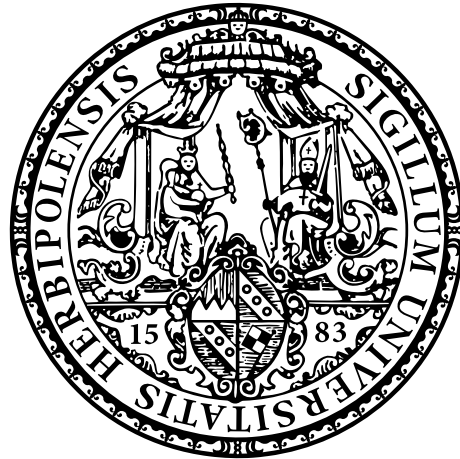


Entwicklung eines experimentellen Aufbaus zur
Charakterisierung nanoskaliger Systeme
mittels Fluoreszenzspektroskopie und -mikroskopie



DISSERTATION

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades
der Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von Dipl.-Chem.
Tilman Christian Hain
aus Ochsenfurt

Würzburg 2015

Eingereicht bei der Fakultät für Chemie und Pharmazie am

.....

Gutachter der schriftlichen Arbeit

1. Gutachter:

2. Gutachter:

Prüfer des öffentlichen Promotionskolloquiums

1. Prüfer:

2. Prüfer:

3. Prüfer:

Datum des öffentlichen Promotionskolloquiums

.....

Doktorurkunde ausgehändigt am

.....

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	III
1 Einleitung	1
2 Theoretische und experimentelle Grundlagen	5
2.1 Optische Mikroskopie	5
2.1.1 Vergrößerung des Lichtmikroskops	5
2.1.2 Auflösung des Lichtmikroskops	11
2.1.3 Aufbau und Funktionsweise des Fluoreszenzmikroskops	17
2.2 Fluoreszenzspektroskopie	21
2.2.1 Auflösung und Lichtstärke des Spektrometers	21
2.2.2 Signal-Rausch-Verhältnis und Linienformen	28
2.3 Quantenoptik	34
2.3.1 Photonenstatistiken	34
2.3.2 Korrelationsfunktion zweiter Ordnung	39
3 Entwicklung und Erprobung des PLE-Aufbaus	47
3.1 Prinzip und Nutzen der PLE-Spektroskopie	47
3.2 Verwendete Komponenten und Strahlengang	50
3.2.1 Charakterisierung der Superkontinuumlichtquelle	52
3.2.2 Charakterisierung von Spektrograph und Detektoren	58
3.3 Datenaufnahme und Datenauswertung	70
3.3.1 Durchführung der Messung mit LabVIEW	71
3.3.2 Darstellung der PLE-Karten mit IGOR Pro	74
3.4 Anwendungen und Beispiele	80
4 Einzelmolekülmessungen in mikrofluidischer Umgebung	87
4.1 Konzept zur Bestimmung des Adsorptionsausmaßes	87
4.2 Experimentelle Vorgehensweise	89
4.2.1 Konfiguration des Fluoreszenzmikroskops	89
4.2.2 Ausführung und Charakterisierung der Mikrofluidikzelle	90
4.2.3 Form und Beschaffenheit der zur Verfügung stehenden Proben	96

Inhaltsverzeichnis

4.3	Ergebnisse der Einzelmolekülstudien	98
4.3.1	Photolumineszenz farbstoffmarkierter DNA-Oligomere	98
4.3.2	Photolumineszenz freihängender Kohlenstoffnanoröhren	103
5	Untersuchung elektronenbestrahlter Siliziumcarbidproben	105
5.1	Räumliche, spektrale und zeitliche Charakterisierung	105
5.1.1	Experimentelle Durchführung	106
5.1.2	Ergebnisse und Auswertung	106
5.2	Studie des Photonenkorrelationsverhaltens	112
5.2.1	Experimentelle Durchführung	112
5.2.2	Ergebnisse und Auswertung	113
5.2.3	Messungen an Referenzproben	115
6	Zusammenfassung	117
7	Summary	121
Anhang		125
A.1	Datenaufnahme mit LabVIEW	125
A.2	Datenauswertung mit IGOR Pro	127
Literaturverzeichnis		135
Abbildungsverzeichnis		159
Tabellenverzeichnis		163
Danksagung		165
Vollständige Publikationsliste		167

Abkürzungsverzeichnis

ADU	Analog-Digital-Umsetzer
APD	Lawinenphotodiode (<i>engl.</i> avalanche photodiode)
ASCII	amerikanische Standardkodierung für den Informationsaustausch (<i>engl.</i> American standard code for information interchange)
BBO	β -Bariumborat
BNC	Bajonettverschluss nach Neill und Concelman
CCD	ladungsgekoppeltes Bauelement (<i>engl.</i> charge-coupled device)
CoMoCAT	Kobalt-Molybdän-Katalysator (<i>engl.</i> cobalt-molybdenum catalyst)
CVD	chemische Gasphasenabscheidung (<i>engl.</i> chemical vapor deposition)
CW	Dauerstrich (<i>engl.</i> continuous wave)
DGU	Dichtegradientenultrazentrifugation
DNA	Desoxyribonukleinsäure (<i>engl.</i> deoxyribonucleic acid)
DR	Dynamikumfang (<i>engl.</i> dynamic range)
DS	dichroitischer Strahlenteiler
EEPROM	elektrisch löschbarer programmierbarer ausschließlich lesbarer Speicher (<i>engl.</i> electrically erasable programmable read-only memory)
ET	Energietransfer
FAM	6-Carboxyfluorescein
FWHM	Halbwertsbreite (<i>engl.</i> full width at half maximum)
G	Guanin
HBT	Hanbury Brown–Twiss
HiPCO	Hochdruck-Kohlenstoffmonoxid (<i>engl.</i> high-pressure carbon monoxide)
IC	innere Umwandlung (<i>engl.</i> internal conversion)
IR	infrarot
IRF	Apparatefunktion (<i>engl.</i> instrument response function)
ISC	Interkombination (<i>engl.</i> intersystem crossing)
KP	Kurzpass
LED	lichtemittierende Diode
LP	Langpass

Abkürzungsverzeichnis

M	Vergrößerung (<i>engl.</i> magnification)
MF	Mikrofluidik
MM	Multimode
NA	Numerische Apertur
ND	Neutraldichte
Nd:YAG	neodymdotierter Yttrium-Aluminium-Granat
NIR	nahinfrarot
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung (<i>engl.</i> phosphate buffered saline)
PCF	photonische Kristallfaser (<i>engl.</i> photonic crystal fiber)
PDA	Photodiodenzeile (<i>engl.</i> photodiode array)
PDMS	Polydimethylsiloxan
PL	Photolumineszenz
PLE	Photolumineszenz-Anregung (<i>engl.</i> photoluminescence excitation)
PMMA	Polymethylmethacrylat
PMT	Photoelektronenvervielfacher (<i>engl.</i> photomultiplier tube)
PRF	Impulsfolgefrequenz (<i>engl.</i> pulse repetition frequency)
PSF	Punktspreizfunktion
PTFE	Polytetrafluorethen
QE	Quanteneffizienz
SC	Natriumcholat (<i>engl.</i> sodium cholate)
SEM	Rasterelektronenmikroskop (<i>engl.</i> scanning electron microscope)
SHG	Frequenzverdopplung (<i>engl.</i> second harmonic generation)
SM	Monomode (<i>engl.</i> single mode)
SNR	Signal-Rausch-Verhältnis (<i>engl.</i> signal-to-noise ratio)
SWNT	einwandige Kohlenstoffnanoröhre (<i>engl.</i> single-wall carbon nanotube)
T	Thymin
TCSPC	zeitkorreliertes Einzelphotonenzählen (<i>engl.</i> time-correlated single photon counting)
TTL	Transistor-Transistor-Logik
TTTR	zeitbehafte und zeitaufgelöst (<i>engl.</i> time-tagged time-resolved)
USB	universelles serielles Bussystem
UV	ultraviolett
VI	virtuelles Instrument
VIS	sichtbar (<i>engl.</i> visible)
ZPL	Null-Phonon-Linie (<i>engl.</i> zero-phonon line)

Die vorliegende Dissertation folgt der im anglophonen Sprachraum üblichen Verwendung von Punkten als Dezimaltrennzeichen.

1 Einleitung

Die Entwicklung der Nanowissenschaften hat in den letzten Jahren einen rasanten Aufschwung erfahren, was sich nicht zuletzt in der Anzahl wissenschaftlicher Publikationen widerspiegelt, die ihren Niederschlag in entsprechenden Fachzeitschriften finden. Dies lässt sich beispielsweise anhand des von Thomson Reuters veröffentlichten *Journal Citation Reports* belegen, der in der Kategorie Nanowissenschaft und Nanotechnologie inzwischen mehr als 70 Journale auflistet.^[1] An der Universität Würzburg wird mit der Fachrichtung Nanostrukturtechnik dem in hohem Maße interdisziplinären Forschungsgebiet ein eigenständiger Studiengang gewidmet.^[2] Der Prozessierung und Charakterisierung nanopartikulärer Systeme kommt jedoch nicht nur akademisches Interesse zu, haben sie doch schon längst Einzug in den Alltag gefunden. Beispielsweise finden Nanopartikel Anwendung in Beschichtungen und Lacken, um den zugrunde liegenden Substraten eine erhöhte Kratzfestigkeit zu verleihen und sie vor Schmutzanhäufungen zu bewahren. Auch in Verpackungsmaterialien von Nahrungsprodukten oder in Sonnenschutzmitteln kommen sie zum Einsatz, wodurch eine unmittelbare Exposition für den Konsumenten besteht. Da es sich um ein vergleichsweise junges Forschungsgebiet handelt, ist die Auswirkung von Nanoprodukten auf den menschlichen Organismus bislang noch nicht umfassend untersucht, woraus naturgemäß eine Skepsis in der öffentlichen Wahrnehmung erwächst. Diese wird auch von Seiten der Politik und staatlicher Behörden aufgegriffen, wie eine aktuelle Stellungnahme des Bayerischen Landesamts für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit zeigt.^[3]

Zwar ist bereits eine merkliche Anzahl pharmakologischer Untersuchungen des von Nanopartikeln ausgehenden Risikopotenzials veröffentlicht worden.^[4] Ihre Interpretation ist bisweilen jedoch mit Unwägbarkeiten verbunden. Da die physikalisch-chemischen und damit auch physiologisch relevanten Eigenschaften nanoskopischer Materialien mit deren Größe und Form skalieren, bedürfen Toxizitätsstudien einer definierten Probengrundlage, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten und letztlich verlässliche Expositionsgrenzwerte definieren zu können.^[5] Die in der Molekülchemie etablierten Analyseverfahren wie etwa die Kernspinresonanzspektroskopie können bei Nanopartikeln nur begrenzt Anwendung finden, was die Entwicklung neuer Charakterisierungsmethoden notwendig erscheinen lässt. Nicht nur aus toxikologischer, sondern auch aus anwendungsorientierter Sicht ist die Verfügbarkeit geeigneter Analyseprotokolle essen-

1 Einleitung

ziell, um nanoskalige Materialien für ihren Bestimmungszweck maßschneidern und ihre Herstellung mit gleichbleibender Qualität, wie sie vor allem die pharmazeutisch-chemische Industrie zu leisten im Stande ist, gewährleisten zu können.^[6]

Auch wenn für die Funktionalität von Nanomaterialien Quantisierungseffekte charaktergebend sind, muss gerade bei Systemen mit geringer räumlicher Ausdehnung eine Berücksichtigung von Oberflächeneffekten erfolgen. Entsprechend sollten die an den Grenzflächen auftretenden Wechselwirkungen mit dem Umgebungsmedium sowohl aus thermodynamischer als auch aus kinetischer Sicht einer Charakterisierung zugänglich gemacht werden. Ein für diesen Zweck geeignetes Modellsystem können supramolekulare Konjugate aus einwandigen Kohlenstoffnanoröhren und Desoxyribonukleinsäureoligomeren darstellen,^[7] womit zugleich dem Anwendungsgebiet der Biosensorik Rechnung getragen wird.^[8] Die intrinsische Photolumineszenz halbleitender Nanoröhren sowie die extrinsische Photolumineszenz von mit Farbstoffen funktionalisierten Oligonukleotiden erweisen sich für eine fluoreszenzmikroskopische und -spektroskopische Aufklärung der in Abbildung 1.1 skizzierten Grenzflächenphänomene als in besonderer Weise prädestiniert:

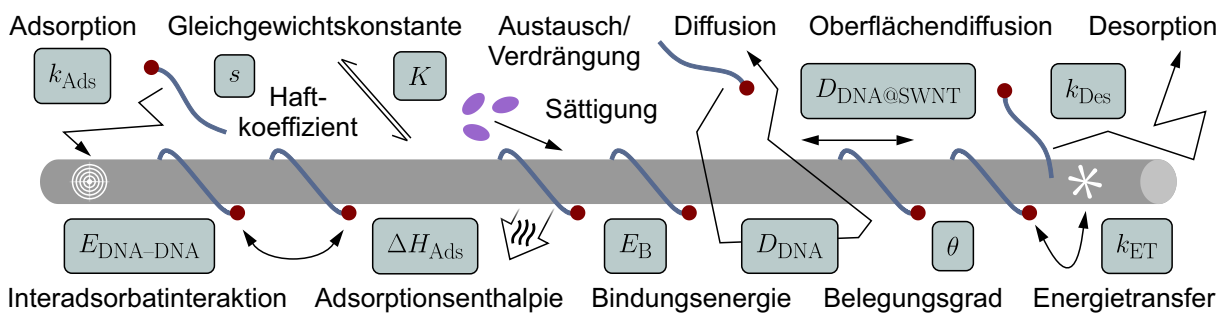


ABB. 1.1: Übersicht supramolekularer Prozesse an nanoskaligen Grenzflächen. Für die sich daraus ableitbaren Parameter stehen bislang nur bedingt experimentelle Charakterisierungsmethoden zur Verfügung. Als Referenzsystem kann, wie hier schematisch dargestellt, die Wechselwirkung einwandiger Kohlenstoffnanoröhren mit DNA-Oligomeren dienen. An diese ist kovalent ein Fluorophor als spektroskopische Sonde gebunden.

Experimentell gewonnene Erkenntnisse der hier vorgestellten Prozesse sind auch für die Stimulation theoretischer Studien und der sie konstituierenden quantenmechanischen und molekulardynamischen Methoden von Bedeutung, geben sie doch den Rahmen vor, an dem sich die Güte Letzterer messen lassen muss. Zielsetzung der vorliegenden Arbeit ist demnach die Entwicklung und Erprobung eines hierfür geeigneten spektrofluorimetrischen Messaufbaus, welcher nicht nur das oben beschriebene Modellsystem eingehend zu untersuchen vermag, sondern ebenso für Nanostrukturen anderen Ursprungs herangezogen werden kann. Neben Kohlenstoffnanoröhrenproben wird daher mit lumineszierenden Siliziumcarbidkristallen eine weitere Substanzklasse einer umfassenden Charakterisierung unterzogen. Den durch Elektronenbestrahlung induzier-

ten Fehlstellendefekten, die für das Emissionsverhalten des SiC-Substrates verantwortlich zeichnen, wird nicht zuletzt aus quantenoptischer Sicht ein vielversprechendes Anwendungspotenzial beigemessen, wie dies in ähnlicher Weise schon seit Längerem für vergleichbare Farbzentren in Nanodiamanten gilt.^[9]

Um hinsichtlich des untersuchbaren Probenraums keinen Einschränkungen zu unterliegen, bedarf es auf Seiten der Anregung einer größtmöglichen Flexibilität. Eine Superkontinuumlichtquelle, welche die Breitbandigkeit von Weißlichtlampen und die Strahleigenschaften von Laserlicht vereint, kann den gestellten Anforderungen gerecht werden. Der Einsatz verschiedener Sensormaterialien soll darüber hinaus einem umfangreichen Emissionsfenster Rechnung tragen, sowohl was die mikroskopische als auch die spektroskopische Untersuchung der Photolumineszenz nanoskaliger Materialien angeht. Dem gesteckten Ziel entsprechend liegt der Schwerpunkt der vorliegenden Dissertation auf der experimentellen Methodik. Insgesamt gliedert sich die Arbeit wie folgt:

Kapitel 2 stellt grundlegende Zusammenhänge optischer Messmethoden vor, wobei Begrifflichkeiten wie Vergrößerung, Auflösung und Signal-Rausch-Verhältnis einer expliziten Definition zugeführt werden. Die Abhandlung von Photonenstatistiken und das Emissionsverhalten nicht-klassischer Lichtquellen, was bei der Diskussion der lumineszierenden SiC-Defektzentren wieder aufgegriffen wird, ergänzen diese Einführung.

Kapitel 3 widmet sich der Konzipierung und Realisierung des spektrofluorimetrischen Mikroskopaufbaus. Dessen Hauptaugenmerk liegt auf der automatisierten Aufnahme zweidimensionaler Konturdiagramme, welche das Photolumineszenzsignal als Funktion der Anregungswellenlänge abbilden. Insbesondere werden die hierbei zum Einsatz kommenden Anregungs- und Detektionseinheiten einer ausführlichen Charakterisierung unterzogen. Die Leistungsfähigkeit des PLE-Experiments soll anhand ausgewählter Messungen an Kohlenstoffnanorohrproben unter Beweis gestellt werden, die zugleich seine Relevanz für andere Projekte im Arbeitskreis Hertel verdeutlichen.

Kapitel 4 zeigt die Ergebnisse der Einzelmolekülstudien auf, die aus dem in Abbildung 1.1 skizzierten DNA-SWNT-Modellsystem resultieren. Das den Messungen zugrunde liegende Konzept zur Bestimmung des Adsorptionsausmaßes wird dabei ebenso näher erläutert wie die Gestalt der hierfür verwendeten mikrofluidischen Probenkammer.

Kapitel 5 beschreibt die Messungen, die an den durch Elektronenbestrahlung mit Defektzentren versehenen Siliziumcarbidproben unternommen worden sind. Neben der räumlichen und spektralen Charakterisierung umfassen sie auch die zeitaufgelöste Bestimmung des Photolumineszenzverhaltens und die Analyse des Photonenflusses.

Kapitel 6 enthält schließlich eine Zusammenfassung und Bewertung der wesentlichen Erkenntnisse der vorliegenden Dissertation. Ebenso wird ein Ausblick auf mögliche Fol-

1 Einleitung

geprojekte gegeben. In Kapitel 7 geschieht dies gleichermaßen in englischer Sprache.

Im Anhang finden sich Erläuterungen zu den eigens erstellten Ansteuerungs- und Auswertungsprogrammen, auf denen die Durchführung und Interpretation der PLE-Experimente beruhen.

2 Theoretische und experimentelle Grundlagen

An dieser Stelle sollen die theoretischen und experimentellen Grundlagen vorgestellt werden, die dem weiteren Verständnis der vorliegenden Arbeit dienen. Der Fokus liegt dabei auf den Themengebieten optische Mikroskopie und Fluoreszenzspektroskopie, da sie – wie bereits der Titel der Arbeit andeutet – das Fundament dieser Dissertation bilden. Des Weiteren erfolgt eine Einführung in die Betrachtungsweise der Quantenoptik, die sich im Emissionsverhalten nicht-klassischer Lichtquellen manifestiert.¹

2.1 Optische Mikroskopie

Etymologisch leitet sich das Wort Mikroskopie von den griechischen Begriffen „mikros“ (*dt.* klein) und „skopein“ (*dt.* betrachten) ab.^[14] Dementsprechend liegt der Nutzen eines Mikroskops in der Vergrößerung von Gegenständen, die vom menschlichen Auge aufgrund seiner begrenzten Leistungsfähigkeit nicht ohne Weiteres erfasst bzw. aufgelöst werden können. Als weiterführende Literatur zum Thema Optik im Allgemeinen seien das Nachschlagewerk *Optics* von Eugene Hecht sowie das *Springer Handbook of Lasers and Optics* empfohlen.^[15,16] Speziellere anwendungsbezogenere Aspekte der Mikroskopie finden sich beispielsweise in *Romeis Mikroskopische Technik*.^[17]

2.1.1 Vergrößerung des Lichtmikroskops

In der optischen Mikroskopie wird die vergrößernde Wirkung durch Abbilden des Objekts mittels Linsen erreicht. Hierdurch unterscheiden sich Lichtmikroskope von Elektronenmikroskopen, in denen zum Fokussieren elektrische oder magnetische Felder zum Einsatz kommen. Ferner seien noch Rastersondenmikroskope genannt, bei denen

¹ Der ungebrochene Stellenwert lichtmikroskopischer Verfahren kommt in der Vergabe des Chemie-Nobelpreises 2014 an E. Betzig, S. W. Hell und W. E. Moerner für die Entwicklung der supraauflösenden Fluoreszenzmikroskopie zum Ausdruck.^[10,11] Die Bedeutung der Quantenoptik zeigt sich in der Vergabe des Physik-Nobelpreises 2005 u.a. an R. J. Glauber für seine Beiträge zur Quantentheorie der optischen Kohärenz.^[12,13] Auf diese wird im Rahmen dieses Grundlagenteils noch eingegangen.

2 Theoretische und experimentelle Grundlagen

keine optische bzw. elektronenoptische Abbildung des zu untersuchenden Gegenstands erfolgt. Das vergrößerte Bild entsteht hier vielmehr indirekt durch eine die Probe ab-rasternde Sonde und die Messung der dabei auftretenden Wechselwirkungen. Da jene Verfahren allerdings nur von untergeordnetem Interesse sind, gilt das Hauptaugenmerk der folgenden Ausführungen der Lichtmikroskopie.

