0,12, für einen longitudinal orientierten ebenfalls 0,12. Siehe Seite 49). Damit wird das Intensitätsverhältnis eines zwei Nanometer unter der Probenoberfläche in der x,y-Ebene liegenden Dipols zu einem longitudinal liegenden, wie es ein Detektor im Bildfokus misst, etwa 0,3. Die Intensitäten sind also vergleichbar groß und damit ist auch hier eine Bestimmung der Orientierung aus der Form und Intensitätsverteilung im konfokalen Bild möglich. Die Form der Intensitätsverteilung kann aus Abbildung 2.25b-d abgelesen werden. Sie ist der Verteilung bei der Verwendung von radial polarisiertem Licht ohne Spitze (Abbildung 2.15) also sehr ähnlich, aber wesentlich kleiner.

2.4.4 Diskussion und Zusammenfassung

Es konnte gezeigt werden, dass die Feldverstärkung an einer Goldspitze im Parabolspiegel, der mit radial polarisiertem Licht beleuchtet wird, eine Steigerung der Auflösung erlaubt. Für eine Spitze mit einem halben Öffnungswinkel von 15° und einem Spitzenradius von 5 nm kann eine Auflösung von etwa 10 nm über der Probe erreicht werden. Der Intensitäts-Verstärkungsfaktor liegt dabei bei etwa 10000×. Diese Werte sind aber abhängig von der Geometrie der Spitze und stellen keine theoretischen Grenzen dar. Das Nahfeld der Spitze gleicht dem eines entlang der z-Achse orientierten Dipols. Es hat eine sehr starke longitudinale Komponente des elektrischen Feldes unter der Spitze, die in der Probe durch die Grenzfläche abgeschwächt ist.

Die hohe Konzentration der Intensität des Anregungslichts und die Polarisation entlang der z-Achse verursachen dabei einen relativ kleinen Hintergrund.

Die Konzentration des Feldes ist am Spitzenende am stärksten. Um die starke Steigerung der Auflösung zu nutzen, muss die Spitze also an die Probe angenähert werden können. Diese Methode hat die allen nahfeldoptischen Methoden gemeinsame Beschränkung, dass die Sonde (hier die Spitze) in einen Abstand von wenigen Nanometern zum zu untersuchenden Objekt gebracht werden muss. Es ist dadurch nicht möglich, tiefer als einige Nanometer in eine feste transparente Probe hineinzusehen.

Die Methode kann auch benutzt werden, um die Übergangsdipolmomente einzelner Moleküle aus konfokalen Bildern oder durch Messung ihrer Intensität unter drei verschiedenen Polarisationswinkeln [2.57] mit einer räumlichen Auflösung im 10 nm-Bereich zu bestimmen, was für die Untersuchung der Struktur und Dynamik biologischer Moleküle interessante Möglichkeiten bietet.

¹ Diese Arbeit bezieht sich auf eine Spitze in Wasser. Für eine Beleuchtungs-Intensität von 65 mW/μm² wurde ein maximaler Temperaturanstieg von 6,5 K an der Spitze berechnet. Für eine Spitze in Luft sollte dieser Wert größer sein, da die Wärmeleitfähigkeit von Luft deutlich kleiner ist (Wasser: $\kappa = 0,6 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$, Luft: $\kappa = 0,009 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$).

2.5 Literaturverzeichnis

- [2.1] M. A. Lieb und A. J. Meixner, "A high numerical aperture parabolic mirror as imaging device for confocal microscopy," *Opt. Express* **8**, 458-474 (2001), <http://www.opticsexpress.org/oearchive/source/30471.htm>.
- [2.2] M. W. Davidson und M. Abramowitz, *Optical microscopy*, National High Magnetic Field Laboratory, The Florida State University, 1800 E. Paul Dirac Dr., Tallahassee, Florida 32306, publiziert auf dem Internet: <http://micro.magnet.fsu.edu/primer/opticalmicroscopy.html>.
- [2.3] W. P. Ambrose, T. Basché und W. E. Moerner, "Detection and spectroscopy of single pentacene molecules in a p-terphenyl crystal by means of fluorescence excitation," *J. Chem. Phys.* **95**, 7150-7163 (1991).
- [2.4] L. Fleury, P. Tamarat, B. Lounis, J. Bernard und M. Orrit, "Fluorescence spectra of single pentacene molecules in p-terphenyl at 1.7 K," *Chem. Phys. Lett.* **236**, 87-95 (1995).
- [2.5] H. van der Meer, J. A. J. M. Disselhorst, J. Koehler, A. C. J. Brouwer, E. J. J. Groenen und J. Schmidt, "An insert for single-molecule magnetic-resonance spectroscopy in an external magnetic field," *Rev. Sci. Instrum.* **66**, 4853-4856 (1995).
- [2.6] Y. Durand, J. C. Woehl, B. Viellerobe, W. Göhde und M. Orrit, "New design of a cryostat-mounted scanning near-field optical microscope for single molecule spectroscopy," *Rev. Sci. Instrum.* **70**, 1318-1325 (1999).
- [2.7] J. Enderlein, T. Ruckstuhl und S. Seeger, "Highly efficient optical detection of surface-generated fluorescence," *Appl. Optics* **38**, 724-732 (1999).
- [2.8] J. Jasny, J. Sepiol, T. Irngartinger, M. Traber, A. Renn und U. P. Wild, "Fluorescence microscopy in superfluid helium: Single molecule imaging," *Rev. Sci. Instrum.* **67**, 1425-1430 (1996).
- [2.9] M. Vácha, H. Yokoyama, T. Tokizaki, M. Furuki und T. Tani, "Laser scanning microscope for low temperature single molecule and microscale spectroscopy based on gradient index optics," *Rev. Sci. Instrum.* **70**, 2041-2045 (1999).
- [2.10] W. E. Moerner, T. Plakhotnik, T. Irngartinger, U. P. Wild, D. W. Pohl und B. Hecht, "Near-field optical spectroscopy of individual molecules in solids," *Phys. Rev. Lett.* **73**, 2764-2767 (1994).
- [2.11] K. S. Youngworth und T. G. Brown, "Focusing of high numerical aperture cylindrical-vector beams," *Opt. Express* **7**, 77-87 (2000), <http://www.opticsexpress.org/oearchive/source/22809.htm>.
- [2.12] L. Novotny, E. J. Sánchez und X. S. Xie, "Near-field optical imaging using metal tips illuminated by higher-order Hermite-Gaussian beams," *Ultramicroscopy* **71**, 21-29 (1998).
- [2.13] O. J. F. Martin und Ch. Girard, "Controlling and tuning strong optical field gradients at a local probe microscope tip apex," *Appl. Phys. Lett.* **70**, 705-707 (1997).
- [2.14] E. J. Sánchez, L. Novotny und X. S. Xie, "Near-field fluorescence microscopy based on two-photon excitation with metal tips," *Phys. Rev. Lett.* **82**, 4014-4017 (1999).
- [2.15] E. Wolf, "Electromagnetic diffraction in optical systems. I. An integral representation of the image field," *Proc. Roy. Soc. A* **253**, 349-357 (1959).
- [2.16] B. Richards und E. Wolf, "Electromagnetic diffraction in optical systems. II. Structure of the image field in an aplanatic system," *Proc. Roy. Soc. A* **253**, 358-379 (1959).
- [2.17] J. J. Stamnes, *Waves in focal regions*, (Hilger, Bristol, UK, 1986), Teil IV, Kapitel 12.
- [2.18] Y. Li und E. Wolf, "Three-dimensional intensity distribution near the focus in systems of different Fresnel numbers," *J. Opt. Soc. Am. A* **1**, 801-808 (1984).
- [2.19] В. С. Игнатовский, "Диффракция параболического зеркала при любом отверстии," Труды Государственного Оптического Института **1**, Выпуск V, Петроград 1920 (V. S. Ignatovsky, "Diffraction by a parabolic mirror having arbitrary opening," *Trans. Opt. Inst.* **1**, paper 5, St. Petersburg (1920)).
- [2.20] C. J. R. Sheppard, A. Choudhury und J. Gannaway, "Electromagnetic field near the focus of wide-angular lens and mirror systems," *IEE J. Microw. Opt. Acoust.* **1**, 129-132 (1977).
- [2.21] R. Barakat, "Diffracted electromagnetic fields in the neighborhood of the focus of a paraboloidal mirror having a central obscuration," *Appl. Opt.* **26**, 3790-3795 (1987).
- [2.22] P. Varga und P. Török, "Focusing of electromagnetic waves by paraboloid mirrors. I. Theory," *J. Opt. Soc. Am. A* **17**, 2081-2089 (2000).
- [2.23] P. Varga und P. Török, "Focusing of electromagnetic waves by paraboloid mirrors. II. Numerical results," *J. Opt. Soc. Am. A* **17**, 2090-2095 (2000).
- [2.24] J. J. Stamnes, *Waves in focal regions*, (Hilger, Bristol, UK, 1986), Kapitel 16.1.2.
- [2.25] R. H. Jordan und D. G. Hall, "Free-space azimuthal paraxial wave-equation: the azimuthal Bessel-Gauss beam solution," *Opt. Lett.* **19**, 427-429 (1994).
- [2.26] D. G. Hall, "Vector-beam solutions of Maxwell's wave equation," *Opt. Lett.* **21**, 9-11 (1996).
- [2.27] P. L. Greene und D. G. Hall, "Diffraction characteristics of the azimuthal Bessel-Gauss beam," *J. Opt. Soc. Am. A* **13**, 962-966 (1996).
- [2.28] P. L. Greene und D. G. Hall, "Properties and diffraction of vector Bessel-Gauss beams," *J. Opt. Soc. Am. A* **15**, 3020-3027 (1998).
- [2.29] S. Quabis, R. Dorn, M. Eberler, O. Glöckl und G. Leuchs, "Focusing light to a tighter spot," *Opt. Commun.* **179**, 1-7 (2000).
- [2.30] S. Quabis, R. Dorn, M. Eberler, O. Glöckl und G. Leuchs, "The focus of light – theoretical calculation and experimental tomographic reconstruction," *Appl. Phys. B* **72**, 109-113 (2001).

- [2.31] B. E. A. Saleh und M. C. Teich, *Fundamentals of Photonics*, (John Wiley & Sons, New York, USA, 1991), Kapitel 3.3.
- [2.32] J. J. Wynne, "Generation of the rotationally symmetric TE₀₁ and TM₀₁ modes from a wavelength-tunable laser," *IEEE J. Quant. Elec.* **QE-10**, 125-127 (1974).
- [2.33] R. Yamaguchi, T. Nose und S. Sato, "Liquid crystal polarizers with axially symmetrical properties," *Jpn. J. Appl. Phys. Pt. 1* **28**, 1730-1731 (1989).
- [2.34] S. C. Tidwell, D. H. Ford und W. D. Kimura, "Generating radially polarized beams interferometrically," *Appl. Opt.* **29**, 2234-2239 (1990).
- [2.35] E. G. Churin, J. Hoßfeld und T. Tschudi, "Polarization configurations with singular point formed by computer generated holograms," *Opt. Commun.* **99**, 13-17 (1993).
- [2.36] S. C. Tidwell, G. H. Kim und W. D. Kimura, "Efficient radially polarized laser-beam generation with a double interferometer," *Appl. Opt.* **32**, 5222-5229 (1993).
- [2.37] M. Stalder und M. Schadt, "Linearly polarized light with axial symmetry generated by liquid-crystal polarization converters," *Opt. Lett.* **21**, 1948-1950 (1996).
- [2.38] K. S. Youngworth und T. G. Brown, "Inhomogenous polarization in scanning optical microscopy," in *Three-Dimensional and Multidimensional Microscopy: Image Acquisition Processing VII*, J.-A. Conchello, C. J. Cogswell, T. Wilson (Herausgeber), Proc. SPIE **3919**, 75-85 (2000).
- [2.39] Y. Durand, J. C. Woehl, B. Viellerobe, W. Göhde und M. Orrit, "New design of a cryostat-mounted scanning near-field optical microscope for single molecule spectroscopy," *Rev. Sci. Instrum.* **70**, 1318-1325 (1999).
- [2.40] M. Schrader und S. W. Hell, "Wavefronts in the focus of a light microscope," *J. Microsc.* **184**, 143-148 (1996).
- [2.41] C. J. R. Sheppard, "Aberrations in high aperture optical systems," *Optik* **105**, 29-33 (1997).
- [2.42] J. Sepiol, J. Jasny, J. Keller und U. P. Wild, "Single molecules observed by immersion mirror objective. The orientation of terrylene molecules via the direction of its transition dipole moment," *Chem. Phys. Lett.* **273**, 444-448 (1997).
- [2.43] R. M. Dickson, D. J. Norris und W. E. Moerner, "Simultaneous imaging of individual molecules aligned both parallel and perpendicular to the optic axis," *Phys. Rev. Lett.* **81**, 5322-5325 (1998).
- [2.44] A. P. Bartko und R. M. Dickson, "Three-dimensional orientations of polymer-bound single molecules," *J. Phys. Chem. B* **103**, 3053-3056 (1999).
- [2.45] A. P. Bartko und R. M. Dickson, "Imaging three-dimensional single molecule orientations," *J. Phys. Chem. B* **103**, 11237-11241 (1999).
- [2.46] T. Ha, T. A. Laurence, D. S. Chemla und S. Weiss, "Polarization spectroscopy of single fluorescent molecules," *J. Phys. Chem. B* **103**, 6839-6850 (1999).
- [2.47] B. Sick, B. Hecht und L. Novotny, "Orientational imaging of single molecules by annular illumination," *Phys. Rev. Lett.* **85**, 4482-4485 (2000).
- [2.48] K. D. Weston und L. S. Goldner, "Orientation imaging and reorientation dynamics of single dye molecules," *J. Phys. Chem. B* **105**, 3453-3462 (2001).
- [2.49] C. J. R. Sheppard und M. Gu, "Imaging by a high aperture optical system," *J. Mod. Opt.* **40**, 1631-1651 (1993).
- [2.50] C. J. R. Sheppard und P. Török, "An electromagnetic theory of imaging in fluorescence microscopy, and imaging in polarization fluorescence microscopy," *Bioimaging* **5**, 205-218 (1997).
- [2.51] J. Enderlein, "Theoretical study of detection of a dipole emitter through an objective with high numerical aperture," *Opt. Lett.* **25**, 634-636 (2000).
- [2.52] J. D. Jackson, *Classical Electrodynamics*, 2nd edition (John Wiley & Sons, New York, USA, 1975), Kapitel 9.2.
- [2.53] T. Plakhotnik, E. A. Donley und U. P. Wild, "Single-molecule spectroscopy," *Annu. Rev. Phys. Chem.* **48**, 181-212 (1997).
- [2.54] J. Jasny und J. Sepiol, "Single molecules observed by immersion mirror objective. A novel method of finding the orientation of a radiating dipole," *Chem. Phys. Lett.* **273**, 439-443 (1997).
- [2.55] M. Born und E. Wolf, *Principles of Optics*, 7th edition, (Cambridge University Press, Cambridge, 1999), Kapitel 8.5.2.
- [2.56] T. Wilson und C. J. R. Sheppard, *Theory and Practice of Scanning Optical Microscopy*, (Academic Press, London, 1984), Kapitel 3.
- [2.57] J. Fourkas, "Rapid determination of the three-dimensional orientation of single molecules," *Opt. Lett.* **26**, 211-213 (2001).
- [2.58] L. Novotny, M. R. Beversluis, K. S. Youngworth und T. G. Brown, "Longitudinal field modes probed by single molecules," *Phys. Rev. Lett.* **86**, 5251-5254 (2001).
- [2.59] J. D. Jackson, *Classical Electrodynamics*, 2nd edition (John Wiley & Sons, New York, USA, 1975), Kapitel 7.3.
- [2.60] H. Ling und S. W. Lee, "Focusing of electromagnetic waves through a dielectric interface," *J. Opt. Soc. Am. A* **1**, 965-973 (1984).
- [2.61] J. J. Stamnes, *Waves in focal regions*, (Hilger, Bristol, UK, 1986), Kapitel 16.2.
- [2.62] S. Hell, G. Reiner, C. Cremer und E. H. K. Stelzer, "Aberrations in confocal fluorescence microscopy induced by mismatches in refractive-index," *J. Microsc.* **169**, 391-405 (1993).

- [2.63] P. Török, P. Varga, Z. Laczik und G. R. Booker, "Electromagnetic diffraction of light focused through a planar interface between materials of mismatched refractive indices: an integral representation," *J. Opt. Soc. Am. A* **12**, 325-332 (1995).
- [2.64] P. Török, P. Varga und G. R. Booker, "Electromagnetic diffraction of light focused through a planar interface between materials of mismatched refractive indices: structure of the electromagnetic field. I.," *J. Opt. Soc. Am. A* **12**, 2136-2144 (1995).
- [2.65] L. Novotny, *Lecture notes on "optics on the nanometer scale"*, (University of Rochester, NY, USA, 2000), Kapitel 1.8.
- [2.66] E. Hecht, *Optik*, (Addison Wesley, Bonn, Deutschland, 1989), Kapitel 4.3.2, Seite 100.
- [2.67] W. Lukosz und R. E. Kunz, "Light emission by magnetic and electric dipoles close to a plane interface. I. Total radiated power," *J. Opt. Soc. Am.* **67**, 1607-1614 (1977).
- [2.68] W. Lukosz und R. E. Kunz, "Light emission by magnetic and electric dipoles close to a plane dielectric interface. II. Radiation patterns of perpendicular oriented dipoles," *J. Opt. Soc. Am.* **67**, 1615-1619 (1977).
- [2.69] W. Lukosz, "Light emission by magnetic and electric dipoles close to a plane dielectric interface. III. Radiation patterns of dipoles with arbitrary orientation," *J. Opt. Soc. Am.* **69**, 1495-1503 (1979).
- [2.70] E. H. Hellen und D. Axelrod, "Fluorescence emission at dielectric and metal-film interfaces," *J. Opt. Soc. Am. B* **4**, 337-350 (1987).
- [2.71] K. H. Drexhage, (Habilitationsschrift, Universität Marburg, 1966).
- [2.72] K. H. Drexhage, "Influence of a dielectric interface on fluorescence decay time," *J. Luminesc.* **1**, 2, 693-701 (1970).
- [2.73] B. Hecht, D. W. Pohl, H. Heinzelmann und L. Novotny, "'Tunnel' near-field optical microscopy: TNOM-2," *Ultramicroscopy* **61**, 99-104 (1995).
- [2.74] W. E. Moerner, T. Plakhotnik, T. Irngartinger, U. P. Wild, D. W. Pohl und B. Hecht, "Near-field optical spectroscopy of individual molecules in solids," *Phys. Rev. Lett.* **73**, 2764-2767 (1994).
- [2.75] M. Nieto-Vesperinas, *Scattering and Diffraction in Physical Optics*, Pure and Applied Optics (John Wiley & Sons, New York, USA, 1991).
- [2.76] B. Hecht, *Forbidden light scanning near-field optical microscopy*, (Doktorarbeit, Universität Basel, 1996; Hartung-Gorre Verlag, Konstanz, 1996).
- [2.77] M. Born und E. Wolf, *Principles of Optics*, 7th edition, (Cambridge University Press, Cambridge, 1999).
- [2.78] J. B. Pendry, "Negative refraction makes a perfect lens," *Phys. Rev. Lett.* **85**, 3966-3969 (2000).
- [2.79] L. Novotny, R. X. Bian und X. S. Xie, "Theory of nanometric optical tweezers," *Phys. Rev. Lett.* **79**, 645-648 (1997).
- [2.80] Ch. Hafner, *The Generalized Multiple Multipole Technique for Computational Electromagnetics*, (Artech, Boston, 1990).
- [2.81] C. Girard und A. Dereux, "Near-field optics theories," *Rep. Prog. Phys.* **59**, 657-699 (1996).
- [2.82] O. Keller, "Towards a microscopic theory of spatial confinement of light," *Ultramicroscopy* **71**, 1-9 (1998).
- [2.83] J. P. Kottmann, O. J. F. Martin, D. R. Smith and S. Schultz, "Spectral response of plasmon resonant nanoparticles with a non-regular shape," *Opt Express* **6**, 213-219 (2000), <http://www.opticsexpress.org/oearchive/source/21116.htm>.
- [2.84] Y. C. Martin, H. F. Hamann und H. K. Wickramasinghe, "Strength of the electric field in apertureless near-field optical microscopy," *J. Appl. Phys.* **89**, 5774-5778 (2001).

3 AUFBAU DES MIKROSKOPS

3.1 Design-Konzepte

An dieser Stelle soll zuerst ein Überblick¹ über verschiedene Design-Konzepte von Mikroskopen, die im Tieftemperaturbereich arbeiten und deren Aufbau bereits veröffentlicht worden ist gegeben werden. Zuerst werden fernfeldoptische Tieftemperatur-Mikroskope für die Einzelmolekül-Fluoreszenz-Spektroskopie und die Einzelmolekül-Fluoreszenz-Anregungs-Spektroskopie vorgestellt, anschließend Mikroskope, die auch – oder ausschließlich – nahfeldoptische Experimente ermöglichen.

3.1.1 Fernfeldoptische Mikroskope

Die ersten² Mikroskope, die zur Einzelmolekül-Spektroskopie benutzt wurden, haben alle bei tiefen Temperaturen gearbeitet. Als Sammeloptik wurden oft Parabolspiegel benutzt (siehe Abbildung 3.1a, b, d) und zur Beleuchtung entweder eine Single-Mode-Glasfaser, auf die die Probe aufgebracht ist [3.4], oder eine Linse mit kleiner NA , die Licht durch ein zentrales Loch im Spiegel fokussiert [3.5]. Wild und Mitarbeiter benutzten zum Beleuchten und zum Sammeln Objektive mit kleiner NA und eine Lochblende von $5\ \mu\text{m}$ Durchmesser, auf die die Probe aufgeklebt war [3.6]³. Vácha benutzte zur Beleuchtung dasselbe Prinzip wie Wild, zum Sammeln jedoch eine Gradientenindex-Linse mit einer NA von 0,46 [3.7]. Diesen Mikroskopen ist gemeinsam, dass sie einen relativ großen Anregungsfokus zwischen $3\ \mu\text{m}$ und $5\ \mu\text{m}$ Durchmesser haben, was entweder eine sehr hohe Verdünnung der zu untersuchenden

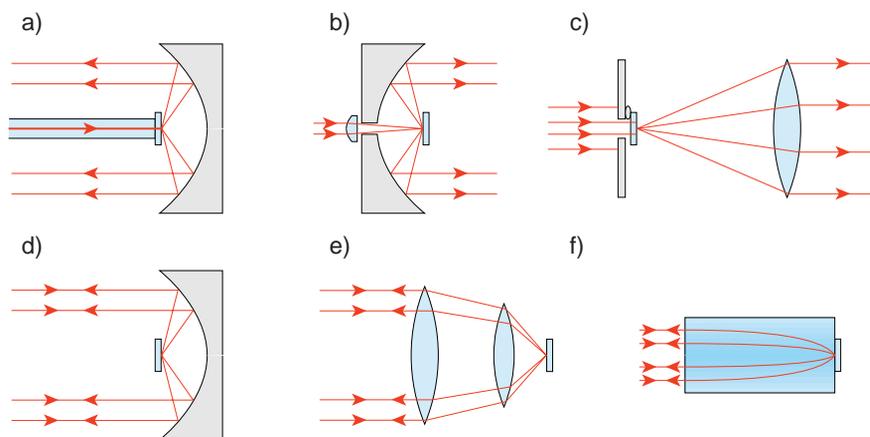


Abbildung 3.1. Verschiedene Konzepte des optischen Aufbaus für die Einzelmolekül-Fluoreszenzspektroskopie. a) Faser / Parabolspiegel [3.4], b) Linse / Parabolspiegel [3.5], c) Lochblende / Linse [3.6], d) konfokal mit Parabolspiegel [3.10], e) konfokal mit Objektiv [3.11], [3.13] und f) konfokal mit Gradientenindex-Linse [3.12].

¹ Einen Überblick über die älteren Konzepte findet man auch in [3.1] und [3.2].

² Das erste Mikroskop für die Einzelmolekül-Spektroskopie im Festkörper wurde 1989 von Kador, Horne und Moerner gebaut. Sie verwendeten eine Doppelmodulations-Technik, um Absorptionsspektren zu messen [3.3]. Deshalb wird hier nicht näher auf dieses Gerät eingegangen.

³ Später wurde auch ein Objektiv mit hoher NA zum Sammeln benutzt.

Moleküle oder eine spektrale Selektion erfordert [3.1]. Ein weiterer Nachteil aller dieser Mikroskope ist, dass sie keine Positionierung der Probe zulassen, also lediglich die Untersuchung eines „Punktes“ möglich ist¹. Eine verbesserte Variante von Moerners Aufbau [3.5], der eine manuelle Bewegung der Probe zulässt, wurde von Schmidt und Mitarbeitern realisiert [3.8]. Ein rechnergesteuertes Rastern ist aber mit diesem Mikroskop ebenfalls nicht vorgesehen. Auch hier ist die Auflösung durch die kleine NA der fokussierenden Linse auf etwa $5\ \mu\text{m}$ begrenzt.

Zur Verbesserung der Auflösung und der Sammeleffizienz² wurden dann konfokale Mikroskope mit größerer NA gebaut (Abbildung 3.1d-f). Orrit und Mitarbeiter verwendeten ein konfokales Mikroskop mit Parabolspiegel-Optik [3.10], das unserem Mikroskop vergleichbar ist, aber keine Probenrasterung besitzt. Wild und Mitarbeiter benutzen ein Mikroskop-Objektiv mit einer NA von 0,85 oder ein spezielles Immersions-Spiegelobjektiv [3.11]. Dieses Mikroskop bietet zwar ebenfalls keine Rastermöglichkeit für die Probe, ermöglicht mit den Objektiven aber eine Weitfeld-Beobachtung. Vácha benutzt eine Gradientenindex-Linse mit einer NA von 1,08 in einem konfokalen Aufbau [3.12]³. Eine Rasterung der Probe ist durch Rasterspiegel außerhalb des Kryostaten möglich. Hecht und Mitarbeiter benutzen ein Objektiv mit $NA = 0,85$ in einem konfokalen Aufbau [3.13] mit Rasterung der Probe. Yoshimoto benutzt einen ähnlichen Aufbau, kühlt aber nur die Probe im Vakuum [3.14]. Diese Mikroskope erreichen eine Auflösung von weniger als einem Mikrometer.

3.1.2 Nahfeldoptische Mikroskope

Optischer Aufbau

Zehn Jahre, nachdem das erste nahfeldoptische Mikroskop gebaut worden war [3.15], wurde das erste Nahfeldmikroskop für tiefe Temperaturen gebaut (Abbildung 3.2a, [3.16]). Dieses arbeitete in Reflexion mit einem achromatischen Schwarzschild-Spiegelobjektiv mit $NA = 0,4$. Ein anderer Aufbau benutzt zwei Mikrolinsen zum Sammeln des reflektierten Lichts, das anschließend mit einer Multimode-Faser aus dem Kryostaten geleitet wird (Abbildung 3.2b, [3.17]). Die NA beträgt hier etwa 0,3. Einige Mikroskope benutzen die Nahfeldfaser zum Beleuchten und Sammeln des reflektierten Lichts (Abbildung 3.2c, [3.18]-[3.20]), zwei weitere beleuchten im Fernfeld und sammeln das transmittierte⁴ Licht mit der Spitze (Abbildung 3.2d, [3.21], [3.22]). Ein Immersionsaufbau wurde 1994 von der Arbeitsgruppe um Wild und Moerner mit einer Festkörper-Immersionlinse (*Solid Immersion Lens*, SIL) in einem Parabolspiegel realisiert (Abbildung 3.2e, [3.23]). Dieses Mikroskop erreicht eine NA von 1,49. Da die SIL fest mit der Probe verbunden ist und beim Rastern mitbewegt wird kann es aber wegen großer Aberrationen außerhalb des geometrischen Fokusses nicht als konfokales Mikroskop genutzt werden. Dasselbe gilt auch für das Immersions-Parabolspiegel-Mikroskop von Orrit und Mitarbeitern (Abbildung 3.2g, [3.24]). Ein klassischer Transmissions-Nahfeldaufbau wurde von Basché und Mitarbeitern realisiert (Abbildung 3.2f, [3.24]). Dieses Mikroskop sammelt Licht mit einem Objektiv mit $NA = 0,85$.

¹ Durch Verschieben des Anregungsspots auf der Probe lässt sich die Probe dennoch rasterförmig abtasten. In diesem Fall muss allerdings die konfokale Detektion wegen der Abbildungsfehler aufgegeben werden und möglichst alles Fluoreszenzlicht gesammelt werden (vergleiche Abschnitt 2.2.1.3). Moerner und Mitarbeiter haben so ihre Probe in einer Richtung gerastert [3.5].

² Zur Steigerung der Sammeleffizienz bis an die Grenzen des Möglichen wurde von Hese und Mitarbeitern ein Mikroskop mit einem Sammelwinkel von nahezu 4π entwickelt [3.9].

³ Dieser Aufbau ist ebenfalls ein Immersionssystem (siehe Abbildung 3.1f). Der maximale Sammelwinkel beträgt aber wegen des hohen Brechungsindex der Gradientenindex-Linse von 1,667 (im Zentrum) nur 40° , so dass die Sammeleffizienz trotzdem klein bleibt (siehe Kapitel 2.3.2).

⁴ Diese Geräte werden für Halbleiter-Untersuchungen benutzt und es wurde nicht transmittiertes Licht sondern Photolumineszenz in einem Transmissionsaufbau detektiert.

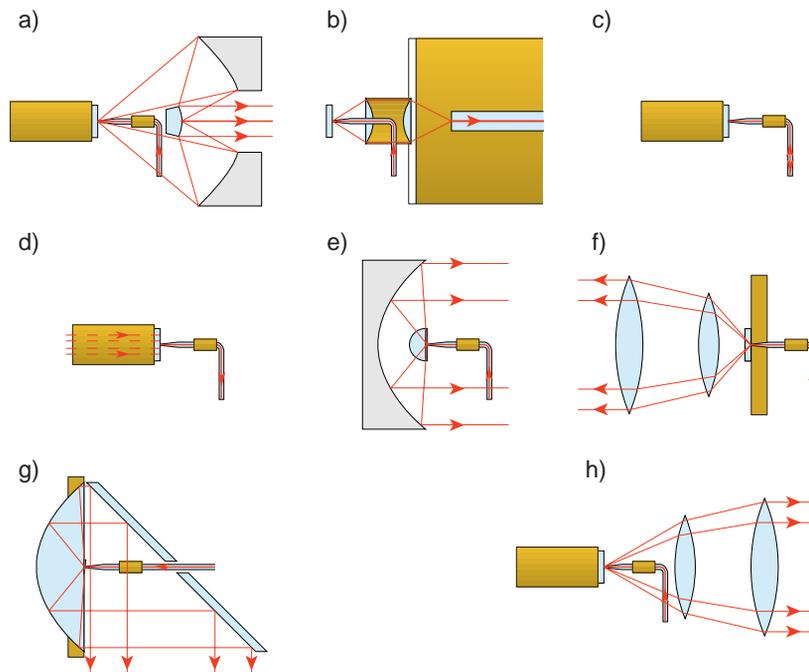


Abbildung 3.2. Verschiedene Konzepte des optischen Aufbaus von Tieftemperatur-Nahfeld-Mikroskopen. a) Reflexion / Spiegelobjektiv [3.16], b) Reflexion / Linsen [3.17], c) Reflexion / Spitze [3.18]-[3.20], d) Transmission / Spitze [3.21], [3.22], e) Transmission / SIL-Parabolspiegel [3.23], f) Transmission / Objektiv [3.25], g) Transmission / Immersions-Parabolspiegel [3.24] und h) Reflexion / Objektiv [3.26], [3.27].

Zwei weitere Mikroskope arbeiten in Reflexion im Hochvakuum (Abbildung 3.2h, [3.26], [3.27]). Hier wird nur die Probe mit einem Kühlfinger gekühlt, womit viele Schwierigkeiten bei tiefer Temperatur umgangen werden. Die NA des Sammelobjektivs ist aber mit 0,45, respektive 0,35 eher klein.

Distanzregelung

Zur Regelung der Distanz zwischen Spitze und Probe werden verschiedene Konzepte zur Messung der Scherkräfte benutzt (siehe auch Abschnitt 1.3.2). Am häufigsten werden die Intensitäts-Schwankungen gemessen, die ein Lichtstrahl aufweist, der auf die Spitze der schwingenden Nahfeld-Sonde fokussiert und auf einen Detektor abgebildet wird (siehe Abbildung 3.3a, [3.28], [3.29]). Das Signal wird mit einem Lock-In-Verstärker bei der Schwingungsfrequenz der Spitze demoduliert und ist ein Maß für die Schwingungsamplitude der Spitze. Dieses Prinzip lässt sich auch faseroptisch umsetzen, so dass es kompakt aufgebaut werden kann (Abbildung 3.3b, [3.17], [3.22]). Ein weiteres Konzept besteht darin,

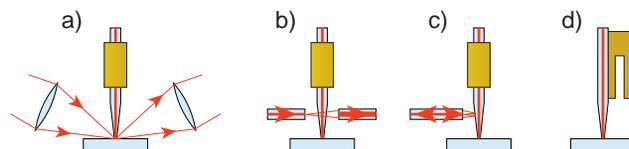


Abbildung 3.3. Verschiedene Konzepte zur Scherkraft-Detektion: Durch Bestimmung der Schwingungs-Amplitude der in Resonanz angeregten Nahfeldspitze, a) durch Messen des Streulichts von der Spitze, b) dasselbe mit Faseroptik, c) Faser-Interferometrie. d) Durch Messen der Resonanzverschiebung einer Quarzstimmgabel, auf die die Nahfeldspitze aufgeklebt ist.

die Schwingungsamplitude der Spitze direkt interferometrisch zu messen, wie das auch im hier beschriebenen Mikroskop realisiert wird (Abbildung 3.3c). Auch die Verwendung einer Quarz-Stimmgabel, auf die die Nahfeldspitze aufgeklebt wird, ist für Tieftemperatur-Anwendungen schon benutzt worden (Abbildung 3.3d, [3.18], [3.20], [3.26]). Bei dieser Methode wird die Dämpfung der Stimmgabelschwingung benutzt, die durch Dämpfung der Nahfeldspitze beim Kontakt mit der Probe zustande kommt [3.30], [3.31].

Rasterung

Da die Sensitivität der zur Probenrasterung verwendeten Piezokeramiken bei tiefen Temperaturen stark nachlässt – je nach Material, Hersteller und Aufbau der Rastereinheit zwischen Faktor vier und zehn –, müssen entweder die gebräuchlichen Röhrenpiezos entsprechend dimensioniert werden, oder andere Piezogeometrien verwendet werden. Für Tieftemperatur-Mikroskope wurden deshalb auch Rahmen-Rastereinheiten mit Bimorphpiezos und Festkörper-Gelenken entwickelt [3.24], [3.25], [3.13].

3.1.3 Konzept des Mikroskops

Das Mikroskop, das hier vorgestellt wird, ist für nah- und fernfeld-optische Messungen bei Temperaturen im Bereich von 1,8 K bis 300 K und bei verschiedenen Drücken von Hochvakuum bis Atmosphärendruck¹ ausgelegt. Das Mikroskop verwendet einen Parabolspiegel anstelle eines Objektivs. Dies bietet insbesondere für Anwendungen bei tiefen Temperaturen, bei denen keine Immersionsobjektive eingesetzt werden können², aber auch bei Raumtemperatur einige Vorteile: (1) Der Spiegel kann mit einer sehr großen numerischen Apertur von fast 1,0 gefertigt werden³, Luftobjektive erreichen hingegen nur eine NA von etwa 0,85. Die räumliche Auflösung und die Sammeleffizienz, die theoretisch mit dem Spiegel erreicht werden, sind deshalb besser als die mit einem Objektiv erreichbaren (siehe Kapitel 2). Eine noch höhere NA erreichen nur Mikroskope, die eine Festkörper-Immersion benutzen ([3.11], [3.12], [3.23], [3.24], Abschnitt 2.3.2). Sie haben aber den Nachteil, dass große Aberrationen außerhalb des geometrischen Fokusses einen konfokalen Betrieb unmöglich machen [3.23], [3.24] und ein Nachführen des Detektors notwendig ist⁴. (2) Kommerziell erhältliche gute Objektive enthalten meistens gekittete Linsen, die während des Abkühlens leicht zerspringen können, und sie sind für die Benutzung in Luft ausgelegt. Insbesondere im flüssigen Helium mit einem Brechungsindex von 1,028 (gegenüber Luft, $n_L = 1,00029$) treten deshalb Aberrationen auf. Der Parabolspiegel hingegen ändert beim Abkühlen nur seine Größe und damit nur seine Brennweite, behält aber seine parabolische Form. (3) Auch im Nahfeldbetrieb können opake Proben untersucht werden, da in Reflexion gearbeitet wird. (4) Die Parabolspiegeloptik ermöglicht es zudem, nahfeld-optische Experimente mit Feldverstärkung an leitenden Spitzen effizient durchzuführen (siehe Abschnitt 2.4).

Das Mikroskop besitzt einen Rastertisch, der auch bei tiefer Temperatur noch einen großen Stellweg von einigen Mikrometern aufweist, um konfokale Experimente durchführen zu können. Dafür wurde ein kompakter Aufbau mit Röhrenpiezos gewählt (Abschnitt 3.3.2). Das Mikroskop besitzt zudem eine Grobpositionierung für die Probe, um bei tiefer Temperatur mehrere Probenstellen untersuchen oder interessante Probenstellen auffinden zu können (Abschnitt 3.3.1).

¹ Abhängig von der gewünschten Temperatur kann nicht der ganze Druckbereich benutzt werden (siehe Abschnitt 3.6.3).

² Vergleiche Abschnitt 2.1 und 2.3.2.

³ Öffnungswinkel, die größer sind als 90° ($NA > 1.0$) sind prinzipiell möglich. Sie verbessern die erreichbare Auflösung aber wegen Interferenzen nicht mehr [3.32], [3.33].

⁴ Grundsätzlich ist ein konfokaler Betrieb durch Nachführen des Detektors für den Aufbau [3.11] und [3.12] zwar möglich, in der Praxis wäre dies aber nur sehr aufwändig zu implementieren.

Für die Scherkkraftregelung wurde die interferometrische Methode verwendet. Sie hat den Vorteil, dass sie kompakter ist als die Streulichtdetektion (Abbildung 3.3a), aber den Nachteil, dass sie *im* Kryostaten nachjustiert werden muss. Gegenüber der Detektion mittels Stimmgabel besteht der Vorteil, dass keine tiefemperatur-taugliche Elektronik für den Vorverstärker entwickelt werden muss. Diese bietet dafür den Vorteil, dass sie noch kompakter ist und keine Justage bei tiefer Temperatur benötigt. Da in unserer Arbeitsgruppe die Erfahrung mit interferometrischer Scherkkraft-Detektion vorhanden war [3.34], [3.35] und die Stimmgabel-Methode [3.30] zum Zeitpunkt der Konzeption noch wenig etabliert war, wurde die interferometrische Methode gewählt.

3.2 Übersicht

Zuerst soll hier ein Überblick über das gesamte Mikroskop gegeben werden (siehe Abbildung 3.4). Eine genaue Beschreibung der einzelnen Teile, des Kryo-Kopfes, der externen Optik, der verwendeten Lichtquellen, des Kryo- und Vakuumsystem sowie der Steuerung folgt in den Abschnitten 3.3 bis 3.7.