Um die Vergrößerung M zu quantifizieren, die sich mit einem Lichtmikroskop erreichen lässt, ist eine geometrische Betrachtung des optischen Strahlengangs zweckmäßig. Wie Abbildung 2.1 schematisch zeigt, kann bereits mit einer Sammellinse ein Gegenstand vergrößert abgebildet werden. Alternativ lässt sich zu diesem Zweck aber auch eine Kombination aus zwei Sammellinsen verwenden.

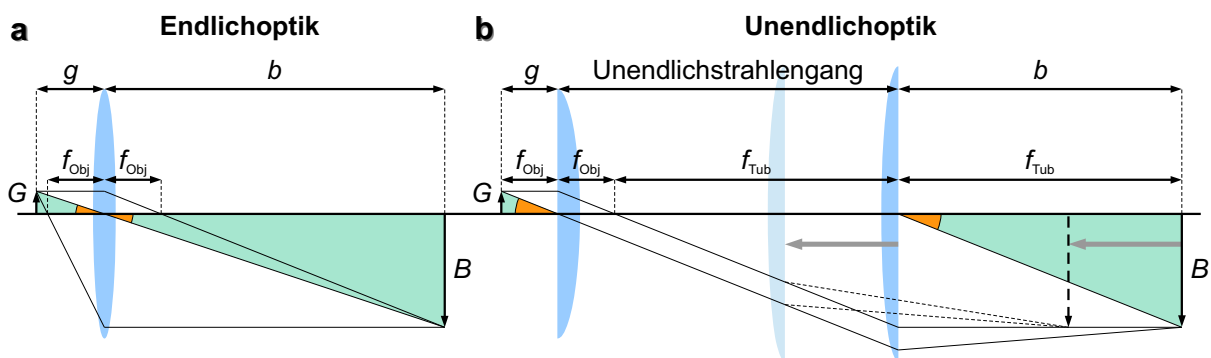


ABB. 2.1: Prinzipiell finden zwei verschiedene Strahlengänge Anwendung, um ein vergrößertes reelles Bild B eines Gegenstands G zu erzeugen. a) Wird nur eine Linse, das Objektiv, verwendet, müssen Gegenstandsweite g und Bildweite b größer sein als die Brennweite des Objektivs f_{Obj} . b) Kommt zusätzlich eine zweite Linse, auch Tubuslinse genannt, zum Einsatz, entsprechen Gegenstands- und Bildweite den Brennweiten f_{Obj} bzw. f_{Tub} .

Aufgrund des parallelen Strahlenverlaufs spricht man im letzteren Fall von der sog. Unendlichoptik. Zwischen Objektiv und Tubuslinse können optische Filterkomponenten eingebracht werden, ohne eine Verschiebung des Brennpunkts und damit einhergehend das Auftreten von Abbildungsfehlern zu verursachen. Auch lässt sich im Gegensatz zur Endlichoptik bei vorgegebener Gegenstandsweite die Position der Bildebene anpassen.

Sinngemäß versteht man unter der Objektivvergrößerung M_{Obj} das Verhältnis von Bildgröße B zu Gegenstandsgröße G , was die alternative Bezeichnung als Abbildungsmaßstab oder Maßstabszahl erklärt. Wie in Abbildung 2.1 zu sehen, sind die eingezeichneten Scheitel- bzw. Wechselwinkel gleich groß, die farblich hinterlegten rechtwinkligen Dreiecke sind jeweils ähnlich. Durch Anwenden des Strahlensatzes erhält man somit folgenden allgemeingültigen Zusammenhang:

$$M_{Obj} = \frac{B}{G} = \frac{b}{g} \quad (2.1)$$

Die Objektivvergrößerung ergibt sich folglich als Quotient aus Bild- und Gegenstandsweite. In der Endlichoptik müssen Objektivbrennweite f_{Obj} , Gegenstandsweite g und Bildweite b dabei der Linsengleichung genügen:

$$\frac{1}{f_{\text{Obj}}} = \frac{1}{g} + \frac{1}{b} \quad (2.2)$$

Konstruktionsbedingt ist in Mikroskopen, insbesondere in Komplettsystemen, die Bildweite nicht beliebig wählbar. Das vergrößerte reelle Bild wird entweder mit einer Kamera aufgenommen und anschließend visualisiert oder, wenn die Betrachtung mit dem Auge erfolgen soll, noch ein weiteres Mal vergrößert. Würde sich die Bildebene ändern, hätte dies eine Neuausrichtung der Kamera bzw. ein Anpassen des weiteren Strahlengangs zur Folge. Aus diesem Grund kann in Mikroskopen mit Endlichoptik nur die vom Objektivhersteller spezifizierte Vergrößerung erzielt werden. Fasst man die Gleichungen 2.1 und 2.2 zusammen, so erhält man:

$$\text{Endlichoptik: } M_{\text{Obj}} = \frac{b}{f_{\text{Obj}}} - 1 \quad (2.3)$$

Im Falle der Unendlichoptik lässt sich die Objektivvergrößerung gemäß Abbildung 2.1 direkt aus den Brennweiten von Objektiv und Tubuslinse berechnen. Dabei muss $f_{\text{Tub}} > f_{\text{Obj}}$ gelten, da sonst ein verkleinertes bzw. ein lediglich invertiertes Bild erhalten wird:

$$\text{Unendlichoptik: } M_{\text{Obj}} = \frac{f_{\text{Tub}}}{f_{\text{Obj}}} \quad (2.4)$$

Möchte man die nominale Vergrößerung $M_{\text{Obj}0}$ eines unendlich korrigierten Objektivs erreichen, muss eine Tubuslinse mit der sog. Referenzbrennweite f_{Ref} benutzt werden:

$$M_{\text{Obj}0} = \frac{f_{\text{Ref}}}{f_{\text{Obj}}} \quad (2.5)$$

Die Referenzbrennweiten sind allerdings nicht einheitlich festgelegt, ausgewählte Werte sind in Tabelle 2.1 angegeben. Stimmt die Brennweite der verwendeten Tubuslinse nicht mit dem herstellerseitig spezifizierten Referenzwert überein, muss eine Umrechnung erfolgen, um den tatsächlichen Abbildungsmaßstab zu erhalten:

$$M_{\text{Obj}} = M_{\text{Obj}0} \cdot \frac{f_{\text{Tub}}}{f_{\text{Ref}}} \quad (2.6)$$

Häufig sind kommerziell erhältliche Unendlichoptikmikroskope neben dem standardmäßigen Objektivrevolver zusätzlich mit einem Tubuslinsenwechsler ausgestattet, wodurch die Objektivvergrößerung an die Erfordernisse des jeweiligen Experiments angepasst werden kann, ohne dabei das Objektiv selbst wechseln zu müssen. Soll aus

2 Theoretische und experimentelle Grundlagen

praktischen Gründen bei einem Wechsel der Tubuslinse deren Abstand x zur Bildebene erhalten bleiben, bedarf es einer Linsenkomination, um die Bildweite b auf die neue Brennweite f_{Tub} anzugleichen. Abbildung 2.2 zeigt dies anhand eines Beispiels:

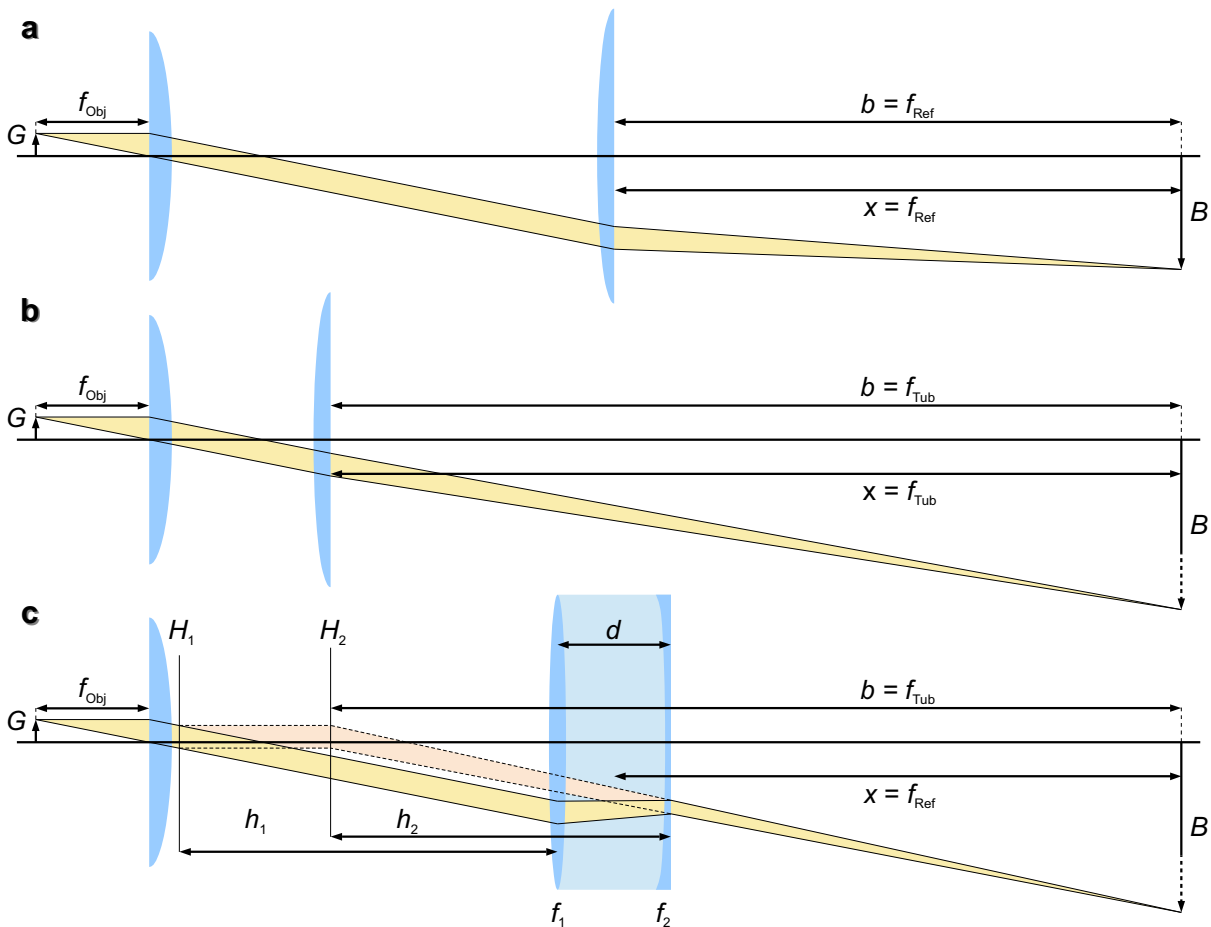


ABB. 2.2: Funktionsweise eines Tubuslinsenwechslers zum Erreichen der anderthalbfachen nominalen Objektivvergrößerung. **a)** In der Ausgangskonfiguration befindet sich im Unendlichstrahlengang die Tubuslinse mit der Referenzbrennweite f_{Ref} . **b)** Bei einem Wechsel der Tubuslinse muss ihr Abstand x angepasst werden, damit die Bildweite der neuen Brennweite $f_{\text{Tub}} = 1.5 \cdot f_{\text{Ref}}$ entspricht. **c)** Soll die Position der Tubuslinse im Unendlichstrahlengang nicht verändert werden, lässt sich alternativ eine Kombination aus Sammell- und Zerstreuungslinse gleicher Gesamtbrennweite einsetzen.

Wie eine dicke Linse weist eine Linsenkomination zwei Hauptebenen H_1 und H_2 auf, die im Abstand h_1 bzw. h_2 von der jeweiligen Linse entfernt sind. Die beiden Hauptebenen stellen dabei den Bezugspunkt für die Brennweite f_{ges} der Linsenkomination dar. Zwischen den Hauptebenen wird der Strahlengang formal in paralleler Ausrichtung zur optischen Achse konstruiert. Bei passender Wahl der Brennweiten f_1 und f_2 und des Linsenabstands d können die Hauptebenen auch außerhalb der Verbindungsachse der Linsen liegen. Der Abstand von H_2 zur Bildebene lässt sich so mit der geänderten Bildweite in Einklang bringen. Unter Annahme vernachlässigbarer Linsendicken lässt sich die Brennweite der Linsenkomination mit Gleichung 2.7 berechnen.^[15] Die Größe

Hersteller	Referenzbrennweite	parfokaler Abstand	Gewindeart
Nikon	200 mm	60 mm	M25
Olympus	180 mm	45 mm	RMS
Zeiss	165 mm	45 mm	RMS
Leica	200 mm	45 mm	M25

TAB. 2.1: Die Spezifikationen unendlich korrigierter Mikroskopobjektive können sich von Hersteller zu Hersteller unterscheiden.^[18] Stimmt die Brennweite der verwendeten Tubuslinse nicht mit der Referenzbrennweite des Objektivherstellers überein, weicht die experimentelle Vergrößerung von ihrem nominalen Wert ab. Weiterhin bestehen zum Teil auch Unterschiede hinsichtlich Abgleichlänge und Gewindenorm, was die Verwendung eines Objektivs an einem Mikroskop eines anderen Herstellers einschränkt.

D bezeichnet hierbei die Brechkraft der Einzellinsen bzw. die der Linsenkombination, womit die reziproken Brennweiten gemeint sind.

$$D_{\text{ges}} = \frac{1}{f_{\text{ges}}} = \frac{1}{f_1} + \frac{1}{f_2} - \frac{d}{f_1 \cdot f_2} = D_1 + D_2 - d \cdot D_1 \cdot D_2 \quad (2.7)$$

Die Abstände h_1 und h_2 der beiden Hauptebenen H_1 und H_2 in Bezug auf die jeweilige Linse ergeben sich nach Gleichung 2.8 zu:

$$h_1 = \frac{d \cdot f_{\text{ges}}}{f_2} \quad h_2 = -\frac{d \cdot f_{\text{ges}}}{f_1} \quad (2.8)$$

Ist der Unendlichstrahlengang zu lang, trifft das vom Objektiv kollimierte Licht auf den Randbereich der Tubuslinse oder erreicht ihre Apertur gar nicht mehr. Es resultiert eine als Vignettierung bezeichnete Beschneidung des Gesichtsfelds.^[19] Die Folgen sind eine zunehmende Abdunklung und Unschärfe in der Peripherie des vergrößerten Bilds.

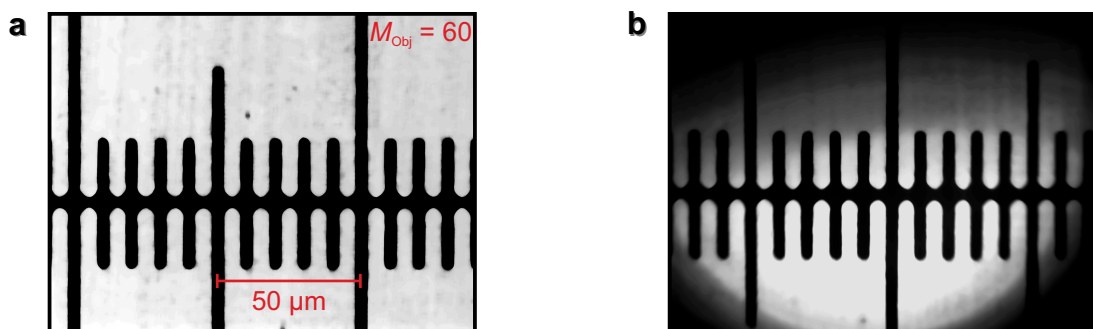


ABB. 2.3: Aufnahme eines vergrößerten Maßstabs. a) Akzeptabler Unendlichstrahlengang: An den Rändern des Bilds sind keine Abbildungsfehler zu erkennen. b) Inakzeptabler Unendlichstrahlengang: Jenseits des Zentrums wird das Bild dunkler und unschärfer.

2 Theoretische und experimentelle Grundlagen

Soll das nach dem Unendlichstrahlengang erzeugte Bild nicht wie in Abbildung 2.3 mit einer Kamera aufgenommen, sondern mit dem Auge betrachtet werden, bedarf es noch eines weiteren Vergrößerungsschritts. Lichtmikroskope verfügen daher über ein zweites Linsensystem, das Okular, welches das ursprüngliche Bild virtuell nachvergrößert. Da es sich hierbei nicht mehr um eine reelle Abbildung handelt, kann keine Maßstabszahl angegeben werden. Die Okularvergrößerung M_{Oku} bezieht sich daher auf den Eindruck des menschlichen Auges. Wie bei einer Lupe vergrößert das Okular den Sehwinkel, unter dem ein Objekt, in diesem Fall das vom Objektiv erzeugte Zwischenbild, wahrgenommen wird. Man spricht dementsprechend auch von einer Winkelvergrößerung. Sie ist wie folgt definiert:

$$M_{\text{Oku}} = \frac{\tan(\varepsilon)}{\tan(\varepsilon_0)} \approx \frac{\varepsilon}{\varepsilon_0} \quad (\text{Paraxialnäherung}) \quad (2.9)$$

Dabei bezeichnet ε den Sehwinkel unter Zuhilfenahme des Okulars oder allgemein eines optischen Instruments, während ε_0 den Sehwinkel meint, der sich bei Betrachtung des Gegenstands aus 25 cm Entfernung einstellt. Dieser Bezugspunkt, die deutliche Sehweite s_0 , legt den Abstand fest, bei dem das menschliche Auge gerade noch ermüdungsfrei akkommodieren und das Objekt scharf auf die Netzhautebene abbilden kann.

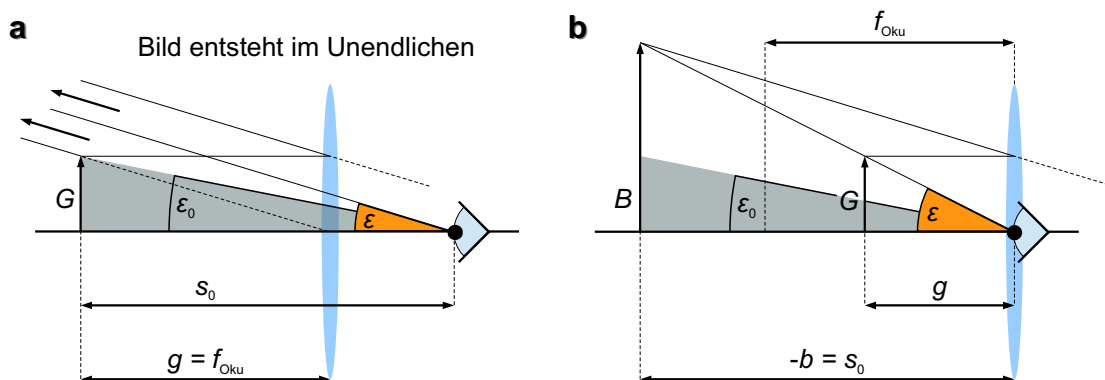


Abb. 2.4: Bei Okularen sind zwei verschiedene Strahlengänge denkbar. **a)** Befindet sich der Gegenstand bzw. das reelle Zwischenbild in der Brennebene des Okulars, entsteht das virtuelle Bild im Unendlichen. Der Betrachter nimmt es bei vollkommen entspanntem Auge unter einem vergrößerten Sehwinkel wahr. **b)** Wird das virtuelle Bild hingegen im Abstand der deutlichen Sehweite erzeugt, muss das Auge seine Brechkraft erhöhen. Der Sehwinkel ist bei Anliegen des Auges am Okular maximal vergrößert.

Wie in Abbildung 2.4 dargestellt, kann ein Okular auf zwei verschiedene Weisen benutzt werden.^[15] Die erreichbaren Winkelvergrößerungen unterscheiden sich dabei:

$$\text{a) } M_{\text{Oku}} = \frac{G}{f_{\text{Oku}}} : \frac{G}{s_0} = \frac{s_0}{f_{\text{Oku}}} \quad \text{b) } M_{\text{Oku}} = \frac{B}{s_0} : \frac{G}{s_0} = \frac{s_0}{f_{\text{Oku}}} + 1 \quad (2.10)$$

Die Gesamtvergrößerung M_{ges} eines zweistufigen Lichtmikroskops ergibt sich schließ-

lich als Produkt aus dem Abbildungsmaßstab des Objektivs M_{Obj} und der Winkelvergrößerung des Okulars M_{Okul} . Für Lichtmikroskope mit Unendlichoptik und bei Betrachtung des virtuellen Bilds im Abstand der deutlichen Sehweite gilt insbesondere:

$$M_{\text{ges}} = M_{\text{Obj}} \cdot M_{\text{Okul}} = \frac{f_{\text{Tub}}}{f_{\text{Obj}}} \cdot \left(\frac{s_0}{f_{\text{Okul}}} + 1 \right) \quad (2.11)$$

Durch geeignete Wahl der Brennweiten von Objektiv, Tubuslinse und Okular kann die Mikroskopvergrößerung auf das zu untersuchende Objekt, zugleich aber auch auf die physiologischen Besonderheiten des menschlichen Auges abgestimmt werden. Kriterium hierbei ist der minimale Sehwinkel, den das in der deutlichen Sehweite s_0 entstehende Bild einnehmen muss, um vom Auge noch aufgelöst werden zu können. Er beträgt $\varepsilon_{\text{min}} \approx 1'$.^[20] Dies ergibt somit folgenden Mindestabstand d_{min} zweier Bilddetails:

$$d_{\text{min}} = \tan(\varepsilon_{\text{min}}) \cdot s_0 \approx 73 \mu\text{m} \quad (2.12)$$

Wird das reelle Zwischenbild hingegen ohne Nachvergrößerung durch das Okular direkt mit einer Kamera aufgenommen, muss stattdessen der Abbildungsmaßstab auf die Pixeldimensionen abgestimmt werden. Wird hierbei die Objektivvergrößerung zu gering gewählt, werden einzelne Objektdetails unter Umständen auf dasselbe Pixel abgebildet und dementsprechend nicht mehr getrennt aufgelöst. Eine zu hohe Vergrößerung wirkt sich hingegen negativ auf die Bildhelligkeit und damit den Kontrast aus, da sich nun die von einer Objektstruktur ausgehende Lichtintensität auf zu viele Pixel verteilt.

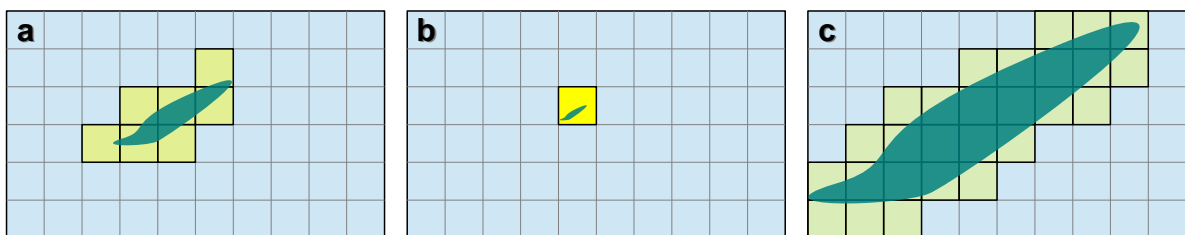


ABB. 2.5: Wird der mit dem Objektiv vergrößerte Gegenstand auf eine Kamera abgebildet, muss die Maßstabszahl auf die Größe der Pixel angepasst werden. **a)** Die Vergrößerung sollte so gewählt werden, dass sich die Objektstruktur bei ausreichender Bildhelligkeit im Kamerabild widerspiegelt. **b)** Ist der Abbildungsmaßstab zu klein, gehen Objektdetails verloren. **c)** Wird er hingegen zu groß gewählt, ist der Kontrast zu gering.

2.1.2 Auflösung des Lichtmikroskops

Aufgrund der Wellennatur des Lichts sind der optischen Mikroskopie Grenzen gesetzt. Neben ihrem vergrößernden Effekt wirken alle Linsen zugleich als begrenzende Apertur. Sie können als kreisförmige Blenden aufgefasst werden, wodurch das von einem

2 Theoretische und experimentelle Grundlagen

Gegenstandspunkt ausgehende Licht zu einem konzentrischen Beugungsmuster in der Bildebene führt. Man spricht hierbei von Beugungsscheibchen. Wie in Abbildung 2.6 veranschaulicht, ist das zentrale Maximum, auch Airy-Scheibchen genannt, von Ringen abnehmender Intensität umgeben, woraus mit dem Beugungsmuster eines weiteren Bildpunkts Interferenzerscheinungen resultieren.

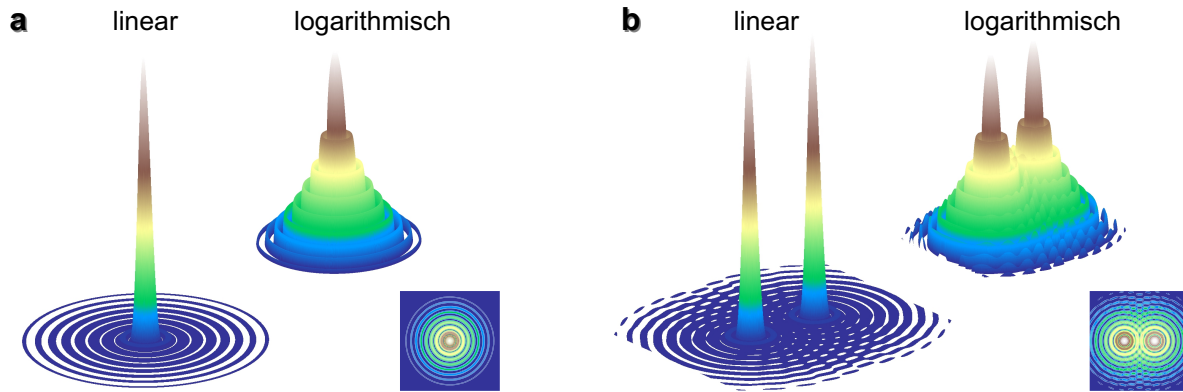


ABB. 2.6: Von optischen Aperturen hervorgerufene Beugungsmuster, dargestellt in linearer und logarithmischer Intensitätsskalierung. **a)** Ein einzelner Bildpunkt zeigt konzentrische Beugungsringe um das zentrale Airy-Scheibchen. **b)** Zwei nahe beieinanderliegende Bildpunkte interferieren miteinander.

Der Intensitätsverlauf $I(r)$ der Beugungsscheibchen lässt sich mit einer Bessel-Funktion erster Art $J_n(u)$ der Ordnung $n = 1$ beschreiben.^[15] Die Proportionalität lautet wie folgt:

$$I(r) \propto \left[\frac{2 \cdot J_1(u)}{u} \right]^2 \quad \text{mit } u = \pi \cdot r \cdot \frac{d_{\text{Apertur}}}{\lambda \cdot f_{\text{Tub}}} \quad (2.13)$$

Im Abstand $u_0 \approx 2 \cdot \pi \cdot 0.61$ vom Ursprung entfernt liegt die erste Nullstelle der Bessel-Funktion, wodurch das Airy-Scheibchen begrenzt und sein Radius r_{Airy} definiert wird:

$$r_{\text{Airy}} = \frac{u_0}{\pi} \cdot \frac{\lambda \cdot f_{\text{Tub}}}{d_{\text{Apertur}}} = 1.22 \cdot \frac{\lambda \cdot f_{\text{Tub}}}{d_{\text{Apertur}}} \quad (2.14)$$

Die Größe des in der Bildebene entstehenden Airy-Scheibchens korreliert demnach mit der Brennweite der Tubuslinse f_{Tub} , mit der Wellenlänge λ des vom Gegenstandspunkt abgestrahlten Lichts sowie reziprok mit der Größe der Objektivöffnung d_{Apertur} . Da der Abstand zweier Beugungszentren ebenfalls linear mit der Brennweite der Tubuslinse korreliert, ist eine weitere Zunahme der Vergrößerung nicht mehr förderlich, sobald die Auflösungsgrenze des Mikroskops unterschritten ist. Zwei Objektpunkte müssen also hinreichend weit voneinander entfernt sein, damit das in der Bildebene entstehende Interferenzmuster noch eine Unterscheidung ihrer zugrunde liegenden Strukturen erlaubt. Dem Rayleigh-Kriterium entsprechend können zwei Beugungsmuster stets dann noch als getrennt wahrgenommen werden, wenn die Mittelpunkte $P_{1(B)}$ und $P_{2(B)}$ zweier

Airy-Scheibchen wenigstens um $x_{\min(B)} = r_{\text{Airy}}$ entfernt sind. In die Objektebene übertragen ergibt sich folgender Mindestabstand $x_{\min(G)}$ zweier Strukturen $P_{1(G)}$ und $P_{2(G)}$:

$$x_{\min(G)} = x_{\min(B)} \cdot \frac{g}{b} = r_{\text{Airy}} \cdot \frac{f_{\text{Obj}}}{f_{\text{Tub}}} = 1.22 \cdot \frac{\lambda \cdot f_{\text{Obj}}}{d_{\text{Apertur}}} \quad (2.15)$$

Mikroskopseitig ist somit lediglich das Objektiv maßgeblich für die Auflösung. Abbildung 2.7 veranschaulicht das Rayleigh-Kriterium am Strahlengang der Unendlichoptik:

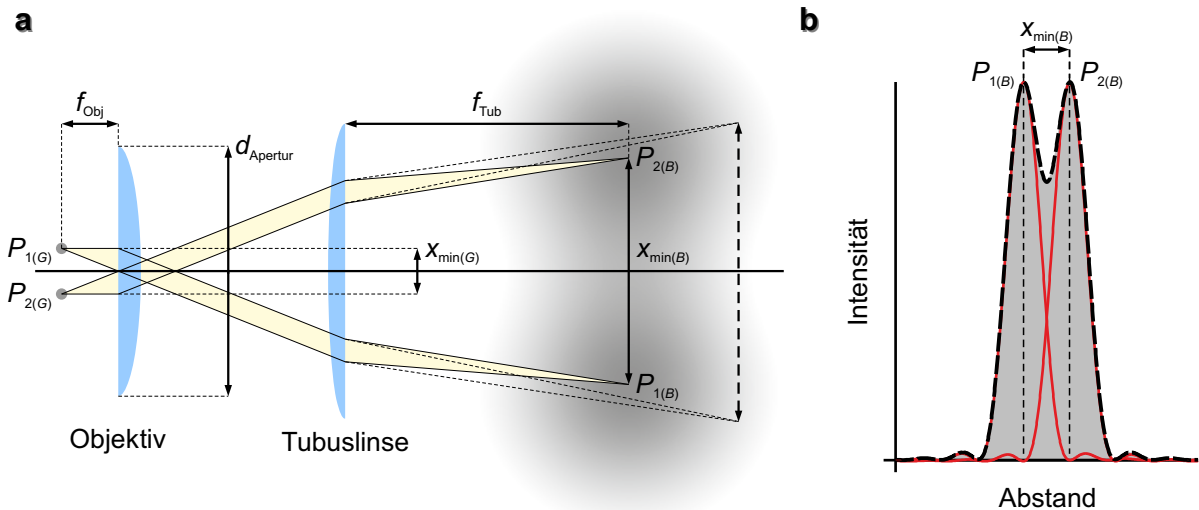


ABB. 2.7: Das Auflösungsvermögen eines Lichtmikroskops wird durch Beugung an der Objektivfassung begrenzt. **a)** Entspricht in der Bildebene der Abstand der zentralen Beugungsmaxima dem Airy-Radius, dann lassen sich nach dem Rayleigh-Kriterium die Bildpunkte noch als getrennt wahrnehmen. **b)** Der Mittelpunkt eines Beugungsmaximums liegt dann im ersten Minimum des anderen.

Wie Abbildung 2.7 aufzeigt, hat eine Zunahme der Brennweite f_{Tub} keinen Einfluss auf den Mindestabstand $x_{\min(G)}$, den zwei Objektpunkte aufweisen müssen. Mit dem Abstand der Airy-Scheibchen wächst in gleicher Weise ihr Durchmesser in der Bildebene. Prinzipiell lässt sich mit unterschiedlichen Kombinationen aus Objektiv und Tubuslinse derselbe Abbildungsmaßstab M_{Obj} realisieren, sofern nach Gleichung 2.4 das Verhältnis der Brennweiten f_{Tub} und f_{Obj} konstant bleibt. Aufgrund seines alleinigen Einflusses auf das Auflösungsvermögen ist beim Aufbau eines Mikroskops mit Unendlichoptik allerdings die Wahl des Objektivs von entscheidender Bedeutung. Es stellt darüber hinaus die Komponente dar, die die Lichtsammelfähigkeit des gesamten optischen Systems bestimmt. Ein Maß hierfür ist der objektseitige Akzeptanzwinkel, unter dem von der Probe ausgehende Lichtstrahlen noch auf die Objektivapertur treffen können, um zur Helligkeit der vergrößernden Abbildung des Mikroskops beizutragen. Die Größe des Akzeptanzwinkels $\bar{\alpha}$ hängt dabei vom Abstand des Gegenstands zur Objektivfrontlinse sowie von ihrem Öffnungsdurchmesser ab. Zur Berechnung des Akzeptanzwinkels las-

2 Theoretische und experimentelle Grundlagen

sen sich näherungsweise dieselben Objektivparameter heranziehen, die nach Gleichung 2.15 bereits das Auflösungsvermögen festlegen. Man erhält schließlich:

$$\bar{\alpha} = 2 \cdot \alpha \approx 2 \cdot \arctan \left(\frac{d_{\text{Apertur}}}{2 \cdot f_{\text{Obj}}} \right) \quad (2.16)$$

Mit Hilfe des halben Öffnungswinkels α lässt sich nun die dimensionslose Numerische Apertur NA definieren. Sie hängt ferner noch vom Brechungsindex n_M des sich zwischen Probe bzw. Deckglas und Objektiv befindlichen Immersionsmediums ab:

$$\text{NA} = n_M \cdot \sin(\alpha) \approx n_M \cdot \sin \left[\arctan \left(\frac{d_{\text{Apertur}}}{2 \cdot f_{\text{Obj}}} \right) \right] \approx n_M \cdot \sin \left(\frac{d_{\text{Apertur}}}{2 \cdot f_{\text{Obj}}} \right) \quad (2.17)$$

Der nach dem Rayleigh-Kriterium zur Auflösung zweier Objektdetails erforderliche Abstand $x_{\min(G)}$ kann somit als Funktion der Numerischen Apertur ausgedrückt werden:

$$x_{\min(G)} = 1.22 \cdot \frac{\lambda \cdot f_{\text{Obj}}}{d_{\text{Apertur}}} \approx 0.61 \cdot \frac{\lambda}{\sin(\alpha)} = 0.61 \cdot \frac{\lambda \cdot n_M}{\text{NA}} = 0.61 \cdot \frac{\lambda_0}{\text{NA}} \quad (2.18)$$

Durch die erhöhten Brechungsindizes von Immersionsmedien wie Wasser oder Öl verbessert sich das Auflösungsvermögen, da sich die Wellenlänge λ des von einem Objektpunkt ausgehenden Lichts gegenüber ihrem Wert im Vakuum λ_0 verringert, wodurch der Durchmesser der Beugungsscheibchen eine Abnahme erfährt. Weiterhin ändert sich das Brechungsverhalten an den Grenzflächen, sodass Lichtstrahlen, die außerhalb des Akzeptanzkonus liegen, dennoch die Objektivöffnung erreichen.

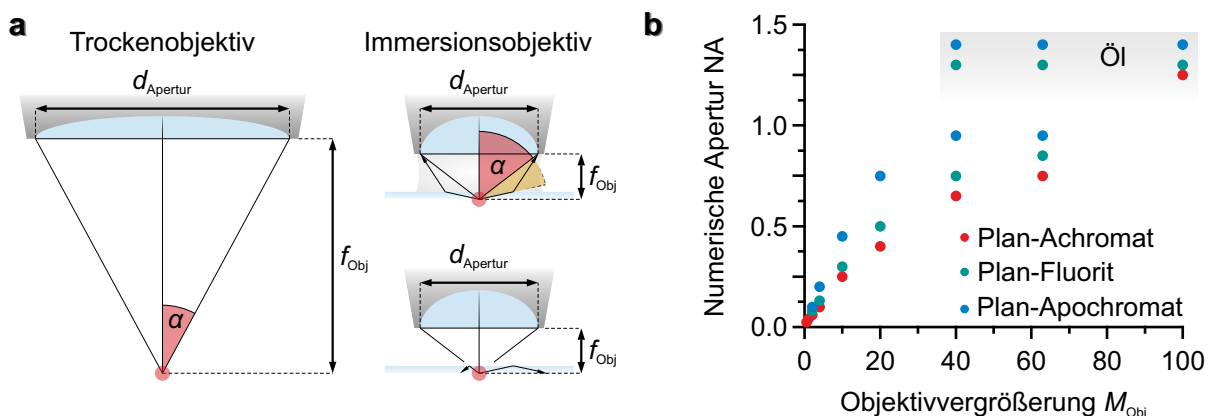


ABB. 2.8: Die Numerische Apertur lässt sich geometrisch erklären, ebenso ihr Zusammenhang mit der Objektivvergrößerung. **a)** Mit kleiner werdender Objektivbrennweite nimmt der halbe Öffnungswinkel α zu. Bei Verwendung eines Immersionsmediums wirkt er vergrößert, was in einer Zunahme der NA zum Ausdruck kommt. Wird auf die Anwesenheit des optisch dichteren Mediums verzichtet, entgehen Lichtstrahlen durch Totalreflexion der Abbildung. **b)** Da sich die Maßstabszahl invers zur Objektivbrennweite verhält, nimmt mit der Objektivvergrößerung die Numerische Apertur zu. [21]

Da eine kleinere Objektivbrennweite stärker gekrümmte Glasflächen erfordert, verringert sich zwangsläufig der Durchmesser der Objektivöffnung. Dennoch nehmen, wie Abbildung 2.8 andeutet, der Akzeptanzwinkel und damit die Numerische Apertur zu. Die Überlegenheit von Objektiven gegenüber einfachen Sammellinsen zeigt sich auch in der Abhängigkeit der Numerischen Apertur von der Güteklasse des Objektivs. Letztere gibt an, in welchem Umfang die Korrektur der chromatischen Aberration erfolgt. Neben der Lichtsammelfähigkeit, welche mit dem Quadrat der NA korreliert, ist dies ein weiterer Grund zur Verwendung hochaperturiger Objektive. Allerdings ist dabei neben erhöhten Anschaffungskosten auch ein verringerter Arbeitsabstand in Kauf zu nehmen, den die zu untersuchende Probe von der Objektivfrontlinse entfernt sein darf.

Neben der lateralen Auflösung, die auf dem Abstand zweier Strukturen in der Gegenstands- bzw. Bildebene beruht, gilt es auch das axiale Auflösungsvermögen des vergrößernden optischen Systems zu berücksichtigen. Man spricht hierbei von der Schärfentiefe des Mikroskops, womit der Abstand entlang der optischen Achse gemeint ist, innerhalb dessen zwei Strukturen gleichzeitig scharf abgebildet werden können.^[22] Unabhängig von der an den Linsenaperturen bewirkten Beugungsverbreiterung hat ein Bildpunkt stets eine endliche Ausdehnung. Im Rahmen der Gaußschen Strahlenoptik stellt der Brennpunkt, also auch der bildseitige Fokus, die Position des Lichtstrahls dar, wo dessen Querschnitt lediglich minimal wird.^[23] Entsprechend liegt in Richtung der Strahlausbreitung ein stetiger Intensitätsverlauf vor, der in der Brennebene ein Maximum durchläuft. Neben der Wellenlänge und der Brennweite hat auch der Strahldurchmesser Einfluss darauf, wie das Intensitätsprofil im Bereich des Brennpunkts orthogonal (y -Koordinate) und parallel (z -Koordinate) zur Propagation des Strahls verläuft. Anstelle der Strahlhalbwertsbreite $\text{FWHM}_{\text{Strahl}}$ wird der Strahlradius ω herangezogen:

$$\omega(z) = \frac{\text{FWHM}_{\text{Strahl}}(z)}{\sqrt{2 \cdot \ln(2)}} \quad (2.19)$$

Der Strahlradius ist ein Maß für den transversalen, d.h. den senkrecht zur Strahlausbreitung auftretenden Intensitätsverlauf $I(y)$. Er ist zugleich mit dem longitudinalen, d.h. den in Richtung der Strahlausbreitung auftretenden Intensitätsverlauf $I(z)$ verknüpft:

$$I(y) = I(z) \cdot e^{-2 \cdot \left[\frac{y}{\omega(z)} \right]^2} \quad \text{mit} \quad I(z) = I_{\text{max}} \cdot \left[\frac{\omega(z=0)}{\omega(z)} \right]^2 \quad (2.20)$$

Dabei entspricht I_{max} der Intensität im Brennpunkt mit $y = 0$ und $z = 0$. Der minimale Strahlradius in der Brennebene $\omega(z = 0)$ wird auch als Strahltaile ω_{Fokus} bezeichnet. Im Abstand $y = \omega(z)$ fällt der einer Gauß-Funktion folgende transversale Intensitätsverlauf $I(y)$ stets auf $e^{-2} \approx 13.5\%$ des Ausgangswerts $I(z)$, dem longitudinalen Intensitätsprofil ab. Letzteres gehorcht einer Lorentz-Funktion, wobei ihre Gestalt durch einen weiteren

2 Theoretische und experimentelle Grundlagen

Parameter, die Rayleigh-Länge z_R , bestimmt wird. Es gilt folgender Zusammenhang:

$$I(z) = I_{\max} \cdot \left[1 + \left(\frac{z}{z_R} \right)^2 \right]^{-1} \quad (2.21)$$

Im Abstand $z = z_R$ verringert sich die longitudinale Intensität folglich auf 50 % des Maximalwerts, womit die Rayleigh-Länge anschaulich der axialen Ausdehnung des Brennpunkts entspricht, während die Strahltaile ω_{Fokus} dessen lateralen Umfang begrenzt. Zusammen mit Gleichung 2.20 folgt für den Strahlradius als Funktion von z_R :

$$\omega(z) = \omega_{\text{Fokus}} \cdot \sqrt{1 + \left(\frac{z}{z_R} \right)^2} \quad \Rightarrow \quad \omega(z_R) = \sqrt{2} \cdot \omega_{\text{Fokus}} \quad (2.22)$$

Die Rayleigh-Länge stellt somit den Abstand dar, bei dem sich der Strahlquerschnitt bezogen auf die von der Strahltaile bestimmte Fläche in der Brennebene verdoppelt hat. Folglich kann die Rayleigh-Länge als Maß für die Schärfentiefe verstanden werden. Letztere nimmt in gleicher Weise zu, wie auch z_R zunimmt, allerdings bei gleichzeitiger Abnahme der Maximalintensität. Bezeichnet ω_0 den Strahlradius vor der Fokussierung mit der Linsenbrennweite f , lassen sich die Rayleigh-Länge z_R , die Strahltaile ω_{Fokus} und der Divergenzwinkel Θ in Verbindung mit der Wellenlänge λ wie folgt formulieren:

$$z_R = \frac{\lambda}{\pi} \cdot \left(\frac{f}{\omega_0} \right)^2 \quad \omega_{\text{Fokus}} = \frac{\lambda \cdot f}{\pi \cdot \omega_0} \quad \frac{\Theta}{2} = \arctan \left(\frac{\omega_0}{f} \right) \approx \frac{\omega_0}{f} = \frac{\omega_{\text{Fokus}}}{z_R} \quad (2.23)$$

Tabelle 2.2 fasst den Einfluss der optischen Parameter auf die Fokussierung zusammen, während Abbildung 2.9 einen exemplarisch berechneten Gauß-Strahl veranschaulicht:

Strahlparameter	starke Fokussierung	schwache Fokussierung
Wellenlänge λ	klein	groß
Brennweite f	klein	groß
Strahlradius ω_0	groß	klein
Fokusparameter	starke Fokussierung	schwache Fokussierung
Divergenzwinkel Θ	groß	klein
Rayleigh-Länge z_R	klein	groß
Strahltaile ω_{Fokus}	klein	groß
Intensitätsmaximum I_{\max}	groß	klein

TAB. 2.2: Starke und schwache Fokussierung eines Lichtstrahls im Rahmen der Gaußschen Strahlenoptik und der Einfluss der zugrunde liegenden optischen Parameter.