Für den konfokalen Betrieb des Mikroskops wird das Anregungslicht über eine Glasfaser auf den Strahlaufweiter SA geführt, wo der Strahl auf den Durchmesser des Parabolspiegels aufgeweitet wird. Über einen Strahlteiler ST gelangt das Anregungslicht zum Kopf des Mik-

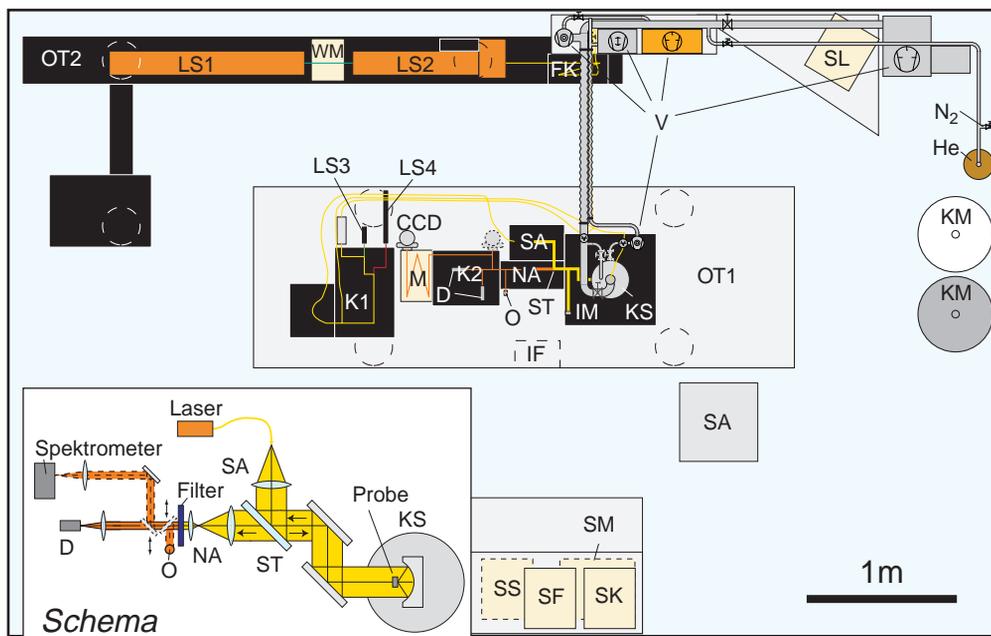


Abbildung 3.4. Übersicht über den Aufbau des Mikroskops: schematisch (kleines Bild), tatsächlich (großes Bild). Es sind: OT1: optischer Tisch für das Mikroskop, mit K1: Kasten mit Polarisationskontrolle und Fasereinkopplung für das Anregungslicht, SA: Strahlaufweiter für den konfokalen Betrieb, IM: Intensitätsmessung, KS: Kryostat mit Mikroskopkopf und V: Vakuumanlage. ST: Strahlteiler und NA: Anpassung des Strahldurchmessers, O: Okular. K2: Kasten mit Einzelphotonen-Detektoren D und Umlenkspiegel zur Einkopplung in das Spektrometer, bestehend aus Monochromator M und CCD-Kamera CCD, LS3 Laser mit 532 nm und LS4: Laser mit 633 nm Wellenlänge. IF: Faser-Interferometer zur Abstandsregelung der Spitze. OT2: optische Bank für LS1: Pumplaser (Ar-Ionen) und LS2: Schmalbandiger Farbstoff-Laser mit FK: Fasereinkopplung, WM: Wellenlängenmessgerät und SL: Rechnersteuerung für den Farbstoff-Laser. KM: Kühlmittelbehälter für flüssiges Helium und flüssigen Stickstoff und N₂, He: Gasanschlüsse. SA: Analoge Elektronik zur Steuerung des Mikroskops und SM: Rechnersteuerung und Datenaufnahme für das Mikroskop, SK: Rechnersteuerung und Datenaufnahme für den Kryostaten, SF: Digitale Abstandsregelung für die Spitze und SS: Rechnersteuerung und Datenaufnahme für das Spektrometer.

roskops im Kryostaten. Das reflektierte Licht oder das Fluoreszenzlicht der Probe nehmen den selben Weg zurück bis zum Strahlteiler. Ein großer Teil davon wird vom Strahlteiler durchgelassen, anschließend wird der Strahldurchmesser reduziert NA. Das Licht kann zum Justieren über einen Klappspiegel in einem Okular O betrachtet werden oder zur Detektion gelangen. Hier können wahlweise – wieder über einen Klappspiegel – die Photonen von Photonenzählwerken D registriert werden oder das Licht wird von einem Monochromator M spektral zerlegt und von einer CCD-Kamera CCD registriert.

Im nahfeldoptischen Betrieb wird das Anregungslicht in der Box K1 direkt in die Glasfaser eingekoppelt, die zur Nahfeldspitze im Mikroskop führt. Ein Faser-Interferometer IF wird benutzt, um den Abstand zwischen Spitze und Probe zu regeln.

Das gesamte Mikroskop ist zur Schwingungsdämpfung auf optischen Tischen aufgebaut. Eine spezielle optische Bank OT2 für einen schmalbandigen Farbstoff-Laser LS2 und dessen Argonionen-Pumplaser LS1 wurde mit zwei Doppel-T-Trägern aufgebaut. Der Kryostat KS mit dem Mikroskop-Kopf, die externe Optik K1, SA, NA, K2, S sowie zwei kleine Laser mit fester Wellenlänge LS3, LS4 sind auf einem weiteren optischen Tisch OT1 aufgebaut. Die gesamte Optik ist in lichtundurchlässige Boxen eingebaut, um Raumlicht als Untergrund-Quelle auszuschließen.

In der Box K1 kann zur Auswahl der gewünschten Lichtquelle zwischen den verschiedenen Lasern umgeschaltet werden. Zudem kann die Polarisation des Laserlichts eingestellt werden.

Das Isolationsvakuum des Kryostaten wird mit einer kleinen Turbomolekularpumpe erzeugt, die direkt neben dem Kryostaten steht. Die Vorvakuum-Pumpe sowie ein weiteres Pumpenpaar zur Erzeugung eines Vakuums im Probenraum sind schwingungsgedämpft über etwa 1,5 m lange Faltenbalgschläuche an das Mikroskop gekoppelt.

Die analoge Elektronik SA zur Steuerung des Mikroskops befindet sich in einem Gestell direkt neben dem optischen Tisch. Die Computersteuerung der verschiedenen Komponenten SM, SK, SF, SS ist auf einem separaten Gestell aufgebaut.

3.3 Mikroskop-Kopf

Der Mikroskop-Kopf – das ist der Teil, der in den Kryostaten eingebaut und abgekühlt werden kann – wurde an der Universität Basel aufgebaut, wobei der mechanische Teil eine Weiterentwicklung des Tieftemperatur-Rasterkraft-Mikroskop-Kopfes von Hug und Mitarbeitern [3.36] - [3.38]¹ ist und auf die Anforderungen der Optik angepasst ist. Er enthält die Probe sowie den Parabolspiegel als Fokussier- und Sammeloptik. Durch den Einsatz bei tiefen Temperaturen ergeben sich folgende Anforderungen an den Mikroskop-Kopf: (1) Er muss möglichst klein sein, damit er in einen Kryostaten passt und nicht zu viel Material abgekühlt werden muss. (2) Die wesentlichen Komponenten müssen von außerhalb des Kryostaten auch bei tiefer Temperatur bewegt werden können. Insbesondere muss die Probe relativ zum Fokus des Parabolspiegels respektive der Nahfeldspitze in allen drei Raumrichtungen positioniert werden können. (3) Die einzelnen Teile des Gerätes müssen beim Abkühlen eine möglichst kleine thermische Drift haben. Diese Anforderungen werden mit einem sehr kompakten zylindrischen Aufbau mit nur 56 mm Durchmesser und 145 mm Länge realisiert. Die zylindrische Symmetrie sorgt dafür, dass die thermische Drift der Komponenten wenig stört. Spitze und Probe liegen auf der Zylinderachse. Durch Kontraktion der Materialien beim Abkühlen ändert sich daran – wegen des symmetrischen Aufbaus – kaum etwas. Die Kontraktion entlang der Zylinderachse und die damit verbundene Abstandsänderung zwischen Probe und Spitze kann mit einem Motor korrigiert werden.

¹ Nach einem ähnlichen modularen Prinzip sind in Basel zwei weitere Mikroskope entwickelt worden: Ein Hochdruck STM [3.39] - [3.41] und ein Magnetresonanz-Kraftmikroskop, <http://monet.physik.unibas.ch/mrfm/>.

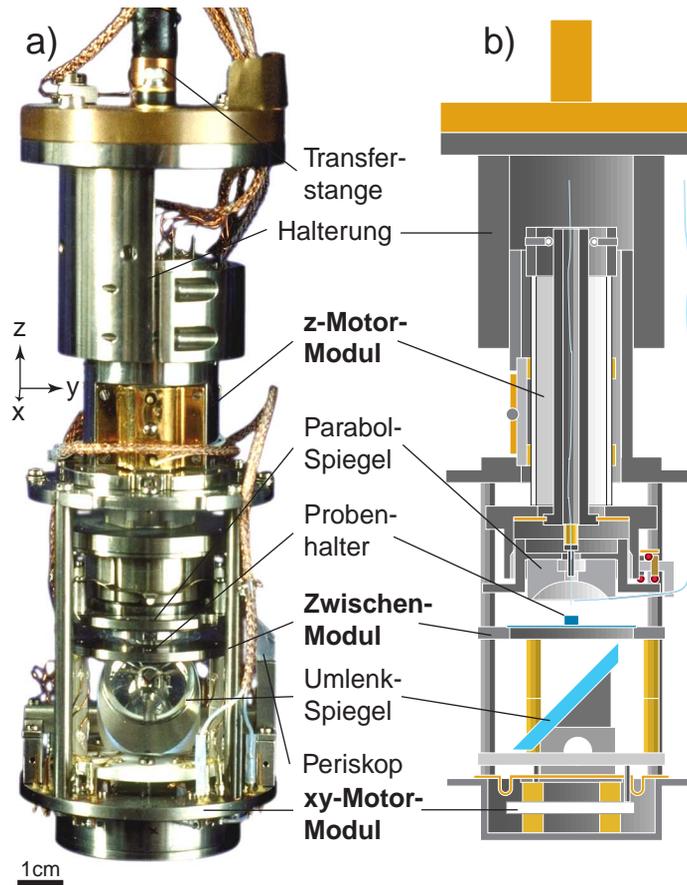


Abbildung 3.5. Mikroskop-Kopf des Nahfeld- und konfokalen Mikroskops für variable Temperaturen und Hochvakuum. a) Fotografie und b) Schnittbild. Die drei Hauptteile sind gut zu erkennen: das *z-Motormodul*, das *Zwischenmodul* und das *xy-Motormodul*. Das *z-Motormodul* ist über eine Halterung an der Transferstange des Kryostaten befestigt. Es enthält die Nahfeldspitze und den Parabolspiegel, die Interferometer-Faser für die Abstandskontrolle sowie den Motor für die Grobverstellung in der *z*-Richtung. Das *Zwischenmodul* enthält den Rastertisch mit dem Probenhalter. Der hier abgebildete Rastertisch hat bei tiefer Temperatur einen maximalen Stellweg in *x*- und *y*-Richtung von $2\ \mu\text{m}$. Das *xy-Motormodul* enthält den Motor zur Grobverstellung der Probe in der *x*- und *y*-Richtung und einen Umlenkspiegel, der das Licht, das den Parabolspiegel senkrecht nach unten (*-z* Richtung) verlässt, nach vorne (*+x* Richtung) aus dem Kryostaten heraus umlenkt.

Der modulare Aufbau (siehe Abbildung 3.5) bietet die Möglichkeit, das Mikroskop ohne großen Aufwand an neue Aufgabenstellungen anzupassen und Rastertische mit unterschiedlichen maximalen Stellwegen zu verwenden.

Der Kopf besteht aus einem *xy-Motormodul*, das über ein *Zwischenmodul* mit dem *z-Motormodul* verbunden ist. Dieses ist über eine Halterung mit der Transferstange des Kryostaten verbunden (siehe Abschnitt 3.6). Das *xy-Motormodul* enthält die laterale Grobpositionierung der Probe gegenüber dem Spiegel mit der Nahfeldspitze. Das *Zwischenmodul* besteht aus dem Rastertisch mit dem Probenhalter und den Verbindungsstangen zwischen *z-Motormodul* und *xy-Motormodul*. Das *z-Motormodul* enthält die gesamte Optik: den Parabolspiegel, die Nahfeldspitze und die Interferometer-Faser für die Abstandskontrolle sowie den Motor für die Grobverstellung des Abstandes zwischen dem Parabolspiegel – mit der Nahfeldspitze – und der Probe.

Alle Teile sind aus Titan und anderen nicht ferromagnetischen Materialien gefertigt worden, um einen späteren Einsatz in großen Magnetfeldern zu ermöglichen¹. In den folgenden Abschnitten sollen nun die einzelnen Module genauer beschrieben und ihre Funktionsweise erläutert werden.

3.3.1 xy-Motormodul

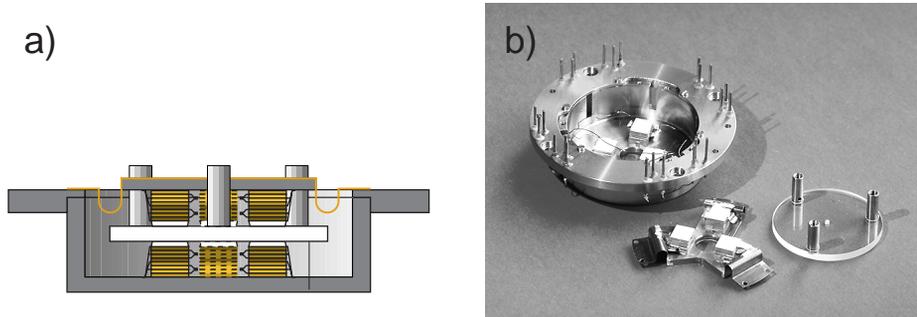


Abbildung 3.6. a) Schnittbild des xy-Motormoduls und b) Fotografie im geöffneten Zustand. Die Saphirplatte (weiß) wird von den 2×3 Scherpiezostapeln gehalten. Die Stapel bestehen aus 8 Scherpiezo-Platten, jeweils 4 für die Bewegung in x- (hell) und in y-Richtung (dunkel). Die oberen Stapel werden mit einer Kupfer-Beryllium-Feder (\sim) auf die Saphirplatte gedrückt. Der Kontakt zur Saphirscheibe wird über polierte Aluminiumoxid-Platten hergestellt, wie in b) zu sehen ist.

Das xy-Motormodul besteht aus einem 10,5 mm hohen Zylinder, der den Motor enthält. Der Motor ist ein Trägheitsmotor² und besteht im wesentlichen aus einer polierten Saphirplatte [M1]³, die zwischen 6 Stapeln von Scherpiezoelementen eingeklemmt⁴ ist (drei von oben und drei von unten, siehe Abbildung 3.6). Den Kontakt zur Saphirplatte bilden polierte Aluminiumoxid-Plättchen [M2], die auf die Piezostapel aufgeklebt⁵ sind. Damit entsteht eine relativ kleine Gleitreibung, die für den Trägheitsbetrieb nötig ist⁶.

Die einzelnen Stapel bestehen aus acht Scherpiezos [M5], jeweils vier für die Bewegung in x- und y-Richtung, damit die erzeugbare Scherbewegung trotz des Sensitivitätsverlusts des Piezomaterials bei tiefen Temperaturen ausreichend groß ist. Der Motor hat eine Kraft von etwa 1 N und einen maximalen Stellweg von 6,5 mm. Die kleinste Schrittweite beträgt etwa

¹ Lediglich die Schrauben sind vorläufig aus Edelstahl, da Titanschrauben nicht erhältlich sind und eine Sonderanfertigung nicht lohnt, solange das Mikroskop nicht wirklich bei hohen Magnetfeldern betrieben wird. Auch die Elektroden der Piezomotoren sind deshalb aus Kupfer statt des sonst weiter verbreiteten Nickels gefertigt. Die Rasterpiezos haben allerdings Nickelelektroden und müssten ausgetauscht werden. Als Federmaterial wurde Kupfer-Beryllium (98 % Kupfer, 2 % Beryllium) verwendet und als Isolationsmaterial der keramische Werkstoff Macor.

² Der Motor funktioniert nach dem Trägheitsprinzip. Die Scherpiezo-Elemente werden zuerst mit einer langsam ansteigenden Spannung ($< 2 \cdot 10^5$ V/s, bis maximal 400 V) angesteuert und führen dabei eine Scherbewegung aus, der die Saphirplatte mit dem darauf aufgesetzten Rastertisch mit Probe folgen kann. Anschließend wird die Spannung schlagartig zurückgesetzt ($dV/dt \approx 10^8$ V/s). Dieser schnellen Änderung können nur noch die leichten Piezostapel folgen, der träge Rastertisch nicht mehr. So entsteht ein Einzelschritt. Um Schritte in der entgegengesetzten Richtung auszuführen, wird zuerst schlagartig die Spannung erhöht und dann langsam wieder abgesenkt.

Ursprünglich wurde der Motor als Reibungsmotor betrieben. In diesem Modus bewegen sich die Stapel beim schnellen Spannungssprung zeitlich versetzt. Dieser Modus hat aber weniger gute Ergebnisse gezeigt und wurde deshalb wieder aufgegeben.

³ Referenzen in eckigen Klammern mit vorangestelltem M beziehen sich auf die Materialliste auf Seite 91.

⁴ Die Federstärke wird etwa so eingestellt, dass die Haftreibung der Saphirplatte in x- und y-Richtung etwa 1 N beträgt.

⁵ Zum Kleben der Piezostapel wurden speziell tieftemperatur- und hochvakuumtaugliche Epoxydkleber verwendet [M3], [M4].

⁶ Das erwähnte Aluminiumoxid ist das gleiche Material wie der Saphir, aber in einer polykristallinen Form, was verhindert, dass die beiden Teile bei tiefer Temperatur zusammenhaften.

20 nm, die maximal erreichbare Geschwindigkeit, die mit der Treiberelektronik [M6] erreicht werden kann, liegt bei etwa 200 $\mu\text{m/s}$ bei Raumtemperatur.

Auf das xy-Motormodul aufgesetzt ist ein hochreflektierender Umlenkspiegel [M7], der 99,5 % des Lichts vom Parabolspiegel aus dem Kryostaten hinaus lenkt.

3.3.2 Zwischenmodul

Das Zwischenmodul besteht aus dem Rastertisch mit Probenhalter, der auf den xy-Motor aufgesetzt ist, und vier Stangen, die das xy-Motormodul und das z-Motormodul verbinden. Zur Zeit werden zwei verschiedene Rastertische mit unterschiedlichen Stellwegen verwendet, einer mit kleinem Stellweg ($12 \times 12 \times 4 \mu\text{m}$ bei Raumtemperatur (RT), $2 \times 2 \times 0,7 \mu\text{m}$ bei 1,8 K) und einer mit großem Stellweg ($36 \times 62 \times 4 \mu\text{m}$ bei RT, $5 \times 8 \times 0,7 \mu\text{m}$ bei 1,8 K). Der Tisch mit großem Stellweg soll hier etwas genauer beschrieben werden.

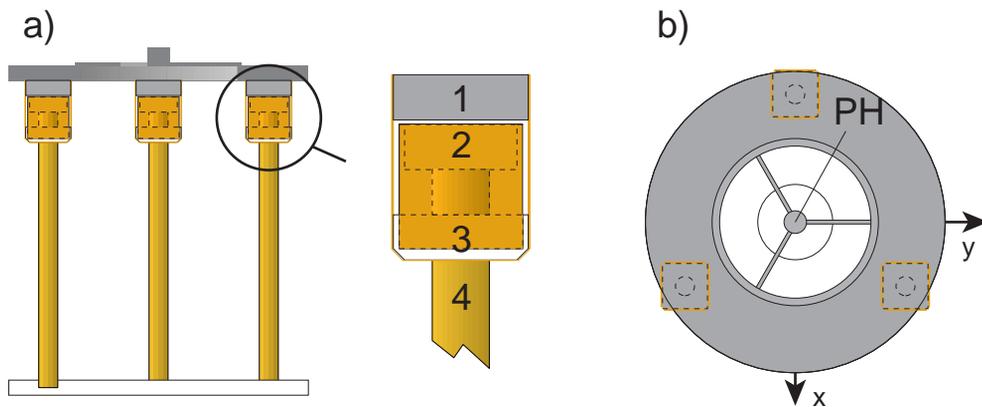


Abbildung 3.7. Aufbau des Rastertisches. a) zeigt eine Seitenansicht und b) eine Aufsicht. Die vergrößerte Ansicht zeigt die Funktionsweise der Federjunkte: Der Kopf (1) ist fest verbunden mit dem Probenhalter. Über zwei Federjunkte ist dieses verbunden mit dem beweglichen Teil (3) und dieses über zwei weitere, um 90° gedrehte Federjunkte mit dem auf dem Piezo (4) aufgeklebten Zwischenstück (2). Der Tisch hat drei dieser Beine. In b) ist zudem der Mercedesstern-förmige Probenhalter PH zu sehen. Das Zentralstück hat einen Durchmesser von nur 3 mm und die Streben eine Breite von 0,5 mm und eine Höhe von 1 mm.

Die Rasterbewegung des Tisches erfolgt mit radial polarisierten, außen vierfach segmentierten, piezoelektrischen Röhren¹. Um einen möglichst großen Stellweg zu erhalten, muss der Röhrendurchmesser und die Wandstärke klein und die Länge möglichst groß sein. Deshalb werden hier Röhrenpiezos mit 1,5" Länge, 0,1" Durchmesser und 0,012" Wandstärke verwendet [M8]. Um einen symmetrischen, stabilen Aufbau zu erhalten, werden drei Piezoröhren benutzt (siehe Abbildung 3.7). Die Röhren sind am unteren Ende fest auf eine Macorplatte aufgeklebt und am oberen Ende mit Festkörpergelenken aus Kupfer-Beryllium-Blech mit dem Probenhalter verbunden. So können sich die Röhren nur wenig durch die Federn gehindert in allen drei Raumrichtungen bewegen. Jede Röhre hat dabei für die Bewegung in der x- und y-Richtung je zwei Federn, die verbogen werden². Durch die Verwendung der Festkörpergelenke hat der Rastertisch eine relativ geringe Resonanzfrequenz von etwa 100 Hz, was aber immer noch deutlich über der Rasterfrequenz liegt, wie sie in der konfokalen und nahfeldoptischen Mikroskopie von einzelnen Molekülen und Nanopartikeln wegen der kleinen Signalintensitäten benutzt wird ($< 1 \text{ Hz}$). Zudem entsteht durch die Verwendung von zwei Federn pro Richtung eine hinreichend gute Dämpfung.

¹ Eine genaue Funktionsbeschreibung findet man zum Beispiel bei [3.42].

² Ein Rastertisch mit nur je einer Feder weist eine deutlich größere Sensitivität auf ($140 \mu\text{m}$ Stellweg bei RT), schwingt aber bei den üblichen Raster-Geschwindigkeiten stark ($\approx 100 \text{ nm}_{\text{pp}}$).

Die Probe wird auf einen Mercedes-sternförmigen Probenhalter PH (siehe Abbildung 3.7) geklebt¹ und dieser auf den Probentisch. Die Probe sollte nicht größer als etwa 3 mm im Durchmesser sein, um möglichst wenig Licht abzuschatten.

3.3.3 z-Motormodul

Das z-Motormodul enthält neben dem Motor für die Bewegung in der z-Richtung die wichtigsten Komponenten des Mikroskops, nämlich den Parabolspiegel, die Halterung für die Nahfeldspitze und die Interferometer-Faser für die Abstandsregelung der Spitze gegenüber der Probe.

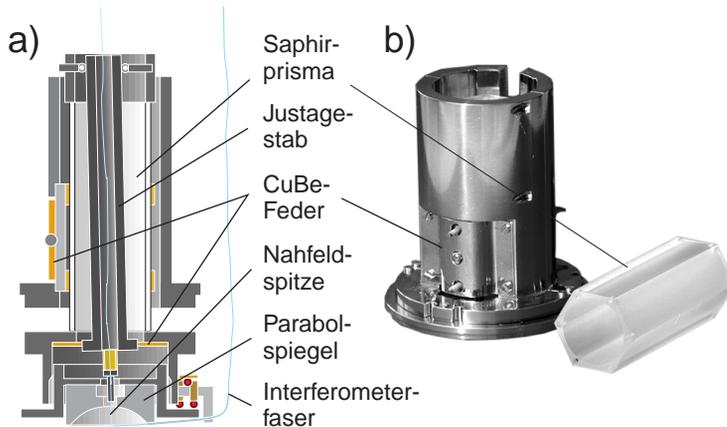


Abbildung 3.8. Aufbau des z-Motormoduls. a) Schnittbild durch das Modul, b) Fotografie des Motors mit Saphirprisma. Das Saphirprisma wird von 4 festeingebauten Piezostapeln und 2 über eine Kupfer-Beryllium (CuBe)-Feder angepressten Stapeln gehalten und bewegt. Am unteren Ende des Saphirprismas ist der Parabolspiegel über ein Feingewinde in die Halterung eingeschraubt. Die Nahfeldspitze kann über den Justagestab in den Fokus des Parabolspiegels justiert werden.

z-Motor

Der z-Motor funktioniert wie der xy-Motor nach dem Trägheitsprinzip. Er ist aber etwas anders aufgebaut. An Stelle der Saphirplatte wird hier ein sechsseitiges Saphirprisma [M9] verwendet (siehe Abbildung 3.8). Drei Seiten dieses Prismas sind poliert und dienen als Gleitflächen. Das Prisma wird von zwei Piezostapeln mit einer Kupfer-Beryllium-Feder gegen zwei Gruppen von je zwei Piezostapeln gepresst und damit gehalten². Die Piezostapel bestehen hier aus je vier Piezos [M5]. Die Kraft von etwa 2 N reicht aus, um das Prisma mit dem Parabolspiegel nach oben zu bewegen. Die Schrittweiten sind hier allerdings abhängig von der Richtung, da mit der Schwerkraft oder gegen die Schwerkraft gearbeitet wird. Die maximale Schrittweite gegen die Schwerkraft (+z Richtung) beträgt etwa 250 nm, mit der Schwerkraft (-z Richtung) etwa 400 nm.

Parabolspiegel

Der Parabolspiegel (siehe Abbildung 3.9) hat eine Brennweite von 4,5 mm und einen halben Öffnungswinkel θ_{\max} von $86,4^\circ$. Durch die zentrale Bohrung mit 3 mm Durchmesser kann die Nahfeldspitze geführt werden. Zwei seitlich angebrachte Kerben bilden den Zugang für die Interferometer-Faser zur Abstandsregelung. Der Hohlspiegel ist mit drei symmetrisch liegen-

¹ Um eine gute Klebeverbindung zu erhalten, die sich trotzdem leicht wieder lösen lässt, wird Polyvinylbutyral (PVB) in Chloroform verwendet.

² Die Federkraft wird hier so eingestellt, dass die Haftreibung etwa 2 N beträgt.

den Schrauben, die mit Kupfer-Beryllium-Federringen versehen sind, in der Halterung befestigt. Dies erlaubt eine fast spannungsfreie Befestigung auch beim Abkühlen.

Der Spiegel wurde auf einer Diamantdrehmaschine bei der Firma Rodenstock aus einer Aluminiumlegierung gedreht [M10]. Er hat eine Oberflächenrauigkeit von $15 \text{ nm}_{\text{RMS}}$, zeigt aber Abweichungen von der Sollform von bis zu etwa 150 nm^1 . Der Durchmesser des Spiegels beträgt fast 2 cm , die relative Genauigkeit liegt also bei etwa 10^{-5} .²

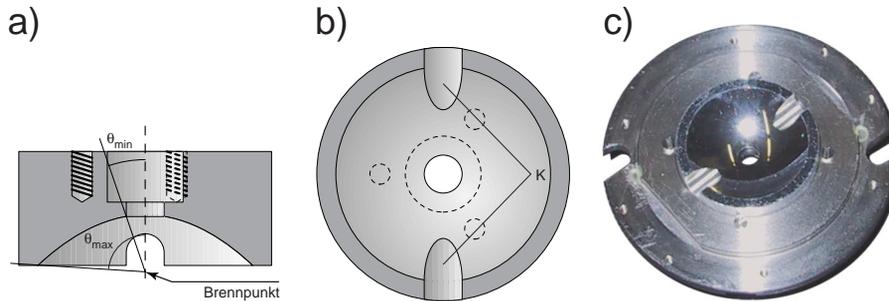


Abbildung 3.9. Bilder des Parabolspiegels. a) Querschnitt, b) Frontalansicht und c) Fotografie des Spiegels in der Halterung. Die Brennweite beträgt $4,5 \text{ mm}$, der halbe Öffnungswinkel $\theta_{\text{max}} = 86,4^\circ$. Durch die zentrale Bohrung mit 3 mm Durchmesser ($\theta_{\text{min}} = 18,9^\circ$) wird die Nahfeldspitze geführt. Der Brennpunkt des Spiegels liegt $0,5 \text{ mm}$ unterhalb des Spiegelrandes. Die eingezeichneten seitlich liegenden Kerben K dienen als Zugang für die Interferometer-Faser.

Nahfeldspitze und Abstandsregelung

Die Nahfeldspitze wird in eine zylindrische Halterung eingeklebt, die in einen Federbecher im Mikroskop gesteckt wird (siehe Abbildung 3.10a, SH). Dadurch wird die Spitze gut festgehalten und ist trotzdem leicht und schnell auswechselbar.

Die Spitze kann in den Fokus des Parabolspiegels justiert werden. Zur Justierung in axialer Richtung (z) ist der Spiegel in eine Halterung eingebaut, die über ein Feingewinde in die Aufnahme am Saphirprisma eingeschraubt wird. Dies erlaubt eine Justage mit einer Auflösung von etwa $1 \mu\text{m}$ ³. Damit die beiden Gewindeteile fest ineinander sitzen, ist das Gewinde in der Aufnahme geschlitzt und kann mit drei Schrauben gespannt werden. Zur Positionierung in lateraler Richtung (xy) ist die Spitzenhalterung am einen Ende eines Justierstabes befestigt (Abbildung 3.10a, JS). Dieser ist in eine Kupfer-Beryllium-Platte eingebaut, die am unteren Ende des Saphirprismas liegt und ein Verkippen des Justierstabes erlaubt. Das andere Ende des Justierstabes liegt oberhalb des Saphirprismas. An dieser Stelle wird der Justierstab von vier Feingewinde-Schrauben bewegt und nach erfolgter Justage festgeklemmt. Damit wird eine Positionsauflösung von besser als $0,5 \mu\text{m}$ erreicht⁴.

¹ Messungen dazu sind in Abschnitt 4.2 zu finden.

² Die Herstellung von konkaven asphärischen Flächen mit einigen 10 mm Durchmesser in optischer Qualität ist immer noch schwierig. Wir hatten die Möglichkeit weitere Parabolspiegel von anderen Herstellern auszumessen, die noch größere Abweichungen von der Sollform gezeigt haben.

³ Der Durchmesser des Ringes, an dem gedreht wird, beträgt 41 mm . Damit erreicht man von Hand eine Winkelauflösung von etwa $0,5^\circ$. Die Gewindesteigung des Feingewindes ($M26 \times 0,75 \text{ mm}$) beträgt $0,75 \text{ mm}$ pro Umdrehung. Damit erhält man für die Positionsauflösung etwa $1 \mu\text{m}$.

Die Positionsauflösung ist hier lediglich grob abgeschätzt. Durch Feinjustage ist eine bessere Positionierung durchaus möglich, aber schwer reproduzierbar.

⁴ Hier müssen die Feingewinde-Schrauben ($M2 \times 0,25$) mit einem Schraubendreher justiert werden. Damit wird eine Winkelauflösung von etwa 2° erreicht. Dies ergibt eine Positionsauflösung für die Schrauben von etwa $1,4 \mu\text{m}$. Die Untersetzung von $2,57$ durch den Justierstab erzeugt dann die Positionsauflösung der Nahfeldspitze von etwa $0,5 \mu\text{m}$. Durch Verspannen der Schrauben kann eine Feinjustage unterhalb dieses Wertes erreicht werden, die aber nicht reproduzierbar ist.

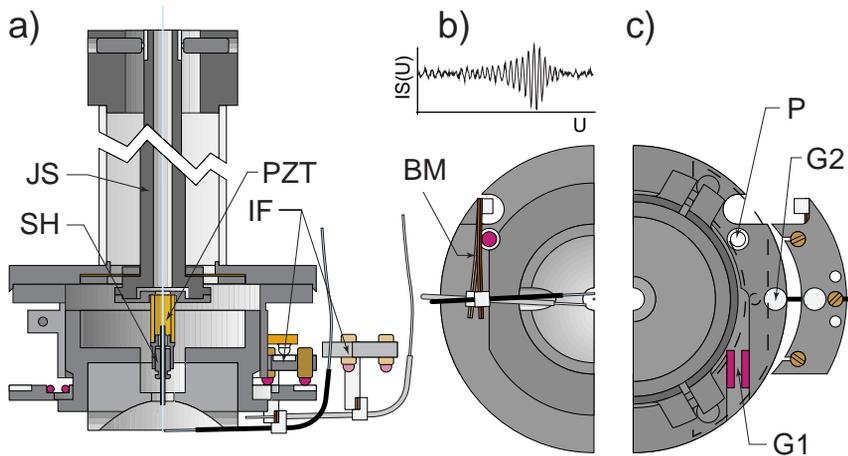


Abbildung 3.10. Schnittbilder durch die Spitzenhalterung. a) Querschnitt mit der Spitzenhalterung SH, Justierstab JS und Anregungspiezo PZT mit ein- (dunkel) und ausgebauter (hell) Interferometer-Halterung IF. b) Aufsicht von unten mit Bimorphpiezo BM. Das kleine Bild zeigt das Interferometer-Signal $IS(U)$ wenn die Faser mit dem Bimorph bewegt wird (BM, hell). c) Aufsicht (von oben) mit ausgebauter Interferometer-Halterung und kinematischer Lagerung: Punktlager P, V-Gleitlager G1 und ebenem Gleitlager G2.

Zur Abstandsregelung werden Scherkräfte genutzt [3.28], [3.29], wie eingangs erwähnt. Die Nahfeldspitze wird mit einem Röhrenpiezo (Abbildung 3.10a, PZT) lateral bei ihrer Resonanzfrequenz in Schwingung versetzt. Die Verkleinerung der Amplitude beim Annähern an die Probe wird mit einem Infrarot-Faser-Interferometer gemessen [3.34], [3.36] (siehe auch Abschnitt 3.7.2). Zur Anregung der Nahfeldspitze wird ein vierfach segmentierter Röhrenpiezo verwendet. Es wird jeweils nur die Elektrode unter eine Wechselspannung¹ gesetzt, die der Interferometer-Faser etwa gegenüberliegt. Die Interferometer-Faser wird von der Seite her an die Nahfeldspitze herangeführt. Um sie gegenüber der Spitze auszurichten, ist sie an einer separaten Halterung befestigt. Diese wird am Rand der Spiegelhalterung mit einer Feder festgeklemmt. Die Position der Interferometer-Faser kann mit drei Schrauben eingestellt werden. Die Schrauben haben an ihrem Ende eine Rubinkugel eingeklebt, auf denen die Halterung auf der Spiegelhalterung aufliegt. Die ganze Halterung ist kinematisch gelagert. Als Punktlager (Abbildung 3.10c, P) dient das Gegenlager eines Kugelventils [M11], als V-Gleitlager G1 zwei parallel liegende Rubinstäbe [M12] und als ebenes Gleitlager G2 eine Saphirscheibe [M13]. Wegen der großen Härte der verwendeten Materialien gibt es kaum Verschleiß, und wegen der großen Präzision der Lagerbauteile ist eine exakte Positionierung der Interferometer-Faser gegenüber der Nahfeldspitze möglich.

Die Faser-Interferometer-Halterung muss zwangsläufig asymmetrisch aufgebaut werden, da sie von einer Seite an die Nahfeldspitze geführt werden muss. Das führt beim Abkühlen zu einer kleinen Verschiebung der Interferometer-Faser gegenüber der Nahfeldspitze. Deshalb muss die Interferometer-Faser auch bei tiefer Temperatur nachjustiert werden können. Es genügt, wenn die Faser quer zur Spitze bewegt werden kann, da nur das einen deutlichen Einfluss auf die Modulationstiefe des Interferometer-Signals hat. Dies wird durch einen Bimorphpiezo [M14] ermöglicht, an dem die Interferometer-Faser befestigt ist (siehe Abbildung 3.10b, BM)². Das gemessene Interferometer-Signal ist in Abbildung 3.10b beispielhaft darge-

¹ Eine Anregungsamplitude von etwa 50 mV_{pp} erzeugt je nach Resonanz eine Schwingungsamplitude von einigen Nanometern.

² Da die Faser beim Abkühlen relativ weit bewegt werden muss (einige $10 \mu\text{m}$) wird ein Aktor benötigt, der große Wege machen kann. Dafür eignen sich Bimorphpiezos sehr gut. Der hier verwendete macht bei einer Spannungsänderung von 250 V einen Weg von etwa $120 \mu\text{m}$ bei Raumtemperatur.

stellt. Die Modulationstiefe ist maximal, wenn die Interferometer-Faser der Nahfeldspitze direkt gegenüber liegt.

3.4 Externe Optik und Detektion

3.4.1 Aufbau

Der Kopf des Mikroskops enthält nur das nötigste, nämlich die Fokussier- und Sammeloptik, den Rastertisch und eine Probenjustierung. Die übrigen Komponenten des konfokalen Mikroskops sind außerhalb des Kryostaten aufgebaut.

Insbesondere die Nahfeldspitze, aber auch die konfokale Optik sind empfindlich gegenüber Erschütterungen. Deshalb ist die gesamte Optik inklusive Kryostat zur Dämpfung von Gebäudeschwingungen auf einem $1,2 \times 3,6 \text{ m}^2$ großen optischen Tisch aufgebaut [M15]. Abbildung 3.11 zeigt den Aufbau des Mikroskops¹. Im konfokalen Betrieb wird das Anregungslicht aus einer Glasfaser in den Faserkoppler FK [M16] geleitet und mit der Kollimatorlinse K1 [M17] mit einer Brennweite $f = 120 \text{ mm}$ parallel gerichtet. Die Single-Mode-Faser² dient zugleich als Raumfilter. Der Koppler ist in 5 Achsen beweglich (Verschiebung in drei Raumrichtungen sowie Drehen und Neigen), um beim Parabolspiegel eine möglichst ebene Wellenfront zu erzeugen. Dies ist wichtig, damit das Licht vom Parabolspiegel gut fokussiert werden kann. Da der Strahlaufweiter nicht achromatisch ist, muss beim Wechsel der Wellenlänge der Abstand zwischen Glasfaser und Kollimatorlinse korrigiert werden. Da die Komponenten relativ schwer zugänglich sind, kann der Abstand mit einem Motor ferngesteuert verändert werden. Der aufgeweitete Strahl zeigt ein Gauß-Profil mit einem Strahltaillen-Radius $w_0 = 7,9 \text{ mm}$.

Mit einem großen Spiegel S1 wird der Strahl auf den Strahlteiler ST1 [M19] geleitet. S1 und ST1 werden dazu benutzt, um die optischen Achsen der Anregung und der Detektion zur Deckung zu bringen. Diese und auch die folgenden Spiegel müssen eine sehr hohe Oberflächenplanität besitzen, damit die Wellenfront keine Phasenfehler aufweist und mit dem Parabolspiegel gut fokussiert werden kann. Als Strahlteiler ST1 wird eine Keilplatte aus BK7-Glas verwendet³. Sie ist auf der Rückseite antireflexbeschichtet, um Verluste des transmittierten Fluoreszenzlichts zu reduzieren. Die Keilform mit einem Keilwinkel von $0,75^\circ$ verhindert die Bildung von störenden Interferenzen. Die Transmission der Glasplatte liegt bei etwa 95 %, was für die Detektion wichtig ist. Die Reflexion ist dagegen nur klein und zudem stark polarisationsabhängig⁴, was beim Einstellen der Anregungspolarisation beachtet werden muss. Die Intensität des vom Strahlteiler durchgelassenen Lichts wird von einer Photodiode IR gemessen. Dieses Signal kann benutzt werden, um die Anregungsleistung zu stabilisieren.