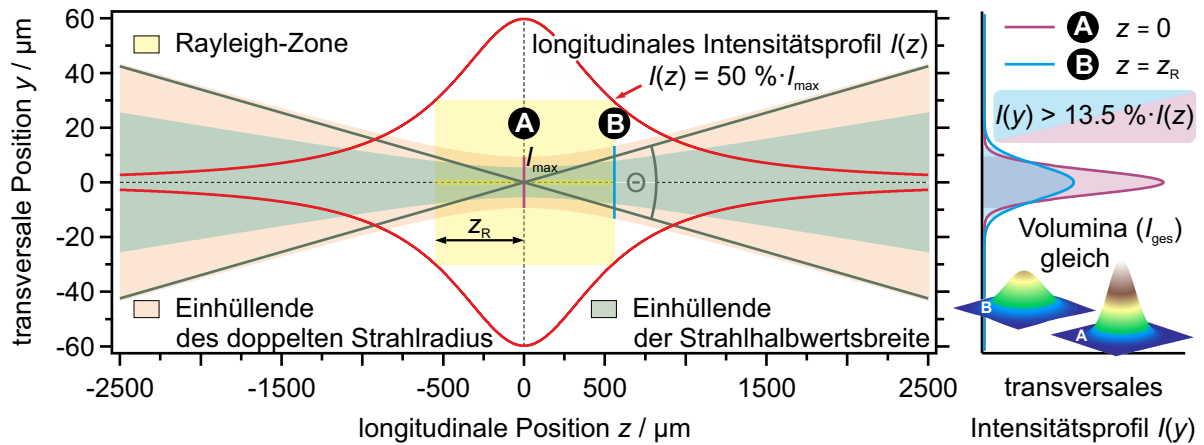


ABB. 2.9: In der Brennebene weist ein fokussierter Lichtstrahl seine geringste Ausdehnung auf, charakterisiert durch die Strahltaile ω_{FokUS} . Innerhalb der vom zweifachen Strahlradius aufgespannten Querschnittsfläche des rotationssymmetrischen Gauß-Profiles liegen stets $1 - e^{-2} \approx 86,5\%$ der Strahlungsintensität I_{ges} , während es bezogen auf die Strahlhalbwertsbreite naturgemäß 50% sind.² Die den Gauß-Strahl konstituierenden Parameter lauten hier $f = 5\text{ cm}$, $\lambda = 500\text{ nm}$ und $\text{FWHM}_{\text{Strahl}0} = \sqrt{2 \cdot \ln(2)} \cdot \omega_0 = 1\text{ mm}$.

Eine starke Fokussierung geht demnach mit einer geringen Schärfentiefe einher. Aufgrund der damit verbundenen kurzen Brennweite zeigen Objektive mit großem Abbildungsmaßstab und hoher Numerischer Apertur ein geringes axiales Auflösungsvermögen. Gerade dies kann man sich jedoch auch zu Nutze machen. So werden in der konfokalen Mikroskopie gezielt nur einzelne Objektebenen abgefragt. Durch sukzessives Abrastern der Probe lässt sich auf diese Weise ihre räumliche Struktur sichtbar machen.

2.1.3 Aufbau und Funktionsweise des Fluoreszenzmikroskops

Die Fluoreszenzmikroskopie stellt eine spezielle Form der Lichtmikroskopie dar, bei der nicht das von der Probe gebeugte Anregungslicht, sondern die in der Probe erzeugte Fluoreszenz gesammelt wird, die ihrerseits die Grundlage für die Bildgebung darstellt. Fluoreszenzmikroskope sind zumeist in Auflichtbauweise realisiert. Im Gegensatz zu Durchlichtmikroskopen kommt hier kein Kondensator zum Einsatz, stattdessen bündelt das Objektiv das Anregungslicht und fängt zugleich das Emissionslicht der Probe auf. Entscheidender Vorteil der auch als Epi-Bauweise bezeichneten Mikroskopvariante ist die effizientere Trennung des Sekundärlichts vom Primärlicht, was gerade bei niedrigen Photolumineszenzquantenausbeuten der verwendeten Emittoren entscheidend sein kann. Da kein optischer Zugang von der dem Mikroskop abgewandten Seite bestehen muss, können ferner auch lichtundurchlässige Proben vermessen werden. Häufig sind Fluoreszenzmikroskope

² Durch zweidimensionale Integration und Grenzwertbetrachtung des transversalen Intensitätsprofils können die von den Einhüllenden umschlossenen Intensitätsanteile erfasst werden. Die Berechnung erfolgt sinnvollerweise in Polarkoordinaten: $\int_0^{2\pi} \int_0^r I(y) y dy d\phi$ mit $y = \omega(z)$, $y = \frac{1}{2} \text{FWHM}_{\text{Strahl}}(z)$, $y = +\infty$.

2 Theoretische und experimentelle Grundlagen

reszenzmikroskope invers gebaut, d.h. der Objektisch befindet sich oberhalb des Objektivs, wodurch den geometrischen Abmessungen großer bzw. sperriger Proben Rechnung getragen wird. Zentrale Bedeutung im optischen Strahlengang eines Auflichtmikroskops kommt dem dichroitischen Strahlenteiler zu. Er besitzt eine spezifische Kantenwellenlänge λ_K , jenseits derer sich sein Reflexions- und Transmissionsverhalten ändern. Wie in Abbildung 2.10 veranschaulicht, verfügen gängige Fluoreszenzfarbstoffe über eine ausgeprägte Stokes-Verschiebung. Das bathochrome Emissionslicht kann somit bei passender Wahl des Strahlenteilers vom hypsochromen Anregungslicht getrennt werden. Hierin kommt jedoch ein praktisches Hindernis zum Vorschein. Wird die experimentelle Fragestellung geändert und im Zuge dessen ein anderes Fluorophorsystem untersucht, verlangt dies unter Umständen eine Anpassung des dichroitischen Filters, was die Flexibilität der Fluoreszenzmikroskopie mitunter einzuschränken vermag.

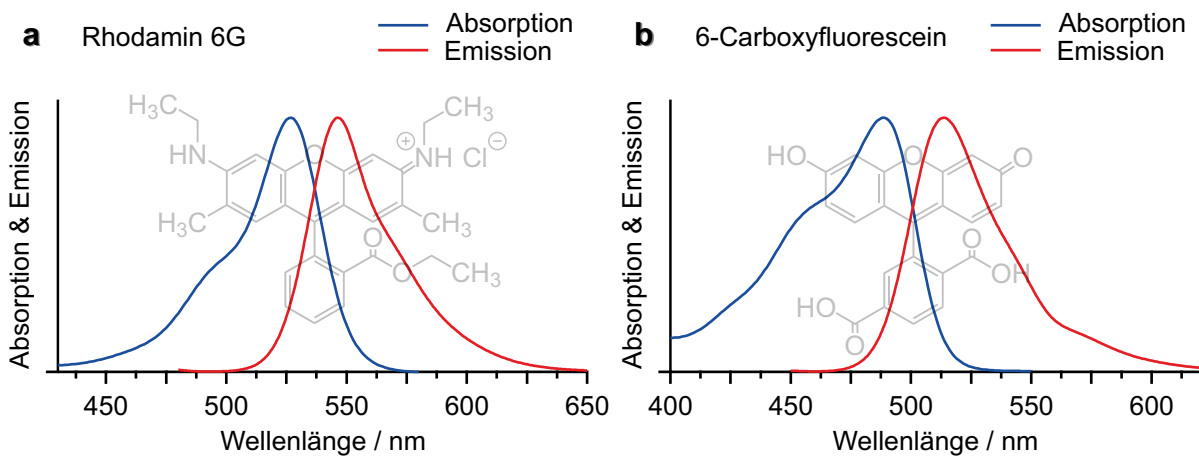


ABB. 2.10: In der Fluoreszenzmikroskopie zum Einsatz kommende Farbstoffe sollten eine signifikante Stokes-Verschiebung aufweisen. Die Fluorophore a) Rhodamin 6G und b) 6-Carboxyfluorescein erfüllen dieses Kriterium. Ihre spektralen Eigenschaften zeigen zudem kaum Beeinflussung durch äußere Bedingungen wie etwa die Polarität des sie umgebenden Mediums.^[24] Kovalent an Naturstoffe wie Proteine oder Nukleinsäuren gebunden können sie ferner als spektroskopische Sonde dienen.^[25]

Um eine nahezu vollständige Unterdrückung des Anregungslichts zu erreichen, reicht der dichroitische Strahlenteiler in der Regel nicht aus. Daher bedarf es in der Fluoreszenzmikroskopie weiterer optischer Filterkomponenten. Bei einer monochromatischen Lichtquelle wird hierzu ein Bandpassfilter mit einem Transmissionsprofil zentriert um die Emissionswellenlänge des Lasers verwendet. Erfolgt die Anregung mit einer Superkontinuumquelle, bietet sich stattdessen ein Kurz- bzw. Hochpassfilter an. Auch auf Seite der Detektion kommen zusätzliche Filter zum Einsatz. So stellt ein nicht seltenes Problem der von Deckgläsern verursachte Hintergrundbeitrag dar. Meist schaffen hier Lang- bzw. Tiefpassfilter Abhilfe. Darüber hinaus erlauben Bandpassfilter bei Vorliegen verschiedener Farbstoffe gewissermaßen eine spektrale Auflösung. So lassen sich be-

stimmte Fluorophorsysteme spezifisch abfragen, wodurch beispielsweise Energietransferprozesse nachgewiesen werden können. Abbildung 2.11 zeigt neben dem schematischen Aufbau eines Fluoreszenzmikroskops in Auflichtbauweise auch eine Übersicht des Transmissions- und Reflexionsverhaltens in Frage kommender optischer Filter:

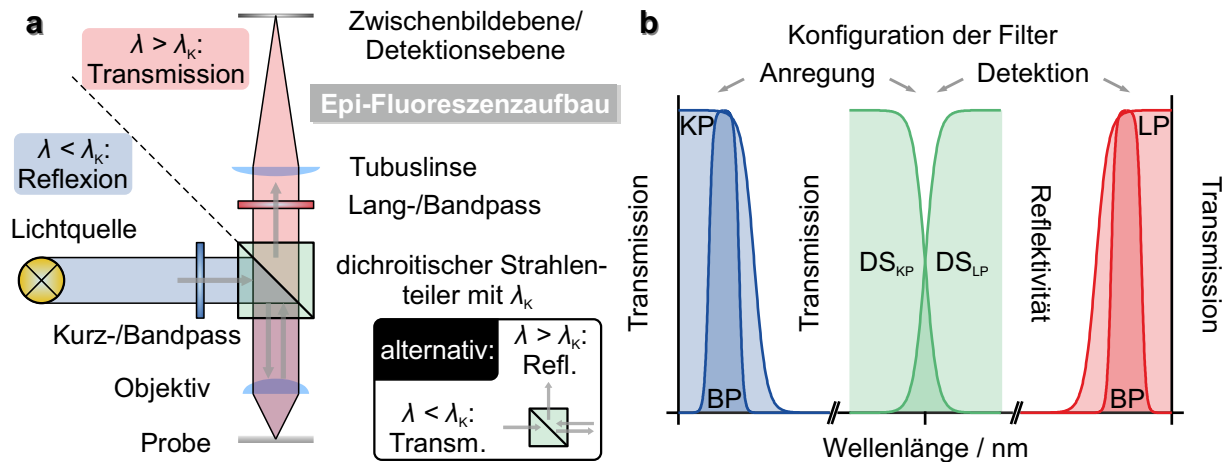


ABB. 2.11: Funktionsweise eines in Epi-Bauweise realisierten Fluoreszenzmikroskops und spektrale Eigenschaften seiner Filterkomponenten. a) Der dichroitische Strahlenteiler kann als Lang- oder als Kurzpass arbeiten. Bei kommerziell erhältlichen Systemen trifft überwiegend ersteres zu. Das Anregungslicht wird reflektiert und das Emissionslicht transmittiert. b) Die Kantenwellenlänge λ_K des dichroitischen Strahlenteilers entspricht dem Wendepunkt in seinem Transmissions- bzw. Reflexionsverhalten.

Aufgrund der Notwendigkeit optischer Filter, was vor allem für den Detektionskanal gilt, haben sich schließlich Mikroskope mit Unendlichoptik durchgesetzt. Das Einbringen von Filterkomponenten führt zwar auch hier zur Lichtbrechung an den Grenzflächen, was stets einen parallelen Strahlenversatz bewirkt. Während in der Endlichoptik daraus eine axiale Verschiebung des Brennpunkts nach hinten resultiert und das vergrößerte Objekt in der eigentlichen Zwischenbildebene nicht mehr scharf abgebildet werden kann, hat der Strahlenversatz in Fluoreszenzmikroskopen mit Unendlichoptik keine Auswirkung auf die Bildqualität. Das im Unendlichstrahlengang auf die Filteroberfläche auftretende Licht ist parallel ausgerichtet, wodurch lediglich ein geringfügiges laterales Verrücken der Bildinformation um wenige Pixel resultiert.

Um zwischen dem Kameramodus und dem Okular zu wechseln, verfügen Forschungsmikroskope über ein Umlenkprisma, welches sich zwischen der Tubuslinse und der Zwischenbildebene befindet.³ Häufig steht dadurch noch ein weiterer Detektionskanal zur Verfügung, an dessen Ausgang beispielsweise eine zweite Kamera angebracht werden kann, um den zugänglichen Emissionsbereich zu vergrößern. Auch lässt sich zur spektralen Analyse des Fluoreszenzlichts ein Spektrometer anschließen.

³ In Abbildung 2.11 aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht eingezeichnet.

2 Theoretische und experimentelle Grundlagen

Um den Abfragebereich der Probe zu vergrößern, kann die Anregung, insbesondere wenn sie mit einem Laser bewerkstelligt werden soll, defokussiert, d.h. mit einem aufgeweiteten Strahl erfolgen.^[26] Das in das Objektiv eintretende Anregungslicht liegt dabei nicht mehr kollimiert, sondern divergent vor, wodurch es jenseits der eigentlichen Objektebene fokussiert wird. In dieser wird nun ein größerer Ausschnitt der Probe ausgeleuchtet. Der Detektionskanal bleibt davon unberührt. Das Emissionslicht wird wie gewohnt in der Brennebene des Objektivs gesammelt. Abbildung 2.12 zeigt anhand eines experimentellen Beispiels das Prinzip der defokussierten Anregung:

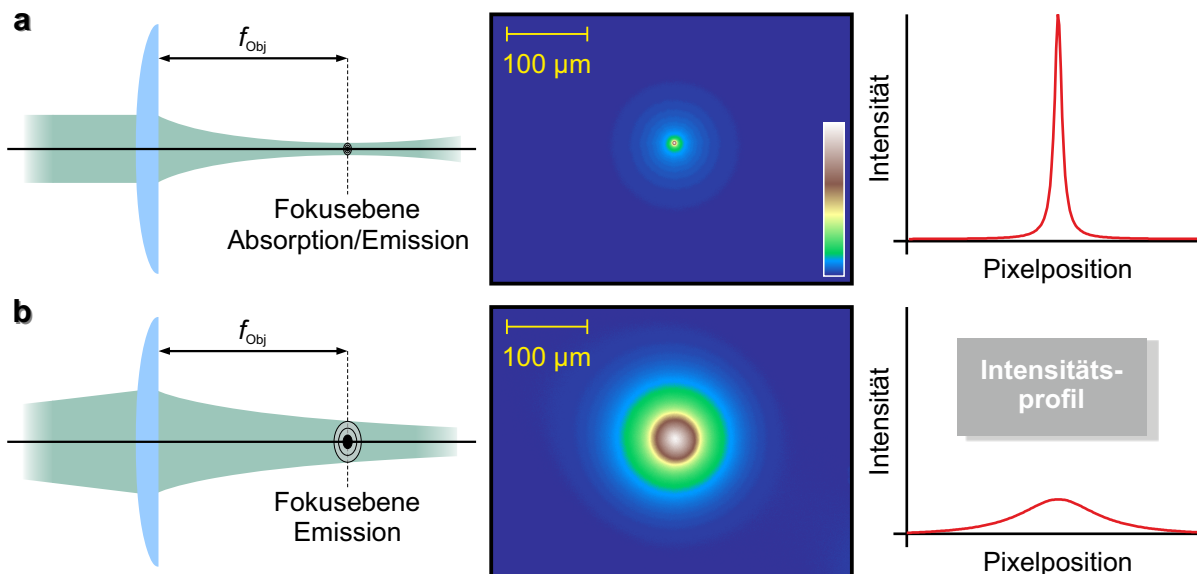


ABB. 2.12: Prinzip der defokussierten Anregung. **a)** Parallel in das Objektiv ($M = 20$) eintretendes Licht führt zu einem Brennpunkt endlich kleiner Strahltaile, aus dem heraus Absorption und Emission erfolgen. **b)** Wird vor das Objektiv eine Zerstreuungslinse oder eine ausreichend entfernte Sammellinse ($f = 4$ cm) platziert, ist das Anregungslicht divergent, die Fokussierung verlagert sich hinter die Objektebene. Die Mikroskopaufnahmen basieren auf der Fluoreszenz einer Rhodamin 6G-Lösung, angeregt bei 488 nm mit einem Argon-Ionen-Laser.

Gerade bei der Aufzeichnung von Übersichtsaufnahmen, die das Abfragen eines größeren Probenausschnitts verlangen, umgeht die defokussierte Anregung den inhärenten Nachteil von Auflichtmikroskopen, bei denen Anregungs- und Detektionsoptik zwangsläufig identisch sind. Während bei Durchlichtmikroskopen eine rückseitige Beleuchtung mit einer langbrennweitigen Linse, z.B. auch in Kombination mit einem Diffusor, problemlos durchzuführen wäre, müsste in der Epi-Anordnung das Objektiv zwecks schwacher Fokussierung gewechselt werden, was wiederum zu einer Abnahme der Numerischen Apertur führt. Damit wären Einbußen hinsichtlich Vergrößerung, Auflösung und Intensität in Kauf zu nehmen. Durch Aufweiten des Laserstrahls wird ein Wechsel des Objektivs hingegen überflüssig.

2.2 Fluoreszenzspektroskopie

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit ist ein Fluoreszenzspektrometrieaufbau installiert und in Betrieb genommen worden, der automatisiert bei geänderter Anregungswellenlänge Einzelspektren aufnimmt und zu einer zweidimensionalen Photolumineszenz-Anregungskarte (PLE-Plot) zusammensetzt. Daher sollen an dieser Stelle grundlegende Begriffe der fluoreszenzspektroskopischen Messtechnik erläutert werden. Als weiterführende Literatur sei hier Wolfgang Demtröders zweiteiliges Werk *Laserspektroskopie* genannt.^[27,28] Eine Übersicht atom- und molekulspektroskopischer Methoden und Anwendungen findet sich beispielsweise in *Modern Spectroscopy* von J. Michael Hollas.^[29]

2.2.1 Auflösung und Lichtstärke des Spektrometers

Während der Nutzen eines Fluoreszenzmikroskops in der Vergrößerung selbstleuchtender Strukturen liegt, lässt sich mit einem UV-VIS-NIR-Spektrometer deren emittierte elektromagnetische Strahlung spektral zerlegen und genauer untersuchen. Ähnlich wie in der Mikroskopie ist neben der Lichtstärke des eingesetzten Geräts dessen Auflösungsvermögen das entscheidende Kriterium. Unter diesem versteht man das kleinste Wellenlängeninkrement, das noch zweifelsfrei unterschieden werden kann. Eine Möglichkeit polychromatisches Licht aufzutrennen, besteht in der räumlichen Aufspaltung seiner Bestandteile, welche mit Prismen- oder Gitterspektrographen erfolgen kann. Während bei einem Prisma das Dispersionsverhalten des Brechungsindex die Wellenlängenauftrennung bewirkt, erfolgt diese in Gitterspektrographen durch Beugung der einfallenden Lichtstrahlen an den Furchen eines Reflexionsgitters, was zu wellenlängenabhängigen Interferenzpositionen führt. Beide Methoden lassen sich auch in Form von Monochromatoren realisieren. Bei Letzteren findet eine nacheinander folgende Detektion des spektral zerlegten Lichts statt, was sich durch sukzessives Drehen des Prismen- oder Gitterelements erreichen lässt. Bei Spektrographen hingegen wird das räumlich aufgetrennte Licht auf einen Pixeldetektor, beispielsweise eine CCD-Kamera, abgebildet und somit zeitgleich registriert. Hierin liegt der Vorteil eines Spektrographen. Er erlaubt eine deutlich zügigere Erfassung von Spektren, was gerade bei der Aufnahme von Zeitserien im Rahmen kinetischer Studien entscheidend sein kann. Daher dienen Monochromatoren anregungsseitig vornehmlich der spektralen Selektion der von Weißlichtquellen emittierten Strahlung. Abbildung 2.13 zeigt den schematischen Aufbau unterschiedlicher Spektrometertypen und veranschaulicht deren Funktionsweise.

Allen Spektrographenvarianten ist gemein, dass die in der Eintrittsebene ankommenden Lichtstrahlen in die Austrittsebene abgebildet werden. Das auf den Eintrittsspalt der Breite S fokussierte Licht wird innerhalb des Öffnungswinkels Ω entweder von ei-

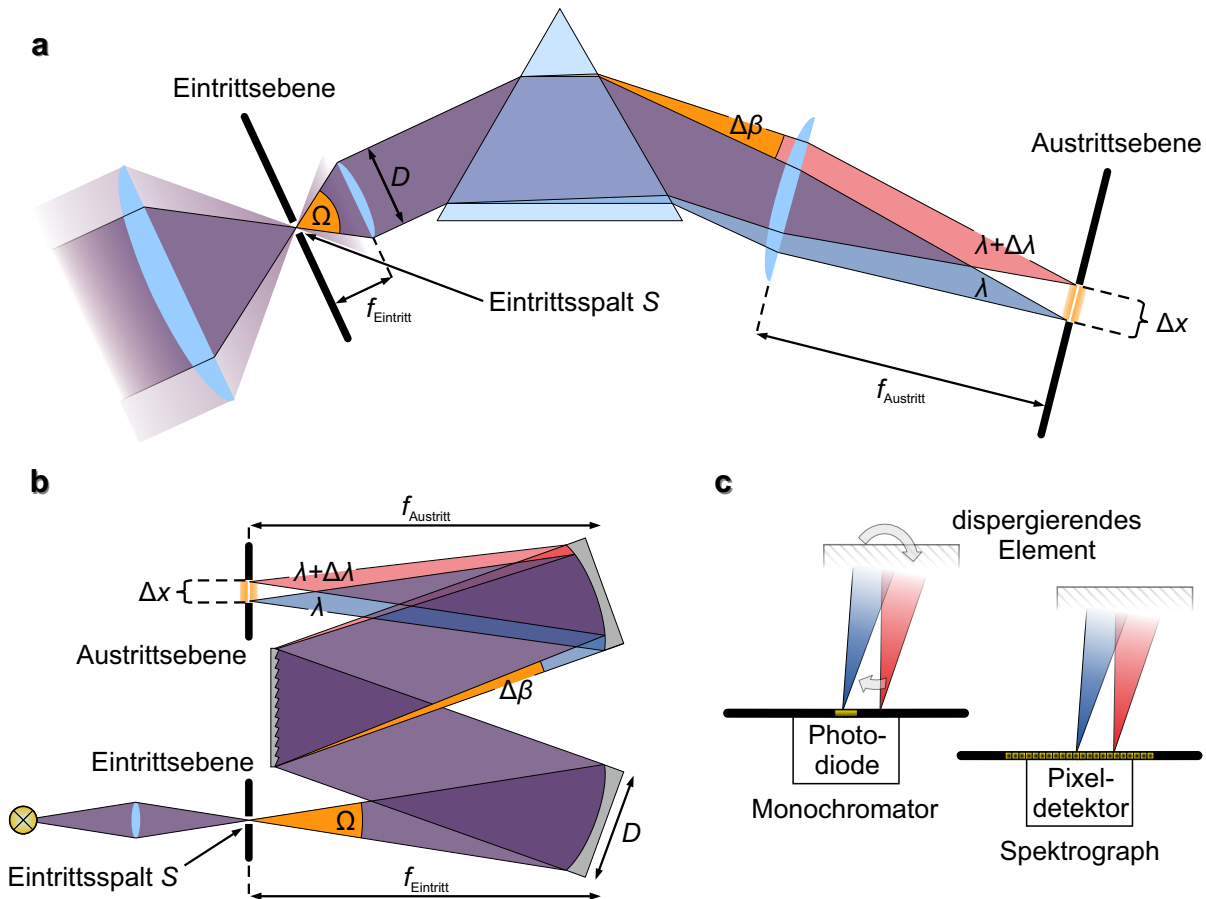


ABB. 2.13: Grundlegender Aufbau eines a) Prismen- und b) Gitterspektrometers. Bei der hier dargestellten Bauweise mit zwei Konkavspiegeln handelt es sich um die Konfiguration nach Czerny-Turner. Ist nur ein Konkavspiegel verbaut, spricht man von der Konfiguration nach Fastie-Ebert. c) Während bei einem Monochromator die Breite des Austrittsspalts einzelne Wellenlängen spektral diskriminiert, erfolgt die Unterscheidung bei einem Spektrographen durch die Anzahl und Größe der Detektorpixel.

ner Linse oder einem Konkavspiegel mit der Apertur D und der Brennweite f_{Eintritt} gesammelt und auf das dispersierende Element gerichtet. Der dabei entstehende Winkelversatz $\Delta\beta$ lässt sich schließlich durch eine zweite Optik der Brennweite f_{Austritt} in ein Längenmaß übersetzen. Entsprechend dem Verhältnis der beiden Brennweiten f_{Austritt} und f_{Eintritt} kann ein vergrößernder oder verkleinernder Abbildungsmaßstab vorliegen. Aus geometrischen Gründen sind allerdings gerade in Gitterspektrographen bzw. -monochromatoren die Brennweiten gleich. Im Folgenden soll daher $M = 1$ gelten und allgemein von der Spektrometere Brennweite f die Rede sein. Für den Abstand Δx der unterschiedlichen Wellenlängenpositionen $x(\lambda)$ und $x(\lambda + \Delta\lambda)$ ergibt sich schließlich:

$$\Delta x = x(\lambda + \Delta\lambda) - x(\lambda) = f \cdot \Delta\beta \tag{2.24}$$

Zwar wächst der Abstand Δx mit zunehmender Brennweite an. Allerdings nimmt nach Gleichung 2.25 auch die vom Spektrometer erzeugte Abbildung des Eintrittsspalts mit

der Brennweite f zu. Grund dafür ist die an den Aperturen wie Linsenfassungen und Spiegelrändern auftretende Beugung des eintretenden Lichts. Das räumliche Ausmaß des hierdurch erzeugten Beugungsbilds B wird von den ersten Minimapositionen jenseits des Mittelpunkts begrenzt, vergleichbar mit Abbildung 2.7. Insgesamt hat das Spaltbild um das Zentrum $x(\lambda)$ folgende Größe:

$$B(\lambda) = S + \frac{2 \cdot f \cdot \lambda}{D} \quad (2.25)$$

D bezeichnet hier die Abmessung der die Beugung verursachenden Apertur, mit S ist die Breite des Eintrittsspalts gemeint. Wäre dieser unendlich klein, würde die Bildgröße $B(\lambda)$ in gleicher Weise zunehmen wie der Abstand Δx der beiden Bildpositionen, womit eine größere Spektrometerbrennweite f alleine betrachtet keine Verbesserung der spektralen Auflösung zur Folge hätte. Durch die endliche Spaltbreite wächst dagegen das Verhältnis von Δx zu B mit der Brennweite an, wodurch das Auflösungsvermögen effektiv erhöht wird. Damit zwei Wellenlängen, die um $\Delta \lambda$ getrennt sind, noch aufgelöst werden können, müssen die Zentren $x(\lambda)$ und $x(\lambda + \Delta \lambda)$ der beiden Spaltbilder $B(\lambda)$ und $B(\lambda + \Delta \lambda)$ folgenden Mindestabstand Δx_{\min} aufweisen:

$$\Delta x_{\min} = f \cdot \Delta \beta_{\min} \geq S + \frac{f \cdot \lambda}{D} \quad (2.26)$$

Gleichung 2.26 stellt das Rayleigh-Kriterium für das Auflösungsvermögen in der Spektroskopie dar. Die Mittelpunkte der beiden Spaltbilder müssen zusätzlich zur Spaltbreite S noch um die halbe Fußpunktsbreite der Beugungsstruktur entfernt sein. Der Mindestabstand Δx_{\min} lässt sich dabei auf den minimalen Winkelversatz $\Delta \beta_{\min}$ zurückführen, den die Lichtstrahlen nach dem dispergierenden Element aufweisen müssen:

$$\Delta \beta_{\min} = \frac{d\beta}{d\lambda} \cdot \Delta \lambda_{\min} = \frac{1}{f} \cdot \frac{dx}{d\lambda} \cdot \Delta \lambda_{\min} \quad (2.27)$$

Die beiden Differenzialquotienten aus Gleichung 2.27 nennt man Winkeldispersion und lineare Dispersion. Zusammen mit Gleichung 2.26 lässt sich nun die Auflösungsgrenze $\Delta \lambda_{\min}$ angeben, die von einem Spektralapparat theoretisch erreicht werden kann:

$$\Delta \lambda_{\min} \geq \left(S + \frac{f \cdot \lambda}{D} \right) \cdot \left(\frac{dx}{d\lambda} \right)^{-1} = \frac{1}{f} \cdot \left(S + \frac{f \cdot \lambda}{D} \right) \cdot \left(\frac{d\beta}{d\lambda} \right)^{-1} \quad (2.28)$$

In der Praxis gilt es bei der Wahl der Spaltbreite S einen Kompromiss zu finden. Verringert man diese, wird zwar das Spaltbild $B(\lambda)$ in der Beobachtungsebene kleiner und die Auflösungsgrenze $\Delta \lambda_{\min}$ nach Gleichung 2.28 zu kürzeren Wellenlängeninkrementen verschoben. Eine zu geringe Spaltbreite führt jedoch zu einer Abnahme der Signalintensität, da das Abbild der Lichtquelle die Spaltbreite in der Regel signifikant über-

2 Theoretische und experimentelle Grundlagen

schreitet. Zwar kann durch Anpassen des Strahlengangs die beleuchtete Fläche in der Eintrittsebene verkleinert werden. Der beugungsbedingten Abnahme der vom Spektrometer erfassten Lichtintensität bei zu kleinen Spaltbreiten lässt sich damit allerdings nicht entgegenwirken. Ein unterer Grenzwert für die Spaltbreite S_{\min} sollte so gewählt werden,^[27] dass die von den beiden ersten Minima begrenzte Beugungsstruktur des den Spalt passierenden Lichts noch innerhalb der Abmessung der Eintrittsapertur D liegt:

$$S_{\min} \geq \frac{2 \cdot f \cdot \lambda}{D} = 2 \cdot k \cdot \lambda \quad (2.29)$$

Das Verhältnis aus Eintrittsbrennweite und Aperturdurchmesser wird als Blendenzahl k bezeichnet, der Kehrwert als Öffnungsverhältnis.^[15] In der Literatur sind unterschiedliche Schreibweisen geläufig. So findet man z.B. für $k = 4$ folgende Formulierungen:

$$k \equiv f/\# \equiv F/\# = 4 = f/4 = F/4 \quad (2.30)$$

Das Öffnungsverhältnis k^{-1} ist ein Maß für die Lichtstärke des Spektrometers und mit dem von der Eintrittsapertur gerade noch akzeptierten Raumwinkel Ω verknüpft:

$$\Omega = 2 \cdot \pi \cdot \left\{ 1 - \cos \left[\arctan \left(\frac{D}{2 \cdot f} \right) \right] \right\} \approx \frac{\pi}{4} \cdot \left(\frac{D}{f} \right)^2 = \frac{\pi}{4} \cdot k^{-2} \quad (2.31)$$

Auch die Brennweite betreffend bedarf es daher eines Kompromisses. Eine Zunahme des Öffnungswinkels und damit einhergehend der Lichtstärke verringert die erreichbare Auflösung, $\Delta\lambda_{\min}$ nimmt zu. Häufig verwendet man zur Charakterisierung des spektralen Auflösungsvermögens den Quotienten R aus Wellenlänge und Auflösungsgrenze:

$$R = \frac{\lambda}{\Delta\lambda_{\min}} \leq \frac{f \cdot \lambda}{S + f \cdot \lambda \cdot D^{-1}} \cdot \frac{d\beta}{d\lambda} \quad (2.32)$$

Für die Szenarien $S = 0$ und $S = S_{\min}$ ergibt sich das spektrale Auflösungsvermögen zu:

$$R_{S=0} \leq D \cdot \frac{d\beta}{d\lambda} \quad R_{S=S_{\min}} \leq \frac{1}{3} \cdot D \cdot \frac{d\beta}{d\lambda} \quad (2.33)$$

Die Größe R lässt sich somit auf die Winkeldispersion $d\beta/d\lambda$ und die Abmessung der Apertur D zurückführen. Die bisherigen Ausführungen sind dabei allgemeingültig und unabhängig von der Natur des dispergierenden Elements. Bei einem Prismenspektrometer muss eine genauere Betrachtung auf den Zusammenhang zwischen Brechungsindex und Winkeldispersion gerichtet sein, bei einem Gitterspektrometer muss die Wirkungsweise des Reflexionsgitters näher untersucht werden. Der Vorteil des Prismas liegt in der Eindeutigkeit der Wellenlängenzuordnung, die bei einem reflektierenden Beugungsgitter durch die Überlagerung verschiedener Interferenzordnungen nicht immer

gewährleistet ist. Sein Nachteil ist jedoch die geringe Dispersion $dn/d\lambda$, insbesondere im IR-Bereich, die durch die Eigenschaften der verwendeten Glassorte bestimmt wird. Darüber hinaus ist die Anwendbarkeit auch durch Absorption der in das Prisma eintretenden Strahlung eingeschränkt. Im Folgenden gilt die Betrachtung daher Gitterspektrometern, wie sie auch in der vorliegenden Arbeit zum Einsatz kommen. Hierzu betrachte man den in Abbildung 2.14 gezeigten Ausschnitt eines reflektierenden Beugungsgitters, auf Basis dessen sich ein Ausdruck für die Winkeldispersion herleiten lässt:

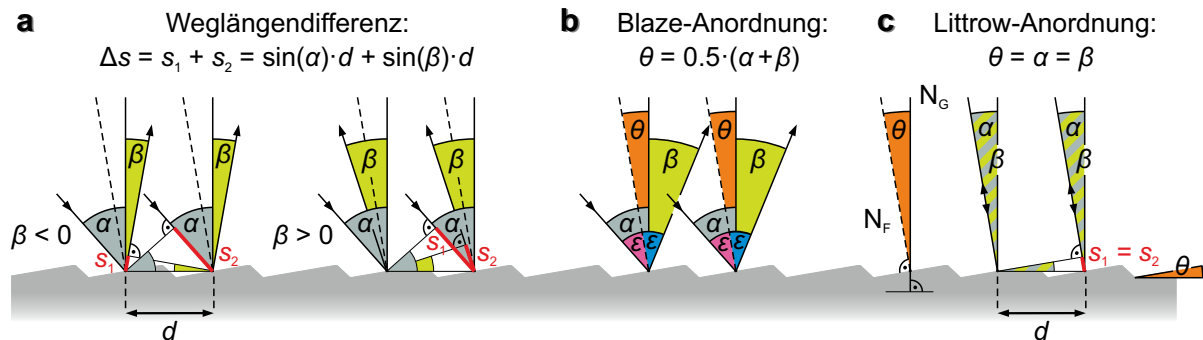


Abb. 2.14: Auf das Reflexionsgitter treffendes Licht wird gebeugt, was Interferenzerscheinungen zur Folge hat. **a)** Die dabei auftretende Weglängendifferenz Δs zweier Strahlen hängt von den Winkeln α und β sowie vom Abstand d der Furchen ab. **b)** In der Blaze-Anordnung besteht ein definierter Zusammenhang zwischen α , β und dem Furchenwinkel θ . **c)** In der Littrow-Anordnung wird das Licht in sich reflektiert.

Konstruktive Interferenz tritt auf, wenn der sich additiv aus den beiden Einzelstrecken s_1 und s_2 zusammensetzende Gangunterschied Δs zweier Lichtstrahlen ein ganzzahliges Vielfaches m der vom Gitter reflektiv gebeugten Wellenlänge λ ist. Die Zahl m wird dabei auch als Interferenzordnung bezeichnet. Die Gittergleichung lautet schließlich:

$$\Delta s = m \cdot \lambda = d \cdot [\sin(\alpha) + \sin(\beta)] \quad (m \in \mathbb{Z}) \quad (2.34)$$

Dabei stellen α und β den ein- bzw. ausfallenden Winkel in Bezug auf die Gitternormale N_G dar. Der Abstand zweier identischer Gitterpunkte wird mit d bezeichnet und gelegentlich auch Gitterkonstante genannt. Konventionsgemäß ist der Ausfallswinkel β negativ, wenn er bezogen auf die Gitternormale N_G rechtsdrehend ist, woraus folglich negative Weglängendifferenzen und damit auch negative Interferenzordnungen resultieren können. Durch die Neigung der Gitterfurchen um den sog. Blaze-Winkel θ (engl. blaze, dt. funkeln) kann die Reflektivität für eine bestimmte Wellenlänge erhöht werden. Bei einem vorgegebenen Einfallswinkel α , der unmittelbar aus der Spektrometergeometrie resultiert, wird das Licht nun so gebeugt, als ob es gleichzeitig auch an der Furchennormalen N_F unter dem Winkel ε reflektiert erscheint. Nahezu das gesamte einfallende Licht mit der Wellenlänge λ_{Blaze} wird damit in eine zuvor bestimmte Interferenzordnung geleitet. Aufgrund ihrer Furchenstruktur werden solche Reflexionsgitter

2 Theoretische und experimentelle Grundlagen

auch als Echelettegitter (*franz. échelle, dt. Stufenleiter*) bezeichnet. Der Blaze-Winkel θ lässt sich durch geometrische Überlegungen herleiten:

$$\begin{aligned} \varepsilon &= \alpha - \theta \\ \varepsilon &= \theta - \beta \end{aligned} \implies \theta = \frac{\alpha + \beta}{2} = \frac{1}{2} \cdot \left\{ \alpha + \arcsin \left[\frac{m \cdot \lambda_{\text{Blaze}}}{d} - \sin(\alpha) \right] \right\} \quad (2.35)$$

Häufig ist in optischen Anwendungen die Littrow-Anordnung realisiert.^[16] Die Einstrahlung erfolgt parallel zur Furchennormalen. Ein-, Ausfalls- und Furchenwinkel sind identisch. Das Gitter arbeitet dann als frequenzselektiver Spiegel. Dabei gilt:

$$\Delta s = 2 \cdot d \cdot \sin(\alpha) \implies \theta = \alpha = \beta = \arcsin \left(\frac{m \cdot \lambda_{\text{Littrow}}}{2 \cdot d} \right) \quad (2.36)$$

Für die Wellenlänge λ_{Littrow} ist in diesem Fall die Gittergleichung 2.34 erfüllt. Um in allgemeiner Form einen Ausdruck für die Winkeldispersion $d\beta/d\lambda$ zu erhalten, muss die Gittergleichung schließlich umgestellt und differenziert werden:

$$\frac{d\beta}{d\lambda} = \frac{d}{d\lambda} \arcsin \left[\frac{m \cdot \lambda}{d} - \sin(\alpha) \right] = \frac{m}{d} \cdot \left\{ 1 - \left[\frac{m \cdot \lambda}{d} - \sin(\alpha) \right]^2 \right\}^{-1/2} \quad (2.37)$$

Die Winkeldispersion lässt sich auch als Funktion des Ausfallswinkels β angeben:

$$\frac{d\lambda}{d\beta} = \frac{d}{d\beta} \frac{d \cdot [\sin(\alpha) + \sin(\beta)]}{m} = \frac{d \cdot \cos(\beta)}{m} \implies \frac{d\beta}{d\lambda} = \left(\frac{d\lambda}{d\beta} \right)^{-1} = \frac{m}{d \cdot \cos(\beta)} \quad (2.38)$$

Gemäß Gleichung 2.32 kann durch Zunahme der Winkeldispersion das spektrale Auflösungsvermögen R erhöht werden, was sich durch Reflexionsgitter mit kleineren Furchenabständen d umsetzen lässt. Gleichung 2.38 zufolge könnte zu diesem Zweck ein Spektralapparat auch in einer höheren Interferenzordnung m betrieben werden. Allerdings tritt hierbei die Unwägbarkeit auf, dass eine eindeutige Wellenlängenzuordnung zunehmend schwieriger wird. So nimmt der von anderen Ordnungen unbeeinflusste Spektralbereich mit m ab. Kommerziell erhältliche Spektrographen arbeiten daher standardmäßig in erster Beugungsordnung. Dennoch muss auch hier einer ausreichenden Unterdrückung von Anregungs- oder Umgebungslicht Rechnung getragen werden, da dieses bei entsprechender Detektorempfindlichkeit einen spektralen Beitrag in zweiter Interferenzordnung verursachen würde. Durch den Einsatz von Ordnungsfiltren, welche als Langpass wirken, kann dieses Problem umgangen werden.