Die darauf folgenden Spiegel S2 und S3 werden benutzt, um die optische Achse der Anregung und Detektion auf die Achse des Parabolspiegels anzupassen. S2 ist mit Motoren [M18] ausgerüstet, da er schwer zugänglich ist. Er muss auch während dem Betrieb nachjus-

Der gewählte Aufbau bewegt die Interferometer-Faser nicht exakt quer zur Nahfeldspitze sondern ändert auch den Abstand. Dies hat aber auf die Modulationstiefe des Interferometer-Signals keinen großen Einfluss. Es ist aber die einfachste Möglichkeit, bei den sehr beengten Platzverhältnissen eine Justierung zu ermöglichen.

¹ Eine Zusammenstellung der wesentlichen Komponenten befindet sich auch am Ende des Abschnitts in Tabelle 3.1.

² Da verschiedene Wellenlängen benutzt werden, kann die Faser nicht für alle Wellenlängen nur eine Mode leiten. Es wird also eine Faser verwendet, die für die längste benutzte Wellenlänge (633 nm) nur eine Mode leitet (HE_{11}). Um trotzdem auch bei den kürzeren Wellenlängen nur die HE_{11} -Mode, also keine Knotenebenen im Strahlprofil, zu haben wird die Faser kurz vor dem Auskoppeln in eine enge Schleife gelegt (Radius $\approx 1 \text{ cm}$). Dies führt dazu, dass höhere Moden seitlich aus der Faser ausgekoppelt werden.

³ Dichroitische Strahlteiler sind in der benötigten Größe und Qualität schwer erhältlich. Zudem hat die Reflexion, respektive die Transmission, in der Regel keinen einfachen Zusammenhang mit der Polarisationsrichtung des Lichts, was quantitative Polarisations-Messungen erschwert.

⁴ Vom parallel (p) zur Tischplatte polarisierten Anteil werden je nach Wellenlänge etwa 0,9 % reflektiert, für den senkrecht (s) zur Tischplatte polarisierten Teil etwa 9,6 %.

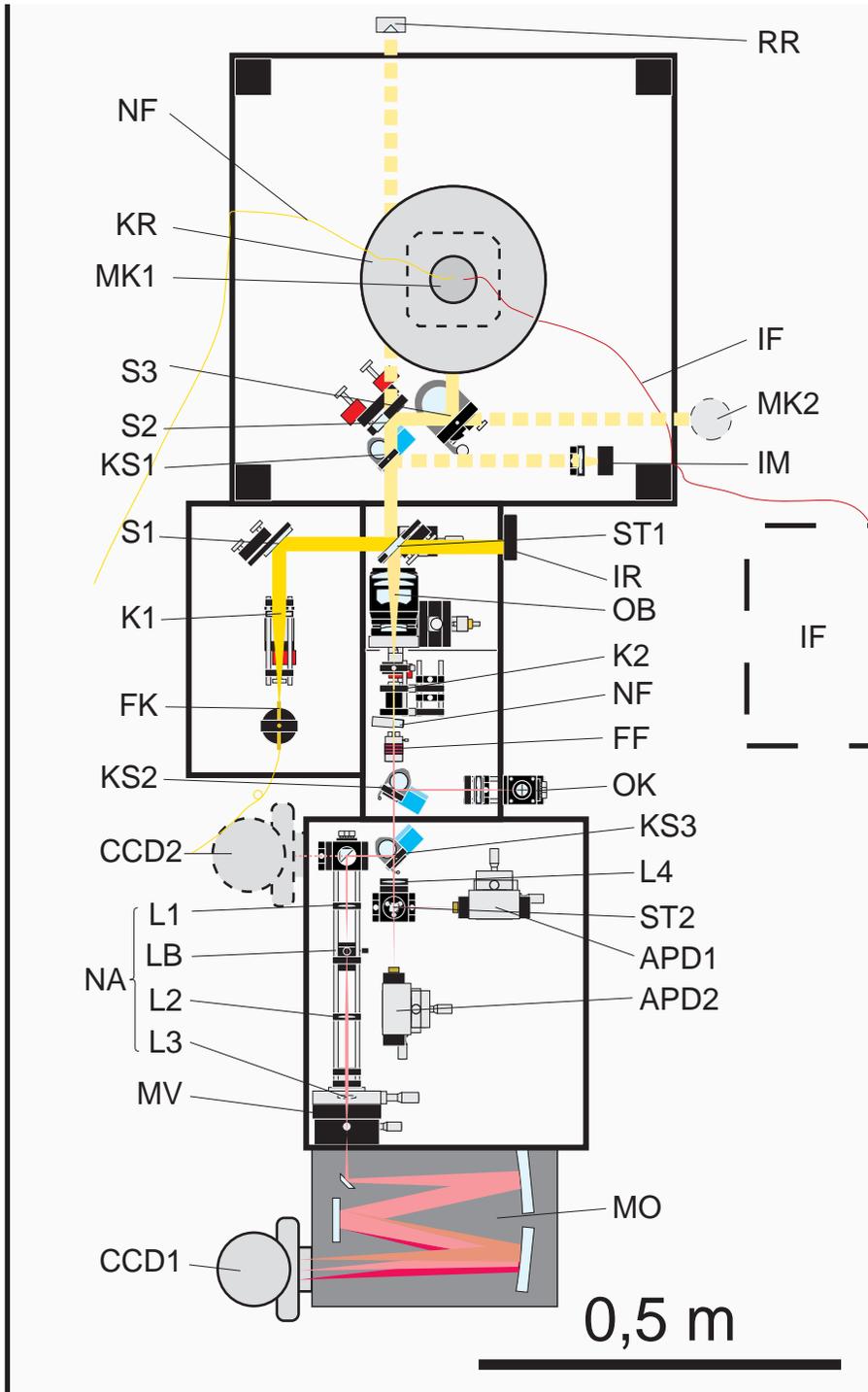


Abbildung 3.11. Beschreibung siehe Seite 77.

tiert werden können, wenn der Streulicht-Schutzkasten um den Kryostaten geschlossen ist. Wenn der Klappspiegel S3 heruntergeklappt ist, kann das Licht zur Position MK2 gelangen, wo der Mikroskop-Kopf außerhalb des Kryostaten für Probemessungen und Justagearbeiten aufgestellt werden kann. Zur Messung der ins Mikroskop eingestrahlten Leistung kann ein weiterer, motorisierter Klappspiegel KS1 in den Strahlengang geklappt werden, der das Licht über eine Linse ($f = 50$ mm) auf eine kalibrierte Photodiode IM [M20] lenkt.

Der Detektions-Strahlengang geht vom Kopf denselben Weg zurück bis zum Strahlteiler ST1. Dieser lässt – polarisationsabhängig – etwa 95 % des Lichtes durch¹. Anschließend wird der Strahldurchmesser reduziert. Da der Strahl einen Durchmesser von fast 18 mm hat, genügt es nicht, mit einer achromatischen Dublettlinse zu fokussieren. Es wird ein optisches System benötigt, das auch achsenferne Strahlen gut fokussiert, also möglichst keine sphärische Aberration zeigt. Um dies zu erreichen, wurde ein gut korrigiertes Fotoobjektiv OB mit 135 mm Brennweite ausgewählt [M21]. Das Zwischenbild ist also 30 \times vergrößert. In der fokalen Ebene des Objektivs befindet sich eine Blende, um Streulicht auszublenden. Das Licht wird anschließend mit einem auf ∞ korrigierten Mikroskop-Objektiv K2 [M22] mit 16,5 mm Brennweite erneut parallel gerichtet. Der Strahl hat jetzt nur noch einen Durchmesser von 2,07 mm und kann mit einfachen Linsen mit relativ kleinen Brennweiten stark vergrößert abgebildet werden. Die Transmission des Detektions-Strahlengangs beträgt bis zu diesem Punkt 70 % für parallel zur Tischplatte polarisiertes Licht und 64 % für senkrecht zur Tischplatte polarisiertes.

Um Fluoreszenz oder Raman-Messungen durchführen zu können, müssen noch die an der Probe reflektierten Teile des Anregungslichts ausgefiltert werden. Dazu wird für feste Laserwellenlängen ein Notch-Bandsperrfilter NF verwendet. Die hier verwendeten Notch-Filter haben eine Bandbreite von knapp 20 nm und schwächen im Zentrum ihres Absorptionsbandes um einen Faktor $> 10^6$ ab [M23]. Für die variablen Wellenlängen des Farbstoff-Lasers werden Farbglass-Longpassfilter FF [M24] verwendet, deren Kanten eine spektrale Breite von etwa 25 nm haben.

Für Justagezwecke kann das Licht über den motorisierten Klappspiegel KS2 im Okular OK [M25] betrachtet werden. Im Okular wird eine Gesamtvergrößerung von 4650 \times erreicht, so dass die Intensitätsverteilung im Fokus gut zu erkennen ist².

Für Messungen wird das Licht nun in den nächsten Kasten geleitet. Dieser Kasten ist groß dimensioniert, um je nach Experiment verschiedene Detektoren und optische Kompo-

Abbildung 3.11 (Seite 76). Aufbau des konfokalen Mikroskops. Der Beleuchtungs-Strahlengang besteht aus FK: Faserkoppler, K1: Kollimator, S1 und ST1 Spiegel und Strahlteiler und S2/S3 Spiegel zur Einkopplung in den Mikroskop-Kopf MK1. KS1: Klappspiegel zur Umlenkung des Lichts zur Intensitätsmessung IM. RR: Retroreflektor zur Justierung und MK2: Mikroskop-Kopf-Position für Messungen außerhalb des Kryostaten KR und IR: Intensitätsregler. Der Detektions-Strahlengang führt vom Kopf auf demselben Weg zurück bis zum Strahlteiler ST1. Anschließend wird der Strahldurchmesser reduziert mit einer Kombination aus einem Objektiv OB und einem Kollimator K2. Notch- (NF) oder Farbglassfilter (FF) werden benutzt, um reflektiertes Anregungslicht auszufiltern. Über einen Klappspiegel KS2 kann das Licht in einem Okular OK betrachtet werden. Zur Detektion wird das Licht entweder mit einer Linse L4 fokussiert und mit einem polarisierenden Strahlteiler ST2 auf zwei Avalanche-Photodioden (APD1/APD2) aufgeteilt oder mit einem Klappspiegel KS3 und einer Anpassung der numerischen Apertur NA (bestehend aus den Linsen L1, L2, L3 und der Lochblende LB) in den Monochromator MO eingekoppelt und von einer CCD-Kamera (CCD1) spektral aufgelöst detektiert. Ein elektrisch gesteuerter mechanischer Verschluss MV öffnet den Eingang zum Monochromator nur zum Messen. Für Messungen des gesamten Bildfeldes kann die CCD-Kamera auch an der Position CCD2 eingesetzt werden. Im nahfeldoptischen Betriebsmodus (SNOM) wird das Licht in die Nahfeldspitze NF eingekoppelt. Zur Abstandsregelung wird das Faser-Interferometer IF benutzt. Der Detektions-Strahlengang ist der gleiche wie im konfokalen Modus.

¹ Für quantitative Polarisations-Messungen muss die Polarisationsabhängigkeit berücksichtigt werden. Die Transmission beträgt für p-Polarisation etwa 99 % und für s-Polarisation etwa 90 %.

² In der Mikroskopie werden in der Regel keine Gesamt-Vergrößerungen von über 1000 \times benutzt, da Beugungseffekte das Bild verwaschen aussehen lassen. Hier will man aber gerade die durch die Beugung verursachte Struktur des Bildes, also die *Point-Spread-Function*, sehen [3.43]. Deshalb wird diese starke Vergrößerung benutzt.

nenten aufbauen zu können. Der Standardaufbau enthält einen motorisierten Klappspiegel KS3, der das Licht in einen Monochromator MO [M26] einkoppelt. Dieser bildet es spektral aufgelöst auf eine mit flüssigem Stickstoff gekühlte¹ CCD-Kamera CCD1 [M27] ab. Um das Auflösungsvermögen der CCD-Kamera auszuschöpfen, muss der Strahldurchmesser nochmals um einen Faktor zwei vergrößert werden. Dazu wird der Strahl mit der Anpassung NA [M28] aufgeweitet². In den Fokus der ersten Linse L1 wird zudem eine kleine Lochblende LB positioniert, die dafür sorgt, dass auch die Spektren konfokal³ aufgezeichnet werden. Die spektrale Auflösung des Systems beträgt 0,67 nm mit einem Gitter mit 150 Linien / mm und 0,073 nm mit einem Gitter mit 1200 Linien / mm bei einer Zentralwellenlänge von 600 nm⁴.

Alternativ kann das Licht auch von Einzelphotonen-Zählmodulen (Avalanche-Photodioden, APD⁵) [M29] detektiert werden. Avalanche-Photodioden zeichnen sich durch eine hohe Quanten-Effizienz von bis zu 80 % und geringes Dunkelrauschen aus. Um das Dunkelrauschen gering zu halten, wird die aktive Detektorfläche klein gehalten (die hier verwendeten APDs haben eine aktive Fläche von etwa 160 μm Durchmesser). Die kleine Detektorfläche wird hier auch als konfokale Lochblende benutzt.

Zur Abbildung des Lichts auf die APDs wird eine achromatische Linse L4 mit 120 mm Brennweite verwendet. Um möglichst viel Licht zu detektieren, muss die Airy-Scheibe⁶ ganz auf dem Detektor liegen. Ist der Detektor wesentlich größer, verliert man an Auflösung. Ist er wesentlich kleiner, sinkt die Detektionseffizienz. Der Radius der Airy-Scheibe beträgt $r_0 = 0,61 \lambda / NA$ [3.44]. Mit der angegebenen Linse L4 beträgt der Radius der Airy-Scheibe $r_0 = 42,5 \mu\text{m}$ (für eine Wellenlänge von 600 nm). Die aktive Fläche der Avalanche-Photodiode hat einen etwa doppelt so großen Radius von etwa 80 μm . Da der Spiegel kein perfektes Bild liefert und möglichst viel Licht detektiert werden soll, wurde die Vergrößerung auf dem Detektor kleiner gewählt⁷. In Abbildung 3.11 ist eine Anordnung der Detektoren dargestellt, wie sie für Polarisations-Messungen benutzt wird. Ein polarisierender Strahlteiler ST2 teilt das Licht in senkrecht- und parallel-polarisierte Anteile auf. Das Licht wird von zwei Avalanche-Photodioden APD [M29] detektiert⁸.

Für Messungen der Intensitätsverteilung im Fokus kann die CCD-Kamera im Abbildungsmodus, wo jedes Pixel einzeln ausgelesen wird, an der Stelle CCD2 eingebaut werden.

Tabelle 3.1 zeigt eine Zusammenfassung der optischen Komponenten, ihrer Brennweiten und der damit erzeugten Strahldurchmesser für eine Wellenlänge von 600 nm.

¹ Die Kühlung wird benötigt, um die Rate der durch thermisches Rauschen erzeugten Elektron-Loch-Paare, die bei Raumtemperatur deutlich größer ist als die Signalraten von einzelnen Molekülen, zu reduzieren.

² Die Größe der Pixel der CCD-Kamera beträgt $24,8 \times 24,8 \mu\text{m}^2$. Die optische Auflösung soll also eine Punktgröße ergeben, die kleiner ist als 24 μm . Die spektrale Auflösung des Systems ist dann durch die Pixelgröße und das Übersprechen des Signals auf benachbarte Pixel, das eine Verbreiterung von etwa 1,4 ausmacht, gegeben.

³ Der Lochblenden-Durchmesser ist um einen Faktor zwei zu groß gewählt (siehe [M28]) um möglichst viel Licht durchzulassen, da der Parabolspiegel nicht ein ideal fokussiertes Bild erzeugt (siehe Abschnitt 4.2).

⁴ Der CCD-Chip besitzt 512×512 Pixel. Für die Spektroskopie können sie spaltenweise zusammengekoppelt werden. Mit dem 150 Linien / mm Gitter kann ein Spektralbereich von 245 nm Breite und mit dem 1200 Linien / mm Gitter von 26,5 nm Breite aufgezeichnet werden.

⁵ Avalanche-Photodioden vervielfachen durch Photonen erzeugte Elektron-Lochpaare in einem Halbleiter mit einem Lawineneffekt, ähnlich wie ein Geiger-Müller-Zählrohr [3.45].

⁶ Die Airy-Scheibe ist der zentrale helle Fleck bis zum ersten Minimum des Beugungsmusters, das entsteht, wenn eine ebene Welle an einer kreisförmigen Blende gebeugt und dann abgebildet wird. Die erste Berechnung stammt von G. B. Airy und ist 1835 erschienen. In der Airy-Scheibe liegen etwa 84 % der Leistung, die durch die Blende transmittiert wird. Näheres findet man in [3.44].

⁷ Siehe dazu die Experimente im Abschnitt 4.2.

⁸ Da die beiden Avalanche-Photodioden verschiedene Quanteneffizienzen haben und die Strahlteilerplatte ST1 eine polarisations-abhängige Transmission hat, muss für quantitative Messungen eine Kalibrierung vorgenommen werden.

Bezeichnung	Komponente	#	Wert	
Strahlaufweiter	Glasfaser		NA^1	0,0935
	Kollimatorlinse	K1	f	120 mm
	<i>paralleler Strahl</i>		w_0	7,9 mm
Fokussierung	Parabolspiegel		f	4,5 mm
	<i>Fokus</i>		d	0,85 μm
Anpassung des Strahldurchmessers	<i>paralleler Strahl</i>		\emptyset	16,9 mm
	Fotoobjektiv	OB	f	135 mm
	<i>Zwischenbild</i>		d	11,7 μm
	Mikroskopobjektiv	K2	f	16,9 mm
	<i>paralleler Strahl</i>		\emptyset	2,06 mm
Okular	Linse		f	160 mm
	<i>Zwischenbild</i>		d	113,7 μm
	Okular	OK	V	16 \times
APD	Linse		f	120 mm
	<i>Bild</i>	APD	d	85,3 μm
Spektrometer	Linse		f	50 mm
	<i>Zwischenbild</i>	NA	d	35,5 μm
	Linse		f	100 mm
	<i>paralleler Strahl</i>		\emptyset	4,13 mm
	Linse		f	60 mm
	<i>Bild</i>	CCD1	d	21,3 μm

Tabelle 3.1. Zusammenstellung der optischen Komponenten mit ihren Brennweiten sowie der Strahldurchmesser, die damit erzeugt werden. In der Spalte # stehen die Bezeichnungen gemäß Abbildung 3.11. In der vierten Spalte steht NA für numerische Apertur, f für Brennweite, w_0 für den Strahltaillen-Radius eines Gauß-Strahls, \emptyset für den Durchmesser, d für den Durchmesser der Airy-Scheibe und V für die Vergrößerung. Die Durchmesser d der fokussierten Strahlen sind mit der Airy-Formel $d = 1,22 \lambda/NA$ für eine Wellenlänge λ von 600 nm berechnet, außer für den Fokus im Parabolspiegel. Der Durchmesser des Kreises bis zum ersten Minimum wurde in diesem Fall mit der in Kapitel 2 beschriebenen Methode für zirkular polarisiertes Licht mit $\lambda = 570$ nm bestimmt.

3.4.2 Justage

Justage für die konfokale Mikroskopie

Die Justage des Mikroskops soll hier nur kurz und in den wesentlichen Punkten besprochen werden. Sie erfolgt in drei Schritten. In einem ersten Schritt wird der Detektionszweig justiert, das heißt der parallele Strahl eines Justagelasers wird zentrisch durch die optischen Komponenten geführt, parallel gerichtet und auf das Fadenkreuz des Okulars abgebildet.

In einem zweiten Schritt wird der Anregungs-Strahlengang justiert. Dabei wird das Licht aus der Glasfaser parallel gerichtet, zentrisch durch die Linse K1 (siehe Abbildung 3.11) geführt und mit Hilfe des Spiegels S1 und des Strahlteilers ST1 auf die optische Achse des Detektions-Strahlengangs gebracht. Dazu wird der Retroreflektor RR [M30] benutzt, der den Anregungsstrahl in sich selbst reflektiert. Bei dieser Justage ist die leichte Keilform der Strahlteilerplatte ST1 zu berücksichtigen, die eine Ablenkung des transmittierten Strahls um 41' verursacht.

Im dritten Schritt wird mit den Spiegeln S2 und S3 die optische Achse der Detektion auf die Achse des Parabolspiegels abgeglichen². Bei einer optimalen Justage ist das Bild des Fokusses im Okular frei von Koma.

¹ Die numerische Apertur einer Glasfaser ist definiert als der Sinus des kritischen Winkels θ_c , unter dem das Licht gerade noch durch Totalreflektion in der Faser geleitet werden kann. Es gilt dann $NA = (n_1^2 - n_2^2)^{1/2}$, wobei n_1 und n_2 die Brechungsindizes von Kern und Mantel der Glasfaser sind. Für die verwendete Glasfaser ist $n_1 = 1,460$, $n_2 = 1,457$ und die $NA = 0,0935$.

² Dies kann mit einer Glasfaser als Probenträger besonders effizient erreicht werden. Wird die Glasfaser beleuchtet, so kann sie durch die Optimierung ihres Bildes (keine Koma und minimale Fleckgröße) in den Fokus des Spiegels

Vor der eigentlichen Messung wird eine Feinjustage der APDs und des Spektrometers sowie eine Optimierung der Lage von Anregungs- und Detektionsfokus vorgenommen.

Justage für die nahfeldoptische Mikroskopie

Die Justage für den nahfeldoptischen Betrieb schließt zusätzlich die Justage der Spitze in den Fokus des Spiegels und die Justage des Faser-Interferometers mit ein. Die Justage der Nahfeld-Spitze in den Fokus des Spiegels wird außerhalb des Kryostaten vorgenommen. Es wird ein 19,2× vergrößerndes Fernrohr, das auf unendlich vorjustiert ist benutzt. Auch hier ist bei optimaler Justage das Bild der beleuchteten Spitze frei von Koma und das Hauptmaximum des Fokusses hat minimale Größe.

3.5 Lichtquellen

Zur Beleuchtung der Probe stehen vier verschiedene Laser zur Verfügung. Ein frequenzverdoppelter Festkörperlaser (Nd:YVO₄, [M31]) mit einer Emissions-Wellenlänge von 532 nm, ein Helium-Neon-Laser [M32] mit einer Emissions-Wellenlänge von 632,8 nm und ein Farbstoff-Ringlaser¹ [M33]. Der Farbstoff-Laser wird von einem Argonionen-Laser [M34] optisch gepumpt. Die Laser-Wellenlängen² des Argonionen-Lasers können für Experimente ebenfalls genutzt werden.

Der Farbstoff-Laser und der Argonionen-Laser sind auf einer eigenen optischen Bank aus zwei Doppel-T-Trägern aufgebaut (siehe Abbildung 3.4). Diese optische Bank steht auf drei pneumatisch gedämpften Füßen [M35]. Wegen der Erschütterungen durch die Wasserkühlung des Argonionen-Lasers und des beschränkten Platzes wurde darauf verzichtet, diese Laser auf dem selben optischen Tisch wie das Mikroskop aufzubauen.

Der Farbstoff-Laser hat einen Ringresonator und erreicht, wenn er single-mode³ betrieben wird, eine Bandbreite von nur 1 MHz⁴. Diese kleine Bandbreite wird benötigt, um bei tiefen Temperaturen die Linienbreiten einzelner Moleküle auszumessen, die dann im Bereich von einigen 10 MHz liegen. Die Wellenlänge kann über einen Bereich von 30 GHz durchgestimmt werden. Das eingebaute Interferometer erlaubt es zudem, mit Hilfe einer Rechnersteuerung auch weitere Bereiche automatisch durchzustimmen.

Mit Rhodamin-6G als Farbstoff werden mit dem Farbstoff-Laser Ausgangsleistungen von etwa 100 mW erreicht. Das Licht wird in einer Multi-Mode-Glasfaser⁵ zum optischen Tisch geleitet. Beim Einkoppeln in die Glasfaser wird ein Teil des Lichts reflektiert, der zurück in den Laser gelangt und diesen erheblich stört, was sich in Moden-Sprüngen und Intensitäts-Schwankungen äußert. Deshalb wird ein Faraday-Isolator OI [M36] zwischen Laser und Faserkoppler eingesetzt, der das reflektierte Licht nicht passieren lässt (siehe Abbildung 3.12). Zur einfachen Bestimmung der Wellenlänge kann das Licht in ein Wellenlängen-Messgerät [M39] eingekoppelt werden FK1.

positioniert werden. Die Spiegel S2 und S3 müssen dann nur noch so justiert werden, dass der Strahl das Objektiv OB zentrisch passiert und dass er den richtigen Einfallswinkel hat, so dass er im Fadenkreuz des Okulars liegt.

¹ Eine Beschreibung des Lasers kann in Referenz [3.46] oder [3.47] gefunden werden.

² Die Laser-Wellenlängen des Ar⁺-Lasers sind 514,5 nm, 501,7 nm, 496,5 nm, 488,0 nm, 476,5 nm und 457,9 nm.

³ Single-mode bedeutet, dass nur eine longitudinale Mode im Resonator am Laser-Prozess beteiligt ist.

⁴ 1 MHz entspricht 0,0012 pm bei einer Wellenlänge von 600 nm.

⁵ Es wird eine Gradientenindex-Faser mit 62,5 µm Kern-Durchmesser verwendet. Um am Ausgang der Faser eine brauchbare Intensitätsverteilung zu erhalten, die ein Gauß-Profil hat, muss das Licht genauso exakt in die Faser eingekoppelt werden, wie in eine Single-Mode-Faser. Man erreicht mit der Multi-Mode-Faser aber eine deutlich bessere Einkoppel-Effizienz, was bei den hohen Leistungen, die eingekoppelt werden müssen (etwa 100 mW), wichtig ist, da sonst die Faser sehr heiß wird und leicht bricht. Zur Einkopplung wird ein Objektiv mit Vergrößerung 10 und ein in fünf Achsen beweglicher Koppler [M37] benutzt.

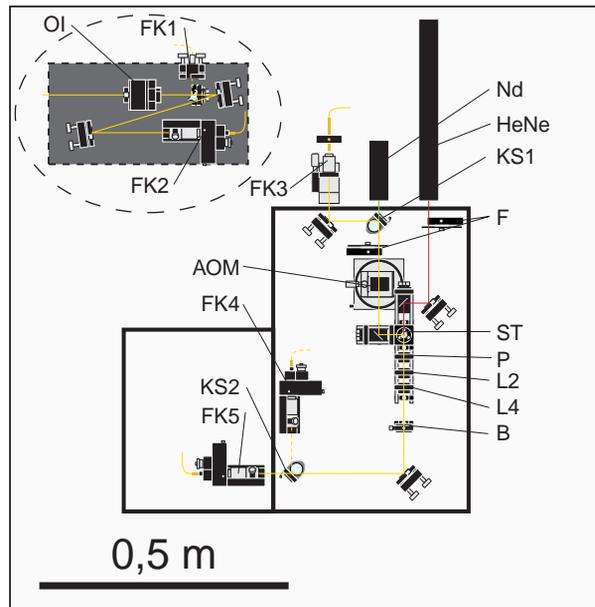


Abbildung 3.12. Lichtquellen und Polarisations-Kontrolle für das Anregungslicht. Die eingeschobene Figur oben links zeigt die Einkopplung des Farbstoff-Laserstrahls in die Faser mit Faraday-Isolator OI, Faserkoppler FK1 zur Einkopplung in das Wellenlängen-Messgerät und Faserkoppler FK2. Die Faser leitet das Licht von FK2 auf den optischen Tisch zum Koppler FK3. Auf dem optischen Tisch befinden sich der Klappspiegel KS1, der Festkörperlaser Nd, der HeNe-Laser, Filterräder F mit Graufiltern verschiedener optischer Dichten, der akusto-optische Modulator AOM, der Strahlteiler ST, der Polarisator P, $\lambda/2$ und $\lambda/4$ -Platten L2 und L4, die Blende B, der Klappspiegel KS2 und der Faserkoppler für den konfokalen Betrieb FK5 und für den nahfeld-optischen Betrieb FK 4.

Der grüne Festkörperlaser wird zur Fluoreszenzanregung benutzt, wenn keine extrem kleine Bandbreite benötigt wird¹. Der rote Gaslaser wird vorwiegend zur Justage benutzt.

Auf dem optischen Tisch kann zwischen den verschiedenen Lasern umgeschaltet werden. Die Leistung der Laser kann mit Graufiltern F reduziert werden. Im Strahlengang von Farbstoff- und Festkörperlaser ist ein akusto-optischer Modulator AOM [M38] eingebaut, der einerseits ein elektrisch gesteuertes Ein- und Ausschalten des Lichtes erlaubt und andererseits eine Leistungsregelung. Das Ein- und Ausschalten wird benötigt, um Proben vor der Zerstörung durch das Licht zu schützen und nur dann zu beleuchten, wenn auch gemessen wird. Das Licht, das den Strahlteiler ST1 in Abbildung 3.11 passiert, wird von einer Photodiode gemessen und liefert ein Signal, das proportional zur Intensität ist. Ein Regelkreis IR mit einer Bandbreite von 1,9 kHz steuert den AOM und hält die Intensität konstant.

Um die Polarisation des Anregungslichts einzustellen, wird eine Kombination von Polarisator P, Halbwellenplatte L2 und Viertelwellenplatte L4 benutzt. Damit kann linear polarisiertes Licht mit beliebiger Polarisationsachse sowie elliptisch oder zirkular polarisiertes Licht erzeugt werden.

Das Licht wird dann je nach Betriebsmodus bei FK5 in eine Single-Mode-Faser, die zur Nahfeldspitze führt eingekoppelt oder bei FK4 für den konfokalen Betrieb in eine Single-Mode-Faser, die zum Strahlaufweiter FK (Abbildung 3.11) führt.

¹ Der Festkörperlaser hat eine Bandbreite von 106 GHz, was 0,1 nm entspricht.

3.6 Kryo- und Vakuumanlage

3.6.1 Kryostat

Der verwendete Kryostat ist ein Flusskryostat [M40], der kaltes Helium- oder Stickstoffgas benutzt, um die Probe zu kühlen. Das kalte Gas umströmt dabei die Probe. Damit können Temperaturen im Bereich von etwa 5 – 300 K erreicht werden. Zudem kann die Probenkammer (siehe Abbildung 3.13, PK) mit flüssigem Helium geflutet werden. Wird dann der Druck in der Probenkammer reduziert, so lassen sich Temperaturen bis zu etwa 1,8 K erzeugen.

Die Probenkammer PK befindet sich in einem großen Vakuummessel V. Sie ist ummantelt mit einer Vorratskammer für 8 l flüssiges Helium LHe. Diese wiederum ist ummantelt von einer Kammer für 10 l flüssigen Stickstoff LN2, die als Wärmeschild dient. Dieser Wärmeschild umschließt die Probenkammer PK auch am unteren Ende, wo sich der Mikroskop-Kopf MK befindet. Die Stickstoffkammer ist zusätzlich mit vielen Lagen einer Isolationsfolie umwickelt. Das Vakuum V erstreckt sich auch zwischen die drei Kammern PK, LHe und LN2.

Zum Kühlen der Probenkammer wird flüssiges Helium aus der Heliumkammer über ein Nadelventil HV von unten durch einen Verdampfer VD in die Probenkammer geführt. Am Verdampfer sind ein Temperatur-Sensor TS und eine Heizung angebracht. Damit kann die Temperatur des Heliumgases, das in die Probenkammer strömt, mit einem Regler [M41] kontrolliert werden. Auf der Mikroskophalterung sitzt ein zweiter Temperatur-Sensor, mit dem die Temperatur des Mikroskop-Kopfes gemessen werden kann. Sie kann jedoch nicht direkt an der Probe gemessen werden. Wenn beide Sensoren, der beim Verdampfer und der an der Halterung, dieselbe Temperatur anzeigen, kann aber davon ausgegangen werden, dass die Probe ebenfalls diese Temperatur hat.

Der Mikroskop-Kopf hängt an der Transferstange, die in den Kryostaten eingeführt wird. Sie wird an dessen oberem Ende vakuumdicht befestigt und von

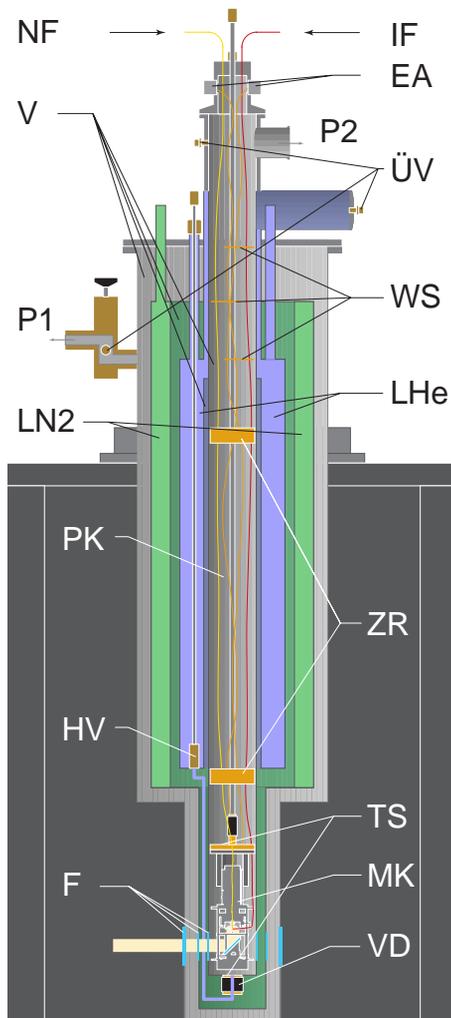


Abbildung 3.13. Querschnitt durch den Kryostaten mit Nahfeld-Faser NF, Interferometer-Faser IF, elektrischen Anschlüssen EA, Überdruckventilen ÜV, Vakuummkammer V, Flüssig-Stickstoff-Mantel LN2, Flüssig-Helium-Mantel LHe, Pumpanschlüssen P1 und P2, Nadelventil für He HV, Probenkammer PK mit Mikroskop-Kopf MK und Wärmeschilden WS, Zentrierringen ZR, Temperatur-Sensoren TS, Heliumverdampfer VD und Kryostatenfenstern F.

zwei gefederten Zentrierringen ZR im Probenrohr zentriert und schwingungsgedämpft¹. Das aufsteigende Gas kann das Probenrohr beim Anschluss P2 verlassen. Wenn der Probenraum auf 1,8 K gekühlt werden soll wird bei P2 eine Vakuumpumpe angeschlossen. Um das Aufwärmen der Probe durch Wärmestrahlung und Wärmediffusion von oben zu reduzieren, sind drei Wärmeschilde WS aus Kupfer angebracht.

Der Kryostat hat vier optische Zugänge mit Glasfenstern. Jeder Zugang enthält drei Quarzglasfenster. Die Quarzglasfenster sind *nicht* antireflexbeschichtet. Dies führt zu einer reduzierten Transmission von $\approx 78\%$. Von der Seite kann über ein kleines am Mikroskop-Kopf angebrachtes Periskop (siehe Abbildung 3.5) die Annäherung der Spitze an die Probe überwacht werden.

3.6.2 Vakuumanlage

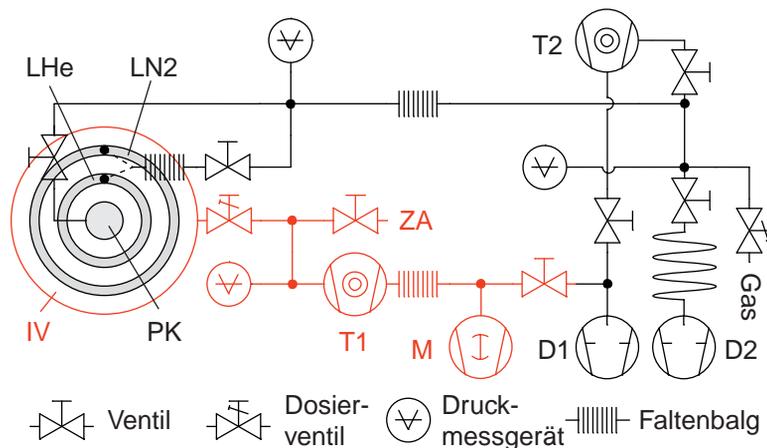


Abbildung 3.14. Schematische Darstellung der Vakuumanlage mit Probenkammer PK, Stickstoff-Tank LN2, Helium-Tank LHe, Isolationsvakuum IV, Turbopumpen T1 und T2, Membranpumpe M, Drehschieber-Pumpen D1 und D2, Gaseinlass und Zusatzanschluss ZA.

Die Vakuumanlage, siehe Abbildung 3.14, besteht im wesentlichen aus zwei Systemen, die im Normalfall getrennt sind. Das eine System erzeugt das Isolationsvakuum IV, das andere erzeugt ein Vakuum im Probenvolumen und wird auch für einige weitere Aufgaben beim Betrieb des Kryostaten benutzt (siehe Abschnitt 3.6.3).

Das erste System besteht aus einer kleinen, leisen Turbomolekular-Pumpe [M42], die sich direkt neben dem Kryostaten befindet. Als Vorvakuum-Pumpe wird eine Membranpumpe [M43] verwendet, die im Intervallbetrieb² betrieben wird. Wenn die Leistung der Membranpumpe nicht ausreicht³, kann über ein Ventil die Drehschieber-Pumpe D1 zugeschaltet werden. An diesem Zweig gibt es zudem noch einen zusätzlichen Anschluss ZA⁴.

¹ Die Schwingungsdämpfung durch den optischen Tisch und die gefederten Zentrierringe hat für Topographie-Messungen mit Apertur-Nahfeld-Spitzen gereicht. Diese Sonden haben durch ihre Metallbeschichtung ($\varnothing \approx 300$ nm) eine ziemlich robuste Spitze. Für feinere Spitzen könnte der Kopf noch an Federn an der Halterung aufgehängt werden [3.36].

² Die Pumpe wird jede Stunde für zwei Minuten eingeschaltet, oder wenn die Last auf der Turbopumpe zu groß wird.

³ Dies ist insbesondere dann der Fall, wenn das Isolationsvakuum des Kryostaten für Servicearbeiten gebrochen werden musste.

⁴ Über diesen wird das Isolationsvakuum der CCD-Kamera und der Helium-Transfervorrichtung periodisch evakuiert.

Im zweiten System kann mit der Turbomolekularpumpe T2 [M44] und der Drehschieber-Pumpe D1 [M45] im Probenvolumen ein Vakuum erzeugt werden. Das System wird aber auch benutzt, um durch Pumpen am mit flüssigem Helium gefüllten Probenvolumen Temperaturen unterhalb von 4,2 K zu erreichen. Hier wird zusätzlich eine für Helium ausgelegte große Drehschieber-Pumpe D2 verwendet. Der Gasanschluss für Helium oder Stickstoff wird für den Betrieb des Mikroskops zum Abkühlen und Aufwärmen benötigt.

3.6.3 Betrieb

In diesem Abschnitt sollen kurz die verschiedenen Umgebungsbedingungen, unter denen eine Probe untersucht werden kann, beschrieben werden. Sie stehen sowohl im konfokalen als auch im nahfeldoptischen Modus zur Verfügung.

Grundsätzlich kann immer mit Gasdurchfluss oder im Vakuum, respektive bei reduziertem Druck, gearbeitet werden. Mit Gasdurchfluss lässt sich die Temperatur über den Temperaturregler am Verdampfer VD (siehe Abbildung 3.13) gut regeln. Im Vakuum hingegen kann die Temperatur nicht geregelt werden. Sie ist auch nicht stabil, da über die Transferstange und die Kabel Wärme von außen zum Mikroskop-Kopf übertragen wird und über die Wände der Probenkammer Wärme, je nach Temperatur, zu- oder abfließen kann.