Eine Erhöhung des Auflösungsvermögens, sei es durch Brennweite, Gitterkonstante oder Beugungsordnung, führt unweigerlich zu einer Beschneidung des abgebildeten Spektralbereichs. Letzterer ist bei einem Spektrographen von der Detektorbreite L_{Detektor} abhängig. Dehnt sich das zu untersuchende Signal auf eine größere Fläche in der Detektionsebene aus, nimmt damit die auf ein einzelnes Pixel bezogene Lichtintensität ab.

Bezeichnet N_{Pixel} die Anzahl der Pixel in einer Zeile und L_{Pixel} das horizontale Ausmaß eines Pixels, so gilt für den bei einer Messung spektral erfassten Messbereich $\Delta\lambda_{\text{ges}}$:

$$L_{\text{Detektor}} = N_{\text{Pixel}} \cdot L_{\text{Pixel}} \equiv \frac{dx}{d\lambda} \cdot \Delta\lambda_{\text{ges}} = f \cdot \frac{d\beta}{d\lambda} \cdot \Delta\lambda_{\text{ges}} = \frac{f \cdot m}{d \cdot \cos(\beta)} \cdot \Delta\lambda_{\text{ges}} = \text{const.} \quad (2.39)$$

Den geometrischen Abmessungen der Detektorpixel kommt auch hinsichtlich der Auflösungsgrenze $\Delta\lambda_{\text{min}}$ Bedeutung zu. Sie lässt sich in der Praxis nur erreichen, wenn gilt:

$$L_{\text{Pixel}} < \Delta x_{\text{min}} = \frac{dx}{d\lambda} \cdot \Delta\lambda_{\text{min}} \geq S + \frac{f \cdot \lambda}{D} \quad (2.40)$$

Die das einfallende Licht begrenzende Spektrometerapertur D bestimmt nach Gleichung 2.40 die obere Grenze für die Pixelgröße. Bei hinreichend kleinen Pixeln ist für das Auflösungsvermögen nicht zuletzt die Frage entscheidend, wie viele beleuchtete Gitterfurchen N zur spektralen Auftrennung des zu untersuchenden Signals beitragen. Beugungsbedingt liegen die wellenlängenabhängigen Interferenzpositionen innerhalb einer Winkelverteilung,^[27] die zugleich die untere Grenze $\Delta\beta_{\text{min}}$ zwischen zwei noch auflösbaren Wellenlängen λ und $\lambda + \Delta\lambda_{\text{min}}$ definiert:

$$\Delta\beta_{\text{min}} \geq \frac{\lambda}{N \cdot d \cdot \cos(\beta)} \quad \text{mit } N \cdot d \cdot \cos(\beta) = D \quad (2.41)$$

Stellt das Beugungsgitter die begrenzende Apertur dar, erhält man für das noch auflösbare Wellenlängeninkrement $\Delta\lambda_{\text{min}}$ und das spektrale Auflösungsvermögen R :

$$\Delta\lambda_{\text{min}} = \Delta\beta_{\text{min}} \cdot \left(\frac{d\beta}{d\lambda} \right)^{-1} \geq \frac{\lambda}{N \cdot m} \implies R = \frac{\lambda}{\Delta\lambda_{\text{min}}} \leq N \cdot m \quad (2.42)$$

Mit Gleichung 2.42 lässt sich somit die absolute Grenze für das spektrale Auflösungsvermögen R angeben, welches ein Spektralapparat zu leisten im Stande ist. Die Gesamtzahl der Furchen kann mit Hilfe der Gitterkonstante bzw. ihrem Kehrwert, auch Linienzahl genannt, berechnet werden. Die Abmessungen des Reflexionsgitters sowie die zugrunde liegende Beugungsordnung des Spektrometers lassen sich den Datenblättern der jeweiligen Hersteller entnehmen. Bei der Fokussierung des zu untersuchenden Lichts in die Eintrittsebene ist die Brennweite so zu wählen, dass der Raumwinkel Ω bzw. das Öffnungsverhältnis k^{-1} komplett ausgenutzt wird, um eine nahezu vollständige Ausleuchtung des Beugungsgitters zu gewährleisten. Dabei gilt es dem Durchmesser des eintretenden Strahlenbündels Rechnung zu tragen. Wird die Brennweite hierbei zu kurz gewählt, erreichen – wie in Abbildung 2.13 für das Prismenspektrometer dargestellt – nicht alle Lichtstrahlen die Eintrittsapertur, was zwangsläufig zu Intensitätsverlusten führt. Durch endlich kleine Spaltbreiten wird, wie in Gleichung 2.33 gezeigt, das theoretische Auflösungsvermögen in der Praxis unterschritten. Da die Eindeutigkeit der

2 Theoretische und experimentelle Grundlagen

Wellenlängenzuordnung im Vordergrund steht, wird zumeist in erster Interferenzordnung gemessen. Spektrometer lassen sich allerdings auch in nullter Ordnung betreiben. In diesem Fall gilt $\alpha = \beta$; unabhängig von der Wellenlänge ist der Gangunterschied $\Delta s = 0$. Da nunmehr keine spektrale Auftrennung des einfallenden Lichts stattfindet, kann ein Gitterspektrograph, sofern ein zweidimensionaler Detektor angeschlossen ist, auf diese Weise zur Bildgebung verwendet werden. Entsprechend spricht man auch von abbildenden Spektrographen. In diesem Fall muss der Eintrittsspalt weit aufgezogen werden, um einen ausreichend großen Bildabschnitt registrieren zu können.

2.2.2 Signal-Rausch-Verhältnis und Linienformen

Wie bereits angedeutet, sollte ein Spektralapparat ausreichend viel Licht akzeptieren und transmittieren, um auch geringe Signalintensitäten bei moderater Belichtungszeit registrieren zu können. Neben dem Öffnungsverhältnis und der gewählten Spaltbreite kommt daher der Auswahl der im Spektrometerinneren befindlichen Optiken besondere Bedeutung zu. Handelt es sich um die Czerny-Turner-Bauweise, sollte die Beschichtung der beiden Konkavspiegel dem untersuchten Spektralbereich Rechnung tragen. Abbildung 2.15 gibt einen exemplarischen Einblick in das Reflektivitätsverhalten von Spiegelmaterialien und Beugungsgittern:

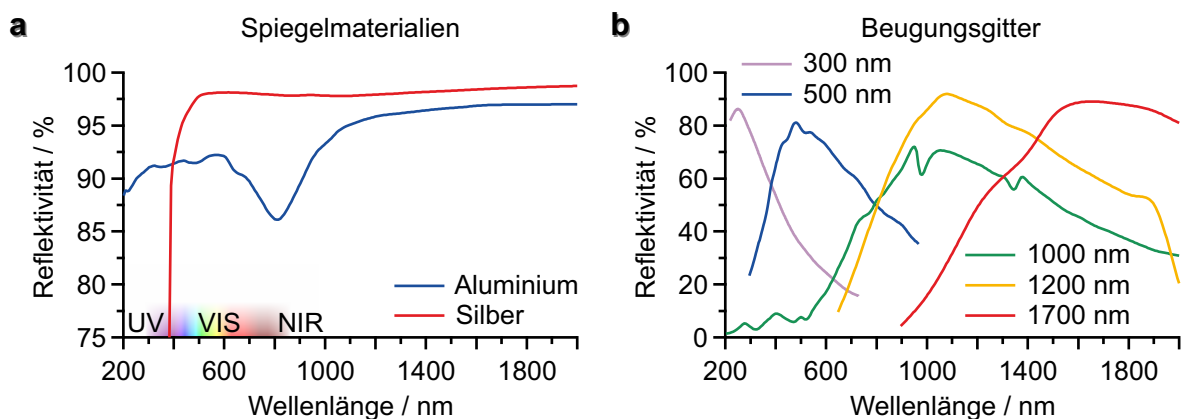


ABB. 2.15: Reflektivitäten verschiedener Spiegelmaterialien und Beugungsgitter.^[30,31] a) Mit Silberbeschichtung versehene Spiegel sind erste Wahl, wenn das Spektrometer in NIR-Anwendungen zum Einsatz kommt. Im UV-Bereich sind hingegen Aluminiumspiegel zu verwenden. b) Bei der Auswahl des Beugungsgitters ist neben der Linienzahl die Blaze-Wellenlänge an den interessierenden Spektralbereich anzupassen.

Nicht nur die Beschichtung der Konkavspiegel, sondern auch die des Gitters sollte den Erfordernissen des Experiments gerecht werden. Bei einem Vergleich der Reflektivitätskurven von Beugungsgittern ist auf ihre Polarisationsabhängigkeit zu achten. Die in Abbildung 2.15 dargestellten Werte beziehen sich allesamt auf mechanisch geritz-

te Furchengitter mit einer Linienzahl von 300 mm^{-1} , für einfallendes Licht unter einem Winkel von 45° polarisiert.^[31] In Spektrometern ist häufig ein dreigliedriger Turm verbaut, der mit Reflexionsgittern unterschiedlicher Blaze-Wellenlänge und Linienzahl ausgestattet ist. Auf diese Weise wird ein flexibler Betrieb über einen ausgedehnten Wellenlängenbereich möglich, wobei sich je nach Fragestellung ein Kompromiss zwischen Auflösungsvermögen R und spektral erfasstem Bandpass $\Delta\lambda_{\text{ges}}$ bei gleichzeitig größtmöglicher Signalintensität erzielen lässt.

Zur Optimierung der Signalstärke gilt es auch den Detektor und dessen Einstellungen auf das jeweilige Experiment abzustimmen. Während CCD-Sensoren für den sichtbaren Spektralbereich geeignet sind und auf Silizium als Halbleitermaterial beruhen, basieren die Photodiodezeilen von Infrarotdetektoren auf dem Verbindungshalbleiter Indiumgalliumarsenid. Häufig verfügen Spektrographen über zwei mittels eines Kippspiegels bedienbare Ausgänge, womit der Anschluss zweier Detektoren ermöglicht wird.

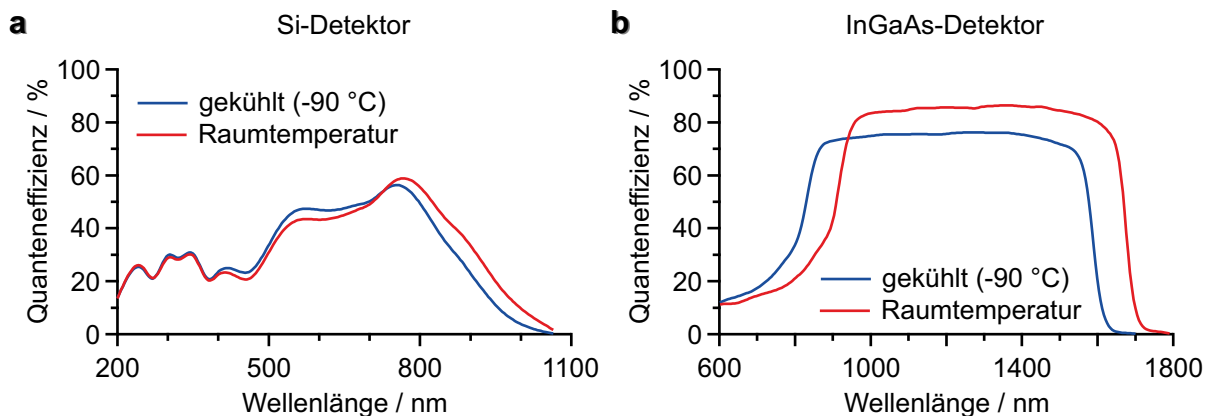


ABB. 2.16: Einfluss der Kühltemperatur auf den Verlauf der Quanteneffizienz für a) einen Si-Detektor und b) einen InGaAs-Detektor.^[32] Beide Male kommt es zu einer merklichen Änderung des Kurvenverlaufs. Im Falle des Si-Detektors ist insbesondere die mit der Kühlung einhergehende Abnahme der Quanteneffizienz im NIR-Bereich signifikant. Beim InGaAs-Detektor fällt vor allem die Blauverschiebung der QE-Kurve auf, in Verbindung mit einer Abnahme des Maximalwerts.

Eine wichtige Kenngröße, die die Leistungsfähigkeit eines Detektors beschreibt, ist dessen Quanteneffizienz. Sie kann als Maß für die Detektorsensitivität verstanden werden und stellt die Wahrscheinlichkeit dar, mit der ein auf den Sensor treffendes Lichtquant definierter Energie ein Photoelektron auslöst. Wie in Abbildung 2.16 dargestellt, zeigen die QE-Kurven verschiedener Detektortypen neben der Wellenlängen- auch eine ausgeprägte Temperaturabhängigkeit. Aufgrund ihrer verhältnismäßig kleinen Bandlücke müssen gerade InGaAs-Detektoren bei ausreichend niedriger Temperatur betrieben werden, da neben der Freisetzung von Photoelektronen Ladungsträger auch zunehmend thermisch generiert werden können. Durch Kühlung mit Peltier-Elementen oder alternativ mit flüssigem Stickstoff lässt sich der sog. Dunkelstrom minimieren,

2 Theoretische und experimentelle Grundlagen

wobei der thermoelektrischen Kühlung aufgrund ihrer einfacheren Handhabbarkeit im Laboralltag häufig der Vorzug gegeben wird. Eine zusätzliche Wasserzirkulation kann ebenfalls der Kühlung des Sensors dienen und so die in seiner Umgebung herrschende Wärmestrahlung reduzieren, die ansonsten zum Dunkelstrom beiträgt.

Neben dem Dunkelstrom ϕ_D , der zeitlichen Schwankungen unterliegt und dadurch das sog. Dunkelrauschen σ_D verursacht, wird ein spektroskopisches Messsignal noch von zwei weiteren wesentlichen Faktoren nachteilig beeinflusst.^[33] Die in einem Detektorpixel von den Photoelektronen erzeugte Potenzialdifferenz muss, bevor sie einer Digitalisierung zugeführt werden kann, hinreichend verstärkt werden. Damit einhergehend ist das sog. Ausleserauschen σ_A . Bei diesem handelt es sich um ein der Architektur des Sensors geschuldetes Phänomen. Das Ausmaß des Ausleserauschs hängt dabei von der Güte der vom Hersteller verbauten Elektronikkomponenten ab. Bedingt durch die Quantennatur des Lichts, der sich Abschnitt 2.3 ausführlicher widmet, ist jede radiometrische Messung – unabhängig von den Eigenschaften des verwendeten Detektors – mit einer intrinsischen Unsicherheit behaftet. Ursächlich hierfür ist selbst im Falle eines zeitlich konstanten Photonenflusses Φ das stochastische Eintreffen einzelner Lichtquanten am Detektor, wodurch ihre Registrierung dem sog. Photonenrauschen σ_P , auch Schrotrauschen genannt, ausgesetzt ist. Wie auch das Dunkelrauschen folgt dieses einer diskreten Wahrscheinlichkeitsverteilung, der Poisson-Statistik. Da es sich bei den drei genannten Messunsicherheiten σ_D , σ_A und σ_P um voneinander unabhängige Parameter handelt, ergibt sich der gesamte Rauschbeitrag σ_{Rauschen} gemäß dem Gaußschen Fehlerfortpflanzungsgesetz als Wurzel aus der Summe ihrer Quadrate:

$$\sigma_{\text{Rauschen}} = \sqrt{\sigma_D^2 + \sigma_A^2 + \sigma_P^2} = \sqrt{\phi_D \cdot t + \sigma_A^2 + \Phi \cdot \text{QE} \cdot t} \quad (2.43)$$

Der Rauschbeitrag ist naturgemäß zeitabhängig, Dunkel- und Photonenrauschen sind proportional zur Belichtungszeit t . Selbiges gilt entsprechend für die Signalstärke I_{Signal} . Durch Division beider Größen erhält man schließlich das Signal-Rausch-Verhältnis:

$$\text{SNR} \equiv \frac{\text{Anzahl der Signalelektronen}}{\text{Anzahl der Rauschelektronen}} \equiv \frac{I_{\text{Signal}}}{\sigma_{\text{Rauschen}}} = \frac{\Phi \cdot \text{QE} \cdot t}{\sqrt{(\phi_D + \Phi \cdot \text{QE}) \cdot t + \sigma_A^2}} \quad (2.44)$$

Da das Signal-Rausch-Verhältnis ferner in anderen Bereichen der Messtechnik Verwendung findet, gibt man es, wie bei Pegeln üblich, gelegentlich in folgender Form an:

$$\text{SNR} = \lg \left(\frac{I_{\text{Signal}}}{\sigma_{\text{Rauschen}}} \right) \text{ B} = 10 \cdot \lg \left(\frac{I_{\text{Signal}}}{\sigma_{\text{Rauschen}}} \right) \text{ dB} \quad (2.45)$$

Um zu verdeutlichen, dass es sich in diesem Fall um eine logarithmische Größe handelt, wird der Zahlenwert mit der Hilfsmaßeinheit (Dezi-)Bel versehen. Damit das mit ei-

dem Spektrometer aufgezeichnete Signal eindeutig dem Emissionslicht der untersuchten Probe zugeordnet werden kann, bedarf es eines ausreichend hohen Signal-Rausch-Verhältnisses. Dies macht erneut die Auswahl der richtigen Spiegelbeschichtung sowie Blaze-Wellenlänge deutlich, zumal der Photonenfluss Φ mit den Reflektivitäten aller Spektrometerkomponenten multiplikativ verknüpft ist. Neben der Optimierung der Signalstärke gilt es weiterhin den Rauschbeitrag so gering wie möglich zu halten. Dabei muss beachtet werden, dass eine Abnahme des Dunkelstroms durch Abkühlen des Detektors in manchen Spektralbereichen auch von einem Verlust an Quanteneffizienz begleitet ist. Hieraus erwächst für die Kühltemperatur ein unterer Grenzwert. Gerade bei kurzen Messzeiten wird der Rauschbeitrag durch den Ausleseprozess des Sensors dominiert, die Priorität sollte in diesem Fall auf dem Erreichen einer möglichst großen Quanteneffizienz liegen. Zwar kann durch Zunahme der Belichtungszeit das SNR stets erhöht werden; im Grenzfall $t \rightarrow \infty$ gehorcht es einer Wurzelfunktion. Durch experimentelle Erfordernisse, wie sie beispielsweise bei der Studie von Reaktionskinetiken oder Sorptionsprozessen auftreten, sind einer längeren Messdauer jedoch nicht selten Grenzen gesetzt. Genau aus diesem Grund kann bei einigen Detektor- bzw. Kameramodellen softwareseitig die Auslesefrequenz erhöht werden. Die hierdurch gesteigerte Bildrate geht allerdings zu Lasten des Signal-Rausch-Verhältnisses, bedingt durch die Zunahme des Ausleserauschens. Spielt die räumliche bzw. spektrale Auflösung eher eine untergeordnete Rolle, lässt sich die Bildrate auch erhöhen, indem benachbarte Pixel zu einem größeren Bildelement zusammengefasst werden. Man spricht hierbei von Binning. Auf diese Weise reduziert sich die Anzahl der Ausleseschritte, da alle Ladungsträger innerhalb eines so erzeugten Superpixels gemeinsam transferiert werden, was den Rauschbeitrag verringert und das Signal-Rausch-Verhältnis verbessert. Bei zweidimensionalen CCD-Detektoren macht man sich dies, wenn es keiner senkrechten Ortsauflösung bedarf, in Form von vertikalem Binning (*engl.* full vertical binning) zu Nutze. Hierbei werden alle Pixel innerhalb einer Spalte des Sensors vereint. Auf diese Weise wird das in die Beobachtungsebene abgebildete Fluoreszenzlicht in seiner lateralen Ausdehnung vollständig erfasst. Auch werden Empfindlichkeitsschwankungen einzelner Pixel, die in Fertigungstoleranzen des Herstellungsprozesses begründet sind, herausgemittelt.

Eine dem Signal-Rausch-Verhältnis verwandte Kenngröße, die unabhängig von den gewählten Messparametern wie Temperatur und Belichtungszeit einzig die technischen Eigenschaften des Detektors charakterisiert, stellt dessen Dynamikumfang dar. Dieser beschreibt die Fähigkeit des Sensors, noch kleinste Intensitätsabstufungen unterscheiden zu können, d.h. neben sehr hellen gleichzeitig auch sehr lichtarme Signale registrieren und diskriminieren zu können.^[34] Definiert ist er wie folgt:

$$\text{Dynamikumfang} = \frac{\text{Sättigungsladung}}{\text{minimales Ausleserauschen}} \quad (2.46)$$

2 Theoretische und experimentelle Grundlagen

Die Sättigungsladung gibt an, wie viele Elektronen ein Pixel aufzunehmen vermag, bevor es seine volle Kapazität erreicht. Der Dynamikumfang wird ähnlich wie das Signal-Rausch-Verhältnis häufig in logarithmierter Form angegeben. Der nach Gleichung 2.46 berechnete DR-Wert lässt sich in der Praxis nur eingeschränkt erreichen. Kann das Dunkelrauschen nicht gänzlich unterdrückt werden bzw. wird eine höhere Auslesefrequenz gewählt, nimmt der Dynamikumfang ab. Da die Sättigungsladung linear mit der Fläche des Pixels wächst, sind kleine Pixel, wenn das Auflösungsvermögen nicht im Vordergrund steht, eher unvorteilhaft. In diesem Fall lässt sich der Dynamikumfang durch Binning wieder erhöhen. Sind der Belichtungszeit durch die Sättigungsladung der Pixel Grenzen gesetzt, ist eine Akkumulation sinnvoll. Da die Rauschbeiträge unkorreliert sind, heben sie sich zunehmend auf; das Signal-Rausch-Verhältnis steigt mit der Wurzel der Spektrenhäufung an. Wenn möglich ist allerdings eine Einzelmessung mit entsprechender Gesamtbelichtungszeit vorzuziehen, da jedes Pixel dann nicht fortlaufend ausgelesen werden muss und so nur einmal zum Ausleserauschen beiträgt. Ein Vorteil des Akkulierens liegt hingegen im Erkennen durch kosmische Strahlung bewirkter Signalbeiträge, die sich als intensive Linien im Spektrum bemerkbar machen. Mit zunehmender Belichtungszeit steigt die Wahrscheinlichkeit, dass die Detektion eines solch hochenergetischen Teilchens die Messung beeinträchtigt. Durch steten Vergleich konsekutiver Spektren lassen sich softwareseitig Artefakte dieser Art korrigieren. Gerade bei zweidimensionalen CCD-Sensoren ist dies angeraten. Sie sind naturgemäß stärker exponiert als eindimensionale Diodenzeilen. Damit der von Seiten des Detektors erreichbare Dynamikumfang vollkommen ausgenutzt werden kann, bedarf es einer ausreichend hohen Digitalisierung. Erfolgt diese beispielsweise mit einer Auflösung von 16 bit, können insgesamt $2^{16} = 65536$ Graustufen unterschieden werden. Liegt der Dynamikumfang allerdings deutlich darunter, ist eine solch hohe Bittiefe wenig ratsam, da sie keinen Mehrwert an Information bereithält, sondern lediglich einen größeren Speicherplatzbedarf benötigt. Dies liegt daran, dass der Analog-Digital-Umsetzer einer Graustufe, auch ADU-Wert genannt, nur eine ganzzahlige Ladung zuordnen kann. Das Verhältnis zwischen der Anzahl der Photoelektronen pro Graustufe wird als Verstärkungsfaktor bezeichnet. Werkseitig sind Detektoren in der Regel so eingestellt, dass der Sättigungswert eines Pixels mit dem größten ADU-Wert zusammenfällt, wodurch ein möglichst großer Dynamikumfang realisiert wird. Um im Falle eines sehr geringen Photonenflusses die Empfindlichkeit des Detektors zu erhöhen, kann der Verstärkungsfaktor dahingehend geändert werden, dass bereits bei weniger Photoelektronen die nächsthöhere Graustufe erreicht wird. Für einen eingeschränkten Intensitätsbereich steht damit die gesamte Bittiefe zur Verfügung, was die Detektion lichtschwacher Signale erleichtert. Entgegen der mathematischen Definition spricht man intuitiv von einer Erhöhung des Verstärkungsfaktors, obwohl dieser effektiv verringert worden ist. Selbiges gilt auch für die entsprechenden Auswahloptionen gängiger Softwareanwendungen.

Trotz eines ausreichend hohen Auflösungsvermögens und Signal-Rausch-Verhältnisses ist das spektral untersuchte Fluoreszenzsignal nicht einer einzelnen Wellenlänge zuzuordnen, da verschiedene Mechanismen eine Verbreiterung der Spektrallinie bewirken. Jeder Probe immanent ist eine Energieunschärfe ΔE , die im Rahmen des Heisenbergschen Unbestimmtheitsprinzips auf die endliche Lebensdauer τ angeregter Zustände zurückzuführen ist. Im Spektrum äußert sie sich als natürliche Linienbreite $\Delta\nu$ und erzeugt ein Lorentz-Profil. Bei Abwesenheit nicht-strahlender Relaxationsprozesse liegt eine Korrelation mit dem Einstein-Koeffizienten A_{21} der spontanen Emission vor:

$$\Delta E \cdot \tau \geq \frac{h}{2 \cdot \pi} \implies \Delta\nu \geq \frac{1}{2 \cdot \pi} \cdot \frac{1}{\tau} = \frac{A_{21}}{2 \cdot \pi} \propto \nu^3 \quad (2.47)$$

Die Energieunschärfe ΔE und die mittlere Lebensdauer τ sind demnach mit dem Planckschen Wirkungsquantum h verknüpft. Da die natürliche Linienbreite $\Delta\nu$ mit der dritten Potenz der Frequenz ν wächst,^[29] ist sie bei elektronischen Übergängen ausgeprägter als bei Vibrations- oder Rotationsanregungen. Durch nicht-strahlende Prozesse, beispielsweise durch Stöße initiiert, klingt der angeregte Zustand schneller ab. Die Energieunschärfe nimmt zu. In der Gasphase spricht man von Druck-, allgemein von Kollisionsverbreiterung. Da alle Teilchen der Probe gleichermaßen von der Energieunschärfe betroffen sind, ist die Verbreiterung homogener Natur. Demgegenüber steht die zumeist dominierende inhomogene Linienbreite, die auf unterschiedlichen Eigenschaften der in einer Probe vorhandenen Subensembles beruht. Ursächlich hierfür können verschiedenartige Umgebungseinflüsse sein, was gerade in Festkörpern oder Nanopartikeln der Fall ist, etwa Dotierungen oder heterogene Längenverteilungen. In der Gasphase hingegen kommt vor allem der Doppler-Verbreiterung Bedeutung zu. Der Maxwell-Boltzmann-Verteilung folgend unterscheiden sich die Emissionsenergien je nach Geschwindigkeitsbetrag und -richtung. Inhomogene Verbreiterungen führen stets zu einem Gauß-Profil, welches als Einhüllende einzelner Lorentz-Kurven aufgefasst werden kann. Durch Faltung homogener und inhomogener Linienbreiten entsteht schließlich ein Voigt-Profil mit einer der Einzelbeiträge entsprechenden Wichtung. Daneben ist noch die Leistungs- oder Sättigungsverbreiterung zu nennen, die insbesondere bei Übergängen geringer Energiedifferenz auftreten kann. Abgesehen von der natürlichen Linienbreite lassen sich die Ursachen der Linienverbreiterung in gewissem Umfang reduzieren, etwa durch Anpassen der Anregungsleistung, Verringerung des Drucks oder Einengung der Geschwindigkeitsverteilung durch Temperaturabnahme.

Um schließlich aus den gemessenen Spektren auf die tatsächliche Intensitätsverteilung des zu analysierenden polychromatischen Lichts zu schließen, bedarf es einer nachträglichen Korrektur aller wellenlängenabhängiger Einflüsse, denen das zu messende Signal ausgesetzt ist. Eine solche Korrektur kann auf Basis der von Seiten des Herstellers zur Verfügung gestellten Datenblätter erfolgen, die die entsprechenden spektralen

Abhängigkeiten von Quanteneffizienz und Reflektivitätsverhalten aufzeigen. Alternativ bietet sich eine relative Intensitätskalibrierung an, die auf extern bereitgestellte Spezifikationen verzichtet. Für eine bestimmte Konfiguration aus Beugungsgitter und Detektor wird bei definierter Kühltemperatur die kontinuierliche Emission einer thermischen Lichtquelle aufgezeichnet. Die für den UV-VIS-NIR-Bereich geeignete Wolfram-Halogen-Lampe stellt in guter Näherung einen schwarzen Strahler dar. Durch Vergleich des gemessenen Spektrums mit dem theoretischen Intensitätsverlauf nach dem Planckschen Strahlungsgesetz kann der Einfluss der das Spektrum beeinflussenden Faktoren direkt erfasst werden. Der relativen Intensitätskorrektur sollte dabei eine Justierung der Gitter vorausgehen. Zu diesem Zweck kommen Kalibrierlampen mit diskreten Spektren, welche von atomaren Übergängen herrühren, zum Einsatz. Die Ausrichtung des jeweiligen Beugungsgitters wird so angepasst, dass die vom Spektrometer ausgegebene Zentralwellenlänge eines Übergangs mit ihrem literaturbekannten Wert übereinstimmt.

2.3 Quantenoptik

Die folgenden Ausführungen sind angelehnt an das Buch *Quantum Optics – An Introduction* von Mark Fox.^[35] Im Rahmen der Quantenoptik wird ein Lichtstrahl als ein Fluss von Photonen aufgefasst. Welleneigenschaften wie Beugung und Interferenz treten somit in den Hintergrund. Die korpuskulare Natur des Photonenflusses hat schließlich zur Folge, dass er statistischen Gesetzmäßigkeiten unterworfen ist.

2.3.1 Photonenstatistiken

Bei einer mit konstanter Leistung P emittierenden Lichtquelle der Wellenlänge λ unterliegt der Photonenfluss Φ zwar keiner Schwankung. Selbiges sollte nach Gleichung 2.48 also auch für die in einem definierten Zeitintervall T von einem Detektor registrierte Photonenanzahl \bar{n} gelten. Dass die tatsächliche Photonenanzahl n eines einzelnen Zähl-experiments nicht notwendigerweise dem berechneten Wert \bar{n} entsprechen muss, wird einleuchtend, wenn die Leistung P soweit abgeschwächt oder die Messzeit T soweit verkürzt wird, dass für \bar{n} nicht-ganzzahlige Werte resultieren.

$$\bar{n} = \Phi \cdot T = \frac{P \cdot \lambda}{h \cdot c} \cdot T \quad [\Phi] = \text{Photonen} \cdot \text{s}^{-1} \quad (2.48)$$

Dabei sind h das Plancksche Wirkungsquantum und c die Lichtgeschwindigkeit. Eine gebrochene Photonenanzahl \bar{n} ist also physikalisch nur sinnvoll, wenn sie als Mittelwert vieler einzelner Zähl-experimente aufgefasst wird. Trägt man deren Ergebnisse graphisch in Form eines Histogramms auf, so erhält man eine Häufigkeits- bzw. Wahr-

scheinlichkeitsverteilung, welche die Photonenstatistik der Lichtquelle widerspiegelt. Ihre mathematische Gestalt lässt sich herleiten, indem man das Messintervall T durch Multiplikation mit der Lichtgeschwindigkeit in ein Strahlsegment der Länge L umrechnet. Dieses wird sodann in m Subsegmente der Länge L/m unterteilt, wie es in Abbildung 2.17 exemplarisch dargestellt ist:

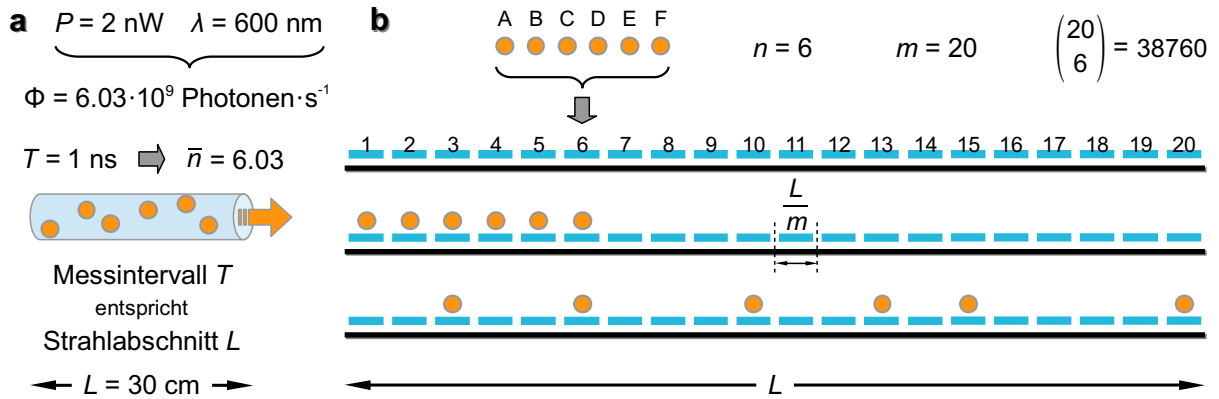


ABB. 2.17: Definition des Strahlsegments zur Herleitung der Photonenstatistik. **a)** Eine Messdauer von 1 ns entspricht z.B. einem Strahlabschnitt von 30 cm. Unter den genannten Bedingungen resultiert daraus für die mittlere Photonenzahl $\bar{n} = 6.03$. **b)** Die Unterteilung des Strahlabschnitts in Subsegmente ist hier für $n = 6$ und $m = 20$ veranschaulicht. Es müssen also sechs Photonen auf 20 Subsegmente verteilt werden.

Einzelne Zählexperimente müssen unter den in Abbildung 2.17 gezeigten Bedingungen zu unterschiedlichen Ergebnissen führen, $n = 6$ ist daher nur ein mögliches Resultat einer solchen Photonenmessung. Mit Hilfe der Kombinatorik lassen sich insgesamt 38760 mögliche Anordnungen finden, die Photonen auf die Subsegmente zu verteilen. Die Wahrscheinlichkeit p , ein Lichtquant in einem dieser Subsegmente zu finden, hängt nur von der mittleren Photonenzahl \bar{n} und der Anzahl der Unterteilungen m ab:

$$p = \frac{\bar{n}}{m} \quad (m \gg \bar{n}) \quad (2.49)$$

Die Wahrscheinlichkeit, n Photonen innerhalb eines Zeitintervalls T zu registrieren, lässt sich nun also auf die Fragestellung zurückführen, mit welcher Wahrscheinlichkeit n Photonen in m Subsegmenten zu finden sind. Diese berechnet sich zu:

$$P(n) = \binom{m}{n} \cdot p^n \cdot (1-p)^{m-n} = \frac{m!}{n!(m-n)!} \cdot \left(\frac{\bar{n}}{m}\right)^n \cdot \left(1 - \frac{\bar{n}}{m}\right)^{m-n} \quad (2.50)$$

Gleichung 2.50 stellt eine Binomialverteilung dar. Lässt man nun die Anzahl der Subsegmente m größer werden, erhält man als Grenzwert für $m \rightarrow \infty$:

$$\lim_{m \rightarrow \infty} P(n) \equiv \mathcal{P}(n) = \frac{\bar{n}^n}{n!} \cdot e^{-\bar{n}} \quad (2.51)$$

2 Theoretische und experimentelle Grundlagen

Der reale Grenzfall verschwindend kleiner Subsegmente – die Photonen können sich irgendwo im Strahlabschnitt L befinden, auch können wegen $L/m \rightarrow 0$ mehrere Photonen gleichzeitig am selben Ort auftreten – entspricht einer Poissonschen Wahrscheinlichkeitsverteilung.^[35] Abbildung 2.18 veranschaulicht den Übergang von der Binomial- zur Poisson-Statistik mit zunehmender Unterteilung der Subsegmente m :

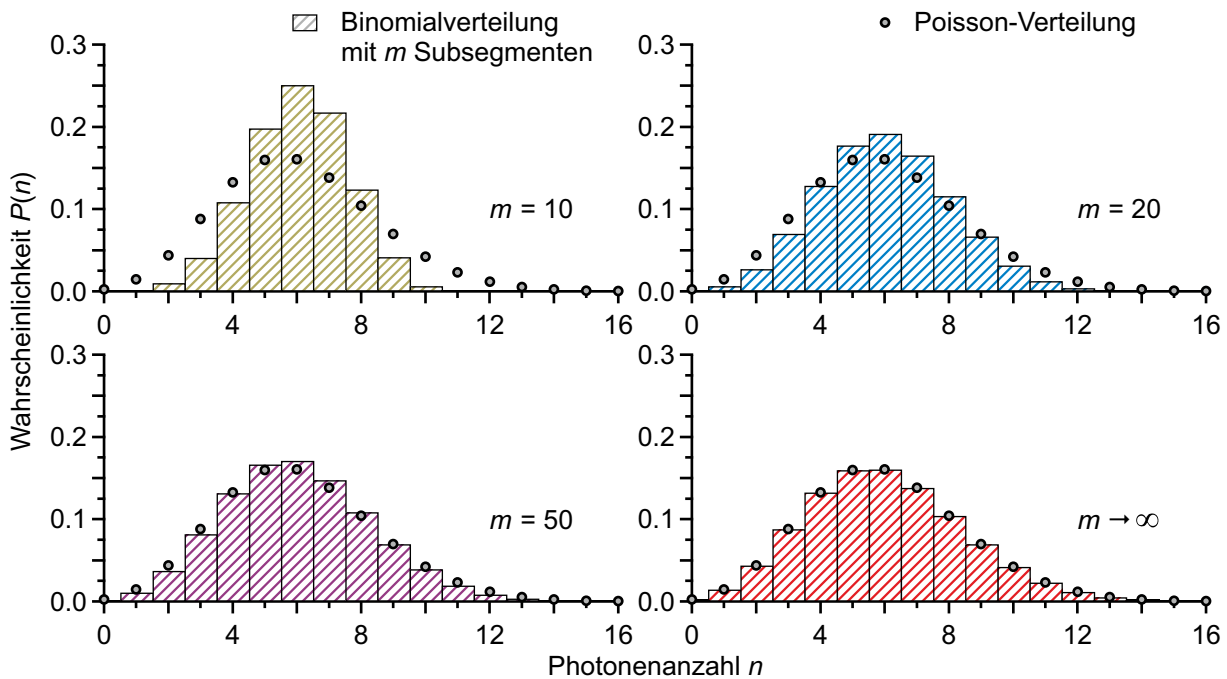


ABB. 2.18: Histogrammdarstellung der Wahrscheinlichkeit $P(n)$, n Photonen in einem Strahlabschnitt der Länge L zu registrieren. Die durchschnittliche Photonenzahl sei Abbildung 2.17 entsprechend $\bar{n} = 6.03$. Bildet man den Grenzwert unendlich kleiner Subsegmente m , so geht die Binomial- in die Poisson-Verteilung über. Zu erkennen ist auch, dass der wahrscheinlichste Messwert nahe dem Mittelwert \bar{n} liegt.

Eine Anzahl von diskreten Ereignissen folgt stets dann einer Poisson-Verteilung, wenn sie mit gleichbleibender Rate und unabhängig voneinander in einem festen Raum- oder Zeitintervall stattfinden. Genau dies trifft, wie auch im Falle des Schrot- und Dunkelrauschens, auf den Photonenfluss einer monochromatischen Lichtquelle unendlicher Kohärenzlänge zu. Ist die Emission der Lichtquanten hingegen konzertiert, weicht die Photonenzahlstatistik von der Poisson-Verteilung ab. Kriterium hierbei ist die Varianz, also ihre Breite $\text{Var}(n)$. Für eine Wahrscheinlichkeitsverteilung $P(n)$ gilt allgemein:

$$\text{Var}(n) = \sum_{n=0}^{\infty} (n - \langle n \rangle)^2 \cdot P(n) \equiv \sigma^2 \quad \text{mit} \quad \langle n \rangle = \sum_{n=0}^{\infty} n \cdot P(n) \quad (2.52)$$

Die Standardabweichung der Verteilung wird mit σ bezeichnet, $\langle n \rangle$ stellt ihren Erwartungswert dar. Er nimmt bei einer Poisson-Verteilung $\mathcal{P}(n)$ den Wert $\langle n \rangle = \bar{n}$ an. Damit erhält man für die Varianz ebenfalls $\text{Var}(n) = \bar{n}$ und für die Standardabweichung folg-

lich $\sigma = \sqrt{\bar{n}}$. Letztere gilt für den Fall eines vollkommenen stochastischen Photonenflusses, wie ihn nur ein idealer Laser besäße. Weist die Standardabweichung einer Photonenzahlstatistik einen Wert $\sigma \neq \sqrt{\bar{n}}$ auf, so spricht man von einem Sub-Poisson- bzw. einem Super-Poisson-Verhalten, je nach Tendenz der Abweichung. Tabelle 2.3 fasst dies zusammen:

Photonenstatistik	Standardabweichung
Sub-Poisson	$\sigma < \sqrt{\bar{n}}$
Poisson	$\sigma = \sqrt{\bar{n}}$
Super-Poisson	$\sigma > \sqrt{\bar{n}}$

Tab. 2.3: Anhand ihrer Standardabweichung σ lassen sich die drei möglichen Photonenzahlstatistiken unterscheiden. Radiziert man die mittlere Photonenzahl \bar{n} , so erhält man die Standardabweichung im Falle der Poisson-Verteilung.