Da zum Kühlen auf die Betriebstemperatur immer Kühlgas (N_2 oder He) durch den Probenraum fließen muss, können keine Proben untersucht werden, die durch diese Gase beschädigt oder verunreinigt werden können.

Im Folgenden werden die verschiedenen Temperaturbereiche, die dazu benötigten Kühlmittel und die jeweils möglichen Umgebungsbedingungen besprochen.

Für den Temperaturbereich von etwa 85 bis 300 K wird der He-Vorratstank LHe ebenfalls mit flüssigem Stickstoff gefüllt und die Probe im Stickstoff-Gasstrom gekühlt¹. Arbeiten im Hochvakuum ist im ganzen Temperaturbereich möglich. Arbeiten bei reduziertem Druck ist ebenfalls möglich. Wegen der Gefahr von Durchschlägen an den Piezos ist der Druckbereich um 10^3 Pa aber zu vermeiden (Paschenbereich) [3.48]².

Um Temperaturen zwischen etwa 8 und etwa 85 K zu erreichen, muss flüssiges Helium als Kühlmittel verwendet werden³. Zum Vorkühlen auf 85 K wird aber ebenfalls flüssiger Stickstoff verwendet⁴. Da Helium eine sehr geringe minimale Durchschlags-Spannung von nur etwa 220 V hat [3.48]⁵, die verwendeten Spannungen diesen Wert aber deutlich überschreiten, ist der Betrieb in He-Gas nicht ratsam. Zur Reduktion der Gefahr von Durchschlägen sind die Scherpiezo-Stapel zwar mit einem tieftemperatur-tauglichen Lack [M46] isoliert⁶. Durch vielfaches Abkühlen und wieder Aufwärmen des Kopfes entstehen in diesem

¹ Dies wird ebenfalls zum Vorkühlen von Mikroskop-Kopf und Kryostat für Temperaturen unter 77 K benutzt.

² Die minimale Durchschlagsspannung liegt für Stickstoff bei 480 V, also oberhalb der verwendeten Spannungsdifferenzen. Durch raue Ränder der Elektroden (Spitzeneffekt) und Elektrodenmaterialien, für die keine Durchschlags-Spannungswerte gefunden werden konnten, ist dieser Wert nur ein Richtwert. Bei Versuchen mit Scherpiezostapeln konnten aber in Stickstoffgas nie Durchschläge beobachtet werden.

³ Temperaturen bis etwa 65 K können prinzipiell auch erreicht werden, wenn der Druck über dem flüssigen Stickstoff im LHe Tank reduziert wird (siehe Abbildung 3.14) und das kältere Stickstoffgas die Probe umspült. Dies ist jedoch nur bedingt sinnvoll, da der flüssige Stickstoff bei einem Druck von 12,5 kPa erstarrt und sowohl Temperatur als auch Druck nicht direkt im LHe-Tank gemessen werden können.

⁴ Da flüssiges Helium wesentlich teurer als flüssiger Stickstoff ist und nur eine geringe Verdampfungswärme und damit eine geringe Kühlleistung hat, wird zum Vorkühlen flüssiger Stickstoff verwendet. Nach Erreichen einer Temperatur von 85 K wird er wieder aus dem LHe-Vorratstank gepresst. Zur Reinigung von Stickstoffresten, die festfrieren und die Zuleitung zum Probenraum verstopfen könnten, wird der LHe-Vorratstank mehrfach mit gasförmigem Helium gespült und wieder evakuiert, bevor das flüssige Helium in den Tank gefüllt wird.

⁵ Dieser Wert ist lediglich ein Richtwert. Er ist für flache Fe-Elektroden bestimmt. Die Elektroden weisen hier eine wesentlich andere Geometrie auf und bestehen aus anderen Materialien (Nickel, Kupfer).

⁶ Die Rasterpiezos wurden nicht mit Lack bestrichen, um keine Reduktion des maximalen Weges durch die Lackschicht zu erhalten und um Störungen der Richtungstrennung durch inhomogene Lackschichten zu vermeiden.

Lack aber feine Risse, die Durchschläge wieder ermöglichen. Im Temperaturbereich zwischen etwa 8 und 85 K ist es deshalb nur möglich, im Vakuum zu arbeiten. Eine stabile Temperatur kann nicht erreicht werden, da keine Temperaturregelung im Vakuum möglich ist. Um in diesem Temperaturbereich zu arbeiten, wird der Kopf im Gasstrom so stark wie möglich abgekühlt, wobei etwa 8 K^1 erreicht werden. Anschließend wird das Nadelventil HV zwischen Helium-Vorratstank und Probenraum geschlossen und der Probenraum wird evakuiert. Sobald ein Vakuum von etwa $0,1\text{ Pa}$ erreicht worden ist, kann mit Messungen begonnen werden. Die Temperatur im Probenraum steigt dann wie in Abbildung 3.15 gezeigt an. Der Anstieg kann mit einer biexponentiellen Anpassung gut beschrieben werden, wobei die beiden Zeitkonstanten wahrscheinlich dem Temperatursgleich zwischen Probenrohr und Kühlschild und zwischen Mikroskop-Kopf und Transferstange zuzuschreiben sind. Die kleinste Temperatur, die so erreichbar ist liegt bei knapp 20 K , bedingt durch die Evakuierungszeit. Bei Temperaturen zwischen $4,2$ und etwa 20 K kann somit nur mit erheblicher Gefahr von elektrischen Durchschlägen gemessen werden.

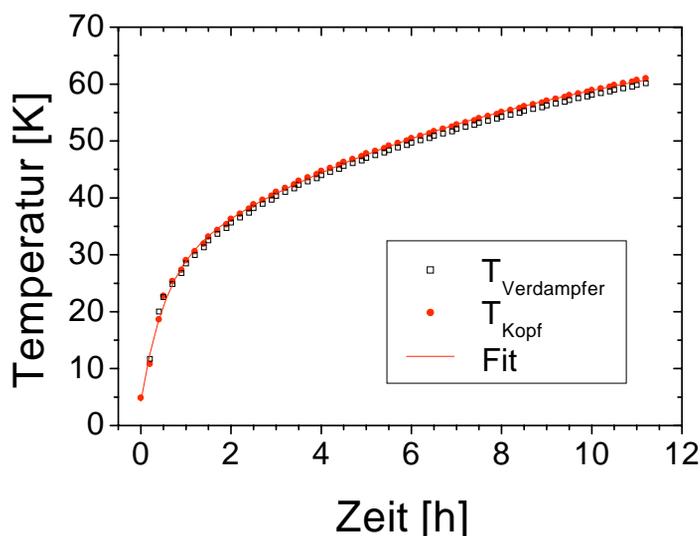


Abbildung 3.15. Verlauf der Temperatur am Verdampfer (\square) und am Kopf (\bullet) bei evakuiertem Probenraum und zur Hälfte gefülltem Helium-Vorratstank. Die ausgezogene Linie zeigt eine biexponentiellen Anpassung an die Temperatur am Kopf ($T [\text{K}] = 73 - 23 e^{-t[\text{h}]/0,52} - 46 e^{-t[\text{h}]/8,4}$).

Temperaturen unterhalb von $4,2\text{ K}$ können erzeugt werden, indem der Kryostat als Badkryostat betrieben wird und der Probenraum mit flüssigem Helium geflutet wird. Durch Einstellen des Druckes über dem Heliumbad kann die Temperatur geregelt werden. Wegen der höheren Dichte des flüssigen Heliums gegenüber dem gasförmigen kann das Mikroskop im flüssigen Helium mit geringer Gefahr von elektrischen Durchschlägen betrieben werden.

Es ist prinzipiell möglich, das Mikroskop oberhalb des Lambda-Punktes von Helium ($2,177\text{ K}$, [3.49]) zu betreiben. Aufsteigende Gasblasen im normal flüssigen Helium stören den optischen Weg aber erheblich, so dass nur in superflüssigem Helium, also unterhalb von $2,177\text{ K}$, störungsfrei gearbeitet werden kann. Die tiefste Temperatur, die in superflüssigem Helium mit diesem Aufbau erreichbar ist, liegt bei $1,78\text{ K}$.

¹ Temperaturen unterhalb 8 K lassen sich erreichen, wenn vor oder während dem Kühlen mit He-Gas der Druck im Probenraum reduziert wird und damit die Siedetemperatur des einströmenden Heliums reduziert wird.

3.7 Steuerung und Datenaufnahme

Zur Steuerung des Mikroskops werden analoge Elektronik und Rechner-Steuerungen eingesetzt. Um Störungen durch die Taktfrequenzen der digitalen Elektronik zu reduzieren, ist diese getrennt von der analogen aufgebaut (siehe Abbildung 3.4). Die Steuerung umfasst vier getrennte Rechner, die teilweise miteinander verknüpft sind: Die Steuerung des Mikroskop-Kopfes, die Abstandsregelung der Spitze, die Steuerung des Spektrometers und die Steuerung des Kryostaten. Die Steuerung des Spektrometers ist kommerziell [M27] und wird nicht weiter besprochen. Die übrigen Komponenten sind hier aufgebaut oder erweitert worden und sollen kurz besprochen werden.

3.7.1 Mikroskop-Steuerung

Die Mikroskop-Steuerung steuert die Rasterbewegung des Probenstisches, das Ein- und Ausschalten des akusto-optischen Modulators, die motorisierten Klappspiegel und zählt die Photonenpulse der APDs. Die Rasterbewegung wird mit einer Auflösung von 16 Bit gesteuert. Mit der selben Auflösung können zwei analoge Signale gemessen und zwei Zähler ausgelesen und gespeichert werden. Die Steuerung ist Standard der Arbeitsgruppe und wurde von Weber [3.50] übernommen und auf die speziellen Anforderungen dieses Gerätes angepasst. Der wichtigste Unterschied ist, dass Weber eine aktive Regelung der Probenposition verwendet, während das Tieftemperatur-Mikroskop keine Regelung besitzt. Durch Nicht-Linearität, Hysterese und Drift der Piezomaterialien wird eine aufwändige Linearisierung und Skalierung der Rasterbewegung insbesondere bei Raumtemperatur nötig (siehe [3.36], [3.51] - [3.57] und [3.58]).

Um einzelne Moleküle, die in einem Übersichtsbild gefunden worden sind, für eine genaue spektroskopische Untersuchung mit einem unregelmäßigem Piezotisch erneut aufzufinden, wurde ein spezielles Verfahren entwickelt. Dabei wird der Probenstisch in der Zeile, in der das Molekül im Übersichtsbild aufgetaucht ist, erneut – ohne Beleuchtung – gerastert. Dies wird zweimal wiederholt, um Drift abzuwarten. Beim dritten Mal wird die Rasterung an der Stelle abgebrochen, wo das Molekül im Übersichtsbild lag. Durch dieses Verfahren wird dafür gesorgt, dass die Ansteuerung des Tisches möglichst gleich ist wie beim Übersichtsbild und er damit auch dieselbe Bewegung ausführt. Um kleine Unterschiede auszugleichen und weitere Drift zu kompensieren, wird das Licht eingeschaltet und das optische Signal durch Positions-Feinanpassung optimiert [3.59].

3.7.2 Abstandsregelung

Die Amplitude der lateral in Schwingung versetzten Nahfeld-Spitze nimmt bei Annäherung an die Probe ab. Dies wird zur Regelung des Abstandes zwischen Spitze und Probe benutzt. Die Amplitude wird mit einem selbst gebauten Faser-Interferometer gemessen. Die interferometrische Methode [3.34], [3.60] hat den Vorteil, dass keine elektronischen Bauelemente in den Kryostaten eingebaut werden müssen.

Das Faser-Interferometer (siehe Abbildung 3.16) besteht aus einer DFB¹-Laserdiode LD [M47], einer Faserweiche FW, die das Licht zu gleichen Teilen auf die beiden Arme aufteilt, einer empfindlichen fasergekoppelten Photodiode PD [M48], einem Vorverstärker PA für das Signal und einem Fiber-Loop-Controller² FLC. Der Fiber-Loop-Controller wird benötigt, um

¹ DFB: *Distributed Feedback*. Der Laser weist eine periodische Struktur im aktiven Medium auf, was den Einmoden-Betrieb wesentlich erleichtert [3.61]. Der Laser zeigt keine Modensprünge, was für ein Interferometer wesentlich ist.

² Ein Fiber-Loop-Controller besteht aus drei Wicklungen von Faser. Durch das Aufwickeln entsteht Spannungsdoppelbrechung, die drei Wicklungen bilden also gebrochene Wellenplatten. Durch Drehen der einzelnen Wicklungen gegeneinander kann aus jeder Eingangspolarisation jede Ausgangspolarisation erzeugt werden [3.62].

die durch Spannungs-Doppelbrechung in der Faser verursachte Polarisationsänderung rückgängig zu machen. Andernfalls kann reflektiertes Licht zurück in die Laserdiode gelangen, die darauf mit Modensprüngen und Intensitäts-Schwankungen antwortet, was die Abstandskontrolle unmöglich macht. Das vom Interferometer detektierte Signal ist die Interferenz des am Ende der Faser reflektierten Lichts mit dem an der Nahfeldspitze NS reflektierten.

Die Nahfeldspitze wird vom Frequenz-Generator FG [M49] bei ihrer Resonanz mit dem Piezo PZT in Schwingung versetzt. Der Abstand der Interferometer-Faser von der Spitze wird so gewählt, dass das Interferenz-Signal maximale Steigung zeigt. Bei dieser Einstellung ist das Interferometer am empfindlichsten gegenüber kleinen Abstandsänderungen (siehe [3.34]). Um an der Stelle maximaler Steigung zu bleiben, wird der Abstand zwischen Nahfeldspitze und Interferometer-Faser mit dem Regler R1 konstant gehalten. Dieser Integral-Regler (Eigenbau, [M50]) hat eine sehr große Zeitkonstante von 0,2 s, und regelt damit nur den Gleichspannungs-Anteil des Interferometer-Signals nach, der - innerhalb eines Interferenzstreifens - dem Abstand proportional ist.

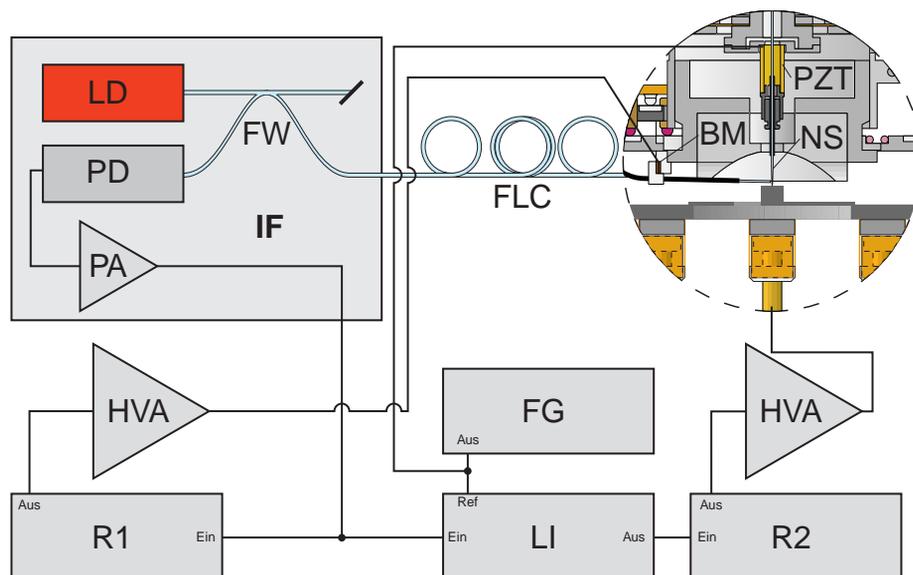


Abbildung 3.16. Aufbau der Abstandsregelung zwischen Nahfeldspitze und Probe. Die Nahfeldspitze NS wird vom Frequenz-Generator FG bei ihrer Resonanz in Schwingung versetzt. Das Faser-Interferometer IF, bestehend aus Laserdiode LD, Faserweiche FW, Photodiode PD, Vorverstärker PA und Fiber-Loop-Controller FLC, setzt die Schwingung der Nahfeldspitze NS gegenüber der Interferometer-Faser in ein elektrisches Signal um. Ein Lock-In-Verstärker LI bestimmt daraus die Schwingungs-Amplitude, die der Regler R2 durch Änderung des Abstandes der Spitze NS zur Probe konstant hält. Ein zweiter Regler R1 regelt über den Bimorphpiezo BM den Abstand zwischen Interferometer-Faser und Spitze NS.

Zur Bestimmung der Schwingungs-Amplitude der Faser, die typischerweise etwa 1 nm beträgt, wird das Interferometer-Signal von einem Lock-In-Verstärker LI [M51], der das Anregungs-Signal der Spitze als Referenz-Signal benutzt, demoduliert. Diese Amplitude wird von einem Regler R2 auf einen Wert, der etwa 15 % unterhalb der freien Schwingungs-Amplitude liegt, konstant gehalten. Der Regler R2 ist ein digitaler Regler. Er wurde mit einem mit 40 MHz getakteten 386er Rechner aufgebaut, der mit einer 12 Bit Analog-Digital-Wandler-Karte das Lock-In-Signal misst und die Position der Probe gegenüber der Spitze mit 16 Bit Auflösung über einen Hochspannungs-Verstärker (HVA) [M52] regelt. Der Aufbau eines digitalen Reglers bietet den Vorteil, dass die Annäherung an die Probe und die eigentliche Regelung problemlos ineinander übergeführt werden können. Der digitale Regler ist als PID-

Regler mit Proportional-, Integral- und Differentialteil ausgelegt. Die Zeit für einen Regelzyklus beträgt 102 μs . Das Reglerprogramm erlaubt es auch, die Spitze mit einem festen mittleren Abstand zur Probe zu bewegen (*constant height mode*) und das Scherkraft- sowie ein weiteres Signal als Funktion des Abstandes aufzuzeichnen (*approach curve*).

3.7.3 Kryostaten-Steuerung

Das Kühlen des Mikroskop-Kopfes darf nicht zu schnell erfolgen, da es sonst zu thermischen Spannungen in den Materialien kommt, die insbesondere die Piezomaterialien zerstören können. Das Mikroskop wird zuerst über Nacht mit Stickstoff auf etwa 85 K vorgekühlt. Ein Rechner, der den Temperatur-Regler [M41] über eine IEEE488 Schnittstelle ausliest und steuert und das Nadelventil des Heliumtanks am Kryostaten (siehe Abbildung 3.13) mit einem Schrittmotor öffnen und schließen kann, überwacht, regelt und protokolliert das langsame Kühlen. Während der ersten Phase des Kühlens, solange die Temperatur über 0° C liegt, wird darauf geachtet, dass die Temperaturdifferenz zwischen den beiden Temperatursensoren höchstens 10 K beträgt, damit noch vorhandene Luftfeuchtigkeit den Kryostaten mit dem trockenen Stickstoff verlassen kann und keine Motoren festfrieren. Danach darf die Temperaturdifferenz 60 K nicht übersteigen. Zudem wird während des eigentlichen Kühlens dafür gesorgt, dass der Gasstrom nicht versiegt, um effizient zu kühlen. Der Gasstrom wird über die Heizleistung gemessen, die benötigt wird, um die Kühlflüssigkeit im Verdampfer auf die gewünschte Temperatur zu bringen. Bei zu geringem oder zu starkem Fluss wird das Nadelventil weiter geöffnet respektive geschlossen. Beim Aufwärmen wird analog verfahren¹.

¹ Das Programm ist zudem in der Lage, die Resonanzfrequenz der Spitze während des Abkühlens zu verfolgen, und optimiert dazu auch die Lage der Interferometer-Faser gegenüber der Nahfeldspitze. Dazu werden auch der Lock-In-Verstärker und der Frequenz-Generator über IEEE488 mit dem Rechner verbunden.

3.8 Literaturverzeichnis

- [3.1] T. Basché, W. E. Moerner, M. Orrit und U. P. Wild (Herausgeber), *Single-molecule optical detection, imaging and spectroscopy*, (VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Deutschland, 1996).
- [3.2] P. Tamarat, A. Maali, B. Lounis, B. und M. Orrit, "Ten Years of Single-Molecule Spectroscopy," *J. Phys. Chem. A* **104**, 1-16 (2000).
- [3.3] W. E. Moerner und L. Kador, "Optical spectroscopy of single molecules in a solid," *Phys. Rev. Lett.* **62**, 2535-2538 (1989).
- [3.4] M. Orrit und J. Bernard, "Single pentacene molecules detected by fluorescence excitation in a *p*-terphenyl crystal," *Phys. Rev. Lett.* **65**, 2716-2718 (1990).
- [3.5] W. P. Ambrose, Th. Basché und W. E. Moerner, "Detection and spectroscopy of single pentacene molecules in a *p*-terphenyl crystal by means of fluorescence excitation," *J. Chem. Phys.* **95**, 7150-7163 (1991).
- [3.6] M. Pirotta, F. Güttler, H. Gygax, A. Renn, J. Sepiol und U. P. Wild, "Single molecule spectroscopy. Fluorescence-lifetime measurements of pentacene in *p*-terphenyl," *Chem. Phys. Lett.* **208**, 379-384 (1993).
- [3.7] M. Vácha, Y. Liu, J. Itho, M. Komuro, T. Tani und H. Nakatsuka, "Implementation of a SELFOC lens for the light collection element for single molecule spectroscopy at cryogenic temperatures," *Rev. Sci. Instrum.* **68**, 254-255 (1997).
- [3.8] H. van der Meer, J. A. J. M. Disselhorst, J. Köhler, A. C. J. Brouwer, E. J. J. Groenen und J. Schmidt, "An insert for single-molecule magnetic-resonance spectroscopy in an external magnetic field," *Rev. Sci. Instrum.* **66**, 4853-4856 (1995).
- [3.9] E. Heinecke, K. Donovan, Ch. Müller und A. Hese, "Single molecule spectroscopy in He gas using a highly efficient mirror arrangement," *Rev. Sci. Instrum.* **68**, 2990-2993 (1997).
- [3.10] L. Fleury, P. Tamarat, B. Lounis, J. Bernard und M. Orrit, "Fluorescence spectra of single pentacene molecules in *p*-terphenyl at 1.7 K," *Chem. Phys. Lett.* **236**, 87-95 (1995).
- [3.11] J. Jasny, J. Sepiol, T. Irngartinger, M. Traber, A. Renn und U. P. Wild, "Fluorescence microscopy in superfluid helium: Single molecule imaging," *Rev. Sci. Instrum.* **67**, 1425-1430 (1996).
- [3.12] M. Vácha, H. Yokoyama, T. Tokizaki, M. Furuki und T. Tani, "Laser scanning microscope for low temperature single molecule and microscale spectroscopy based on gradient index optics," *Rev. Sci. Instrum.* **70**, 2041-2045 (1999).
- [3.13] J.-M. Segura, A. Renn und B. Hecht, "A sample scanning confocal optical microscope for cryogenic operation," *Rev. Sci. Instrum.* **71**, 1706-1711 (2000).
- [3.14] M. Yoshimoto, "Scanning photoluminescence microscope with sub-micron resolution and high optical throughput at low temperature," *Jpn. J. Appl. Phys.* **39**, 6105-6106 (2000).
- [3.15] D. W. Pohl, W. Denk und M. Lanz, "Optical stethoscopy: Image recording with resolution $\lambda/20$," *Appl. Phys. Lett.* **44**, 651-653 (1984).
- [3.16] R. D. Grober, T. D. Harris, J. K. Trautman und E. Betzig, "Design and implementation of a low temperature near-field scanning optical microscope," *Rev. Sci. Instrum.* **65**, 626-631 (1994).
- [3.17] H. Ghaemi, C. Cates und B. B. Goldberg, "Low temperature near field spectroscopy and microscopy," *Ultramicroscopy* **57**, 165-168 (1995).
- [3.18] I. Manke, D. Pahlke, J. Lorbacher, W. Busse, T. Kalka, W. Richter und M. Dahne-Prietsch, "A low-temperature scanning near-field optical microscope for photoluminescence at semiconductor structures," *Appl. Phys. A* **66**, S381-S384 (1998).
- [3.19] T. Tokizaki, K. Sugiyama, T. Onuki und T. Tani, "Optical-fibre scanning near-field optical microscope for cryogenic operation," *J. Microsc.* **194**, 321-324 (1999).
- [3.20] G. Eytan, Y. Yayon, I. Bar-Joseph und M. L. Rappaport, "A storage Dewar near-field scanning optical microscope," *Ultramicroscopy* **83**, 25-31 (2000).
- [3.21] M. J. Gregor, S. Grosse, P. G. Blome und R. G. Ulbrich, "Design of a scanning near field optical microscope for low temperature applications," in *Photons and local probes*, NATO ASI Series, Serie E, Vol. **300**, O. Marti und R. Möller (Herausgeber), (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Niederlande, 1995), Seiten 133-138.
- [3.22] J. Levy, V. Nikitin, J. M. Kikkawa, D. D. Awschalom und N. Samarth, "Femtosecond near-field spin microscopy in digital magnetic heterostructures," *J. Appl. Phys.* **79**, 6095-6100 (1996).
- [3.23] W. E. Moerner, T. Plakhotnik, T. Irngartinger, U. P. Wild, D. W. Pohl und B. Hecht, "Near-field optical spectroscopy of individual molecules in solids," *Phys. Rev. Lett.* **73**, 2764-2767 (1994).
- [3.24] Y. Durand, J. C. Woehl, B. Viellerobe, W. Göhde und M. Orrit, "New design of a cryostat-mounted scanning near-field optical microscope for single molecule spectroscopy," *Rev. Sci. Instrum.* **70**, 1318-1325 (1999).
- [3.25] W. Göhde, J. Tittel, T. Basché, C. Bräuchle, U. C. Fischer und H. Fuchs, "A low-temperature scanning confocal and near-field optical microscope," *Rev. Sci. Instrum.* **68**, 2466-2474 (1997).
- [3.26] G. Behme, A. Richter, M. Suptitz und C. Lienau, "Vacuum near-field scanning optical microscope for variable cryogenic temperatures," *Rev. Sci. Instrum.* **68**, 3458-3463 (1997).
- [3.27] M. H. Gray und J. W. P. Hsu, "A variable cryogenic temperature near-field scanning optical microscope," *Rev. Sci. Instrum.* **70**, 3355-3361 (1999).
- [3.28] E. Betzig, P. L. Finn und J. S. Weiner, "Combined shear force and near-field scanning optical microscopy," *Appl. Phys. Lett.* **60**, 2484-2486 (1992).

- [3.29] R. Toledo-Crow, P. C. Yang, Y. Chen and M. Vaez-Iravani, "Near-field differential scanning optical microscope with atomic force regulation," *Appl. Phys. Lett.* **60**, 2957-2959 (1992).
- [3.30] K. Karrai and R. D. Grober, "Piezoelectric tip-sample distance control for nearfield optical microscopes," *Appl. Phys. Lett.* **66**, 1842-1844 (1995).
- [3.31] R. D. Grober, J. Acimovic, J. Schuck, D. Hessman, P. J. Kindlemann, J. Hespanha, A. S. Morse, K. Karrai, I. Tiemann and S. Manus, "Fundamental limits to force detection using quartz tuning forks," *Rev. Sci. Instrum.* **71**, 2776-2780 (2000).
- [3.32] P. Varga und P. Török, "Focusing of electromagnetic waves by paraboloid mirrors. I. Theory," *J. Opt. Soc. Am. A* **17**, 2081-2089 (2000).
- [3.33] P. Varga und P. Török, "Focusing of electromagnetic waves by paraboloid mirrors. II. Numerical results," *J. Opt. Soc. Am. A* **17**, 2090-2095 (2000).
- [3.34] G. Tarrach, M. A. Bopp, D. Zeisel and A. J. Meixner, "Design and construction of a versatile scanning near-field optical microscope for fluorescence imaging of single molecules," *Rev. Sci. Instrum.* **66**, 3569-3575 (1995).
- [3.35] M. A. Bopp, G. Tarrach, M. A. Lieb und A. J. Meixner, "Super-resolution fluorescence imaging of single dye molecules in thin polymer films," *J. Vac. Sci. Technol. A* **15**, 1423-1426 (1995).
- [3.36] H. J. Hug, B. Stiefel, P. J. A. van Schendel, A. Moser, S. Martin und H. J. Güntherodt, "A low temperature ultrahigh vacuum scanning force microscope," *Rev. Sci. Instrum.* **70**, 3625-3640 (1999).
- [3.37] B. Stiefel, *Magnetic Force Microscopy at Low Temperatures and in Ultra High Vacuum*, (Dissertation, Basel, Schweiz, 1998).
- [3.38] Cryogenic SFM, OMICRON Vakuumphysik GmbH, Idsteinerstrasse 78, 65232 Taunusstein, Deutschland, http://www.omicron.de/products/cryo_sfm/.
- [3.39] D. Möller, M. Rüetschi, H. Haefke, and H.-J. Güntherodt, "High-pressure Scanning Tunneling Microscopy Study of Microscopic Gas Discharges," *Surf. Interface. Anal.* **27**, 525-529 (1999).
- [3.40] D. Möller, R. Eckert, H. Haefke, and H.-J. Güntherodt, "Optical emission spectroscopy of microscopic gas discharges using a high-pressure scanning tunneling microscope," *J. Vac. Sci. Technol. B* **18**, 644 - 647 (2000).
- [3.41] D. Möller, *Erzeugung, Charakterisierung und Anwendung Mesoskopischer Gasentladungen mit einem Hochdruck-Rastertunnelmikroskop*, (Dissertation, Basel, Schweiz, 1999).
- [3.42] C. J. Chen, *Introduction to scanning tunneling microscopy*, Oxford series in optical and imaging sciences (Oxford University Press, New York, 1993).
- [3.43] J. J. Stamnes, *Waves in focal regions*, (Hilger, Bristol, UK, 1986), Kapitel 5.2.
- [3.44] M. Born und E. Wolf, *Principles of Optics*, 7th edition, (Cambridge University Press, Cambridge, 1999), Kapitel 8.5.2.
- [3.45] B. E. A. Saleh und M. C. Teich, *Fundamentals of Photonics*, (John Wiley & Sons, New York, 1991), Kapitel 17.4.
- [3.46] T. F. Johnston, Jr., R. H. Brady und W. Proffitt, "Powerful single-frequency ring dye laser spanning the visible spectrum," *Appl. Opt.* **21**, 2307-2316 (1982).
- [3.47] W. Demtröder, *Laser spectroscopy*, 2nd edition, (Springer-Verlag, Berlin, 1996), Seite 324-329.
- [3.48] A. von Engel, *Electric plasmas: their nature and uses*, (Taylor and Francis, London, UK, 1983), Kapitel 7.
- [3.49] F. Pobell, *Matter and methods at low temperatures*, (Springer-Verlag, Berlin, 1992).
- [3.50] M. A. Weber, *Hochauflösende Lasermikroskopie an einzelnen Molekülen*, (Franzbecker, Hildesheim, Deutschland, 1999 und Dissertation, Universität-GH Siegen, 1999), Kapitel 2.2.
- [3.51] S. B. Jung und S. W. Kim, "Improvement of scanning accuracy of PZT piezoelectric actuators by feedforward model-reference control," *Precis. Eng.* **16**, 49-55 (1994).
- [3.52] J. Fu, "In situ testing and calibration of z-piezo of an atomic force microscope," *Rev. Sci. Instrum.* **66**, 3785-3788 (1995).
- [3.53] P. Ge und M. Jouaneh, "Modelling hysteresis in piezoceramic actuators," *Precis. Eng.* **17**, 211 - 221 (1995).
- [3.54] R. V. Lapshin, "Analytical model for the approximation of hysteresis loop and its application to the scanning tunneling microscope," *Rev. Sci. Instrum.* **66**, 4718 - 4730 (1995).
- [3.55] P. Ge und M. Jouaneh, "Generalized Preisach model for hysteresis nonlinearity of piezoceramic actuators," *Precis. Eng.* **20**, 99 - 111 (1997).
- [3.56] K. R. Koops, P. M. L. O. Scholte und W. L. Koning, "Observation of zero creep in piezoelectric actuators," *Appl. Phys. A* **68**, 691-697 (1999).
- [3.57] K. Dirscherl, J. Garnæs, L. Nielsen, J. F. Jørgensen und M. P. Jørgensen, "Modeling the Hysteresis of a scanning probe microscope," *J. Vac. Sci. Technol. B* **18**, 621-625 (2000).
- [3.58] A. Drechsler, (Dissertation, Universität Siegen, in Vorbereitung).
- [3.59] T. Ha, D. S. Chemla, T. Enderle and S. Weiss, "Single molecule spectroscopy with automated positioning," *Appl. Phys. Lett.* **70**, 782-784 (1997).
- [3.60] B. Hecht, D. W. Pohl, H. Heinzelmann und L. Novotny, "'Tunnel' near-field optical microscopy: TNOM-2," in *Photons and local probes*, NATO ASI Series, Serie E, Vol. **300**, O. Marti und R. Möller (Herausgeber), (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Niederlande, 1995), Seite 93-107.
- [3.61] F. K. Kneubühl und M. W. Sigrist, *Laser*, 3. Auflage, (Teubner, Stuttgart, Deutschland, 1991).
- [3.62] H. C. Lefevre, "Single-mode fibre fractional wave devices and polarisation controllers," *Electron. Lett.* **16**, 778-780 (1980).

3.9 Materialverzeichnis

In diesem Materialverzeichnis sind nicht alle verwendeten Komponenten aufgeführt. Insbesondere sind Standard-Komponenten, wie Spiegelhalter und Mikrometer-Verstellische nicht aufgelistet. Als Halter wurden Komponenten von New Focus, Newport und Mikrobank-Komponenten von Linos verwendet, die Mikrometer-Tische stammen von Linos und New Focus.

- [M1] Saphirplatte, synthetisch, \varnothing 29 mm, 2 mm dick, beidseitig optisch poliert, Spezialanfertigung, Saphirwerk Industrieprodukte AG, Erlenstrasse 36, CH-3555 Brügg, Schweiz.
- [M2] Aluminiumoxid-Keramikplättchen, 5 mm \times 5 mm \times 0,5 mm, einseitig optisch poliert, Saphirwerk Industrieprodukte AG, Erlenstrasse 36, CH-3555 Brügg, Schweiz.
- [M3] EPO-TEK H77, Nichtleitender Epoxykleber, Epoxy Technology Inc., 14 Fortune Drive, Billerica, MA 01821, USA.
- [M4] EPO-TEK 417, Silberleit-Epoxykleber, Epoxy Technology Inc., 14 Fortune Drive, Billerica, MA 01821, USA.
- [M5] EBL#4 flat shear mode crystals, 0,2" \times 0,2" \times 0,0197", Staveley Sensors Inc., 91 Prestige Park circle, East Hartford, CT 06108, USA.
- [M6] Piezomotorsteuerung XYZ-01/2, Eigenbau, Physikalisches Institut, Universität Basel, Klingelbergstraße 82, CH-4056 Basel, Schweiz.
- [M7] V-Planspiegel oval, 22,4 mm \times 31,5 mm, DLB 420-720 nm, Linos Photonics, Königsallee 23, D-37070 Göttingen.
- [M8] PZT-5A, 1,5" \times 0,1" \varnothing , 0,012" Wandstärke, Spezialanfertigung, Valpey Fisher Corporation, 75 South Street, Hopkinton, MA 01748, USA.
- [M9] Saphirprisma, synthetisch, 6-seitig, Kantenlänge 9,8 mm, mit Zentralbohrung \varnothing 15 mm, 3 Seiten optisch poliert, Spezialanfertigung, Saphirwerk Industrieprodukte AG, Erlenstrasse 36, CH-3555 Brügg, Schweiz.
- [M10] Parabolspiegel, Brennweite 4,5 mm, aus AL MG SI 0.5 (MIL), Spezialanfertigung, Optische Werke G. Rodenstock, Geschäftsbereich Präzisionsoptik, Isartalstraße 43, D-80469 München.
- [M11] Kugelventil, Rubin, \varnothing = 1,5875 mm, Art. Nr. 52001-6042.00, Saphirwerk Industrieprodukte AG, Erlenstrasse 36, CH-3555 Brügg, Schweiz.
- [M12] Rubinstab, 11 mm \times 1,0 mm \varnothing , poliert, Art. Nr. 21102-1.OPX11.0, Saphirwerk Industrieprodukte AG, Erlenstrasse 36, CH-3555 Brügg, Schweiz.
- [M13] Saphirrondele, 3 mm \varnothing \times 0,7 mm, einseitig poliert, Spezialanfertigung, Saphirwerk Industrieprodukte AG, Erlenstrasse 36, CH-3555 Brügg, Schweiz.
- [M14] Bimorphpiezo BIMS 16/1,6/0,6-PX5-N, Philips Components, Alexanderstraße 1, 20099 Hamburg.
- [M15] Optischer Tisch, 1,2 m \times 3,6 m \times 0,305 m, Model M-RS4000-412-12, auf 4 Stabilizer I-2000, Newport Corporation, 1791 Deere Avenue, Irvine, CA 92606, USA.
- [M16] Faserkoppler bestehend aus: (1) Rotations-Messtisch M-485, Newport Corporation, 1791 Deere Avenue, Irvine, CA 92606, USA, (2) xy-Fiber-Launcher M-9051, New Focus Inc., 2630 Walsh Avenue, Santa Clara, CA 95051-0905, USA und (3) motorisiertem Lineartisch T10, Linos Photonics GmbH, Königsallee 23, 37081 Göttingen und Micrometer Replacement Actuator Model 8302, New Focus Inc., 2630 Walsh Avenue, Santa Clara, CA 95051-0905, USA.
- [M17] Achromat, f = 120 mm, \varnothing = 31,5 mm, Linos Photonics GmbH, Königsallee 23, 37081 Göttingen.
- [M18] Micrometer Replacement Actuator Model 8302, New Focus Inc., 2630 Walsh Avenue, Santa Clara, CA 95051-0905, USA.
- [M19] Laserplanspiegelsubstrat aus BK7, \varnothing = 50 mm \times 10 mm, Planität $\lambda/20$, Keilwinkel 0,75°, Best.-Nr. 34 0103, einseitig ARB2 beschichtet, Linos Photonics GmbH, Königsallee 23, 37081 Göttingen.
- [M20] Optical Power Meter 835 mit Detektor 818-SL, Newport Corporation, 1791 Deere Avenue, Irvine, CA 92606, USA.
- [M21] Carl Zeiss Sonnar T* 135 mm f 2.8, Yashica Kyocera GmbH, Eiffestraße 76, 20537 Hamburg.
- [M22] Zeiss Achrostigmat 10 \times /0,25, Carl Zeiss, Mikroskopie, Königsallee 9-21, 37081 Göttingen.
- [M23] Holographic Notch-Plus Filter, \varnothing = 1", für verschiedene Wellenlängen, Kaiser Optical Systems Inc., 371 Parkland Plaza, Ann Arbor, Michigan 48106, USA.
- [M24] Schott-Farbglassfilter, \varnothing = 24 mm, verschiedene OG und RG Typen, Itos GmbH, Carl-Zeiss-Straße 23, 55129 Mainz.
- [M25] Achromat, f = 160 mm, \varnothing = 31,5 mm, und Orthoskopisches Okular 16 \times , Linos Photonics GmbH, Königsallee 23, 37081 Göttingen.
- [M26] Jobin Yvon HR-320 Spectrograph/Monochromator, Jobin-Yvon Inc., 16-18 Rue du canal, 91165 Longjumeau, Cedex, Frankreich.
- [M27] Stickstoffgekühlte CCD-Kamera, LN/CCD-512TKB/1 Detektor Kopf mit ST 130S (16 Bit ADC, 50 kHz) Kontrolleinheit und Software, Princeton Instruments Inc., 3660 Quakerbridge Road, Trenton, NJ 08619, USA.

- [M28] Strahlaufweiter und Monochromator-Einkopplung bestehend aus: L1: Achromat, $f = 50$ mm, $\varnothing = 18$ mm, LB: Lochblende, $\varnothing = 100$ μ m, justierbar, L2: Achromat, $f = 100$ mm, $\varnothing = 18$ mm, und L3: Achromat, $f = 60$ mm, $\varnothing = 18$ mm, auf Mikrobank, Linos Photonics GmbH, Königsallee 23, 37081 Göttingen.
- [M29] Single Photon Counting Module SPCM-200-PQ und SPCM-AQ-141, EG&G Canada Ltd., Optoelectronics, 22001 Dumbery Road, Vaudreuil, Quebec, J7V 8P7, Kanada.
- [M30] Solid Glass Retroreflector, $\varnothing = 25$ mm, Deviation $\pm 2''$, Melles Griot, 16542 Millikan Avenue, Irvine CA 92606, USA.
- [M31] Frequenzverdoppelter Nd:YVO₄ Laser, Ausgangsleistung 35 mW, GCL-025L, CrystaLaser, 250 Bell St. #200, Reno, NV 89503, USA.
- [M32] Helium-Neon-Gaslaser, Ausgangsleistung 7 mW, 1137P, JDS Uniphase Corporation, 163 Baypointe Parkway, San Jose, CA 95134, USA.
- [M33] Ring-Farbstoff-Laser, CR-699-29 Autoscan, Coherent Inc., 3210 Porter Drive, Palo Alto, CA 94304, USA.
- [M34] Argon-Ionen-Laser, Ausgangsleistung 7 W, Innova 90, Coherent Inc., 3210 Porter Drive, Palo Alto, CA 94304, USA.
- [M35] Laminar Flow Isolator, PL-2000, Newport Corporation, 1791 Deere Avenue, Irvine, CA 92606, USA.
- [M36] Faraday Isolator FR 500/780, Linos Photonics GmbH, Königsallee 23, 37081 Göttingen.
- [M37] Faser Koppler, #9131-FS-21M, New Focus Inc., 2630 Walsh Avenue, Santa Clara, CA 95051-0905, USA.
- [M38] Akusto-Optischer Modulator, Model TEM-85-10, Brimrose Corporation, 5020 Campbell Blvd., Baltimore, Maryland 21236, USA.
- [M39] Wellenlängen-Messgerät Wavemeter jr, WA-2000S, Burleigh Instruments Inc., 7647 Main St. Fishers - Victor, NY 14564-8909, USA.
- [M40] Flusskryostat SVT-200 Model 10 CNDT, Janis Research Company Inc., 2 Jewel Drive, Wilmington, MA 01887-0696, USA.
- [M41] Temperatur-Regler 330 Autotuning, LakeShore Cryogenic Inc., 64 East Walnut St., Westerville, Ohio, 43081-2399, USA.
- [M42] Turbomolekularpumpe TMH 065, Pfeiffer Vacuum GmbH, Emmeliusstraße 33, 35614 Asslar.
- [M43] Membranpumpe MVP 015T, Pfeiffer Vacuum GmbH, Emmeliusstraße 33, 35614 Asslar.
- [M44] Turbomolekularpumpe, Turbovac 151, Leybold Vakuum GmbH, Bonner Straße 498, 50968 Köln.
- [M45] Drehschieberpumpe 2004, Alcatel Vacuum Technology France, Didier BERGE, BP N° 2069 - 98 Avenue de Brogny, 74009 Annecy Cedex, Frankreich.
- [M46] Low temperature varnish, Oxford Instruments plc, Old Station Way, Eynsham, Witney, Oxon OX8 1TL, Großbritannien.
- [M47] Fasergekoppelte optisch isolierte DFB-Laserdiode, QLM3S700-052, Ausgangsleistung 2 mW, Wellenlänge 1322 nm, Lasertron Inc., 37 North Avenue, Burlington, MA 01803, USA. Angesteuert mit: Ultra-Low Noise Current Source LDX-3620, ILX Lightwave, 920 Technology Blvd. West, Bozeman, MT 59715, USA und Thermoelectric Temperature Controller LDT-5910B, ILX Lightwave, 920 Technology Blvd. West, Bozeman, MT 59715, USA.
- [M48] Single element PIN detector QDEP075-050, Lasertron Inc., 37 North Avenue, Burlington, MA 01803, USA.
- [M49] Synthesized Function Generator Model DS335, Stanford Research Systems, 1290-D Reamwood Avenue, Sunnyvale, CA 94089, USA.
- [M50] Regler ZR-01, Eigenbau, Physikalisches Institut, Universität Basel, Klingelbergstraße 82, CH-4056 Basel, Schweiz.
- [M51] Lock-In Amplifier Model 5302, EG&G Instruments, Princeton Applied Research, PO Box 2565, Princeton, NJ 08543-2565, USA.
- [M52] High Voltage Piezo Electric Amplifier (1993), East Coast Scientific, 14 Bishop's Road, Trumpington, Cambridge, CB2 2NH, Großbritannien.

4 EXPERIMENTE

4.1 Einleitung

In diesem Kapitel werden exemplarisch einige Experimente vorgestellt, um das Mikroskop zu charakterisieren. Es werden einige Experimente mit dem Parabolspiegel besprochen, die dessen Abbildungseigenschaften zeigen, des weiteren werden konfokale Experimente bei Raumtemperatur sowie konfokale und spektroskopische Experimente an einzelnen Molekülen bei tiefer Temperatur und Experimente zur Scherkraft-Mikroskopie vorgestellt. Experimente im nahfeld-optischen Modus mit Aperturspitzen oder Feldverstärkung wurden bisher nicht durchgeführt.

Die Experimente wurden größtenteils zusammen mit Dipl.-Phys. A. Drechsler und einige auch mit Dipl.-Chem. C. Debus durchgeführt. Eine ausführliche Beschreibung der Experimente wird in [4.1] und [4.2] zu finden sein.

4.2 Optische Experimente mit dem Parabolspiegel

Um die Abbildungseigenschaften des Parabolspiegels zu untersuchen, wurden Experimente mit einer Nahfeld-Spitze als Quasi-Punktlichtquelle gemacht. Die Spitze wurde dafür in den Probenhalter eingebaut. Um Sonden mit einer möglichst wohldefinierten Spitzengeometrie und damit einer wohldefinierten Abstrahlungs-Charakteristik zu haben, wurde eine Nahfeld-Spitze benutzt, die mit einem fokussierten Ionenstrahl (FIB¹) an ihrem Ende glatt aufgeschnitten worden ist (siehe Abbildung 4.1 und [4.3]). Die thermisch gezogene, Aluminium-beschichtete Nahfeld-Spitze wurde von Gallacchi wie in [4.4] beschrieben hergestellt.

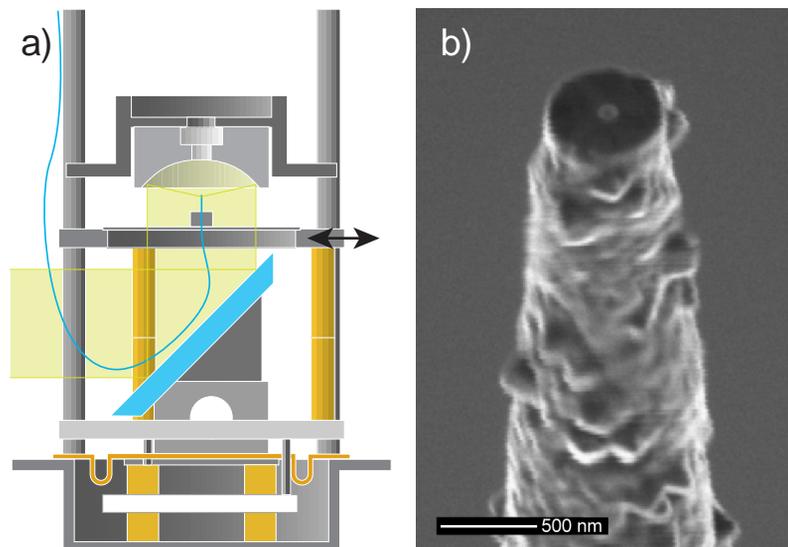


Abbildung 4.1. a) Experimenteller Aufbau für die Messungen der Abbildungseigenschaften des Parabolspiegels mit einer Nahfeld-Spitze. Die Spitze ist im Probenhalter eingebaut und beleuchtet den Parabolspiegel von unten. Für die Experimente wurde sie mit dem Rastertisch durch den Fokus des Spiegels gefahren. b) Raster-Elektronen-Mikroskop-Aufnahme einer mit einem fokussierten Ionenstrahl aufgeschnittenen Nahfeld-Spitze.

¹ Das Akronym steht für den englischen Begriff *Focused Ion Beam*.

Die Abstrahlungs-Charakteristik eines kleinen kreisförmigen Loches in einem Metallschirm ist 1944 von Bethe [4.5] untersucht worden¹. Wird das Loch mit linear polarisiertem Licht, das senkrecht zum Metallschirm einfällt, beleuchtet, dann erhält man im Fernfeld die Feldverteilung eines strahlenden magnetischen Dipols, der senkrecht zur Polarisationsrichtung des einfallenden elektrischen Feldes liegt. Für Nahfeld-Spitzen, die das Loch am Ende einer konischen Spitze haben und nicht in einer ausgedehnten Ebene, wurde experimentell festgestellt, dass die Feldverteilung im Fernfeld durch die Überlagerung eines magnetischen Dipols und eines halb so starken elektrischen Dipols, der parallel zur Anregungspolarisation liegt, gut beschrieben werden kann [4.7]. Diese Annahme wurde für die Simulation der im Folgenden besprochenen Experimente gemacht².

4.2.1 Abbildung außerhalb der optischen Achse

Das von der Nahfeld-Spitze emittierte, linear polarisierte Licht wurde mit dem Parabolspiegel gesammelt und mit der Abbildungsoptik auf die CCD-Kamera abgebildet, die in der Position

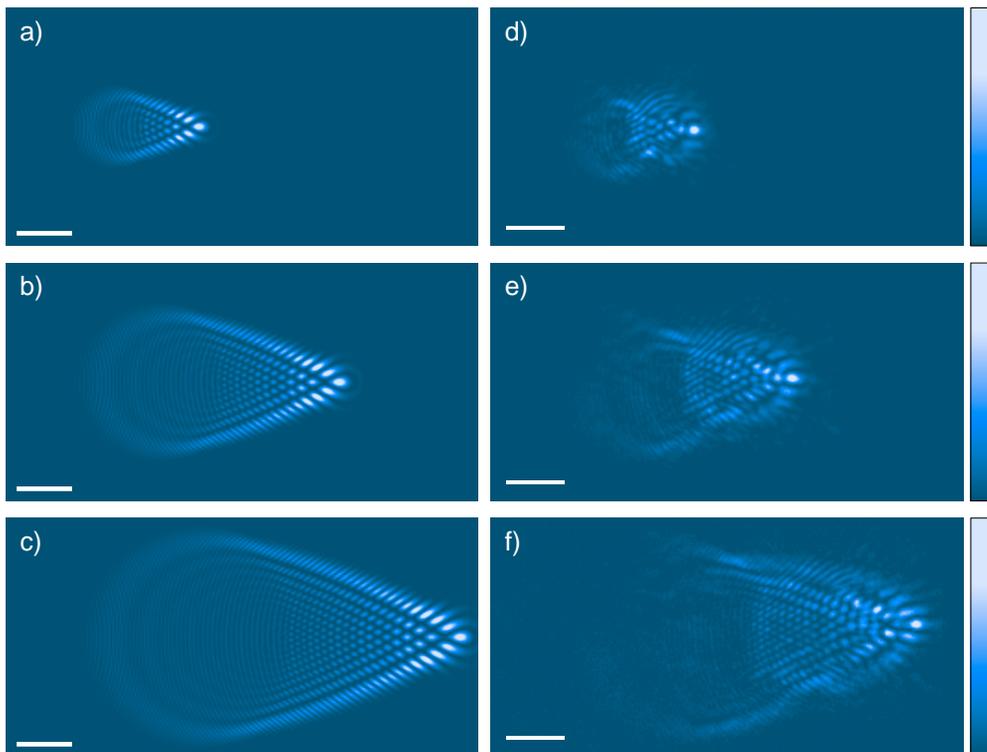


Abbildung 4.2. Intensitätsverteilung, die eine leuchtende Nahfeld-Spitze, die in der Nähe des Fokusses des Parabolspiegels liegt, in der Bildebene der Abbildungsoptik erzeugt. Die Spitze emittiert linear polarisiertes Licht ($\lambda = 532$ nm), das entlang der unteren Bildkante polarisiert ist. a) – c) zeigen für einen idealen Parabolspiegel berechnete und d) – f) mit der CCD-Kamera gemessene Daten. In a) und d) wurde die Nahfeldspitze $7 \mu\text{m}$, in b) und e) $14 \mu\text{m}$, und in c) und f) $20 \mu\text{m}$ nach links aus dem Spiegelfokus bewegt. Der Balken hat eine Länge von $5 M \lambda$, wobei M die Vergrößerung ist.

¹ Die korrekte Feldverteilung im Nahfeld wurde 1950 von Bouwkamp hergeleitet [4.6].

² Die Feldverteilung im Nahfeld einer Apertur-Nahfeld-Spitze wurde mit numerischen Methoden bestimmt [4.8], [4.9]. Aus dieser Feldverteilung könnte mit Gleichung (2.19) die korrekte Fernfeldverteilung berechnet werden. Da im Folgenden aber weitere Vereinfachungen gemacht werden, wurde darauf verzichtet, mit den exakten Feldverteilungen zu rechnen.

CCD2 eingebaut war (siehe Abbildung 3.11). Zur Fokussierung des Lichts wurde eine Linse mit einer Brennweite von 200 mm benutzt, mit der eine Gesamtvergrößerung von $364\times$ auf dem CCD-Chip erreicht wird. Die Spitze wurde mit dem Rastertisch entlang der Polarisationsrichtung aus dem Fokus bewegt. Dasselbe Experiment wurde wie in Abschnitt 2.2.2 berechnet. Als Quelle wurde, wie oben erläutert, eine Kombination aus magnetischem und elektrischem Dipol verwendet¹. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.2 für drei Positionen der Spitze dargestellt. Die grundlegende Struktur des Bildes, die in Richtung der Verschiebung orientierte Tropfenform mit maximaler Intensität an der Spitze, stimmt für die berechneten und die gemessenen Bilder überein und entsteht durch die Abbildungs-Eigenschaften des Parabolspiegels. Die gemessenen Bilder zeigen jedoch deutliche Abweichungen gegenüber den berechneten.

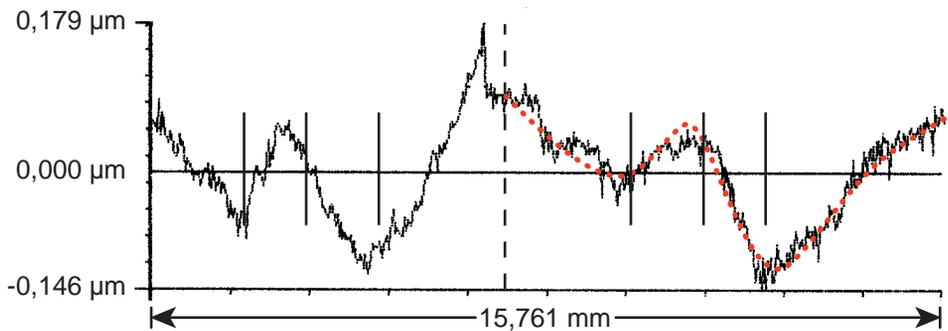


Abbildung 4.3. Abweichung der Parabel von der Sollform. Der Querschnitt wurde vom Hersteller mit einem Profilometer gemessen. Die senkrechte gestrichelte Linie markiert die Spiegelachse, die gepunktete Linie die für die Rechnungen verwendete geglättete Kurve.

Dies liegt daran, dass der im Mikroskop verwendete Parabolspiegel, wie im Abschnitt 3.3.3 erwähnt, Abweichungen von der idealen parabolischen Form aufweist. Abbildung 4.3 zeigt die Abweichungen in axialer Richtung für einen Querschnitt durch den Parabolspiegel. Die Messung wurde vom Hersteller mit einem Profilometer durchgeführt. Da außer diesem Querschnitt keine weiteren Daten zu den Abweichungen existieren, wurde für die folgenden Berechnungen angenommen, dass die Abweichungen eine zylindrische Symmetrie aufweisen, was für den auf einer Drehbank hergestellten Spiegel eine plausible Annahme ist. Wie in Abbildung 4.3 zu sehen ist, sind die Abweichungen im wesentlichen spiegelsymmetrisch bezüglich der Achse des Spiegels. Auf beiden Seiten sind bei etwa gleichen Abständen zur Achse zwei Minima und ein Maximum zu sehen.

Die kleinen Abweichungen von der Parabelform erzeugen in erster Näherung lediglich eine Änderung der Phase und haben nur wenig Einfluss auf den Reflexionswinkel. Um die mit der CCD-Kamera gemessenen Intensitätsverteilungen mit den Rechnungen zu vergleichen wurde der Einfluss der Abweichungen auf die Phase mitberücksichtigt. Dazu wurden die Abweichungen Δz der Messkurve aus Abbildung 4.3 geglättet und in einen Phasenterm

$$e^{i\Phi} \quad \text{mit} \quad \Phi = 2\pi(1 + \cos\theta)\frac{\Delta z}{\lambda} \quad (4.1)$$

umgerechnet, wobei θ der Polarwinkel im Spiegel und λ die Wellenlänge ist. Dieser zusätzliche Phasenfaktor wurde für die Berechnungen in Gleichung (2.7) (Seite 31) eingefügt. Es hat sich gezeigt, dass mit der rechten Hälfte der Profilometerdaten eine bessere Übereinstimmung

¹ Die Feldverteilung eines magnetischen Dipols lässt sich aus der Feldverteilung eines elektrischen Dipols berechnen, indem folgende Vorschrift benutzt wird: $\mathbf{E}_m = -\mathbf{H}_e$, $\mathbf{H}_m = \mathbf{E}_e$ und $\mathbf{m} = \mathbf{p}$, wobei die Indizes e und m für elektrisch und magnetisch stehen, und \mathbf{m} das magnetische und \mathbf{p} das elektrische Dipolmoment bezeichnet [4.11].

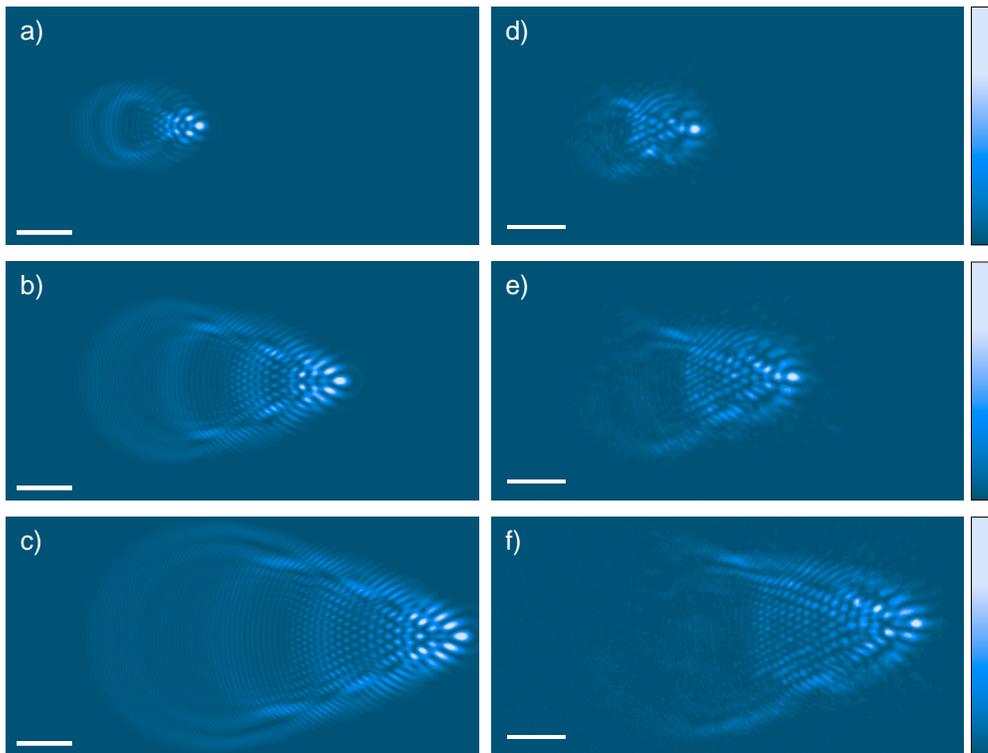


Abbildung 4.4. Intensitätsverteilung, die eine leuchtende Nahfeld-Spitze, die in der Nähe des Fokusses des Parabolspiegels liegt, in der Bildebene der Abbildungsoptik erzeugt. Die Spitze emittiert linear polarisiertes Licht ($\lambda = 532 \text{ nm}$), das entlang der unteren Bildkante polarisiert ist. a) – c) zeigen für den verwendeten Parabolspiegel mit Abweichungen von der Sollform berechnete und d) – f) mit der CCD-Kamera gemessene Daten. In a) und d) wurde die Nahfeldspitze $7 \mu\text{m}$, in b) und e) $14 \mu\text{m}$, und in c) und f) $20 \mu\text{m}$ nach links aus dem Spiegelfokus bewegt. Der Balken hat eine Länge von $5 M \lambda$, wobei M die Vergrößerung ist.

mit den gemessenen Intensitätsverteilungen erreicht werden kann, weshalb diese für die folgenden Rechnungen benutzt wurden.

Werden die so berechneten Intensitätsverteilungen mit den gemessenen verglichen, so ist eine verbesserte Übereinstimmung festzustellen (Abbildung 4.4). Die verbleibenden Differenzen sind durch die ungenügende Kenntnis der Spiegelform zu erklären¹. Insbesondere sind die Asymmetrien zwischen oberer und unterer Bildhälfte auf eine Abweichung von der Zylindersymmetrie zurückzuführen, die in den Berechnungen nicht berücksichtigt wurde.

Um sicher zu sein, dass keine Aberrationen der Abbildungsoptik wesentlich zu diesem Resultat beitragen, wurden die Strahltaillen-Radien w_0 bestimmt², die hinter der Abbildungsoptik entstehen, wenn das Anregungslicht von einem Laser-Planspiegel zum Detektionsarm reflektiert wird. Diese gemessenen Werte wurden mit den gemäß Abschnitt 2.2.1.1 berechneten Strahltaillen-Durchmessern verglichen. Für das Fotoobjektiv wurde experimentell ein w_0 von $(3,59 \pm 0,14) \mu\text{m}$ bestimmt. Der berechnete Wert liegt bei $3,3 \mu\text{m}$ für die verwendete Wellenlänge von $632,8 \text{ nm}$. Für das kombinierte System aus Fotoobjektiv, Mikroskopobjektiv

¹ Es sollte sogar möglich sein, aus den gemessenen Verteilungen die Abweichungen des Spiegels von der Parabelform zu bestimmen.

² Die Strahltaillen-Radien wurden bestimmt, indem eine Rasierklinge an verschiedenen Stellen in der Nähe des Fokusses durch den Strahl gefahren wurde und die Abnahme der Intensität auf dem dahinterliegenden Detektor gemessen wurde.

und Abbildungslinse ($f = 120 \text{ mm}$) wurde w_0 experimentell zu $(25,3 \pm 0,7) \mu\text{m}$ bestimmt, was ebenfalls gut mit dem berechneten Wert von $22,4 \mu\text{m}$ übereinstimmt. Die beobachteten Abweichungen sind also vorwiegend dem Spiegel zuzuschreiben.

Die Modellierung der Spiegelfehler mit dem Profil aus einem einzigen Querschnitt hat ihre Grenzen, sie zeigt jedoch, dass sich beobachtete Strukturen durch die Spiegelfehler erklären lassen.

4.2.2 Abbildung im Fokus

Intensitätsverteilung

Im Folgenden soll die Intensitätsverteilung untersucht werden, die entsteht, wenn sich die Spitze im Fokus befindet. Abbildung 4.5a und b zeigen Berechnungen für einen idealen Parabolspiegel und einen Spiegel mit zylindersymmetrischen Abweichungen wie oben. Abbildung 4.5c zeigt die mit der CCD-Kamera gemessene Intensitätsverteilung. Für die Berechnung von Abbildung 4.5b wurde die Spitze im Vergleich zu a um $0,78 \mu\text{m}$ auf der optischen Achse vom Spiegel wegbewegt, da für diese Position der zentrale Fleck des Fokusses maximale Intensität und minimale Größe besitzt. Für die Messung wurde die Spitze ebenfalls so positioniert, dass der zentrale Fleck maximale Intensität und minimale Größe zeigt.

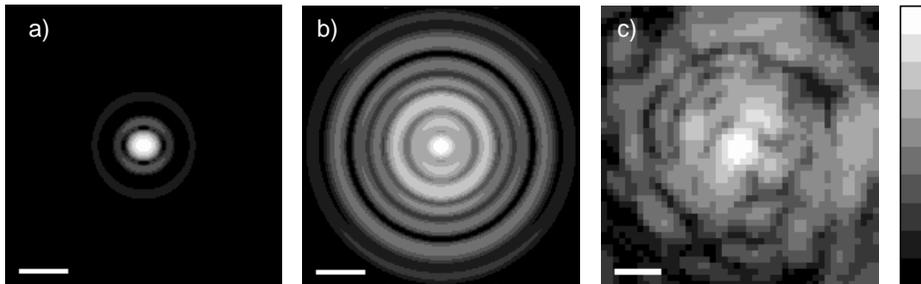


Abbildung 4.5. Konturliniendarstellung der Intensitätsverteilung, die eine leuchtende Nahfeld-Spitze in der Bildebene der Abbildungsoptik erzeugt. Die Spitze emittiert linear polarisiertes Licht ($\lambda = 532 \text{ nm}$), das entlang der linken Bildkante polarisiert ist. a) zeigt die für einen idealen Parabolspiegel berechnete, b) die für den verwendeten Parabolspiegel berechnete und c) die mit der CCD-Kamera gemessene Intensität. In a) liegt die Spitze exakt im Fokus, in b) $0,78 \mu\text{m}$ unter dem Fokus. Es wird eine logarithmische Intensitätsskala verwendet mit einem Faktor zwei zwischen benachbarten Konturlinien. Der Balken hat eine Länge von $M \lambda$, wobei M die Vergrößerung ist.

Die Messung zeigt, dass die Zylindersymmetrie trotz kleiner Abweichungen im wesentlichen vorhanden ist, wie für die Berechnungen oben angenommen wurde. Die Halbwertsbreiten der Intensitätsmaxima betragen $58 \mu\text{m}$ für die Simulation des idealen Spiegels, $56 \mu\text{m}$ für die Simulation des Spiegels mit Abweichungen und $92 \mu\text{m}$ für die Messung. Die gemessene Größe des fokalen Flecks ist um den Faktor 1,6 größer als die berechnete. Dies kann aber teilweise daran liegen, dass auf der CCD-Kamera vom fokalen Fleck nur etwa 16 Pixel beleuchtet werden und die angepasste Gauß-Funktion deshalb zu breit wird und dass das Übersprechen des Signals auf benachbarte Pixel der CCD-Kamera ebenfalls eine Verbreiterung bewirkt. Eine sichere Aussage über die Größe des fokalen Flecks kann hier deshalb nicht gemacht werden, der gemessene Wert stellt nur eine obere Schranke dar.

Sammeleffizienz

Durch Integration über eine Kreisfläche mit Radius r rund um den Fokus auf der CCD-Kamera kann die Sammeleffizienz in Abhängigkeit von r bestimmt werden. Abbildung 4.6 zeigt die Sammeleffizienz, wie sie für einen idealen Spiegel und den Spiegel mit Abweichungen – wie oben – berechnet wurden, sowie die experimentell bestimmte Sammeleffizienz. Die Skala

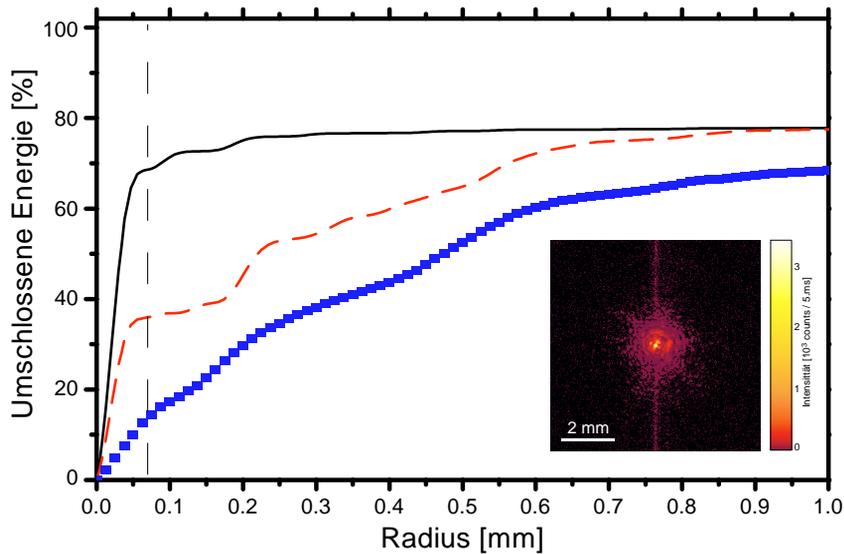


Abbildung 4.6. Anteil der von der Spitze nach vorn emittierten Energie, die von einem Detektor in Abhängigkeit von seinem Radius detektiert werden kann: — für einen idealen Parabolspiegel, --- für den Parabolspiegel mit Abweichungen und ■ mit der CCD-Kamera tatsächlich gemessen. Die gestrichelte senkrechte Linie zeigt die Lage des ersten Minimums des Airy-Musters. Das eingefügte Bild zeigt die Intensitätsverteilung wie sie mit der CCD-Kamera gemessen wurde.

ist so gewählt, dass 100 % der Energie entsprechen, die in den oberen Halbraum ($\Omega = 2\pi$, siehe Abbildung 4.1a) abgestrahlt wird. Die gesamte vom Spiegel gesammelte Intensität liegt dann wegen des zentralen Lochs und wegen des maximalen Sammelwinkels von $86,4^\circ$ bei 78 %. Der ideale Spiegel zeigt das aus der Literatur bekannte Verhalten eines Airy-Musters [4.10], die Berechnung des Spiegels mit Abweichungen zeigt eine wesentlich breitere Verteilung. Die experimentell bestimmte Verteilung ist noch breiter, was auf Abweichungen von den für die Berechnungen gemachten Annahmen zurückzuführen ist: (1) dass die Abweichungen eine Zylindersymmetrie aufweisen, (2) dass sie mit der Messkurve (Abbildung 4.3) modelliert werden können, (3) dass sie nur Einfluss auf die Phase haben und (4) dass der Einfluss der Ausbreitung des Lichts im Raum zwischen Spiegel und Objektiv vernachlässigt werden kann. Insbesondere (3) und (4) dürften bei den langen optischen Wegen nicht mehr erfüllt sein.

Die Experimente zeigen die trotz der Abweichungen insgesamt guten Abbildungs-Eigenschaften des Spiegels. Die Beugungsgrenze kann zwar nicht ganz erreicht werden, bei Tieftemperatur-Experimenten weisen aber auch Objektive Abweichungen auf. In der Literatur findet man $\approx 0,8 \lambda$ für die Halbwertsbreite von CdS-Nanokristallen [4.12] und 800 nm für einzelne Terrylenmoleküle, die mit einer Wellenlänge von 578,5 nm angeregt wurden, was etwa $1,4 \lambda$ entspricht [4.13]. Das oben erhaltene Resultat für das Parabolspiegel-Mikroskop entspricht etwa $0,85 \lambda$, ist also vergleichbar oder besser als die Werte, die mit einem Objektiv erreicht wurden.

Die Sammeleffizienz hingegen bleibt hinter den Erwartungen zurück. Um eine Sammeleffizienz η_s zu erhalten, die gleich groß ist wie mit einem idealen Spiegel und einem Detektor, der die Größe der Airy-Scheibe hat ($\eta_s = 68,5 \%$, $\varnothing = 0,136$ mm), müsste ein Detektor mit 2 mm Durchmesser verwendet werden. Mit dem von uns verwendeten Durchmesser der

Avalanche-Photodioden wird eine Sammeleffizienz von etwa $\eta_s \approx 20\%$ erreicht. Die gesamte Sammeleffizienz berechnet sich damit folgendermaßen:

$$\eta_{tot} = \eta_{em} \cdot t_k \cdot t_O \cdot \eta_s \cdot \eta_{Det} \quad (4.2)$$

Dabei ist η_{em} der Anteil des Lichts, das die Probe nach oben, das heißt Richtung Spiegel, verlässt (vergleiche Abschnitt 2.3.2), t_k die Transmission der Kryostatenfenster, t_O die Transmission der Objektivse und Strahlteiler, η_s die Sammeleffizienz des Detektors und η_{Det} die Detektionseffizienz des Detektors. Für einen einzelnen Dipol der bei einer Wellenlänge von 630 nm emittiert, ergibt das also etwa $\eta_{tot} = 0,15 \cdot 0,78 \cdot 0,67 \cdot 0,20 \cdot 0,7 = 0,011$, wenn über die Orientierung des Dipols gemittelt wird.

4.3 Konfokale Mikroskopie

4.3.1 Berechnung der Intensitätsverteilung

Für die konfokale Mikroskopie muss der Spiegel das parallel einfallende Licht fokussieren. Wie im Abschnitt 4.2 besprochen wurde, zeigt die Spiegelfläche Abweichungen von der parabolischen Form. Beim Fokussieren entsteht deshalb nicht ein Fokus sondern ein größeres fokales Gebiet. Durch Verwendung der schon in Abschnitt 4.2 benutzten Phasenfehler für den Spiegel kann eine Abschätzung der Intensitätsverteilung im Fokus gewonnen werden. In diesem Fall sollte diese Abschätzung auch besser sein, da der optische Weg zwischen Spiegelfläche und Fokus wesentlich kürzer ist als der Weg zwischen Spiegelfläche und CCD-Kamera bei den Messungen mit der Nahfeldspitze.

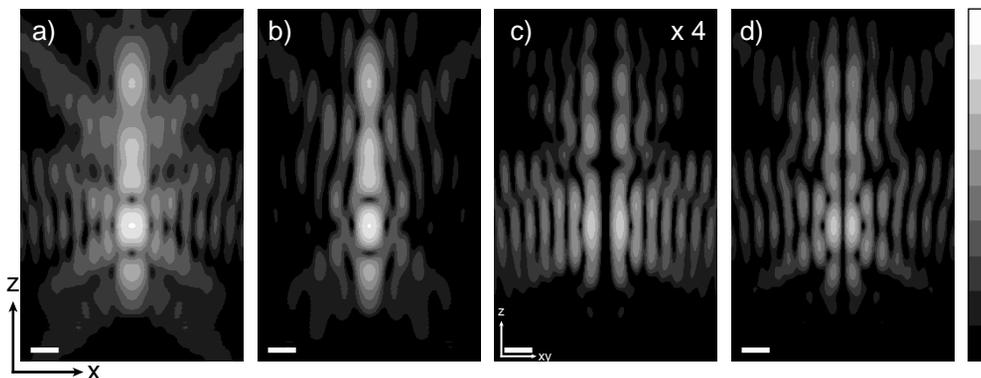


Abbildung 4.7. Linien konstanten $|E|^2$ in der Nähe des Fokusses eines Parabolspiegel mit Abweichungen, wie sie in Abbildung 4.3 dargestellt sind. Es wird ein Gauß-Strahl, der in x-Richtung linear polarisiert ist und einen Strahltaillenradius von 7,9 mm (siehe Seite 75) besitzt, fokussiert. In a) ist $|E|^2$ in der x,z-Ebene, in b) $|E_x|^2$ in der x,z-Ebene, in c) $|E_y|^2 \times 4$ in der Ebene, die von der z-Achse und der Diagonalen in der x,y-Ebene aufgespannt wird, und in d) ist $|E_z|^2$ dargestellt. Es wird eine logarithmische Skala verwendet, die einen Unterschied von Faktor zwei zwischen benachbarten Konturlinien hat. Die Länge des Balkens entspricht der Wellenlänge $\lambda = 532$ nm.

Die Messkurve der Abweichungen (siehe Abbildung 4.3) besitzt Teilbereiche, in denen die Abweichung etwa linear vom Abstand zur Spiegelachse abhängt. Deshalb entstehen verschiedene Teilbereiche des Spiegels, die jeweils Fokusse bilden, die in axialer Richtung gegeneinander verschoben sind. In Abbildung 4.7 ist dies für linear polarisiertes Licht mit einer Wellenlänge von 532 nm dargestellt. Es sind mehrere gegeneinander verschobene Intensitätsmaxima auf der Spiegelachse zu sehen. Das intensivste Maximum liegt $0,78 \mu\text{m}$ unterhalb des Fokusses eines idealen Spiegels und besitzt 52 % der Intensität des ideal fokussierten Lichts (siehe auch Abbildung 4.8a). Es ist aber deutlich heller als die Nebenmaxima, so dass trotzdem eine gute Auflösung erreicht wird. Dies gilt auch für radial polarisiertes Licht (siehe

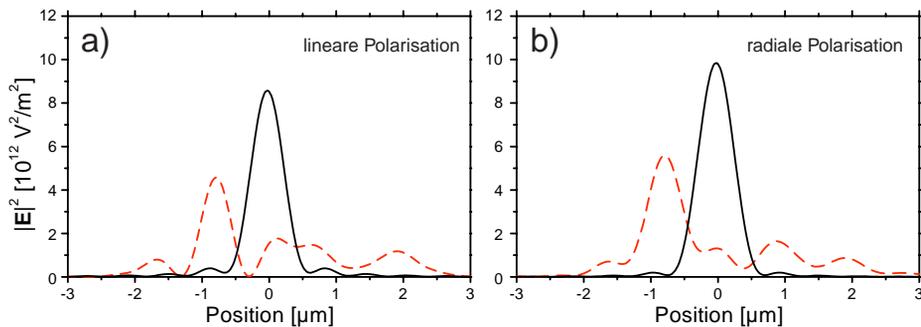


Abbildung 4.8. Abhängigkeit von $|E|^2$ vom Abstand vom Fokus entlang der z-Achse eines idealen Parabolspiegels (—) und eines Spiegels mit Abweichungen gemäß Abbildung 4.3 (---) für lineare Polarisation (a) und radiale Polarisation (b). In beiden Abbildungen ist die vom Parabolspiegel fokussierte Intensität auf 1 mW normiert. Damit lässt sich die Feldstärke direkt als $\sqrt{|E|^2}$ aus den Abbildungen ablesen

Abbildung 4.8b). Im intensivsten Bereich zeigt das Feld auch hier eine starke z-Komponente, so dass Experimente mit Feldverstärkung an Metallspitzen auch mit dem vorhandenen Spiegel möglich sein sollten.

Neue Experimente, in denen eine mit fluoreszierenden Rhodamin-6G Molekülen bedeckte Endfläche einer Single-Mode-Glasfaser entlang der Spiegelachse durch den Fokus gefahren wurde und dabei die von der Glasfaser eingesammelte Fluoreszenz detektiert wurde, zeigen eine gute Übereinstimmung mit den berechneten Werten (siehe [4.1] und [4.2]).

4.3.2 Messungen bei Raumtemperatur

In diesem Abschnitt werden konfokale Bilder bei Raumtemperatur vorgestellt. Es wurden mit Farbstoff-Molekülen beladene Zeolith-L-Mikrokristalle untersucht, um das Auflösungsvermögen des Mikroskops zu bestimmen. Die Zeolith-L-Kristalle sind mit Oxonin, einem Oxazin-Farbstoff beladen, das ein Absorptionsmaximum bei etwa 600 nm und ein Fluoreszenzmaximum bei etwa 610 nm zeigt¹. Sie sind stark fluoreszierend, bleichen kaum aus und haben die Form von sechseckigen Prismen, deren Länge etwas größer ist, als der Durchmesser. Die

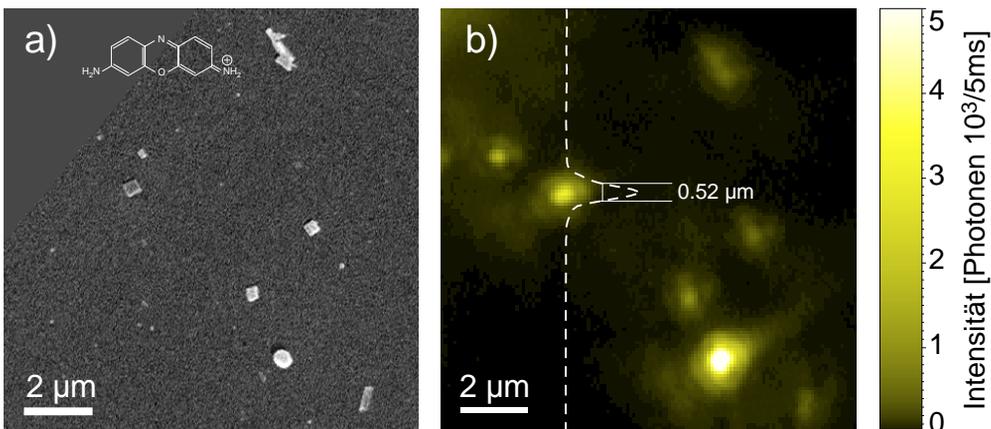


Abbildung 4.9. a) Rasterelektronen-Mikroskop-Aufnahme und b) konfokales Fluoreszenzbild einzelner Oxonin-beladener Zeolith L-Mikrokristalle. In Abbildung a) ist zusätzlich die chemische Struktur des Oxonins dargestellt und in b) ein Querschnitt. Zur Anregung wurde der Nd:YVO-Laser mit 532 nm Wellenlänge benutzt und zirkular polarisiert. Gestreutes Anregungslicht wurde mit einem Notchfilter [M23] ausgefiltert.

¹ Die beladenen Kristalle wurden uns von Prof. Dr. G. Calzaferri, Departement für Chemie und Biochemie, Universität Bern, Schweiz, zur Verfügung gestellt.

Länge der Kristalle liegt in einem Bereich zwischen etwa 300 nm und 2 μm . Da sie im Rahmen des hier besprochenen Experiments lediglich dazu benutzt werden, um die konfokalen Abbildungseigenschaften des Mikroskops zu untersuchen, wird nicht weiter auf ihre Struktur und Herstellung eingegangen¹.

Abbildung 4.9a zeigt ein Rasterelektronen-Mikroskop-Bild der Zeolithkristalle, während b die konfokal gemessene Fluoreszenz bei zirkular polarisierter Anregung zeigt. Da die aktive Fläche des Detektors nicht punktförmig ist verglichen mit der Airy-Scheibe, die eine Punktlichtquelle auf dem Detektor erzeugen würde, sondern größer als die Airy-Scheibe, ist die Auflösung, die im Bild erscheint durch die Größe des Anregungsfokusses bestimmt. Die Bilder der fluoreszierenden Kristalle sind eine Faltung der Intensitätsverteilung im Fokus mit der Form² der homogen beladenen Zeolithe. Für die folgende Bestimmung des Durchmessers des Anregungsfokusses wurde vereinfachend angenommen, dass die Zeolithe quaderförmig sind. Der Anregungsfokus wurde als Gauß-Strahl angenommen. Mit Hilfe des Faltungssatzes der Fourier-Transformation lässt sich die Form der Intensitätsverteilung der Fluoreszenzbilder folgendermaßen bestimmen

$$I(x) = I_0 \frac{\left[\operatorname{Erf}\left(\frac{\sqrt{2}(a-x)}{w_0}\right) + \operatorname{Erf}\left(\frac{\sqrt{2}(a+x)}{w_0}\right) \right] \cdot \left[\operatorname{Erf}\left(\frac{\sqrt{2}(b-y)}{w_0}\right) + \operatorname{Erf}\left(\frac{\sqrt{2}(b+y)}{w_0}\right) \right]}{4 \operatorname{Erf}\left(\frac{\sqrt{2}a}{w_0}\right) \cdot \operatorname{Erf}\left(\frac{\sqrt{2}b}{w_0}\right)}, \quad (4.3)$$

wobei I_0 die Maximalintensität, x und y der Abstand vom Maximum in den Achsenrichtungen des Zeolithen, $2a$ und $2b$ die Kantenlängen des Zeolithen, Erf die Gaußsche Fehlerfunktion: $\operatorname{Erf}(x) = 2/\sqrt{\pi} \int_0^x \exp(-t^2) dt$ und w_0 der Strahltaillen-Radius des Gaußstrahls ist (siehe Seite 21). Mit den aus dem Rasterelektronen-Mikroskop-Bild bestimmten Kantenlängen der Kristalle kann nun w_0 an die Daten angepasst werden. Der Mittelwert für die Kristalle aus Abbildung 4.9b liegt bei $w_0 = 0,37 \pm 0,07 \mu\text{m}$, was einer Halbwertsbreite der Intensitätsverteilung von $0,44 \pm 0,08 \mu\text{m}$ entspricht. Der berechnete Wert für zirkular polarisierte Anregung mit der Wellenlänge $\lambda = 532 \text{ nm}$ in einem Abstand von $0,15 \mu\text{m}$ über einer Glasoberfläche – in mittlerer Höhe des Zeolithen – liegt bei $w_0 = 0,23 \mu\text{m}$, ist also um den Faktor 1,6 kleiner. Die laterale Auflösung, die mit dem Spiegel erreicht werden kann, liegt um etwa diesen Faktor oberhalb der Beugungsgrenze. Einflüsse des Zeolithen auf die Feldverteilung im Fokus sind hier nicht berücksichtigt worden. Die ermittelte Abweichung ist damit nicht allein auf Aberrationen der Optik zurückzuführen

4.3.3 Messungen bei tiefer Temperatur

Grundsätzlich sollten sich die Abbildungseigenschaften des Parabolspiegels beim Abkühlen nicht ändern. Durch die Kontraktion des Spiegelmaterials beim Kühlen ändert sich zwar die Größe des Spiegels und damit die Brennweite geringfügig ($\approx 0,4 \%$), die Oberfläche behält aber die Parabelform, wie man sich einfach überlegen kann. Da der Spiegel mit Federringen gehalten wird (siehe Seite 72), kann er sich ungehindert zusammenziehen und es entstehen keine zusätzlichen Abbildungsfehler beim Kühlen.

Zum Ausmessen der Feldverteilung eignen sich einzelne fluoreszierende Moleküle besonders gut, da sie (1) wesentlich kleiner als die Wellenlänge des Lichts sind und deshalb als punktförmige Teilchen angesehen werden können und (2) die Fluoreszenzintensität gemäß

¹ In einem anderen Experiment wurde von uns die Lage der Oxonin-Moleküle in den Kristallen untersucht [4.14]. In diesem Artikel und den darin zitierten Referenzen sind auch Angaben über die Struktur und Herstellung der beladenen Zeolithkristalle zu finden.

² Streng genommen ist es eine Faltung mit der räumlichen Verteilung der Fluoreszenz-Effizienz, die aber im ganzen Zeolithen etwa konstant ist.

Gleichung (2.10) von der lokalen Feldstärke und Orientierung abhängig ist. Für das hier besprochene Experiment wurden Terrylen-Moleküle¹ (siehe Abbildung 4.11b), die aus der Literatur gut bekannt sind, in der Shpol'skii-Matrix Oktadekan untersucht. Shpol'skii-Systeme sind polykristalline Materialien, die durch schnelles Kühlen von Lösungen von aromatischen Farbstoffen in flüssigen Alkanen hergestellt werden. Sie eignen sich besonders gut für die Spektroskopie von Farbstoffen, da eine sehr hohe spektrale Auflösung bei tiefer Temperatur erreicht werden kann, wie É. V. Shpol'skii festgestellt hat [4.15]-[4.19]. Terrylen zeigt ein Absorptionsmaximum bei etwa 572 nm, hat einen starken (0-0) Übergang, hohe Quantenausbeute und einen nur wenig störenden Triplett-Übergang. Es wurde bereits in Polymeren [4.20]-[4.25], Kristallen [4.25]-[4.27] und anderen Shpol'skii-Matrizen [4.28]-[4.33] untersucht. Das Molekül ist also wohl bekannt, wurde noch nie in Oktadekan untersucht aber schon in sehr ähnlichen Matrizen.

Probenpräparation

Die Proben wurden auf zwei verschiedene Arten hergestellt. Für beide wurde eine 10^{-7} molare Lösung von Terrylen in Oktadekan verwendet. Für die erste Art der Probenherstellung **A** wurde eine frisch gebrochene Single-Mode-Glasfaser in die aufgeschmolzene Terrylen-Lösung ($T > 28^\circ$) getaucht und anschließend in flüssigem Stickstoff eingefroren. Mit dieser Präparationsmethode entstehen dicke Proben (einige 100 μm). Für die zweite Präparationsmethode **B** wurde ein Glasplättchen auf einer Scheibe befestigt, die schnell rotieren kann (≈ 3600 Umdrehungen pro Minute). Auf die rotierende Glasplatte wurden 10 μl Lösung aufgetragen, die über den Schmelzpunkt von Oktadekan erwärmt worden war. Gleichzeitig wurde mit kaltem Stickstoffgas gekühlt. Dieses Verfahren wird als *Spincoating* bezeichnet. Mit ihm lassen sich dünne Filme – einige zehn Nanometer bis Mikrometer, je nach Substanz und Rotationsgeschwindigkeit – herstellen. Abbildung 4.10 zeigt Bilder der Probenoberflächen, die mit dem Auflichtmikroskop angefertigt worden sind. Sie zeigen Bereiche mit starker Struktur an der Oberfläche und Bereiche mit glatter Oberfläche. Für die Messungen sind Bereiche mit glatter Oberfläche vorzuziehen.

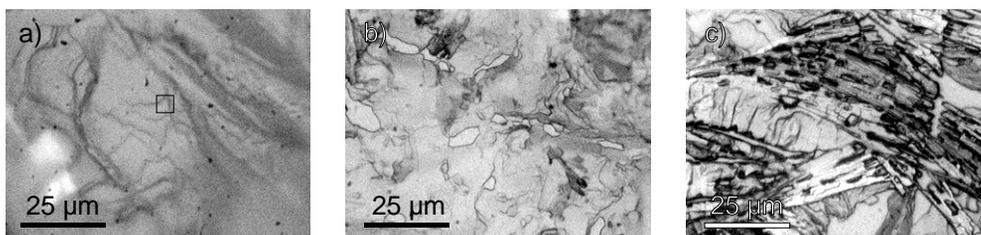


Abbildung 4.10. Bilder der Probenoberfläche des Shpol'skii-Systems Terrylen in Oktadekan. a) Probenherstellung nach der Methode A. Das schwarze Rechteck bezeichnet die Probenstelle, die in Abbildung 4.11a untersucht worden ist. b) und c) zeigen verschiedene Probenstellen auf einer nach der Methode B hergestellten Probe. b) zeigt ein Gebiet mit wenig Topographie und c) ein Gebiet mit viel Struktur.

Konfokale Abbildung

Um bei tiefer Temperatur einzelne Moleküle mit dem schmalbandigen Farbstofflaser abbilden zu können, muss die Wellenlänge des Lasers in Resonanz mit der Absorptionsbande des (0-0)-Übergangs des abzubildenden Moleküls gebracht werden. In Abbildung 4.11 sind konfokale Bilder zweier Moleküle bei 1,8 K gezeigt, für die die Anregungs-Wellenlänge auf maximale Fluoreszenz abgeglichen worden ist. Die Moleküle zeigen abhängig von der Anregungsleistung unterschiedliche Größen des fokalen Flecks. Dies liegt daran, dass durch Sätti-

¹ Die Terrylen-Moleküle wurden uns von Prof. Dr. K. Müllen, Max Planck Institut für Polymerforschung, Mainz, zur Verfügung gestellt.

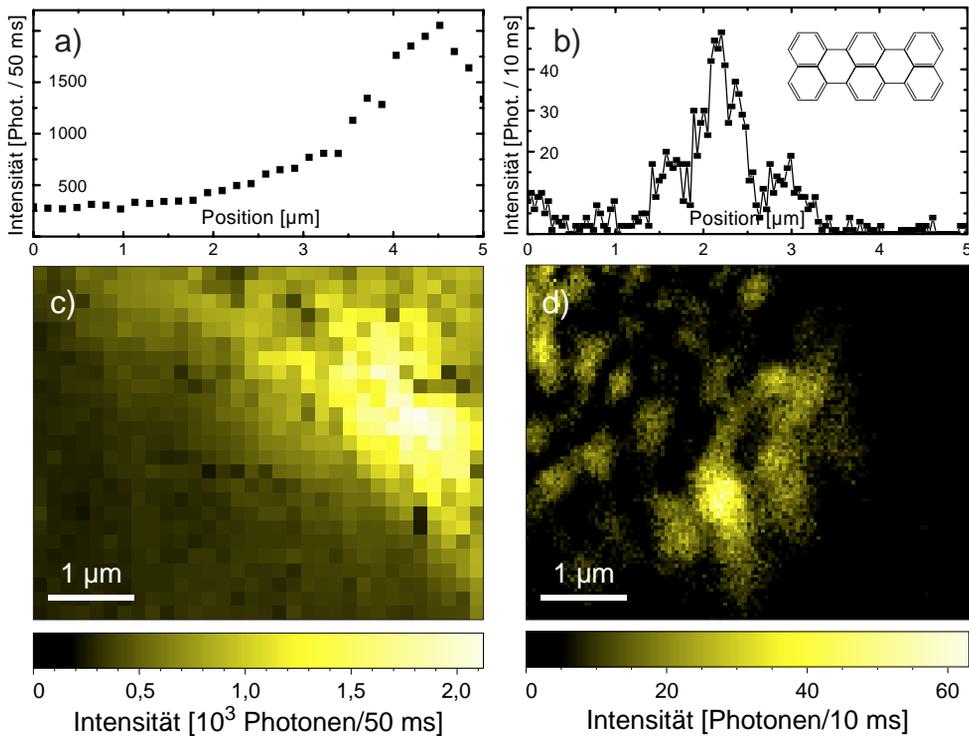


Abbildung 4.11. Konfokale Abbildung von einzelnen Terrylen-Molekülen in Oktadekan. a) und c) Probe A mit $5 \mu\text{W}$ Anregungsleistung bei einer Wellenlänge von $571,0 \text{ nm}$, b) und d) Probe B mit $0,25 \mu\text{W}$ Anregungsleistung bei der Wellenlänge $572,1 \text{ nm}$. Beide Bilder wurden bei $1,8 \text{ K}$ mit zirkularer Polarisation aufgenommen. a) und b) sind Querschnitte durch c) und d). Das Molekül in c) hat eine Halbwertsbreite von etwa $1 \mu\text{m}$, das in d) hat eine von $0,46 \mu\text{m}$. In b) ist oben rechts die chemische Struktur von Terrylen dargestellt.

gung des Moleküls bei hoher Anregungsleistung die Fluoreszenzintensität im Zentrum des fokalen Flecks nicht beliebig hohe Werte annehmen kann, was zu einer Verbreiterung des Bildes des Moleküls führt. Bei einer Anregung mit $5 \mu\text{W}$ (c) ist das Molekül bereits Sättigung, wie in einem hier nicht dargestellten Experiment ermittelt wurde. Bei einer Anregung mit $0,25 \mu\text{W}$ (d) hingegen befindet es sich noch im linearen Bereich der Sättigungskurve. Der fokale Fleck erscheint in Abbildung 4.11a mit einer Halbwertsbreite von etwa $1 \mu\text{m}$ deutlich breiter als in b, wo er nur eine Halbwertsbreite von $0,46 \mu\text{m}$ aufweist. Die Probe zeigt an der Stelle, an der das Molekül in Abbildung 4.11a liegt, auch deutlich Topographie, was ebenfalls einen Einfluss auf die scheinbare Breite des Moleküls hat, der aber schwer quantifizierbar ist. Die berechnete Halbwertsbreite für eine Molekül, das sich direkt unter der Grenzschicht befindet, liegt bei $0,28 \mu\text{m}$, ist also ebenfalls um den Faktor $1,6$ kleiner als der experimentell bestimmte. Dies stimmt mit dem mit Hilfe der Zeolithkristalle bei Raumtemperatur bestimmten Resultat überein.

4.4 Einzelmolekül-Spektroskopie

In den folgenden beiden Teilkapiteln werden noch einige Experimente an einzelnen Molekülen dargestellt, die die spektroskopischen Möglichkeiten des Mikroskops zeigen. Es sind Experimente zur Absorption und Fluoreszenz von einzelnen Molekülen.

4.4.1 Absorptionsspektroskopie

Absorptionsspektren einzelner Moleküle können mit Modulationsverfahren zwar direkt gemessen werden, dies stellt aber sehr hohe Anforderungen an die Messgenauigkeit, da das schwache Absorptionssignal einen großen Untergrund hat [4.34]. Wesentlich einfacher ist es, die Absorption über die Fluoreszenz zu messen, was aber nur mit fluoreszierenden Molekülen möglich ist. Bei diesem Verfahren wird die gesamte Stokes-verschobene Fluoreszenz detektiert und als Funktion der Anregungswellenlänge des Lasers untersucht. Es wird als Fluoreszenz-Anregungs-Spektroskopie bezeichnet.

Die im Abschnitt 4.3.3 beschriebene Probe von Terrylen in Oktadekan, die nach der Methode A hergestellt worden ist, wurde auch für die folgenden absorptions-spektroskopischen Messungen verwendet. Das Licht des schmalbandigen Farbstofflasers wurde mit dem Parabolspiegel auf die Probe fokussiert und das Fluoreszenzlicht aus dem Probenfokus wurde mit einer Avalanche-Photodiode gemessen. Die Anregungswellenlänge, die bei 571,7 nm lag, wurde über einen Bereich von 10 GHz verstimmt. Abbildung 4.12a zeigt die dabei gemessene Fluoreszenz. Über einem geringen Untergrund von 18 Zählereignissen sind acht schmale Spitzen unterschiedlicher Höhe zu sehen. Dies sind die Nullphononen-Linien von acht einzelnen Terrylen-Molekülen. Die unterschiedliche Höhe der Maxima ist durch eine unterschiedlich effiziente Anregung und Detektion zu erklären. Die unterschiedliche Lage der Linien wird durch leicht unterschiedliche lokale Umgebungen der Moleküle verursacht.

Abbildung 4.12b zeigt die Nullphononen-Linie eines einzelnen Terrylen-Moleküls, das genau im Fokus liegt, mit höherer Auflösung. An die Resonanzkurve des Moleküls kann ein Lorentzprofil [4.35] angepasst werden, das eine Breite von 43 ± 2 MHz hat. Für verschiedene Moleküle konnten Halbwertsbreiten zwischen 35 und 50 MHz mit einem Maximum der Verteilung bei 40 MHz bestimmt werden, was gut zu den Werten passt, die für Terrylen in anderen Alkanen oder in Polyethylen bestimmt wurden ([4.2], [4.24], [4.29]-[4.31]). Zu beachten ist das sehr gute Signal-zu-Untergrund-Verhältnis von über 10. Die spektrale Auflösung ist durch den Farbstofflaser bestimmt, dessen Bandbreite etwa 1 MHz beträgt.

Die Stabilität des Geräts ist genügend groß, dass Moleküle auch über längere Zeit beobachtet werden können. Abbildung 4.13 zeigt die zeitliche Entwicklung der Lage der Resonanz eines Moleküls während 400 s. Es ist zu sehen, dass das Molekül drei verschiedene

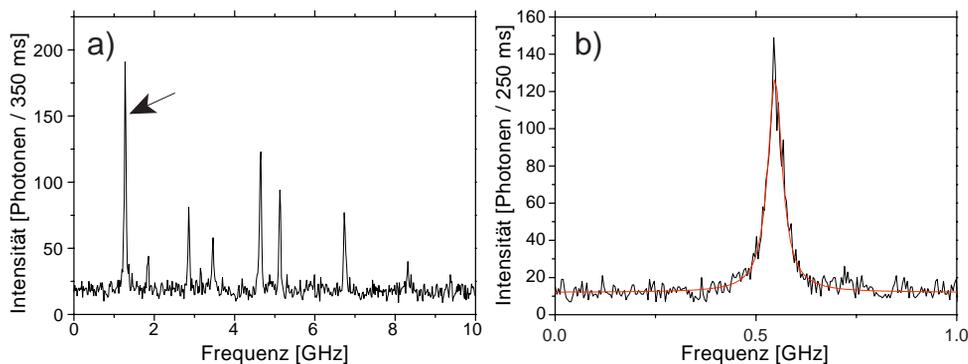


Abbildung 4.12. Absorptionsspektren einzelner Terrylen-Moleküle bei einer Wellenlänge von 571,7 nm. a) In einem großen Frequenzbereich von 10 GHz sind die Nullphononen-Linien von acht Molekülen zu sehen, die mit unterschiedlicher Effizienz angeregt werden. b) Die Messung in einem kleineren Frequenzbereich von 1 GHz zeigt die in a) mit einem Pfeil markierte Nullphononen-Linie mit höherer Auflösung. Die ausgezogene Linie — ist eine an die Daten angepasste Lorentzkurve mit einer Halbwertsbreite von 43 ± 2 MHz. Zur Unterdrückung des Anregungslichts wurden Farbglasfilter verwendet, deren Absorptionskante bei 610 nm liegt ($2 \times$ Schott RG 610, 3 mm [M24]).

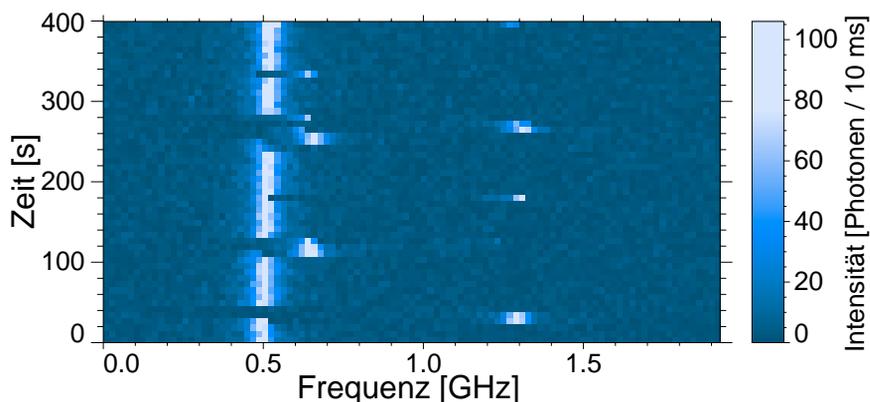


Abbildung 4.13. Spektrale Diffusion eines Terrylen-Moleküls in Oktadekan bei 1,8 K. Die Anregungswellenlänge liegt bei 571,6 nm, die Anregungsleistung bei 400 nW.

spektrale Lagen aufweist, zwischen denen es hin und her springt. Dieses Verhalten wird als *spektrale Diffusion* bezeichnet. Die zeitliche Entwicklung der Lage der Resonanz einzelner Moleküle gibt Informationen über die Dynamik des Wirtskristalls, in den das Molekül eingebettet ist [4.32].

4.4.2 Fluoreszenzspektroskopie

Es ist nicht nur möglich, die gesamte Fluoreszenz als Funktion der Anregungswellenlänge zu untersuchen, sondern man kann auch ein Molekül mit fester Frequenz anregen und dafür die Fluoreszenz spektral aufgelöst untersuchen. Das Fluoreszenzspektrum besteht aus schmalen Emissionslinien, wenn nur eine schwache Elektron-Phonon-Kopplung vorhanden ist (*Fluorescence line narrowing*). Wenn der (0-0) Übergang angeregt wird, entsprechen die Abstände der Fluoreszenzlinien von der Anregungswellenlänge den Energien der Schwingungsniveaus des Grundzustandes. Man gewinnt also Zugang zu den Vibrationsniveaus, die charakteristisch sind für ein Molekül. Durch genaue Kenntnis des Moleküls können die beobachteten Linien auch bestimmten Schwingungsmoden des Moleküls zugeordnet werden (siehe zum Beispiel [4.22]).

Für die Experimente wurde das untersuchte Molekül jeweils zuerst bei seiner Resonanzfrequenz angeregt und anschließend im Fokus zentriert. Von dem nun räumlich und spektral optimal positionierten Molekül wurden dann Fluoreszenzspektren aufgezeichnet. Dieses Vorgehen erlaubt es, in verhältnismäßig kurzer Zeit (10 s) Spektren mit hohem Signal-zu-Untergrund-Verhältnis von über 10 für die intensiven Linien aufzuzeichnen, wie in Abbildung 4.14 zu sehen ist.

Eine genaue Analyse der Schwingungsniveaus aus dem Tieftemperaturspektrum würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen. Hier sei nur angemerkt, dass eine sehr gute Übereinstimmung der Linien mit Daten für Terrylen in Polyethylen [4.22] besteht. Für eine ausführliche Analyse wird auf [4.1] verwiesen.

Im Folgenden soll aber noch die spektrale Auflösung des Mikroskops bestimmt werden. Aus der Analyse der gemessenen spektralen Breite verschiedener Linien, zum Beispiel der HeNe-Laserlinie bei $632,8 \text{ nm}^1$, kann die spektrale Auflösung des Spektrometers bestimmt werden. Die Halbwertsbreite der Linien liegt mit dem hochauflösenden Gitter (1200 Linien / mm) bei 0,10 nm, während die Lage der Linien auf etwa 0,01 nm bestimmt werden

¹ Diese Laserlinie hat eine bekannte spektrale Breite von etwa 1,5 GHz, was wesentlich schmäler ist, als das Spektrometer auflösen kann. Sie sollte also die im Abschnitt 3.4.1 berechnete spektrale Breite zeigen.

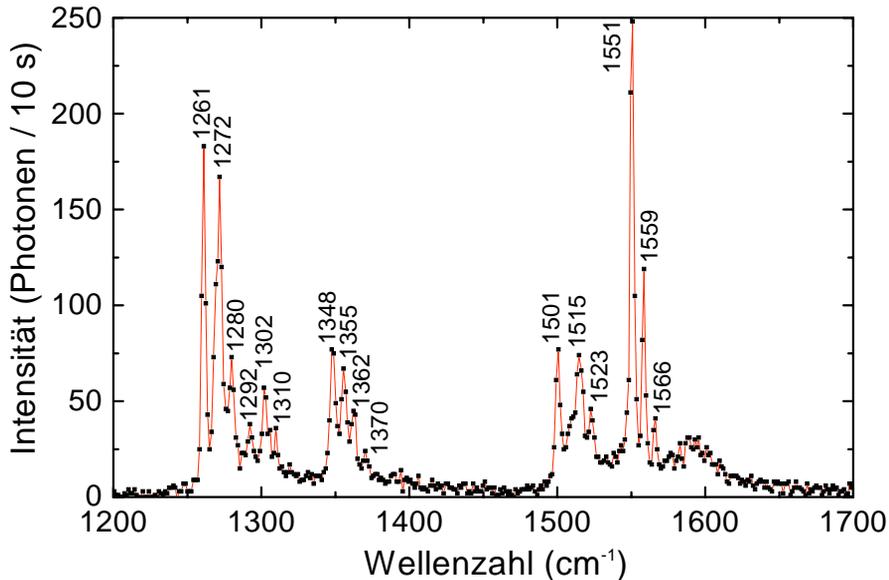


Abbildung 4.14. Fluoreszenzspektrum eines einzelnen Terrylen-Moleküls bei 1,8 K, das in Resonanz mit einer Wellenlänge von 572,2 nm mit 250 nW angeregt wurde. Die den einzelnen Linien zugeordneten Werte bezeichnen die Verschiebung gegenüber der Anregung in Wellenzahlen cm^{-1} .

kann. Die Bestimmung der Lage von Spektrallinien ist also im Wesentlichen durch die Größe der Pixel der Kamera gegeben, deren Breite etwa 0,05 nm entsprechen (siehe Abschnitt 3.4.1), während die Breite einer Linie durch Abbildungsfehler und Übersprechen des Signals auf benachbarte Pixel auf etwa 0,10 nm begrenzt ist. Die in Abbildung 4.14 zu sehenden Linien weisen alle Halbwertsbreiten von etwa 0,10 nm auf. Sie können also vom Spektrometer nicht weiter aufgelöst werden.

4.5 Scherkraft-Mikroskopie

Um die Eigenschaften des Scherkraft-Mikroskops zu untersuchen, wurden zwei verschiedene Proben untersucht. Einerseits ein Stempel, der benutzt wird, um Compact Discs (CD) zu pressen und andererseits ein Projektionsmuster, das entsteht, wenn eine Monolage Latexkügelchen auf einen Glaträger aufgebracht, mit Aluminium bedampft und die Latexkügelchen wieder von der Unterlage gelöst werden [4.36].

4.5.1 Messungen bei Raumtemperatur

Die im Folgenden vorgestellten Daten wurden auf einem Test-Stempel zur Herstellung von speziellen CDs gemessen. Die Probe zeigt etwa 80 nm hohe Stege – Trackingspuren – im Abstand von 1,25 μm , zwischen denen sich kleine Erhebungen, die sogenannten Pits, befinden. Die Höhe der Pits beträgt etwa 120 nm.

Abbildung 4.15 zeigt Topographie-Messungen der Probe bei Atmosphärendruck (a) und bei 0,2 Pa (b), sowie eine Raster-Elektronen-Mikroskop-Aufnahme der Probe (c). Die Resonanzfrequenz der Spitze beträgt in beiden Fällen – a und b – 22,4 kHz,¹ die Rastergeschwindigkeit 1 Pixel pro 50 ms. Die Pits und Trackingspuren sind gut aufgelöst zu sehen und es sind nur geringe Verzerrungen zu erkennen. Die Höhengsprünge auf den Trackingspuren in

¹ Es konnte keine Veränderung des Resonanzspektrums der Spitze nach dem Evakuieren festgestellt werden.

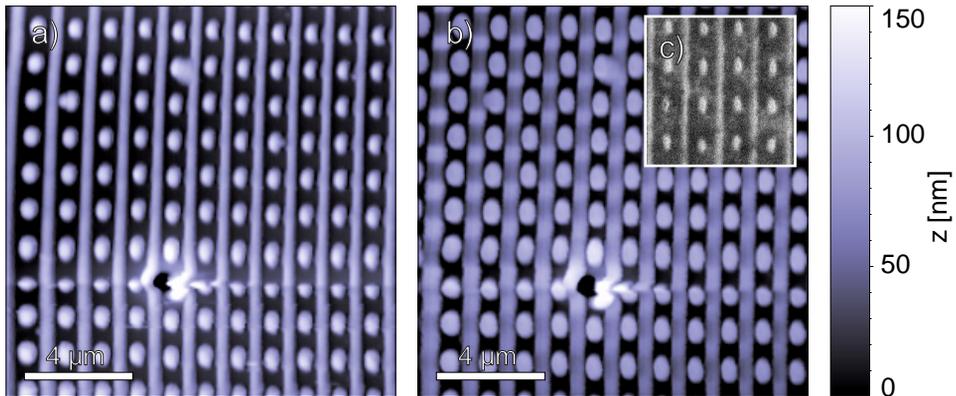


Abbildung 4.15. Topographie-Messungen an einem CD-Stempel mit einer Glasfaser-Spitze. a) bei Atmosphärendruck, b) bei $2 \cdot 10^{-3}$ mbar (0,2 Pa), und c) Raster-Elektronen-Mikroskop-Bild. Das Loch in der Mitte wurde beim manuellen Annähern der Spitze an die Probe erzeugt, wobei die Spitze gebrochen ist. Die Probe wurde von links nach rechts und von unten nach oben abgerastert.

Zeilen mit und ohne Pits – besonders deutlich auf der Trackingspur am linken Rand von Abbildung 4.15b zu sehen – sind ein Artefakt, das durch die Piezoeigenschaften zustande kommt (siehe [4.37]).

4.5.2 Messungen bei tiefer Temperatur

Scherkraft-Messungen wurden bis jetzt nur bei Raumtemperatur – siehe oben – und mit Stickstoffkühlung bei 88 K durchgeführt. Während das Evakuieren keinen messbaren Einfluss auf die Resonanzen der Spitze zeigte, hat das Abkühlen deutliche Einflüsse auf das Resonanzspektrum. Durch das Kühlen reduziert sich die Elastizität der Materialien, was eine Verschiebung der Resonanzen zu höherer Frequenz bewirkt. Zudem werden die Resonanzen schmäler, weil die Dämpfung reduziert wird. Die Dämpfung ändert sich für verschiedene Resonanzen unterschiedlich stark, so dass sich das Tieftemperatur-Resonanzspektrum der Spitze erheblich vom Raumtemperatur-Spektrum unterscheidet, wie in Abbildung 4.16 zu sehen ist.

Die Tieftemperatur-Resonanzen haben einen hohen Gütefaktor Q , der definiert ist als das Verhältnis von 2π mal der im Oszillator gespeicherten Energie zum Energieverlust pro

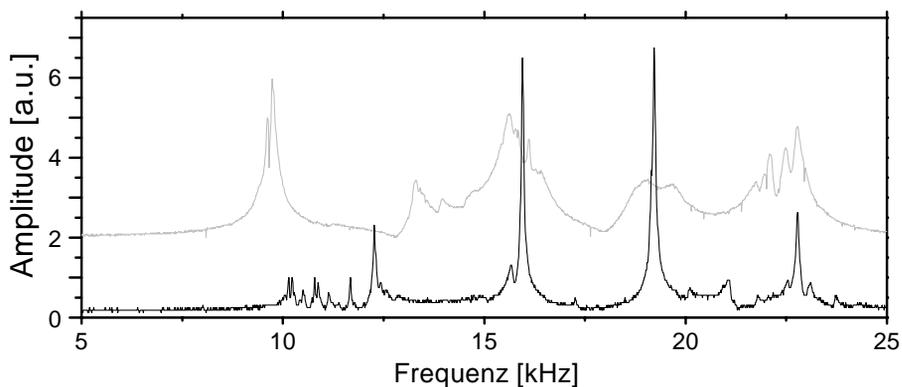


Abbildung 4.16. Resonanzspektrum einer Nahfeldspitze bei Raumtemperatur (oben) und bei 88 K (unten). Zur besseren Lesbarkeit wurde zu den Amplitudenwerten der Raumtemperatur-Kurve zwei addiert.

Schwingungsperiode und proportional ist zu $f/\Delta f$, wobei f die Schwingungsfrequenz und Δf die Halbwertsbreite der Resonanzkurve ist [4.38]. Das bedeutet, dass sich kleine Änderungen der Scherkräfte nur langsam in der Amplitude auswirken, die für die Regelung benutzt wird. Dies erschwert Messungen bei tiefer Temperatur mit Amplitudenregelung, wie in Abbildung 4.17 zu sehen ist. Die Kanten sind weniger scharf als in Abbildung 4.15 und das Rauschen ist größer.

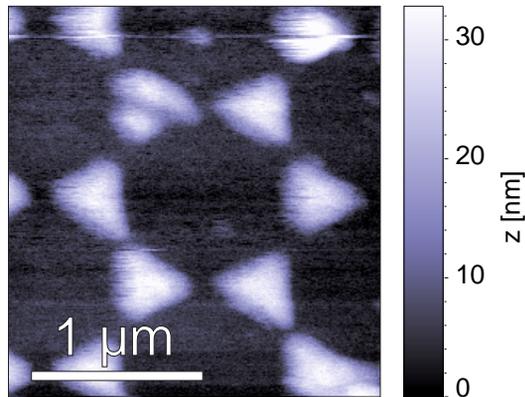


Abbildung 4.17. Scherkraftbild eines Projektionsmusters von Aluminium-Inseln auf Glas bei 88 K (256 × 256 Punkte).

Hier ist eine Scherkraft-Messung bei 88 K an 30 nm hohen Aluminium-Inseln dargestellt, die auf einen Glasträger aufgedampft sind. Die Probe wurde hergestellt, indem eine Monolage von Latexkugeln mit einem Durchmesser von 1,09 µm auf den Glasträger aufgebracht und anschließend mit 30 nm Aluminium bedampft wurde. Die Latexkugeln wurden im Ultraschallbad wieder vom Glasträger gelöst [4.36].

Die Resonanz der hier verwendeten Spitze liegt bei nur 8,37 kHz, was eine kleine Rastergeschwindigkeit bedingt. Diese beträgt bei der dargestellten Messung 1 Punkt pro 12 ms, was 100 Schwingungszyklen der Spitze pro Datenpunkt entspricht. Die Aluminium-Inseln sind gut zu erkennen, obwohl deren Kanten nicht ganz scharf aufgezeichnet sind. Diese Messung zeigt, dass die Scherkraft-Regelung auch bei tiefer Temperatur eingesetzt werden kann. Zur Verbesserung der Tieftemperatur-Scherkraft-Regelung würde sich eine Regelung über die Messung der Frequenz-Verschiebung anbieten (siehe [4.39]).

Es sei hier nochmals erwähnt, dass die hier vorgestellten und weitere Experimente in [4.1] ausführlich besprochen werden.

4.6 Literaturverzeichnis

- [4.1] A. Drechsler, (Dissertation, Universität Siegen, in Vorbereitung).
- [4.2] A. Drechsler, M. A. Lieb, C. Debus, G. Tarrach und A. J. Meixner, "Confocal microscopy with a high numerical aperture parabolic mirror," *Opt. Express*, **11**, 637-644 (2001), <http://www.opticsexpress.org/oearchive/source/37533.htm>.
- [4.3] J. A. Veerman, A. M. Otter, L. Kuipers und N. F. van Hulst, "High definition aperture probes for near-field optical microscopy fabricated by focused ion beam milling," *Appl. Phys. Lett.* **72**, 3115-3117 (1998).
- [4.4] R. Gallacchi, S. Kölsch, H. Kneppel und A. J. Meixner, "Well shaped fibre tips by pulling with a foil heater," *J. Microscopy* **202**, 182-187 (2001).
- [4.5] H. A. Bethe, "Theory of diffraction by small holes," *Phys. Rev.* **66**, 163-182 (1944).
- [4.6] C. J. Bouwkamp, "On Bethes theory of diffraction by small holes," *Philips Res. Rep.* **5**, 321-332 (1950).
- [4.7] C. Obermüller und K. Karrai, "Far-field characterization of diffracting circular apertures," *Appl. Phys. Lett.* **67**, 3408-3410 (1995).
- [4.8] L. Novotny und D. W. Pohl, "Light propagation in scanning near-field optical microscopy. The aperture-SNOM," in *Photons and local probes*, NATO ASI Series, Serie E, Vol. **300**, O. Marti und R. Möller (Herausgeber), (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Niederlande, 1995), Seite 21-33.
- [4.9] L. Novotny, D. W. Pohl und B. Hecht, "Light confinement in scanning near-field optical microscopy," *Ultramicroscopy* **61**, 1-9 (1995).
- [4.10] M. Born und E. Wolf, *Principles of Optics*, 7th edition, (Cambridge Universitiny Press, Cambridge, 1999), Kapitel 8.5.2.
- [4.11] J. D. Jackson, *Classical Electrodynamics*, second edition (John Wiley & Sons, New York, USA, 1975), Kapitel 9.3.
- [4.12] W. Göhde, J. Tittel, T. Basché, C. Bräuchle, U. C. Fischer und H. Fuchs, "A low-temperature scanning confocal and near-field optical microscope," *Rev. Sci. Instrum.* **68**, 2466-2474 (1997).
- [4.13] J.-M. Segura, A. Renn und B. Hecht, "A sample scanning confocal optical microscope for cryogenic operation," *Rev. Sci. Instrum.* **71**, 1706-1711 (2000).
- [4.14] S. Megelski, M. A. Lieb, M. Pauchard, A. Drechsler, S. Glaus, C. Debus, A. J. Meixner und G. Calzaferri, "Orientation of fluorescent dyes in the nano channels of zeolite L," *J. Phys. Chem. B* **105**, 25-35 (2001).
- [4.15] E. V. Shpol'skii und L. A. Klimova, "On the origin of the hyperfine structure in the luminescence spectra of aromatic hydrocarbons at low temperatures," *Opt. Spectrosc.* **7**, 499-500 (1959).
- [4.16] E. V. Shpol'skii, "Line fluorescence spectra of organic compounds and their applications," *Sov. Phys. Usp.* **3**, 372-389 (1960).
- [4.17] E. V. Shpol'skii, "Problems of the origin and structure of the quasilinear spectra of organic compounds at low temperature," *Sov. Phys. Usp.* **5**, 522-531 (1962).
- [4.18] E. V. Shpol'skii, "New data on the nature of the quasilinear spectra of organic compounds," *Sov. Phys. Usp.* **6**, 411-427 (1963).
- [4.19] E. J. Bowen und B. Brocklehurst, "The emission spectra of aromatic hydrocarbons in crystalline paraffins at -180°," *J. Chem. Soc.*, 4320-4331 (1955).
- [4.20] P. Tchénio, A. B. Myers und W. E. Moerner, "Vibrational analysis of the dispersed fluorescence from single molecules of Terrylene in polyethylene," *Chem. Phys. Lett.* **213**, 325-332 (1993).
- [4.21] P. Tchénio, A. B. Myers und W. E. Moerner, "Optical studies of single Terrylene molecules in polyethylene," *J. Luminesc.* **56**, 1-14 (1993).
- [4.22] A. B. Myers, P. Tchénio, M. Z. Zgierski und W. E. Moerner, "Vibronic spectroscopy of individual molecules in solids," *J. Phys. Chem.*, **98**, 10377-10390 (1994).
- [4.23] M. Orrit, J. Bernard, A. Zumbusch und R. I. Personov, "Stark effect on single molecules in a polymer matrix," *Chem. Phys. Lett.* **196**, 595-600 (1992).
- [4.24] L. Fleury, A. Zumbusch, M. Orrit, R. Brown und J. Bernard, "Spectral diffusion and individual two-level systems probed by fluorescence of single Terrylene molecules in a polyethylene matrix," *J. Luminesc.* **56**, 15-28 (1993).
- [4.25] B. Kozankiewicz, J. Bernard und M. Orrit, "Single molecule lines and spectral hole burning of Terrylene in different matrices," *J. Chem. Phys.* **101**, 9377-9383 (1994).
- [4.26] S. Kummer, T. Basché und C. Bräuchle, "Terrylene in *p*-terphenyl: a novel single crystalline system for single molecule spectroscopy at low temperatures," *Chem. Phys. Lett.* **229**, 309-316 (1995) und Erratum, *Chem. Phys. Lett.* **232**, 414 (1995).
- [4.27] S. Kummer, F. Kulzer, R. Kettner, T. Basché, C. Tietz, C. Glowatz und C. Kryschi, "Absorption, excitation, and emission spectroscopy of Terrylene in *p*-terphenyl: Bulk measurements and single molecule studies," *J. Chem. Phys.* **107**, 7673-7684 (1997).
- [4.28] T. Plakhotnik, W. E. Moerner, T. Irngartinger und U. P. Wild, "Single molecule spectroscopy in Shpol'skii matrixes," *Chimia* **48**, 31-32 (1994).
- [4.29] W. E. Moerner, T. Plakhotnik, T. Irngartinger, M. Croci, V. Palm und U. P. Wild, "Optical probing of single molecules of Terrylene in a Shpol'skii matrix: a two-state single-molecule switch," *J. Phys. Chem.* **98**, 7382-7389 (1994).

- [4.30] M. Vacha, Y. Liu, H. Nakatsuka und T. Tani, "Inhomogeneous and single molecule line broadening of Terrylene in a series of crystalline *n*-alkanes," J. Chem. Phys. **106**, 8324-8331 (1997).
- [4.31] T. Irngartinger, A. Renn, G. Zumhofen und U. P. Wild, "Temperature dependence of single-molecule line widths: Terrylene in *n*-alkane matrices," J. Luminesc. **76&77**, 279-282 (1998).
- [4.32] R. Brown und M. Orrit, "Spectral jumps of single molecules," in *Single-molecule optical detection, imaging and spectroscopy*, T. Basché, W. E. Moerner, M. Orrit und U. P. Wild (Herausgeber), (VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Deutschland, 1996).
- [4.33] E.-U. Wallenborn, E. Leontidis, K. Palewska, U. W. Suter und U. P. Wild, "The Shpol'skii system Perylene in *n*-hexane: A computational study of inclusion sites," J. Chem. Phys. **112**, 1995-2002 (2000).
- [4.34] L. Kador, T. Latychevskaia, A. Renn, und U. P. Wild, "Absorption spectroscopy on single molecules in solids," J. Chem. Phys. **111**, 8755-8758 (1999).
- [4.35] W. Demtröder, *Laser Spectroscopy*, 2nd edition, (Springer-Verlag, Berlin, 1996), Kapitel 3.
- [4.36] U. C. Fischer und H. P. Zingsheim, "Submicroscopic pattern replication with visible light," J. Vac. Sci. Technol. **19**, 881-885 (1981).
- [4.37] P. Ge und M. Jouaneh, "Generalized Preisach model for hysteresis nonlinearity of piezoceramic actuators," *Precis. Eng.* **20**, 99 - 111 (1997).
- [4.38] H. Vogel, *Gerthsen Physik*, 20. Auflage, (Springer, Berlin, 1999), Kapitel 4.
- [4.39] T. R. Albrecht, P. Grütter, D. Horne und D. Rugar, "Frequency modulation detection using high-Q cantilevers for enhanced force microscope sensitivity," J. Appl. Phys. **69**, 668-673 (1991).

ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

In dieser Arbeit ist der Aufbau eines konfokalen und nahfeldoptischen Mikroskops für die Einzelmolekül-Spektroskopie bei Temperaturen von 1,8 bis 300 K beschrieben worden. Beim Aufbau des Mikroskops wurde der Gebrauch eines Objektivs bei tiefen Temperaturen mit der Verwendung eines parabolischen Spiegels umgangen, da Objektive unter diesen Bedingungen einige Nachteile besitzen. Insbesondere sind das die kleine NA ($\approx 0,85$), die dadurch bedingt ist, dass keine Immersionsobjektive benutzt werden können, und die Abbildungsfehler im flüssigen Helium aufgrund der fehlenden Korrektur. Diese haben zur Folge, dass die räumliche Auflösung und die Sammeleffizienz für von der Probe gestreutes oder reemittiertes Licht reduziert ist. Der hier benutzte Parabolspiegel hat eine NA von 0,998 und erreicht damit fast die theoretische Grenze von 1,0 für ein optisches System ohne Immersion. Die räumliche Auflösung und die Sammeleffizienz, die theoretisch damit erreicht werden, sind besser als die mit einem Objektiv erreichbaren (siehe Kapitel 2). Eine noch höhere NA erreichen nur Mikroskope, die eine Festkörper-Immersion benutzen. Sie haben aber andere Nachteile, wie im Abschnitt 2.3.2 erläutert wurde. Deshalb wurde der Aufbau mit einem Parabolspiegel gewählt.

In einer theoretischen Abhandlung über die Fokussier-Eigenschaften und die Abbildungs-Eigenschaften wurde gezeigt, dass ein Parabolspiegel mit hoher numerischer Apertur in der Lage ist, Licht besser zu fokussieren als ein Objektiv, da Objektive lediglich einen maximalen Öffnungswinkel von $67,3^\circ$ erreichen, während Parabolspiegel mit größerem Öffnungswinkel gefertigt werden können.

Die Verwendung von radial polarisiertem Licht mit einem Parabolspiegel bietet weitere interessante Möglichkeiten. Im Parabolspiegelfokus entsteht eine intensive, entlang der optischen Achse orientierte Feldkomponente die etwa fünfzehnmal intensiver ist als die ebenfalls vorhandenen Komponenten des Feldes quer zur optischen Achse. Die intensive longitudinale Komponente des elektrischen Feldes im Parabolspiegel kann dazu verwendet werden, um Feldverstärkung an leitenden Spitzen zu erzeugen und die räumliche Auflösung mit dieser Nahfeld-Technik weiter zu verbessern, wie in Kapitel 2.4 besprochen wurde.

Der Einfluss einer Probenoberfläche auf die Feldverteilung im Fokus eines parabolischen Hohlspiegels, wie er beim hier vorgestellten Mikroskop benutzt wird, konnte ebenfalls berechnet werden. Auch unter diesen Umständen kann wegen der großen numerischen Apertur eine bessere Lateralauflösung erreicht werden als mit einem Luftobjektiv. Die Probenoberfläche reduziert jedoch die Tiefenauflösung in der Probe gegenüber einem Immersionsspiegel deutlich.

Mit radial polarisiertem Licht kann über der Probe immer noch ein sehr kleiner Fokus mit einem starken longitudinalen Feld und nur kleinen lateralen Feldkomponenten erzeugt werden. Unter der Probenoberfläche wird die longitudinale Komponente aber deutlich geschwächt.

Mit dem Parabolspiegel kann auch eine größere Sammeleffizienz erzielt werden als mit einem Objektiv. Insbesondere Moleküle, deren Übergangsmoment entlang der optischen Achse orientiert ist, können einerseits besser angeregt werden und andererseits besser detektiert werden. Zur Anregung eignet sich radial polarisiertes Licht besonders, da neben der effizienten Anregung und Detektion auch die Lage des Übergangsdipolmoments aus der Intensitätsverteilung im konfokalen Bild bestimmt werden kann.

Die ausführlichen Berechnungen liefern ein gutes Verständnis der Eigenschaften der Optik des aufgebauten Mikroskops. Sie zeigen die Vorteile, die dieser Typ von Mikroskop besitzt, die zum Teil schon genutzt werden oder in Zukunft genutzt werden können.

Abgesehen von den Eigenschaften, die durch die Verwendung eines Parabolspiegels zustande kommen, zeichnet sich das in dieser Arbeit beschriebene Mikroskop durch weitere vorteilhafte Eigenschaften aus:

- Es kann sowohl als konfokales als auch als nahfeld-optisches Mikroskop betrieben werden. Diese Möglichkeit bieten zwar auch [3.25] und [3.13], sie arbeiten aber mit Objektiven mit kleinerer numerischer Apertur.
- Nahfeld-optische Mikroskope, die Objektive mit hoher NA benutzen, arbeiten in Transmission, während das hier beschriebene Gerät in Reflexion arbeitet. Dies erlaubt es, auch opake Proben zu untersuchen.
- Das Mikroskop besitzt einen Rastertisch mit großem Rasterbereich. (Das konfokale Mikroskop von Orrit und Mitarbeitern, das ebenfalls einen Parabolspiegel mit hoher NA verwendet [3.10], wurde nur zur Spektroskopie und nicht zur Abbildung benutzt.)
- Das Mikroskop besitzt eine Grobpositionierung der Probe bei kryogenen Temperaturen, was nur bei einigen der anderen Tieftemperatur-Geräte vorgesehen ist ([3.8], [3.13], [3.14], [3.16], [3.20], [3.25]).

Die verwendete interferometrische Scherkraft-Detektion hat den Vorteil, dass sie kompakter ist als die übliche Streulichtdetektion, aber den Nachteil, dass sie *im* Kryostaten nachjustiert werden muss. Gegenüber der Detektion mittels Stimmgabel besteht der Vorteil, dass keine tieftemperatur-taugliche Elektronik für den Vorverstärker entwickelt werden musste.

Ein Nachteil des Aufbaus mit Parabolspiegel ist, dass es schwierig ist, einen Spiegel herzustellen, der die bei Objektiven üblichen Toleranzen erreicht. Erschwerend ist zudem, dass die Justage des Anregungslichtes sehr genau erfolgen muss, da die Auflösung durch die starke Koma sonst drastisch verschlechtert wird. Objektive sind hingegen nicht für die Benutzung in verschiedenen Umgebungen ausgelegt. Insbesondere treten im flüssigen Helium mit einem Brechungsindex von 1,028 (gegenüber Luft, $n_L = 1,00029$) Aberrationen auf.

Mit den vorgestellten Experimenten wurden die Eigenschaften und Möglichkeiten des Mikroskops dargestellt. Es wurde gezeigt, dass der Parabolspiegel Abweichungen von der Sollform aufweist und wie diese sich auf die Fokussier- und Sammeleigenschaften des Spiegels auswirken.

Die räumliche Auflösung des Mikroskops erreicht die Beugungsgrenze fast. Die Halbwertsbreite (FWHM) im Fluoreszenzbild einzelner Terrylen-Moleküle beträgt für schwache Anregungsleistungen $0,46 \mu\text{m}$, was etwa $0,8\lambda$ entspricht und um den Faktor 1,6 größer ist als beugungsbegrenzt. Für Tieftemperatur-Anwendungen ist jedoch zu beachten, dass auch mit Standard-Objektiven die Beugungsgrenze nicht mehr erreicht wird (siehe zum Beispiel [4.12]: Halbwertsbreite $\approx 0,8 \lambda$ und [4.13]: Halbwertsbreite_{Terrylen} $\approx 1,4 \lambda$).

Die Sammeleffizienz des Spiegels erreicht die Werte, die angestrebt wurden, nicht ganz. Dies ist ebenfalls die Konsequenz der Abweichungen von der Parabelform und zum Teil auch bedingt durch die großen optischen Wege zwischen Spiegel und Detektor. Durch einen kompakteren Aufbau und eine kleinere Vergrößerung auf dem Detektor sollte es möglich sein, sich wenigstens den Werten anzunähern, die für den Spiegel mit Abweichung berechnet wurden. Eine Reduktion des Kontrasts müsste dafür jedoch in Kauf genommen werden.

Die konfokalen Abbildungen einzelner Moleküle bei tiefer Temperatur zeigen, dass das angestrebte Ziel erreicht werden konnte. Nahfeld-optische Messungen sind bis jetzt noch nicht durchgeführt worden. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die Scherkraft-Regelung bei Raumtemperatur und bei 88 K, sowie im Vakuum benutzt werden kann.

Erste spektroskopische Experimente an einzelnen Molekülen bei tiefer Temperatur zeigen, dass die Detektionseffizienz für viele Experimente ausreicht. Insbesondere macht die Verwendung von Avalanche-Photodioden mit hoher Empfindlichkeit einen Teil des Verlusts wett. Die spektrale Auflösung erreicht die theoretischen Werte fast. Die Abweichungen sind auch hier wenigstens teilweise durch die Abweichungen des Spiegels von seiner Sollform bedingt. Die Lage der Spektrallinien kann aber trotzdem mit der berechneten Auflösung detektiert werden, lediglich die Bestimmung der Breiten der Spektrallinien wird durch die Abbildungsfehler beeinflusst.

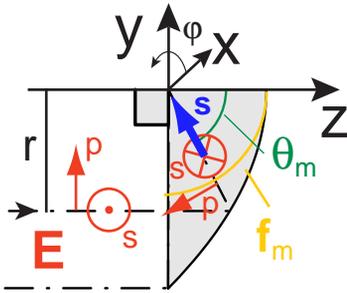
Bei tiefer Temperatur steht somit eine große Palette von Experimenten an einzelnen Molekülen zur Verfügung: Fluoreszenzanregungs-Spektroskopie, quantenoptische Experimente, wie spektrale Diffusion oder Zeitkorrelations-Experimente und Fluoreszenzspektroskopie, alles auch in Abhängigkeit von der Temperatur.

Die theoretischen Möglichkeiten der Parabolspiegeloptik sind noch nicht ausgeschöpft. Ein Spiegel mit geringeren Abweichungen kann noch eine Verbesserung der im konfokalen Betrieb möglichen Auflösung bringen und insbesondere die Sammeleffizienz verbessern. Das starke longitudinale Feld, das bei Verwendung von radial polarisiertem Licht entsteht, wird einerseits die dreidimensionale Orientierungs-Bestimmung einzelner Moleküle ermöglichen. Andererseits wird, unter der zusätzlichen Verwendung von linear polarisiertem Licht, die Untersuchung von Nanopartikeln mit polarisiertem Licht in allen drei Raumrichtungen ermöglicht. Die Anwendung nahfeldoptischer Methoden – sowohl Aperturmethode als auch Feldverstärkung – wird schließlich eine wesentliche Verbesserung der räumlichen Auflösung bringen.

ANHANG

A Berechnung der Diffraktionsintegrale für einen Parabolspiegel

Zur Berechnung der elektrischen Feldkomponenten auf der fokalen Kugel f_m werden die Gesetze der Strahlenoptik benutzt. Aus der nebenstehenden Figur kann man sehen, dass der Vektor \mathbf{s} , der in Propagationsrichtung zeigt, die p-polarisierten und s-polarisierten elektrischen Feldkomponenten \mathbf{E}_p und \mathbf{E}_s nach der Reflexion und der Vektor \mathbf{r}_p , der vom geometrischen Fokus des Spiegels zum Beobachtungspunkt P zeigt, folgendermaßen geschrieben werden können:



$$\begin{aligned} \mathbf{s} &= -(\sin \theta_m \cos \varphi, \sin \theta_m \sin \varphi, \cos \theta_m), \\ \mathbf{E}_p &= E_{0,p} (-\cos \theta_m \cos \varphi, -\cos \theta_m \sin \varphi, \sin \theta_m), \\ \mathbf{E}_s &= E_{0,s} (\sin \varphi, -\cos \varphi, 0), \\ \mathbf{r}_p &= r_p (\sin \theta_p \cos \varphi_p, \sin \theta_p \sin \varphi_p, \cos \theta_p), \end{aligned} \quad (\text{A.1})$$

wobei die Feldkomponenten vor der Reflexion als $E_{0,p}$ und $E_{0,s}$ bezeichnet sind. Zusätzlich muss noch berücksichtigt werden, dass die Energiedichte des einfallenden Feldes gegen den Fokus hin ansteigt. Dieser sogenannte Apodisierungsfaktor kann berechnet werden, indem berücksichtigt wird, dass die Energie, die durch eine infinitesimal kleine Fläche senkrecht zum Strahl fließt, konstant sein muss auf dem Weg zum Fokus¹. Also muss gelten

$$|\mathbf{E}_0(r)|^2 \delta S_0 = |\mathbf{E}(\theta)|^2 \delta S, \quad (\text{A.2})$$

wobei $|\mathbf{E}_0|$ der Betrag des Feldes vor der Reflexion und $|\mathbf{E}|$ nach der Reflexion ist, r der Abstand von der optischen Achse und δS_0 und δS infinitesimale ringförmige Flächenelemente im Objekt und Bildraum sind. Die ringförmigen Flächenelemente sind dabei:

$$\begin{aligned} \delta S_0 &= 2\pi r \delta r = 2\pi f^2 (2 \tan \theta/2) \cos^{-2} \theta/2, \\ \delta S &= 2\pi f^2 \sin \theta \delta \theta \end{aligned} \quad (\text{A.3})$$

wobei der Zusammenhang $r = 2f \tan(\theta/2)$, der für den Parabolspiegel gilt, ausgenutzt wurde. Durch Einsetzen von A.3 in A.2 kann nun der Apodisierungsfaktor berechnet werden:

$$E(\theta) = E_0(2f \tan \theta/2) \cdot \left| \frac{1}{\cos^4 \theta/2} \right|^{1/2} = E_0(2f \tan \theta/2) \cdot \frac{2}{(1 + \cos \theta)} \quad (\text{A.4})$$

Für linear entlang der x-Achse polarisiertes Licht sind die p- und s-polarisierten Anteile $E_{0,p} = \cos \varphi I_0(\theta)$ und $E_{0,s} = -\sin \varphi I_0(\theta)$, wobei $I_0(\theta)$ die Feldverteilung im einfallenden Strahl ist. Die Feldkomponenten auf der fokalen Kugel f_m sind dann also

¹ Die folgende Berechnung der Apodisierungsfunktion folgt der allgemeineren bei Stamnes [A.1]. Dort wird auch der Apodisierungsfaktor für das aplanatische Objektiv hergeleitet.

$$\mathbf{E}_f = \frac{2I_0(\theta)}{1 + \cos \theta_m} \begin{bmatrix} -\frac{1}{2}[(1 + \cos \theta_m) + (1 - \cos \theta_m) \cos 2\varphi] \\ \frac{1}{2}(1 - \cos \theta_m) \sin 2\varphi \\ \sin \theta_m \cos \varphi \end{bmatrix} \quad (\text{A.5})$$

unter Vernachlässigung eines konstanten Phasenterms, der durch die gesamte Weglänge zustande kommt. Für radial polarisiertes Licht hat der einfallende Strahl keine s-polarisierten Anteile, das heißt $E_{0,s} = 0$ und $E_{0,p} = I_0(\theta)$. Die Feldkomponenten auf der fokalen Kugel sind dann:

$$\mathbf{E}_f = -\frac{2I_0(\theta)}{1 + \cos \theta_m} \begin{bmatrix} \cos \theta_m \cos \varphi \\ \cos \theta_m \sin \varphi \\ -\sin \theta_m \end{bmatrix} \quad (\text{A.6})$$

Durch Ausmultiplizieren von $\mathbf{s} \cdot \mathbf{r}_p$ im Exponentialterm von Gleichung (2.1) erhält man

$$\exp[i k \mathbf{s} \cdot \mathbf{r}_p] = \exp[-i k \cos \theta \cos \theta_p] \cdot \exp[-i k \sin \theta \sin \theta_p \cos(\varphi - \varphi_p)] \quad (\text{A.7})$$

Durch Anwendung der folgenden Identitäten [A.2] können nun aus den Gleichungen (2.1), (A.5), (A.6) und (A.7) die Gleichungen (2.2) und (2.3) für lineare Polarisation sowie (2.4) und (2.5) für radiale Polarisation berechnet werden:

$$\begin{aligned} \int_0^{2\pi} \cos(n\varphi) \exp(i \rho \cos(\varphi - \phi)) d\varphi &= 2\pi i^n J_n(\rho) \cos(n\phi), \\ \int_0^{2\pi} \sin(n\varphi) \exp(i \rho \cos(\varphi - \phi)) d\varphi &= 2\pi i^n J_n(\rho) \sin(n\phi). \end{aligned} \quad (\text{A.8})$$

B Feldkomponenten und Diffraktionsintegrale für ein Objektiv

Die Berechnung der Feldkomponenten in der Nähe des Fokusses eines aplanatischen Objektivs für entlang der x-Achse linear polarisiertes Licht findet man bei Richards und Wolf [A.2] oder bei Stammes [A.1]. Sie werden analog der im Anhang A für einen Parabolspiegel vorgeführten Berechnung hergeleitet und ergeben:

$$\begin{aligned} E_x &= -\frac{ikf}{2} (I_{0,l} + I_{2,l} \cos 2\varphi_p), \\ E_y &= -\frac{ikf}{2} I_{2,l} \sin 2\varphi_p, \\ E_z &= -kf I_{1,l} \cos \varphi_p. \end{aligned} \quad (\text{A.9})$$

Die Integrale $I_{0,l}$, $I_{1,l}$ und $I_{2,l}$ sind dabei folgendermaßen definiert:

$$\begin{aligned}
I_{0,l} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} l_0(\theta) \sqrt{\cos \theta} \sin \theta (1 + \cos \theta) J_0(kr_p \sin \theta \sin \theta_p) e^{ikr_p \cos \theta \cos \theta_p} d\theta, \\
I_{1,l} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} l_0(\theta) \sqrt{\cos \theta} \sin^2 \theta J_1(kr_p \sin \theta \sin \theta_p) e^{ikr_p \cos \theta \cos \theta_p} d\theta, \\
I_{2,l} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} l_0(\theta) \sqrt{\cos \theta} \sin \theta (1 - \cos \theta) J_2(kr_p \sin \theta \sin \theta_p) e^{ikr_p \cos \theta \cos \theta_p} d\theta, \\
l_0(\theta) &= N \exp\left(-\frac{r^2(\theta)}{w_0^2}\right),
\end{aligned} \tag{A.10}$$

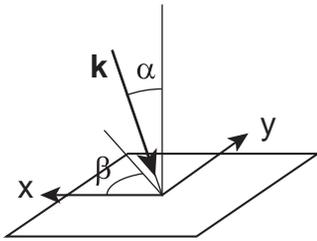
mit den gleichen Bezeichnungen wie in Abschnitt 2.2.1.1, Seite 20.
Für radiale Polarisation erhält man gemäß [A.3]:

$$\begin{aligned}
E_r &= -kf I_{1,r}, \\
E_a &= 0, \\
E_z &= -ikf I_{0,r}
\end{aligned} \tag{A.11}$$

mit den Integralen:

$$\begin{aligned}
I_{0,r} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} l_0(\theta) \sqrt{\cos \theta} \sin^2 \theta J_0(kr_p \sin \theta \sin \theta_p) e^{ikr_p \cos \theta \cos \theta_p} d\theta, \\
I_{1,r} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} l_0(\theta) \sqrt{\cos^3 \theta} \sin \theta J_1(kr_p \sin \theta \sin \theta_p) e^{ikr_p \cos \theta \cos \theta_p} d\theta, \\
l_0(\theta) &= N \exp\left(-\frac{r^2(\theta)}{w_0^2}\right) J_1\left(2\frac{r(\theta)}{w_0}\right)
\end{aligned} \tag{A.12}$$

C Diffraktionsintegrale für nicht achsenparallele Beleuchtung



In Kapitel 2.2.1.3 wird erwähnt, dass zur Berechnung der Felder in der Umgebung des Fokus bei nicht achsenparalleler Beleuchtung der zusätzliche Phasenterm $\exp(-i\Phi) = \exp(-ik2f \tan(\theta/2) \cos \varphi \tan \alpha)$ berücksichtigt werden muss. Dieser beschreibt die Phasenverschiebungen durch die gekippte Wellenfront. Dabei ist k die Wellenzahl, f die Brennweite, φ der Azimutwinkel und θ der Polarwinkel im Spiegel und α der Winkel, um den die Wellenfront in Richtung der positiven x -Achse verkippt ist. Hier soll der allgemeinere Fall besprochen werden, dass die Wellenfront in eine beliebige Richtung gekippt sein darf. Die Verkipfung kann dann durch einen Polarwinkel α und einen Azimutwinkel β beschrieben werden (siehe Abbildung). Dabei ändert sich der Phasenterm zu $\exp(-i\Phi) = \exp(-ik2f \tan(\theta/2) \cos(\varphi - \beta) \tan \alpha)$. Die Integration über den Azimutwinkel φ ist jetzt nicht mehr direkt analytisch lösbar (siehe Anhang A). Hier soll gezeigt werden, wie die Integration trotzdem analytisch gelöst werden kann. Der gesamte Phasenterm ist für nicht achsenparallele Beleuchtung (siehe auch Anhang A)

$$\exp(-i\Phi_{tot}) = \exp(-ik(\mathbf{r} \cdot \mathbf{s} + 2f \tan \theta/2 \cos(\varphi - \beta) \tan \alpha)) \tag{A.13}$$

wobei \mathbf{r} der Ortsvektor des Punktes ist, für den das elektrische Feld berechnet werden soll. Mit der Definition von $\mathbf{r} = (r_x, r_y, r_z)$ und $\mathbf{s} = (\sin\theta \cos\varphi, \sin\theta \sin\varphi, \cos\theta)$. Durch Vergleich sieht man, dass durch geeignete Wahl eines anderen Punktes $\mathbf{r}_l = (r_{xl}, r_{yl}, r_{zl})$ der gleiche Phasenterm erzeugt werden kann, nämlich für

$$\begin{aligned} r_{x1} &= (r_x \sin\theta + 2f \tan\frac{\theta}{2} \tan\alpha \cos\beta) / \sin\theta \\ r_{y1} &= (r_y \sin\theta + 2f \tan\frac{\theta}{2} \tan\alpha \sin\beta) / \sin\theta \\ r_{z1} &= r_z \end{aligned} \quad (\text{A.14})$$

Mit dieser Wahl des Punktes erhält man den gleichen Phasenterm und die Integration über den Azimutwinkel φ kann wie im Anhang A in Gleichung (A.8) erklärt durchgeführt werden. Zu bemerken ist noch, dass die Wahl von \mathbf{r}_l vom Polarwinkel θ abhängig ist.

D Das Feld eines Dipols, der durch ein Objektiv abgebildet wird

Zur Herleitung der Gleichung für die elektrischen Feldkomponenten, die ein Dipolstrahler, der im Fokus eines Objektivs mit hoher numerischer Apertur liegt, im Bildfokus erzeugt, geht man gleich vor wie in Kapitel 2.2.2.1 Man erhält dann:

$$\begin{aligned} \mathbf{E}(\mathbf{r}_o) = & -\frac{i k_0^3 f_o}{\sqrt{16\pi^3 \epsilon_o}} \int_{\theta_{o,\min}}^{\theta_{o,\max}} \int_0^{2\pi} \sqrt{\frac{\cos\theta_o}{\cos\theta_m}} \left[(\mathbf{p} \cdot \mathbf{e}_{m,\parallel}) \mathbf{e}_{o,\parallel} + \right. \\ & \left. (\mathbf{p} \cdot \mathbf{e}_{\perp}) \mathbf{e}_{\perp} \right] \cdot \exp(i k_0 (\mathbf{r}_o \mathbf{s}_o - n_m \mathbf{r}_m \mathbf{s}_m)) \sin\theta_o \, d\theta_o \, d\varphi \end{aligned} \quad (\text{A.15})$$

wobei hier der Index m für das Sammelobjektiv¹ mit der hohen numerischen Apertur steht, das die Stelle des Parabolspiegels einnimmt, und der Index o für das abbildende Objektiv. Bis auf die Einheitsvektoren, die wie folgt definiert sind, sind die Bezeichnungen gleich wie für den Parabolspiegel (Kapitel 2.2.2.1).

$$\begin{aligned} \mathbf{e}_{\perp} &= (-\sin\varphi, \cos\varphi, 0), \\ \mathbf{e}_{m,\parallel} &= -(\cos\theta_m \cos\varphi, \cos\theta_m \sin\varphi, -\sin\theta_m), \\ \mathbf{e}_{o,\parallel} &= -(\cos\theta_o \cos\varphi, \cos\theta_o \sin\varphi, \sin\theta_o), \\ \mathbf{s}_m &= (\sin\theta_m \cos\varphi, \sin\theta_m \sin\varphi, \cos\theta_m), \\ \mathbf{s}_o &= -(\sin\theta_o \cos\varphi, \sin\theta_o \sin\varphi, -\cos\theta_o). \end{aligned} \quad (\text{A.16})$$

Für die Integrationsgrenzen erhält man hier:

$$\begin{aligned} \theta_m &= \arcsin(M \sin\theta_o), \\ \theta_{o,\max} &= \arcsin\left(\frac{1}{M} \cdot NA_m / n_m\right), \\ \theta_{o,\min} &= \arcsin(r_{Probe} / f_o). \end{aligned} \quad (\text{A.17})$$

¹ Man vergleiche hier auch nochmals mit der Abbildung 2.10. Der einzige Unterschied ist, dass für das Objektiv der Winkel θ_m von der positiven z-Achse aus gemessen wird.

Es lässt sich die Vereinfachung nutzen [A.4], dass der Effekt einer Verschiebung \mathbf{r}_m des Dipols weg von der optischen Achse dadurch erzeugt werden kann, dass das Bild des Dipols im Fokus um $-M n_m \mathbf{r}_m$ verschoben wird¹.

E Der Exponentialterm in den Feldkomponenten des Bildes eines Dipols

Zur Herleitung des Exponentialterms in den Gleichungen für das Feld eines Dipols im Bildfokus (Gleichungen (2.7) und (A.15)) muss die Annahme gemacht werden, dass die Fläche, durch die das Licht das Sammelement verlässt, senkrecht zur optischen Achse steht. Diese Annahme ist für einen Immersionsspiegel sicher vernünftig und für ein aplanatisches Objektiv stellt es keine wesentliche Einschränkung dar. Der Einfluss der Verschiebung des Moleküls aus dem geometrischen Fokus wird näherungsweise für kleine Verschiebungen nur in der Phase berücksichtigt. Die Wegdifferenz der Wellenfront Δw auf der fokalen Kugel durch eine Verschiebung des Dipols ist

$$\Delta w = - \mathbf{r}_m \mathbf{s}_m,$$

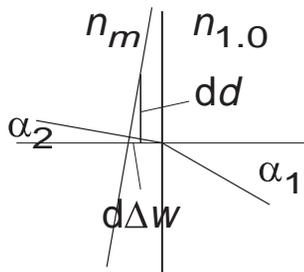
wobei \mathbf{s}_m ein Einheitsvektor vom geometrischen Fokus zur fokalen Kugel und \mathbf{r}_m der Vektor vom geometrischen Fokus zum Ort des Dipols ist. Die beiden Vektoren können dann mit dem Polarwinkel θ und dem Azimutwinkel φ in kartesischen Koordinaten folgendermaßen geschrieben werden:

$$\begin{aligned} \mathbf{s}_m &= (\sin \theta \cos \varphi, \sin \theta \sin \varphi, \cos \theta), \\ \mathbf{r}_m &= r_P (\sin \theta_P \cos \varphi_P, \sin \theta_P \sin \varphi_P, \cos \theta_P), \end{aligned} \tag{A.18}$$

wobei der Index P für den Ort des Dipols steht. Damit ergibt sich für die Wegdifferenz

$$\Delta w = - r_0 [\cos \theta \cos \theta_P + \cos(\varphi - \varphi_P) \sin \theta \sin \theta_P].$$

Diese Wegdifferenz wird durch die Optik auf die Austrittspupille übertragen. Die Übertragungsfunktion sei als $g(\theta)$ bezeichnet, so dass der Abstand d eines Strahls von der optischen Achse nach Verlassen der Sammeloptik näherungsweise für kleine \mathbf{r}_m mit $d = f g(\theta)$ gegeben ist, wobei f die Brennweite ist². Damit kann θ als Funktion von d ausgedrückt werden: $\theta = g^{-1}(d/f)$. Der Winkel α_2 , unter dem das Licht die als senkrecht zur optischen Achse angenommene Grenzfläche erreicht, kann folgendermaßen berechnet werden, wie in der nebenstehenden Skizze zu sehen ist:



$$d\Delta w / dd = \tan \alpha_2 \approx \sin \alpha_2.$$

Mit Hilfe des Snellius'schen Gesetzes berechnet man daraus den Winkel α_1 , unter dem das Licht aus dem höher brechenden Material austritt:

$$\sin \alpha_1 = n_m \sin \alpha_2 \approx n_m d\Delta w / dd.$$

Die Ableitung $d\Delta w / dd$ kann berechnet werden und ergibt:

$$d\Delta w / dd = - r_0 d([\cos \theta \cos \theta_P + \cos(\varphi - \varphi_P) \sin \theta \sin \theta_P]) / dd.$$

Damit gilt also:

$$\sin \alpha_1 \approx - n_m r_0 d([\cos \theta \cos \theta_P + \cos(\varphi - \varphi_P) \sin \theta \sin \theta_P]) / dd.$$

Das wiederum ist gerade der Winkel α_1 , unter dem das Licht die Sammeloptik verlässt, wenn das umgebende Medium den Brechungsindex $n_m = 1,0$ hat und der Dipol um $n_m \mathbf{r}_m$ aus dem

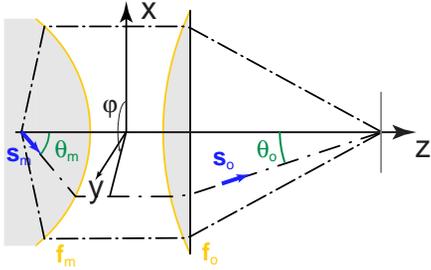
¹ Siehe Anhang F.

² Für einen Parabolspiegel ist $g(\theta) = 2 \tan(\theta/2)$, für ein aplanatisches Objektiv gilt $g(\theta) = \sin(\theta)$.

Fokus verschoben wird. Aus der Wegdifferenz Δw wird der Phasenterm in den Gleichungen (2.7) und (A.15) berechnet:

$$\Phi = k \Delta w = -k n_m \mathbf{r}_m \mathbf{s}_m.$$

F Herleitung der Longitudinal- und Lateralvergrößerung



Objektiv Linse Bildebene

Hier soll die in Abschnitt 2.2.2.1 und im Anhang D erwähnte Vereinfachung für ein Objektiv, dass der Effekt der Bewegung eines Dipolstrahlers um \mathbf{r}_m aus dem Fokus, weg von der optischen Achse, dadurch erzeugt werden kann, indem das Bild des Dipols *im* Fokus um $\mathbf{r}_o' = -M n_m \mathbf{r}_m$ verschoben wird, hergeleitet werden. Die elektrischen Feldkomponenten im Bildraum für verschiedene Positionen des Dipolstrahlers im Objektraum unterscheiden sich gemäß Gleichung (A.15) nur im

Exponentialterm: $\Phi = k (\mathbf{r}_o' \mathbf{s}_o - n_m \mathbf{r}_m \mathbf{s}_m)$. Wenn der Dipolstrahler im Fokus liegt, ist $\mathbf{r}_m = 0$. Wird der Dipol verschoben, so wird also ein Vektor \mathbf{r}_o' gesucht, der zu \mathbf{r}_o addiert werden kann, sodass $\mathbf{r}_o' \mathbf{s}_o - n_m \mathbf{r}_m \mathbf{s}_m = 0$ ist. \mathbf{s}_m sei ein Einheitsvektor, der vom Fokus des Objektivs zur fokalen Kugel f_m zeigt und \mathbf{s}_o ein Einheitsvektor, der von der fokalen Kugel der Linse f_o zum Bildfokus zeigt, wie in der obenstehenden Abbildung dargestellt ist. Die vier Vektoren lassen sich dann folgendermaßen schreiben:

$$\begin{aligned} \mathbf{s}_m &= (\sin \theta_m \cos \phi, \sin \theta_m \sin \phi, \cos \theta_m) \\ \mathbf{r}_m &= r_q (\sin \vartheta_q \cos \phi, \sin \vartheta_q \sin \phi, \cos \vartheta_q) \\ \mathbf{s}_o &= -(\sin \theta_o \cos \phi, \sin \theta_o \sin \phi, -\cos \theta_o) \\ \mathbf{r}_o' &= R_b (\sin \vartheta_b \cos \phi, \sin \vartheta_b \sin \phi, \cos \vartheta_b), \end{aligned} \quad (\text{A.19})$$

wobei ϑ und ϕ für die Polar- und Azimutwinkel der Vektoren \mathbf{r}_m und \mathbf{r}_o' in Kugelkoordinaten stehen. Die Indizes q und b stehen zur besseren Unterscheidung für Quell- und Bildgebiet. Nach Vereinfachung von $\Phi/k = (\mathbf{r}_o' \mathbf{s}_o - n_m \mathbf{r}_m \mathbf{s}_m)$ erhält man:

$$\begin{aligned} \Phi/k &= R_b \cos \theta_o \cos \vartheta_b - n_m r_q \cos \theta_m \cos \vartheta_q - \\ &\quad \cos(\phi - \phi) \cdot (R_b \sin \theta_o \sin \vartheta_b - n_m r_q \sin \theta_m \sin \vartheta_q) \end{aligned} \quad (\text{A.20})$$

Jetzt wird der Zusammenhang $\sin \theta_m = M \sin \theta_o$ benutzt, der für ein aplanatisches Objektiv gilt, wobei M die Vergrößerung ist, die als das Verhältnis der Brennweiten definiert ist: $M = f_o/f_m$. Damit vereinfacht sich Gleichung (A.20) zu

$$\begin{aligned} \Phi/k &= R_b \cos \theta_o \cos \vartheta_b - n_m r_q \cos \theta_m \cos \vartheta_q - \\ &\quad \cos(\phi - \phi) \sin \theta_o \cdot (R_b \sin \vartheta_b - n_m r_q M \sin \vartheta_q) \end{aligned} \quad (\text{A.21})$$

Jetzt werden folgende Fälle unterschieden: a) Der Dipolstrahler wird senkrecht zur optischen Achse aus dem Fokus geschoben. Es handelt sich also um eine reine Transversalverschiebung. Damit ist $\vartheta_q = 90^\circ$. Wenn $\mathbf{r}_o' = -M n_m \mathbf{r}_m$ gewählt wird, dann ist auch $\vartheta_b = 90^\circ$ und damit $\Phi/k = 0$. Diese Wahl von \mathbf{r}_o' hat also die geforderte Eigenschaft.

b) Der Dipolstrahler wird entlang der optischen Achse aus dem Fokus verschoben. Dann wird $\vartheta_q = 0$. Aus Symmetriegründen muss auch $\vartheta_b = 0$ sein, das heißt der Bildfokus verschiebt sich ebenfalls auf der optischen Achse. Gleichung (A.21) vereinfacht sich damit zu

$$\Phi / k = R_b \cos \theta_o - n_m r_q \cos \theta_m. \quad (\text{A.22})$$

Wird nochmals $\sin \theta_m = M \sin \theta_o$ und $\cos \theta = \sqrt{1 - \sin^2 \theta}$ benutzt und anschließend das Resultat nach Potenzen von $\sin \theta_o$ entwickelt, so erhält man:

$$\Phi / k = (R_b - n_m r_q) - \frac{1}{2} (R_b - M^2 n_m r_q) \sin^2 \theta_o - \frac{1}{8} (R_b - M^4 n_m r_q) \sin^4 \theta_o + \dots \quad (\text{A.23})$$

Der erste Term ist eine konstante Phase, die die Wegdifferenz berücksichtigt, für die Intensitätsverteilung also unerheblich ist. Der zweite Term führt zur Wahl von $\mathbf{r}_o' = M^2 n_m \mathbf{r}_m$. Wenn $\sin \theta_o$ klein ist, führt diese Wahl zum gewünschten Effekt. Ist $\sin \theta_o$ nicht klein genug, so gibt es keine Lösung mehr für das Problem.

Für ein aplanatisches Objektiv lässt sich also eine transversale Verschiebung \mathbf{r}_m des Dipolstrahlers durch eine transversale Verschiebung der Bild-Feldverteilung um $\mathbf{r}_o' = -M n_m \mathbf{r}_m$ erzeugen und eine longitudinale Verschiebung \mathbf{r}_m kann für kleine numerische Aperturen auf der Bildseite durch eine longitudinale Verschiebung der Bild-Feldverteilung um $\mathbf{r}_o' = M^2 n_m \mathbf{r}_m$ erzeugt werden. Damit lassen sich die Berechnungen der Sammeleffizienz-Funktion vereinfachen.

G Die Diffraktionsintegrale für einen Dipol im Parabolspiegel

Gleichung (2.7) beschreibt, wie das elektrische Feld eines Dipols, der in der Nähe des Parabolspiegel-Fokusses liegt, in der Nähe des geometrischen Fokusses der Tubuslinse berechnet werden kann. Die Gleichung lautet

$$\mathbf{E}(\mathbf{r}_o) = -\frac{i k_0^3 f_o}{\sqrt{16\pi^3 \epsilon_o}} \int_{\theta_{o,\min}}^{\theta_{o,\max}} \int_0^{2\pi} \frac{(1 + \cos \theta_m)}{2 f_m} \sqrt{\cos \theta_o} \left[(\mathbf{p} \cdot \mathbf{e}_{m,\parallel}) \mathbf{e}_{o,\parallel} - (\mathbf{p} \cdot \mathbf{e}_{\perp}) \mathbf{e}_{\perp} \right] \cdot \exp(i k_0 (\mathbf{r}_o \mathbf{s}_o - n_m \mathbf{r}_m \mathbf{s}_m)) \sin \theta_o \, d\theta_o \, d\varphi \quad (\text{A.24})$$

wobei f_m und f_o die Brennweiten von Spiegel und Abbildungsobjektiv sind. Eine schematische Darstellung der Abbildungsgeometrie mit den Winkeln θ_m und θ_o ist in Abbildung 2.10 gezeigt. k_0 ist die Vakuum-Wellenzahl, n_m der Brechungsindex des Spiegelmaterials, \mathbf{r}_m ist der Vektor vom geometrischen Fokus des Spiegels zum Ort des Dipols und \mathbf{r}_o der Vektor, der vom geometrischen Fokus des Abbildungsobjektivs zum Beobachtungspunkt P zeigt. Die Einheitsvektoren \mathbf{e}_{\perp} , $\mathbf{e}_{m,\parallel}$, $\mathbf{e}_{o,\parallel}$, \mathbf{s}_m und \mathbf{s}_o sind gemäß Gleichung (2.8) definiert.

Auch hier kann die Integration über den Azimutwinkel φ analytisch ausgeführt werden, indem der eigentliche Punkt \mathbf{r}_o , an dem das Feld berechnet werden soll, geeignet ersetzt wird, um einen integrierbaren Exponentialterm zu erhalten. Die gleichen Überlegungen wie in Anhang C führen hier zur Wahl des Ersatzpunktes \mathbf{r}_{oJ} :

$$\begin{aligned} r_{ox1} &= (n_m r_{mx} \sin \theta_m + r_{ox} \sin \theta_o) / \sin \theta_o, \\ r_{oy1} &= (n_m r_{my} \sin \theta_m + r_{oy} \sin \theta_o) / \sin \theta_o, \\ r_{oz1} &= (n_m r_{mz} \cos \theta_m + r_{oz} \cos \theta_o) / \cos \theta_o, \end{aligned} \quad (\text{A.25})$$

Damit wird Gleichung (A.24) bezüglich φ analytisch integrierbar und man erhält unter mehrfacher Verwendung der Identität (A.8):

$$\begin{aligned} E_x &= I_{0,1} \cos \beta - i I_{1,1} \cos \varphi_{P_1} + I_2 (\cos \beta \cos 2\varphi_{P_1} + \sin \beta \sin 2\varphi_{P_1}), \\ E_y &= I_{0,1} \sin \beta - i I_{1,1} \sin \varphi_{P_1} + I_2 (\cos \beta \cos 2\varphi_{P_1} + \sin \beta \sin 2\varphi_{P_1}), \\ E_z &= -I_{0,2} + i I_{1,2} (\cos \beta \cos \varphi_{P_1} + \sin \beta \sin \varphi_{P_1}) \end{aligned} \quad (\text{A.26})$$

mit den Integralen:

$$\begin{aligned} I_{0,1} &= \int_0^{\theta_{o,\max}} \frac{c}{2} (1 + \cos \theta_m \cos \theta_o) \sin \alpha J_0(a) e^{-ib} d\theta_o, \\ I_{0,2} &= \int_0^{\theta_{o,\max}} c \sin \theta_m \sin \theta_o \cos \alpha J_0(a) e^{-ib} d\theta_o, \\ I_{1,1} &= \int_0^{\theta_{o,\max}} c \sin \theta_m \cos \theta_o \cos \alpha J_1(a) e^{-ib} d\theta_o, \\ I_{1,2} &= \int_0^{\theta_{o,\max}} c \cos \theta_m \sin \theta_o \sin \alpha J_1(a) e^{-ib} d\theta_o, \\ I_2 &= \int_0^{\theta_{o,\max}} \frac{c}{2} (1 - \cos \theta_m \cos \theta_o) \sin \alpha J_2(a) e^{-ib} d\theta_o, \end{aligned} \quad (\text{A.27})$$

mit folgenden Definitionen:

$$\begin{aligned} \theta_m &= 2 \arctan\left(\frac{M}{2} \sin \theta_o\right), \\ a &= -k r_{P_1} \sin \theta_o \sin \theta_{P_1}, \\ b &= -k r_{P_1} \cos \theta_o \cos \theta_{P_1}, \\ c &= i \frac{k^3 f_o p}{2 f_m} \sqrt{\frac{\cos \theta_o}{4\pi\epsilon_0}} (1 + \cos \theta_m) \sin \theta_o. \end{aligned} \quad (\text{A.28})$$

Dabei sind r_{P_1} , θ_{P_1} und φ_{P_1} die Polarkoordinaten des Ersatzpunktes \mathbf{r}_{o1} , die von θ_m und dem Ort \mathbf{r}_m des Dipols abhängig sind. α ist der Polarwinkel und β der Azimutwinkel der Dipolorientierung und p das Dipolmoment.

Analog berechnet man die Felder im Falle des aplanatischen Objektivs, siehe [A.5], [A.6].

H Fokussierung durch eine Grenzfläche

Befindet sich eine ebene Grenzfläche zwischen zwei Dielektrika mit den Brechungsindizes n_1 und n_2 im Fokus bei $z = 0$, so müssen die oben berechneten Formeln erweitert werden. Das Feld an einem Punkt P in der Nähe des Fokusses setzt sich dann aus dem einfallenden und dem reflektierten Feld zusammen, oder es ist das transmittierte Feld, je nach Lage von P :

$$\mathbf{E} = \begin{cases} \mathbf{E}_i + \mathbf{E}_r & z > 0 \\ \mathbf{E}_t & z < 0 \end{cases} \quad (\text{A.29})$$

In der Debye-Näherung [A.7] wird eine Zerlegung des einfallenden elektrischen Feldes in ein Winkelspektrum von ebenen Wellen gemacht. Diese interferieren im Fokus. Befindet sich nun eine ebene dielektrische Grenzfläche im Fokus, so kann deren Einfluss unter Anwendung

der Fresnelschen Reflexions- und Transmissions-Koeffizienten und des Snellius'schen Brechungsgesetzes berechnet werden.

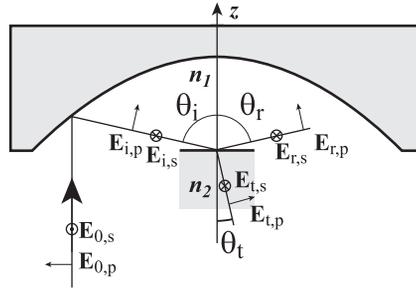


Abbildung A.1. Elektrische Felder und Winkel bei der Fokussierung durch eine Grenzfläche.

Abbildung A.1 zeigt die geometrischen Verhältnisse, die Winkel und Felder, die für die Berechnung benötigt werden. Das einfallende elektrische Feld \mathbf{E}_0 wird in eine p-polarisierte (parallel zur Einfallsebene) Komponente $\mathbf{E}_{0,p}$ und eine s-polarisierte (senkrecht zur Einfallsebene) Komponente $\mathbf{E}_{0,s}$ zerlegt. Wenn in kartesischen Koordinaten $\mathbf{E}_0 = (E_{0,x}, E_{0,y}, 0)$ ist, dann gilt für die Amplituden

$$\begin{aligned} E_{0,p} &= E_{0,x} \cos \varphi + E_{0,y} \sin \varphi, \\ E_{0,s} &= -E_{0,x} \sin \varphi + E_{0,y} \cos \varphi. \end{aligned} \tag{A.30}$$

Da der Spiegel als ideal reflektierend angenommen wird, ändert sich an den Beträgen durch die Reflexion am Spiegel nichts, es gilt somit $E_{i,p} = E_{0,p}$ und $E_{i,s} = -E_{0,s}$ wegen des Phasen Sprungs von π . Die Winkelspektren der drei Felder, des einfallenden, des reflektierten und des transmittierten, sind in kartesischen Koordinaten:

$$\begin{aligned} \mathbf{E}_i &= (-\cos \theta \cos \varphi, -\cos \theta \sin \varphi, \sin \theta) \cdot E_{0,p} + (\sin \varphi, -\cos \varphi, 0) \cdot E_{0,s}, \\ \mathbf{E}_r &= (\cos \theta \cos \varphi, \cos \theta \sin \varphi, \sin \theta) \cdot E_{0,p} \cdot r_p + (\sin \varphi, -\cos \varphi, 0) \cdot E_{0,s} \cdot r_s, \\ \mathbf{E}_t &= (-\cos \theta_t \cos \varphi, -\cos \theta_t \sin \varphi, \sin \theta_t) \cdot E_{0,p} \cdot t_p + (\sin \varphi, -\cos \varphi, 0) \cdot E_{0,s} \cdot t_s, \end{aligned} \tag{A.31}$$

mit den Reflexions- und Transmissions-Koeffizienten r_p, r_s, t_p und t_s , wie sie in [A.8] oder [A.9] nachgeschlagen werden können¹. Mit dem Snellius'schen Gesetz können die Winkel funktionen von θ bestimmt werden:

$$\begin{aligned} \sin \theta_t &= \frac{n_1}{n_2} \sin \theta \\ \cos \theta_t &= \sqrt{1 - \left(\frac{n_1}{n_2} \sin \theta\right)^2} \end{aligned} \tag{A.32}$$

Hier ist zu beachten, dass $\cos \theta_t$ imaginär werden kann, wenn n_1 größer ist als n_2 . Es entsteht dann ein evaneszentes Feld an der Grenzfläche.

Diese Resultate werden nun in die Grundgleichung (2.1) eingesetzt und man erhält für das Feld in einem Punkt P im Medium 1, also mit $z > 0$

¹ Die Definitionen sind in der Literatur nicht einheitlich. Die hier verwendete Definition ist:

$$r_s = \frac{n_1 \cos \theta - n_2 \cos \theta_t}{n_1 \cos \theta + n_2 \cos \theta_t}, \quad r_p = \frac{n_2 \cos \theta - n_1 \cos \theta_t}{n_1 \cos \theta_t + n_2 \cos \theta}, \quad t_s = \frac{2n_1 \cos \theta}{n_1 \cos \theta + n_2 \cos \theta_t}, \quad t_p = \frac{2n_1 \cos \theta}{n_1 \cos \theta_t + n_2 \cos \theta}.$$

$$\mathbf{E}(P) = -\frac{ikf}{2\pi} \iint_{\Omega} \mathbf{E}_i e^{in_1 k s_i \cdot \mathbf{r}} + \mathbf{E}_r e^{in_1 k s_r \cdot \mathbf{r}} d\Omega, \quad (\text{A.33})$$

wobei \mathbf{s}_i und \mathbf{s}_r Einheitsvektoren sind, die in Ausbreitungsrichtung des einfallenden, respektive reflektierten Strahls zeigen, und Ω der Raumwinkel. Für einen Punkt P im Medium 2 ($z < 0$) erhält man

$$\mathbf{E}(P) = -\frac{ikf}{2\pi} \iint_{\Omega} \mathbf{E}_t e^{in_2 k s_t \cdot \mathbf{r}} d\Omega, \quad (\text{A.34})$$

wobei \mathbf{s}_t der Einheitsvektor ist, der in Ausbreitungsrichtung des transmittierten Strahls zeigt.

Um auch Fälle berechnen zu können, in denen die Grenzfläche nicht exakt im Fokus liegt, sondern leicht versetzt ist und bei z_0 liegt, muss noch dafür gesorgt werden, dass die drei Felder an der Grenzfläche die gleiche Phase haben. Dafür müssen folgende zusätzlichen Phasenterme berücksichtigt werden, die aber im folgenden nicht weiter berücksichtigt werden:

$$\begin{aligned} \mathbf{E}_i &\rightarrow \mathbf{E}_i \\ \mathbf{E}_r &\rightarrow \mathbf{E}_r \cdot \exp(i2kn_1 \cos\theta z_0) \\ \mathbf{E}_t &\rightarrow \mathbf{E}_t \cdot \exp(ik(n_1 \cos\theta - n_2 \cos\theta_t) z_0) \end{aligned} \quad (\text{A.35})$$

Damit lässt sich nun aus einer beliebigen Polarisations- und Intensitätsverteilung im Beleuchtungsstrahl die Feldverteilung in der Umgebung des Fokusses berechnen. Die Integration über den Azimutwinkel φ kann auch hier mit Gleichung (A.8) analytisch gelöst werden. Für lineare Polarisation entlang der x-Achse erhält man

$$\begin{aligned} E_x &= \frac{ik_0 n_1 f}{2} (I_{0,l} + I_{2,l} \cos 2\varphi_P) \\ E_y &= \frac{ik_0 n_1 f}{2} I_{2,l} \sin 2\varphi_P \\ E_z &= -k_0 n_1 f I_{1,l} \cos \varphi_P \end{aligned} \quad (\text{A.36})$$

für einen Punkt P im Medium 1 mit den Integralen:

$$\begin{aligned} I_{0,l} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} \frac{2}{1+\cos\theta} \left((1+\cos\theta) e^{-i\Phi_1} + (r_s - r_p \cos\theta) e^{i\Phi_1} \right) J_0(\Phi_2) \sin\theta d\theta, \\ I_{1,l} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} \frac{2}{1+\cos\theta} \sin\theta \left(e^{-i\Phi_1} + r_p e^{i\Phi_1} \right) J_1(\Phi_2) \sin\theta d\theta, \\ I_{2,l} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} \frac{2}{1+\cos\theta} \left((1-\cos\theta) e^{-i\Phi_1} + (r_s + r_p \cos\theta) e^{i\Phi_1} \right) J_2(\Phi_2) \sin\theta d\theta, \end{aligned} \quad (\text{A.37})$$

und für einen Punkt im Medium 2:

$$\begin{aligned}
I_{0,l_2} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} \frac{2}{1+\cos\theta} (t_s + t_p \cos\theta_t) e^{i\Phi_1} J_0(\Phi_2) \sin\theta \, d\theta, \\
I_{1,l_2} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} \frac{2}{1+\cos\theta} (t_p \sin\theta_t e^{i\Phi_1}) J_1(\Phi_2) \sin\theta \, d\theta, \\
I_{2,l_2} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} \frac{2}{1+\cos\theta} (t_s - t_p \cos\theta_t) e^{i\Phi_1} J_2(\Phi_2) \sin\theta \, d\theta,
\end{aligned} \tag{A.38}$$

mit folgenden Definitionen für Φ_1 und Φ_2 :

$$\begin{aligned}
\Phi_1 &= k_j r_p \cos\theta_j \cos\theta_p, \\
\Phi_2 &= k_j r_p \sin\theta_j \sin\theta_p,
\end{aligned} \tag{A.39}$$

wobei k_j die Wellenzahl im jeweiligen Medium ist und θ_j je nach Position von P entweder θ oder θ_t ist.

Für radiale Polarisation erhält man

$$\begin{aligned}
E_r &= k_0 n_1 f I_{1,r} \\
E_a &= 0 \\
E_z &= -i k_0 n_1 f I_{0,r}
\end{aligned} \tag{A.40}$$

für einen Punkt P im Medium 1 mit den Integralen:

$$\begin{aligned}
I_{0,r_1} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} \frac{2}{1+\cos\theta} \sin\theta (e^{-i\Phi_1} + r_p e^{i\Phi_1}) J_0(\Phi_2) \sin\theta \, d\theta, \\
I_{1,r_1} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} \frac{2}{1+\cos\theta} \cos\theta (e^{-i\Phi_1} - r_p e^{i\Phi_1}) J_1(\Phi_2) \sin\theta \, d\theta,
\end{aligned} \tag{A.41}$$

und für einen Punkt im Medium 2:

$$\begin{aligned}
I_{0,r_1} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} \frac{2}{1+\cos\theta} \sin\theta_t t_p e^{-i\Phi_1} J_0(\Phi_2) \sin\theta \, d\theta, \\
I_{1,r_1} &= \int_{\alpha_0}^{\alpha_1} \frac{2}{1+\cos\theta} \cos\theta_t t_p e^{-i\Phi_1} J_1(\Phi_2) \sin\theta \, d\theta,
\end{aligned} \tag{A.42}$$

mit den gleichen Definitionen für Φ_1 und Φ_2 wie in Gleichung (A.39).

Für ein Objektiv sind die Herleitungen analog und man findet die Resultate bei [A.10] oder bei [A.11], allerdings nur für lineare Polarisation.

I Die Programme zur Berechnung der optischen Felder

Die Programme zur Berechnung der elektromagnetischen Felder umfassen die Berechnung der elektrischen und magnetischen Feldverteilung im Fokus eines Parabolspiegels oder eines aplanatischen Objektivs für verschieden polarisiertes Anregungslicht (linear, zirkular, radial und azimutal [A.3]) und mit oder ohne dielektrische Grenzschicht. Das einfallende Licht kann dabei unter einem Winkel zur optischen Achse oder parallel zu ihr einfallen. Zudem können für den Parabolspiegel zylindersymmetrische Phasenstörungen zur Simulation von Fabrikationsfehlern mitberücksichtigt werden.

Ein zweiter Satz von Programmen erlaubt die Berechnung der elektrischen und magnetischen Feldverteilung eines elektrischen Dipolstrahlers, der in oder in die Nähe des Fokusses eines Parabolspiegels oder aplanatischen Objektivs gelegt werden kann. Die darauf aufbauende Berechnung der Sammeffizienz-Funktion ist ebenfalls möglich. Mit den berechneten Sammeffizienzen können die Bilder eines Dipols unter beliebiger Beleuchtung (siehe oben) berechnet werden. Die Berücksichtigung einer dielektrischen Grenzfläche ist für den Parabolspiegel ebenfalls möglich. In diesem Fall kann aber lediglich die Feldverteilung im Sekundärfokus berechnet werden. Die Sammeffizienz muss aus [A.12] - [A.14] oder [A.15] separat berechnet werden.

Im Laufe der Arbeit wurden zwei Generationen von Programmen entwickelt. Eine erste Generation wurde komplett mit PV-WAVE [A.16] geschrieben, sowohl die Berechnung als auch die Darstellung. PV-WAVE ist eine Programmierumgebung, die dafür optimiert ist, große Datenmengen, insbesondere zweidimensionale Matrizen zu lesen, zu bearbeiten und darzustellen. Die Programmiersprache ist ein weiterentwickeltes FORTRAN. Zudem stehen umfangreiche Programmbibliotheken zur Verfügung. Zur Darstellung wird SXM [A.17], [A.18], ein in PV-WAVE geschriebenes Programmpaket benutzt, das an der Universität Basel entwickelt worden ist und in Siegen im Laufe dieser Doktorarbeit erweitert wurde. Diese erste Generation von Programmen benutzt eine Integration nach den fortgesetzten Newton-Cotes-Formeln der Ordnung $n=5$ [A.19], [A.20]. Es wird zudem der Datentyp FLOAT verwendet, der die reellen Zahlen mit nur 4 Bytes darstellt, was etwa sieben Dezimalstellen entspricht. Diese Genauigkeit reicht für die Darstellungen, wie sie in den Abschnitten 2.2 und 2.2.2 abgebildet sind, aus.

Für die Berechnung der Feldverstärkung an einer Metallspitze war aber eine größere Genauigkeit notwendig, für die deshalb eine zweite Generation von Programmen entwickelt wurde. Diese Programme gliedern sich in zwei Teile. Die eigentliche Berechnung der Feldkomponenten wird von FORTRAN-Programmen [A.21] ausgeführt, die Darstellung, die Datenverwaltung und die Steuerung der Berechnung mit PV-WAVE und SXM. Die FORTRAN-Programme benutzen eine Integration nach der fortgesetzten Simpson-Regel [A.20] mit Fehlerabschätzung, so dass die gewünschte Genauigkeit für die Berechnung festgelegt werden kann¹. Zudem wird in diesen Programmen immer mit 8-Byte-Zahlen gerechnet, was etwa 17 Dezimalstellen entspricht.

Eine Besonderheit soll hier noch besprochen werden, nämlich die Integrationen für den Fall, bei dem eine Probenoberfläche in der Nähe des Fokusses liegt. Hier kommt es zu einer Schwierigkeit, wenn das Licht vom optisch dichteren Medium ins optisch dünnere übertritt und der halbe Öffnungswinkel des fokussierenden Systems größer als der Grenzwinkel der Totalreflexion ist. Dann wird nämlich $\cos\theta_i$ gemäß Gleichung (A.32) komplex². Dieser Kosinus kommt in den Fresnelschen Reflexions-, respektive Transmissions-Koeffizienten vor. Insbesondere erstreckt sich die Integration über die Nullstelle der Wurzel, die mit den oben beschriebenen Algorithmen schlecht integrierbar ist, weil die Ableitung divergiert. Dieses Problem wurde mit einem einfachen mathematischen Trick gelöst. Die Integration wird in zwei Teile zerlegt: eine *umparametrisierte* Integration vom minimalen halben Öffnungswinkel bis zum Grenzwinkel der Totalreflexion θ_c und eine vom maximalen halben Öffnungswinkel bis θ_c . Die Umparametrisierung wird im Folgenden erläutert.

Das Hauptproblem bei der Integration der Quadratwurzel bis zur Nullstelle ist, dass bei den oben benutzten Algorithmen die Abszisse in *gleiche* Intervalle geteilt wird. Weit weg von

¹ Die Funktion wird zuerst an den Integrationsgrenzen und exakt in der Mitte zwischen ihnen berechnet. Durch fortgesetzte Halbierung der Intervalle wird eine immer bessere Abschätzung des Integrals bestimmt ([A.20], Seite 108). Dies wird solange fortgesetzt, bis die gewünschte Genauigkeit erreicht ist. (Es ist handelt sich also um eine adaptierte Romberg-Integration [A.20], der die Simpsonsche Regel anstelle der Trapezregel zugrunde gelegt ist).

² θ_i ist der Winkel nach der Brechung.

der Nullstelle ist die Wurzel hinreichend glatt und kann in wenigen Unterteilungsschritten gut integriert werden. Nahe bei der Nullstelle ändert sie sich aber sehr stark und es ist nötig, sehr viele Unterteilungsschritte zu machen, um ein einigermaßen gutes Resultat zu erhalten. Die benutzten Integrations-Algorithmen machen aber eine gleichmäßige Unterteilung und müssen deshalb die Funktion überall mit sehr feiner Unterteilung berechnen, was sehr aufwändig ist.

Die Integration einer Funktion $f(x) dx$ kann durch Umparametrisierung auch aufgefasst werden als Integration von $f[g(y)]$ mit $x = g(y)$:

$$\int_{x_0}^{x_1} f(x) dx = \int_{g^{-1}(x_0)}^{g^{-1}(x_1)} f[g(y)]g'(y) dy, \quad (\text{A.43})$$

wobei g' die Ableitung von g nach y bezeichnet. Wählt man für $g(x) = x_0 + y^2(x_1 - x_0)$, so erhält man eine Unterteilung, die nahe bei x_0 eine hohe Dichte hat und nahe bei x_1 eine geringe. So lassen sich die oben erwähnten Algorithmen einfach modifizieren, um die Integration bis an den kritischen Winkel numerisch gut durchzuführen, was Geschwindigkeit und Genauigkeit anbelangt¹.

Um die Zuverlässigkeit der Programme zu überprüfen, wurden, wo es überhaupt möglich ist, Vergleiche mit Literaturwerten angestellt ([A.2], [A.3], [A.22] und [A.23]). Andererseits wurden für viele Punkte die Maxwell-Gleichungen überprüft, das heißt an diesen Punkten wurden numerisch die entsprechenden Ableitungen berechnet und in die Maxwell-Gleichungen eingesetzt. Die zweite Generation von Programmen zeigt eine Übereinstimmung von etwa 10 Dezimalstellen, was ausreicht, da für die weitere Bearbeitung in PV-WAVE nur mit sieben Stellen gearbeitet wird. Auch für die numerische Lösung der Maxwell-Gleichungen im Falle der Feldverstärkung (Abschnitt 2.4) ist diese Genauigkeit ausreichend. Für die Berechnungen mit einer Grenzfläche in der Nähe des Fokusses wurden zusätzlich die Stetigkeitsbedingungen des elektromagnetischen Feldes an der Grenzfläche überprüft.

¹ Der elegantere Weg, der aber mit mehr Aufwand für die Implementierung verbunden ist, wäre es, die Gauß'sche Integrationsmethode zu benutzen ([A.20], Seite 121). Die hier besprochene Methode liefert aber mit geringem Aufwand bereits hinreichend genaue Resultate mit vertretbarer Geschwindigkeit.

J Literaturverzeichnis

- [A.1] J. J. Stamnes, *Waves in focal regions*, (Hilger, Bristol, UK, 1986), Kapitel 16.1.2.
- [A.2] B. Richards und E. Wolf, "Electromagnetic diffraction in optical systems. II. Structure of the image field in an aplanatic system," *Proc. Roy. Soc. A* **253**, 358-379 (1959).
- [A.3] K. S. Youngworth und T. G. Brown, "Focusing of high numerical aperture cylindrical-vector beams," *Opt. Express* **7**, 77-87 (2000), <http://www.opticsexpress.org/oearchive/source/22809.htm>.
- [A.4] C. J. R. Sheppard und M. Gu, "Imaging by a high aperture optical system," *J. Mod. Opt.* **40**, 1631-1651 (1993).
- [A.5] C. J. R. Sheppard und P. Török, "An electromagnetic theory of imaging in fluorescence microscopy, and imaging in polarization fluorescence microscopy," *Bioimaging* **5**, 205-218 (1997).
- [A.6] J. Enderlein, "Theoretical study of detection of a dipole emitter through an objective with high numerical aperture," *Opt. Lett.* **25**, 634-636 (2000).
- [A.7] J. J. Stamnes, *Waves in focal regions*, (Hilger, Bristol, UK, 1986), Teil IV, Kapitel 12.
- [A.8] J. D. Jackson, *Classical Electrodynamics*, second edition (Wiley & Sons, New York, USA, 1975), Kapitel 7.3.
- [A.9] E. Hecht, *Optik*, (Addison Wesley, Bonn, Deutschland, 1989), Seite 100.
- [A.10] J. J. Stamnes, *Waves in focal regions*, (Hilger, Bristol, UK, 1986), Teil IV, Kapitel 16.2.
- [A.11] L. Novotny, *Lecture notes on "Optics on the nanometer scale"*, (University of Rochester, NY, USA, 2000), Kapitel 1.8.
- [A.12] W. Lukosz und R. E. Kunz, "Light emission by magnetic and electric dipoles close to a plane interface. I. Total radiated power," *J. Opt. Soc. Am.* **67**, 1607-1614 (1977).
- [A.13] W. Lukosz und R. E. Kunz, "Light emission by magnetic and electric dipoles close to a plane dielectric interface. II. Radiation patterns of perpendicular oriented dipoles," *J. Opt. Soc. Am.* **67**, 1615-1619 (1977).
- [A.14] W. Lukosz, "Light emission by magnetic and electric dipoles close to a plane dielectric interface. III. Radiation patterns of dipoles with arbitrary orientation," *J. Opt. Soc. Am.* **69**, 1495-1503 (1979).
- [A.15] J. Enderlein, T. Ruckstuhl und S. Seeger, "Highly efficient optical detection of surface-generated fluorescence," *Appl. Optics* **38**, 724-732 (1999).
- [A.16] *PV-WAVE, Version 6.21*, (Visual Numerics Inc., Houston, Texas, USA, 1998).
- [A.17] *SXM*, (Institut für Physik, Basel, Schweiz, 1998).
- [A.18] D. Brodbeck, *Akquisition und Visualisierung von Rastersondenmikroskopie-Daten*, (Dissertation, Basel, Schweiz, 1999).
- [A.19] J. Stoer, *Numerische Mathematik 1, eine Einführung*, 5. Auflage, (Springer-Verlag, Berlin, 1989), Kapitel 3.
- [A.20] W. H. Press, B. P. Flannery, S. A. Teukolsky, W. T. Vetterling, *Numerical Recipes, Fortran Version*, (Cambridge University Press, New York, USA, 1992), Kapitel 4.
- [A.21] *FTN95*, (Salford Software Ltd., Salford, United Kingdom, 1999).
- [A.22] R. Barakat, "Diffracted electromagnetic fields in the neighborhood of the focus of a paraboloidal mirror having a central obscuration," *Appl. Opt.* **26**, 3790-3795 (1987).
- [A.23] L. Novotny, *Lecture notes on "Optics on the nanometer scale"*, (University of Rochester, NY, USA, 2000), Seite 32.

DANKSAGUNG

Viele Personen haben zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Zuerst möchte ich Professor Dr. Alfred J. Meixner danken, der mir ermöglicht hat in seiner Arbeitsgruppe zu arbeiten. Ich danke ihm für die Unterstützung und Hilfe bei meiner Arbeit, die vielen interessanten Diskussionen und die große Freiheit, die zum Gelingen beigetragen haben und für seinen Optimismus und seine Motivation in schwierigen Phasen.

Dann möchte ich Andreas Drechsler danken, der 1998 zu diesem Projekt dazugestoßen ist und der seitdem alle Tiefen und Höhen des Forscheralltags mit mir geteilt hat. Ich danke ihm für die hervorragende Zusammenarbeit, die guten Diskussionen und Ideen, das gute Arbeitsklima und die vielen schönen Stunden im und außerhalb des Labors.

Vor einem Jahr ist schließlich Christina Debus zu unserer Tieftemperatur-Gruppe dazugekommen, nachdem sie schon ihre Diplomarbeit bei uns geschrieben hatte. Ihr danke ich für die vielen guten Ideen, das chemische Hintergrundwissen und den Charme, mit denen sie zur Arbeit und zum Arbeitsklima beigetragen hat.

Dann möchte ich auch Pascal Anger für die vielen spannenden Diskussionen danken, der basierend auf unseren Ideen und Erfahrungen ein ähnliches Mikroskop bei einer Firma entwickelt und seit kurzem zu uns gestoßen ist, um hier seine Dissertation fertigzustellen.

Weiter möchte ich den Kooperationspartnern danken, die zu dieser Arbeit beigetragen haben. Prof. Dr. Lukas Novotny für die gute Zusammenarbeit und die Geduld bei den Berechnungen der Feldverteilungen an Metallspitzen, Prof. Dr. Frank Schneider für seine Hilfe beim Erstellen der Fortran-Programme, Prof. Dr. Gion Calzaferri für die farbstoffbeladenen Zeolithkristalle und Prof. Dr. Klaus Müllen für die Terrylen-Moleküle.

Herrn PD Dr. Stefan Hell danke ich für sein Interesse und die Übernahme des Korreferates.

Dann sei allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe hier in Siegen gedankt: Dr. Herbert Knepe für die vielen interessanten Diskussionen, die guten Ratschläge und das gute Arbeitsklima, um das er immer bemüht war, Gregor Schulte für seine Hilfe bei elektronischen Problemen und den Aufbau des großen Rastertisches, Remo Gallacchi für die Herstellung der Nahfeldspitzen und die vielen REM-Aufnahmen, die er für uns gemacht hat, sowie seine unkomplizierte Hilfe bei vielen Dingen, Dr. Mark Weber für gute Diskussionen und Ratschläge und das Überlassen seiner Software für die Datenaufnahme. Des Weiteren danke ich auch Christian Blum, Frank Stracke, Tim Vosgröne, Sibylle Kölsch und Lars Birlenbach für Diskussionen, gute Hinweise und insbesondere auch für viel hilfreiches Wissen aus der Chemie. Weiter danke ich Armin Langenbach und Marcus Sackrow für ihre Hilfe bei EDV-Problemen, Rosi Neidhardt für die Abnahme von Administrativem und HD Dr. Erwin Thiel für interessante Diskussionen über Fluoreszenz und Mikroskopie. Schließlich sei nochmals allen für das gute Arbeitsklima gedankt.

Ein weiterer Dank geht an die Werkstatt, Bernd Meyer, Günter Neumann und Dieter Gaumann, für die Herstellung von vielen mechanischen Teilen für den Aufbau des Mikroskops, sowie den Glasbläser Peter Kerzdörfer und den Elektroniker Peter Rickert. Danken muss ich auch Dr. Watson (Microsoft Corp.) für seine zahllosen nützlichen Hinweise beim Schreiben der Arbeit.

Ein weiterer Dank geht an die Arbeitsgruppe in Basel, die in der Anfangszeit des Aufbaus beteiligt war. An erster Stelle möchte ich Prof. Dr. Guido Tarrach, der mich als Postdoc betreut hat, für die fruchtbare gute Zusammenarbeit, seine Einführung in die Rastersonden-Techniken, die Datenverarbeitung und den Forschungsalltag danken. Ihm danke ich auch für

die Einladung zu einem Lehr- und Forschungsaufenthalt in Santiago de Chile. Weiter danke ich Dr. Martin Bopp für seine Einführung in die Raster-Nahfeld-Mikroskopie sowie Prof. Dr. Hans-Joachim Güntherodt und Prof. Dr. Iris Zschokke für die Aufnahme in ihre Arbeitsgruppen. Für viele gute Diskussionen, Ratschläge und Einführungen in die verschiedensten Themengebiete danke ich PD Dr. Hans Hug, Dr. Bruno Stiefel, Dr. Daniel Bürgler, PD Dr. Harry Heinzlmann, Dr. Thomas Huser, Dr. Lukas Howald, Dr. Peter Jess, Remo Hofer und allen übrigen Gruppenmitgliedern.

Ein ganz besonderer Dank geht auch an die Werkstatt unter der Leitung von Paul Cattin am physikalischen Institut in Basel, insbesondere an Peter Wunderli, der die Teile des Kopfes hergestellt hat und Sascha Martin, der mir das richtige Kleben von Piezostapeln beigebracht hat. Weiter danke ich auch der Elektronikwerkstatt, insbesondere Hans-Rudolf Hidber, Andreas Tonin und Roberto Maffiolini für ihre Hilfe beim Aufbau der Elektronik.

Ganz herzlich bedanke ich mich auch bei meiner Frau Regula, die viel Geduld aufbrachte, viel Verständnis zeigte und mich sehr unterstützt hat während meiner Arbeit. Ich bedanke mich bei ihr auch dafür, dass sie bereit war alles hinter sich zu lassen und mit mir nach Siegen zu ziehen. Danken muss ich auch meinem Sohn Lukas, der nolens volens in letzter Zeit viel auf seinen Vater verzichten musste.

Schließlich gilt mein Dank auch meinen Eltern, Hans und Katharina Lieb, die mir das Studium ermöglicht haben, mich immer unterstützt haben und Interesse für meine Arbeit gezeigt haben.

Zusammenfassung

Für die optische Abbildung mikroskopischer Objekte werden seit Jahrhunderten Objektive mit Glaslinsen verwendet, da sie sich relativ leicht in guter Qualität herstellen lassen. Um Abbildungsfehler von Einzellinsen zu korrigieren, müssen jedoch mehrere Linsen kombiniert werden. Es gibt aber auch optische Bauelemente, die ein Bild erzeugen, das frei ist von Abbildungsfehlern. Zu diesen gehören parabolische Spiegel, die jedoch für mikroskopische Zwecke nicht in hinreichender Qualität hergestellt werden konnten.

In diesem Werk wird sowohl theoretisch als auch experimentell untersucht, wie ein Parabolspiegel mit einem großen Öffnungswinkel von etwa neunzig Grad anstelle eines Objektivs in der Mikroskopie eingesetzt werden kann. Parabolspiegel mit *kleinem* Öffnungswinkel sind sehr gebräuchlich im Teleskopbau und in der Telekommunikation. Spiegel mit *großem* Öffnungswinkel hingegen wurden kaum je benutzt, weil sie außerhalb der optischen Achse sehr schlechte Abbildungs-Eigenschaften besitzen und ihre Herstellung schwierig ist. Die Eigenschaften eines Parabolspiegel-Mikroskops mit großem Öffnungswinkel werden in diesem Werk ausführlich untersucht. In einem geeigneten konfokalen Aufbau zeigt es hervorragende Eigenschaften, insbesondere auch für Tieftemperatur-Anwendungen, da Mikroskop-Objektive bei tiefer Temperatur nur bedingt eingesetzt werden können. Für Nahfeld-Anwendungen, mit denen es möglich ist, eine räumliche Auflösung zu erreichen, die deutlich unterhalb der Beugungsgrenze der klassischen Mikroskopie liegen, besitzt es vielversprechende Eigenschaften in Kombination mit speziellem radial polarisiertem Laserlicht.

Der Autor beschreibt zudem den Aufbau eines Mikroskops mit Parabolspiegeloptik für die Einzelmolekül-Spektroskopie bei tiefen Temperaturen und untersucht dessen Abbildungs-Eigenschaften experimentell.