Lichtquellen, deren Photonenfluss einer Super-Poisson-Statistik gehorcht, sind zeitlichen Intensitätsschwankungen ausgesetzt. Im Emissionsverhalten äußert sich dies – wie in Abbildung 2.19 veranschaulicht – im Auftreten von Photonenzahlakkumulationen. Gleichmaßen liegen aber auch Strahlsegmente mit einem Defizit an Lichtquanten vor. Die Breite der Photonenzahlverteilung muss also im Vergleich zu der eines perfekt kohärenten Lasers zunehmen. Aufgrund ihres zeitlich fluktuierenden Photonenflusses werden solche Lichtquellen als chaotisch bezeichnet.^[35]

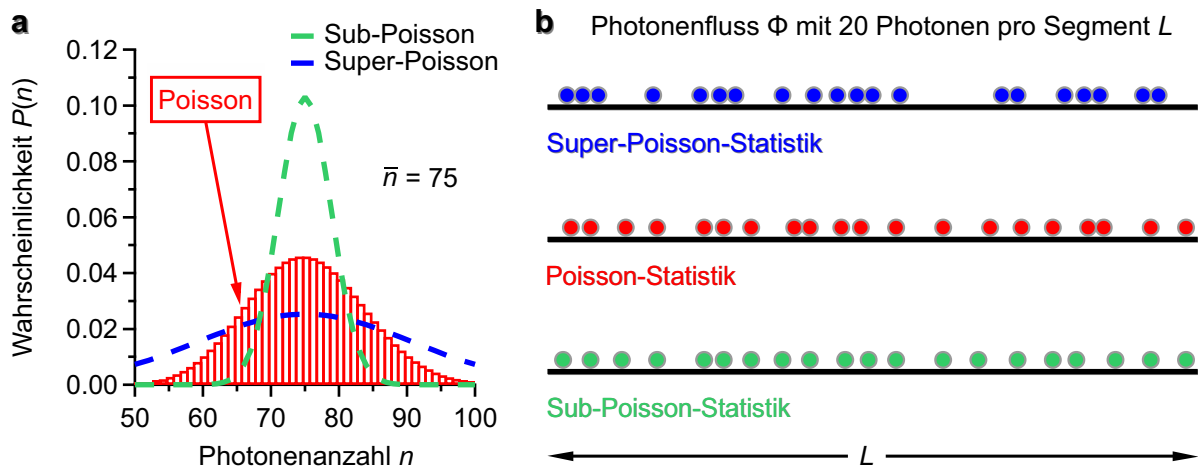


Abb. 2.19: Zusammenhang zwischen der Breite der Photonenzahlstatistik und der Regelmäßigkeit des Photonenflusses. **a)** Dargestellt sind die drei möglichen Photonenzahlstatistiken für eine mittlere Photonenzahl von $\bar{n} = 75$. Mit abnehmender Breite der Verteilung nimmt P_{\max} zu, da die Flächen $\sum_{n=0}^{\infty} P(n)$ gleich eins sein müssen. **b)** Die Varianz der Photonenzahlstatistiken hat ihre Ursache im Ordnungsgrad des Photonenflusses.

Beispiele für Lichtquellen mit einem Super-Poisson-Verhalten sind schwarze Strahler und damit jeder thermisch bedingte Emissionsprozess. Aber auch das von einer Gas-

entladungslampe ausgesandte Licht, das zwar ein diskretes Spektrum zeigt und zumindest partiell kohärent mit der Kohärenzzeit τ_c ist, fällt in diese Kategorie. Eine Photonstatistik mit Sub-Poisson-Verhalten hat hingegen keine klassische Entsprechung. Sie verlangt, dass der Photonenfluss eine schmalere Verteilung aufweist, also gewissermaßen geordneter ist als der einer idealisierten, keinen Fluktuationen unterworfenen Lichtquelle.^[36] Wird eine solche Photonstatistik beobachtet, kann dies als ein weiterer Beleg für die Quantennatur des Lichts verstanden werden.

Lichtquellen mit einer Sub-Poisson-Statistik werden, da sie ausschließlich im Photonenbild beschrieben werden können, auch als nicht-klassisch bezeichnet. Ein geordneterer Photonenfluss lässt sich konzipieren, indem sichergestellt wird, dass die Ursache der Lichtemission ausschließlich spontaner und nicht stimulierter Natur ist. Aufgrund der Relaxationszeit, die zwischen dem konsekutiven Abstrahlen zweier Lichtquanten vergeht und der Dauer eines Anrege-Abrege-Zyklus entspricht, können nie zwei Photonen gleichzeitig detektiert werden. Voraussetzung hierfür ist allerdings, dass ein solches System isoliert vorliegt. In einem Ensemble aus Einzelphotonenemittern wäre das simultane Auftreten mehrerer Photonen wieder möglich.

Erschwert wird der Nachweis einer Sub-Poisson-Statistik allerdings durch den Umstand, dass die experimentell erhaltene Zählrate \mathcal{R} nicht dem eigentlichen Photonenfluss Φ entspricht. Ursächlich hierfür sind, wie bereits in Abschnitt 2.2.2 im Zusammenhang mit Spektralapparaten angesprochen, Transmissionsverluste an optischen Komponenten sowie die begrenzte Leistungsfähigkeit der in Photonenzählexperimenten zum Einsatz kommenden Detektoren wie Lawinenphotodioden oder Photoelektronenvervielfacher. Quantitativ lassen sich die beiden Größen \mathcal{R} und Φ durch den dimensionslosen Faktor η unterscheiden. Er stellt eine Art Detektionseffizienz dar, die dem Verhältnis aus registrierten und abgestrahlten Photonen entspricht und daher als ein Maß für die Güte des gesamten Photonenzählexperiments aufgefasst werden kann.

$$\mathcal{R} = \Phi \cdot \eta \tag{2.53}$$

Der klassischen Betrachtungsweise entsprechend bedeutet Gleichung 2.53, dass die Abschwächung eines Lichtstrahls proportional zu $(1 - \eta)$ ist. In der Quantenoptik hingegen wird eine Verringerung der Lichtintensität als ein statistischer Photonenverlust aufgefasst. Veranschaulichen lässt er sich mit dem Modell eines Strahlenteilers, der mit einer Wahrscheinlichkeit von $P_T = \eta$ Photonen transmittiert und mit einer Wahrscheinlichkeit von $P_R = 1 - \eta$ Photonen reflektiert und somit der Detektion entzieht.^[35] Wie in Abbildung 2.20 dargestellt, hat ein Verlust an Lichtquanten unmittelbar eine Beeinflussung der zugrunde liegenden Photonstatistik zur Folge. So nimmt die Regelmäßigkeit des Photonenflusses ab, seine Verteilung wird breiter. Tatsächlich handelt es sich

nunmehr um eine Photoelektronenstatistik, die sich bei niedriger Detektionseffizienz einer Poisson-Verteilung angleicht. Dies macht deutlich, warum es Intensitätsverluste bei Photonenzählexperimenten zu minimieren gilt, insbesondere wenn der Nachweis nicht-klassischen Lichts erfolgen soll.

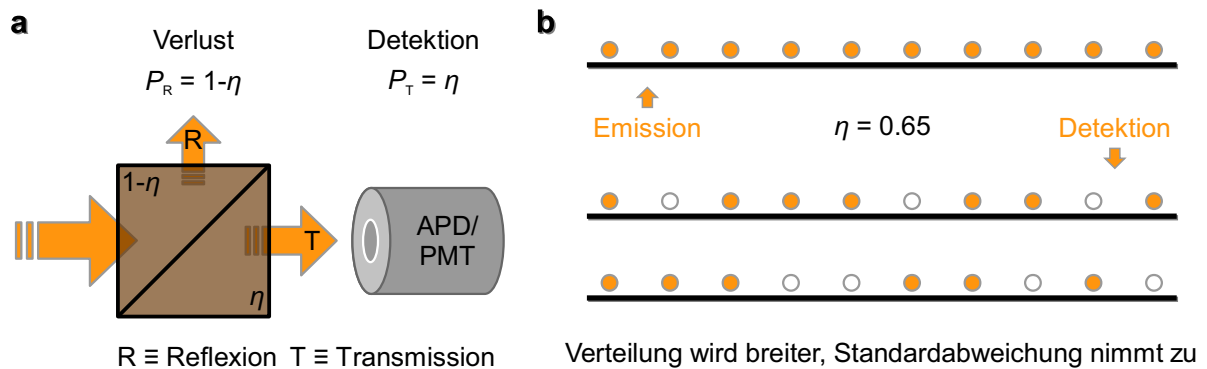


ABB. 2.20: Quantenmodell der Abschwächung eines Lichtstrahls und deren Auswirkung auf die Photonenstatistik. **a)** Der Einfluss der Detektionseffizienz η kann mit einem Strahlenteiler verglichen werden. Transmission und Reflexion werden als zufallsbedingte Prozesse interpretiert. **b)** Die gemessene Photonenstatistik weicht von ihrer ursprünglichen Form ab, ihre Varianz nimmt mit dem Ausmaß der Verluste zu.

2.3.2 Korrelationsfunktion zweiter Ordnung

Wie bereits im vorangegangenen Abschnitt angedeutet, neigen thermische Lichtquellen aufgrund ihrer Intensitätsschwankungen in bestimmten Bereichen des Strahlabschnitts zu Photonenhäufungen (*engl.* photon bunches). Wird ein Lichtquant detektiert, trifft mit großer Wahrscheinlichkeit ein zweites Photon zeitgleich auf den Detektor. Bei einer Einzelphotonenquelle ist die Situation genau umgekehrt. Es können niemals zwei Lichtquanten gleichzeitig emittiert und registriert werden. Ein solcher Photonenfluss stellt eine grundlegende Voraussetzung für den Einsatz nicht-klassischer Lichtquellen als Informationsträger in Anwendungen wie etwa der Quantenkryptographie dar.^[37] In den gerade genannten Beispielen erscheint das Emissionsverhalten also korreliert. Sinngemäß spricht man im ersten Fall von Photonbunching und im zweiten Fall von Photonantibunching.^[38]

Um das Korrelationsverhalten der von einer Lichtquelle abgestrahlten Photonen näher zu untersuchen, bedarf es eines Intensitätsinterferometers nach Hanbury Brown und Twiss, welches ursprünglich in astronomischen Anwendungen zum Einsatz kam.^[39] Abbildung 2.21 zeigt den schematischen Aufbau des HBT-Experiments für den VIS-Spektralbereich. Es setzt sich im Wesentlichen aus einem Strahlenteiler und zwei Photoelektronenvervielfachern zusammen.^[40] Diese sind mit der Messelektronik verbunden,

2 Theoretische und experimentelle Grundlagen

welche die von beiden Detektoren aufgezeichneten Intensitäten miteinander korreliert.

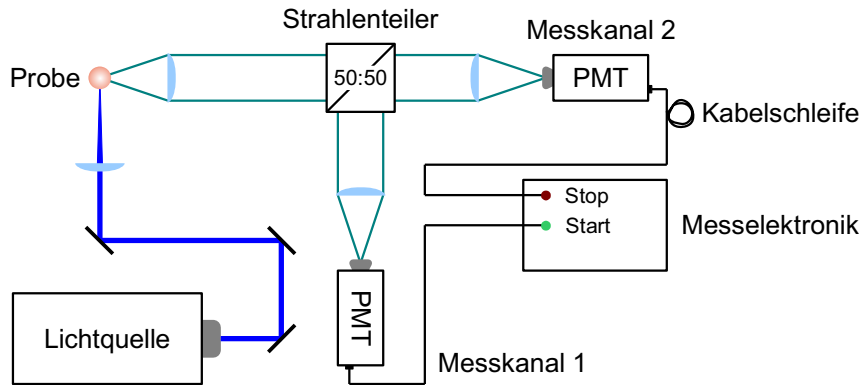


ABB. 2.21: Schematischer Aufbau des Hanbury Brown–Twiss-Experiments zur Bestimmung von Intensitätsfluktuationen. Das untersuchte Licht soll hier von einer fluoreszierenden Probe stammen. Mit Hilfe eines Streumediums ließe sich auch das Emissionsverhalten der zur Anregung verwendeten Lichtquelle untersuchen.

Anstelle von Photoelektronenvervielfachern, wie sie die ursprüngliche HBT-Anordnung vorsah, lassen sich auch Lawinenphotodioden einsetzen. Die entscheidende Messgröße bei Korrelationsmessungen ist die von beiden Detektoren registrierte Intensität I . Sie stellt die auf die Detektorfläche A normierte Zählrate \mathcal{R} dar:

$$I = \frac{\mathcal{R}}{A} \quad (2.54)$$

Ihre zeitlichen Fluktuationen $\Delta I(t)$ liegen im Bereich der Kohärenzzeit τ_c und lassen sich bei ausreichend hoher Ausleserate der Detektoren auflösen. Mathematisch gilt:

$$\Delta I(t) = I(t) - \langle I(t) \rangle \quad (2.55)$$

$\langle I(t) \rangle$ bezeichnet dabei den Intensitätsmittelwert. Er sollte entlang beider Messkanäle identisch sein, sofern es sich um Detektoren des gleichen Typs handelt. Mit der Verzögerungszeit τ , um die einer der beiden Detektionswege zeitlich versetzt wird, lässt sich schließlich die Korrelationsfunktion zweiter Ordnung definieren:

$$g^{(2)}(\tau) = \frac{\langle I(t)I(t+\tau) \rangle}{\langle I(t) \rangle \langle I(t+\tau) \rangle} \quad \text{mit} \quad \langle I(t)I(t+\tau) \rangle = \frac{1}{T} \int_0^T I(t)I(t+\tau) dt \quad (2.56)$$

Die Korrelationsfunktion $g^{(2)}(\tau)$ beschreibt demnach die aufeinander bezogenen Intensitätsfluktuationen an den beiden Detektoren im beobachteten Zeitintervall T .^[41] Die Angabe der Korrelationsordnung wie auch der Superskript im Formelsymbol weisen daraufhin, dass nicht die Fluktuationen des elektrischen Felds, sondern die einer von ihm abgeleiteten Größe, seiner Intensität gemeint sind. Aufgrund des Proportionali-

tätigkeitszusammenhangs $I \propto E^2$ lässt sich die Korrelationsfunktion zweiter Ordnung $g^{(2)}(\tau)$ daher auch in Abhängigkeit der elektrischen Feldstärke E formulieren:

$$g^{(2)}(\tau) = \frac{\langle E^*(t)E^*(t+\tau)E(t)E(t+\tau) \rangle}{\langle E^*(t)E(t) \rangle \langle E^*(t+\tau)E(t+\tau) \rangle} \quad (2.57)$$

Bleibt die durchschnittliche Intensität während der Dauer der Messung konstant, gilt folglich $\langle I(t) \rangle = \langle I(t+\tau) \rangle$, so vereinfachen sich Gleichungen 2.56 und 2.57 zu:

$$g^{(2)}(\tau) = \frac{\langle I(t)I(t+\tau) \rangle}{\langle I(t) \rangle^2} = \frac{\langle E^*(t)E^*(t+\tau)E(t)E(t+\tau) \rangle}{\langle E^*(t)E(t) \rangle^2} \quad (2.58)$$

Weiterhin lässt sich unter Berücksichtigung von Gleichung 2.55 der Zähler der Korrelationsfunktion $g^{(2)}(\tau)$ auch anhand der Fluktuationen $\Delta I(t)$ und $\Delta I(t+\tau)$ formulieren:

$$\begin{aligned} \langle I(t)I(t+\tau) \rangle &= \left\langle [\langle I(t) \rangle + \Delta I(t)] \cdot [\langle I(t) \rangle + \Delta I(t+\tau)] \right\rangle \\ &= \left\langle \langle I(t) \rangle^2 + \langle I(t) \rangle \Delta I(t) + \langle I(t) \rangle \Delta I(t+\tau) + \Delta I(t) \Delta I(t+\tau) \right\rangle \\ &= \langle I(t) \rangle^2 + \langle I(t) \rangle \langle \Delta I(t) \rangle + \langle I(t) \rangle \langle \Delta I(t+\tau) \rangle + \langle \Delta I(t) \Delta I(t+\tau) \rangle \\ &= \langle I(t) \rangle^2 + \langle \Delta I(t) \Delta I(t+\tau) \rangle \end{aligned} \quad (2.59)$$

Die vorzeichenbehafteten Intensitätsschwankungen heben sich im zeitlichen Mittel auf. Ihre Integrale $\langle \Delta I(t) \rangle$ und $\langle \Delta I(t+\tau) \rangle$ verschwinden somit. Betrachtet man nun den Fall großer Verzögerungszeiten, so zeigt der Photonenfluss keine Korrelation mehr und die in beiden Messkanälen detektierten Intensitäten müssen unabhängig voneinander werden. Für das integrierte Produkt ihrer Fluktuationen bedeutet dies:

$$\langle \Delta I(t) \Delta I(t+\tau) \rangle_{\tau \gg \tau_c} = 0 \quad (2.60)$$

Schließlich ergibt sich folgender Grenzwert für die Korrelationsfunktion 2. Ordnung:

$$\lim_{\tau \rightarrow \infty} g^{(2)}(\tau) \equiv g^{(2)}(\tau \gg \tau_c) = \frac{\langle I(t) \rangle^2}{\langle I(t) \rangle^2} = 1 \quad (2.61)$$

Da in Realität jede Lichtquelle eine endliche Kohärenzzeit τ_c aufweist, ist bei hinreichend großer Verzögerungszeit Gleichung 2.61 stets erfüllt.^[35] Um das Korrelationsverhalten innerhalb der Kohärenzzeit zu ermitteln, betrachtet man den Fall $\tau = 0$:

$$g^{(2)}(0) = \frac{\langle I(t)^2 \rangle}{\langle I(t) \rangle^2} = \frac{\langle I(t) \rangle^2 + 2 \cdot \langle I(t) \rangle \langle \Delta I(t) \rangle + \langle \Delta I(t)^2 \rangle}{\langle I(t) \rangle^2} = 1 + \frac{\langle \Delta I(t)^2 \rangle}{\langle I(t) \rangle^2} \geq 1 \quad (2.62)$$

2 Theoretische und experimentelle Grundlagen

Der Gleichheitsfall trifft dabei nur zu, wenn das Integral $\langle \Delta I(t)^2 \rangle$ verschwindet. Dies wäre bei einer Lichtquelle, die keinen Intensitätsfluktuationen unterworfen ist, der Fall. Einzig Laserlicht mit perfektem Kohärenzverhalten erfüllt diese Voraussetzung. Nach Abschnitt 2.3.1 folgt sein Photonenfluss einer Poisson-Statistik. Sein Emissionsverhalten ist also per Definition rein stochastisch, die detektierten Intensitäten $I(t)$ und $I(t+\tau)$ unabhängig voneinander. Ungeachtet der Verzögerungszeit τ muss demnach der Grenzwert $g^{(2)}(\tau) = 1$ für unkorreliertes Verhalten gelten.

Klassisch betrachtet stellt der Wert $g^{(2)}(\tau) = 1$ das Minimum der Korrelationsfunktion zweiter Ordnung dar. Nimmt diese den Wertebereich $g^{(2)}(\tau) > 1$ an, zeigt der Photonenfluss das bereits erwähnte Photonbunching. Das gehäufte Auftreten von Photonen entspricht dabei den Intensitätsfluktuationen, die positiv vom Mittelwert $\langle I(t) \rangle$ abweichen. Analog entsprechen negative Intensitätsfluktuationen Strahlbereichen mit einem Defizit an Lichtquanten. Das Integral $\langle \Delta I(t)^2 \rangle$ muss, da die Fluktuationen quadriert werden, demnach stets positiv sein.

Lichtquellen, die Photonantibunching zeigen, lassen sich mit Gleichung 2.62 hingegen nicht in Einklang bringen. Wie bereits erwähnt, ist ihr Emissionsverhalten dahingehend korreliert, dass zu keinem Zeitpunkt das simultane Auftreten mehrerer Lichtquanten möglich ist. Solche Lichtquellen müssten also geringere Intensitätsfluktuationen als ein ideal operierender Laser aufweisen. Wegen $\langle \Delta I(t)^2 \rangle = 0$ stellt dieser jedoch im Rahmen des Wellenmodells die stabilste Form der Lichtemission dar, was das Attribut nichtklassisch für den Photonenfluss von Einzelphotonenquellen verständlich macht. Um auf Letztere das Konzept der Korrelationsfunktion sinnvoll anwenden zu können, wird diese über die Anzahl der registrierten Photonen $n_{\text{Det.1}}$ und $n_{\text{Det.2}}$ entsprechend der beiden Messkanäle des Hanbury Brown–Twiss-Aufbaus formuliert:

$$g^{(2)}(\tau) = \frac{\langle n_{\text{Det.1}}(t)n_{\text{Det.2}}(t+\tau) \rangle}{\langle n_{\text{Det.1}}(t) \rangle \langle n_{\text{Det.2}}(t+\tau) \rangle} \quad (2.63)$$

Im Photonenbild lässt sich das HBT-Experiment als Gesamtheit einzelner Photonenpaarzählereignisse verstehen. Mit dem Auftreffen eines Photons am ersten Detektor (Startkanal) wird ein Messzyklus gestartet, der solange andauert, bis ein weiteres Photon am zweiten Detektor (Stopkanal) registriert wird. Die dabei vergangene Zeitspanne entspricht der Verzögerungszeit τ . Die Definition der Korrelationsfunktion, wie sie in obiger Darstellung zum Ausdruck kommt, erlaubt nun auch eine Beschreibung für Lichtquellen, die Photonantibunching zeigen. Da ein gleichzeitiges Ankommen zweier Lichtquanten in beiden Messkanälen hier nicht möglich ist, kann für $\tau = 0$ das Integral im Zähler von Gleichung 2.63 kleiner sein als es der mit Intensitäten formulierte Grenzfall der klassischen Betrachtung zulässt. Dementsprechend kann die Korrelationsfunktion $g^{(2)}(\tau)$ Werte < 1 annehmen. Kommt es hingegen bei $\tau = 0$ zu Koinzidenzen an bei-

den Detektoren, nimmt das Produkt aus $n_{\text{Det.1}}$ und $n_{\text{Det.2}}$ zu. Selbiges gilt dann auch für die Korrelationsfunktion zweiter Ordnung. Da sie letztlich ein Maß für das Auftreten von Photonenpaarzählereignissen darstellt, wird in der Regel auf ihre explizite Berechnung anhand von Intensitäten verzichtet. Stattdessen werden die Verzögerungszeiten aller Messzyklen in einem Häufigkeitshistogramm aufgetragen.^[42]

Die messelektronisch bedingte Diskriminierung der beiden Detektionswege in einen Start- und Stopkanal führt schließlich dazu, dass prinzipiell nur im Startkanal registrierte Photonen einen neuen Messzyklus auslösen können. Wird jedoch die Signalverarbeitung des Stopkanals zeitlich verzögert, kann nun auch dieser einen Messzyklus initialisieren, wodurch weniger Photonen der Korrelation entgehen. Möglich wird dies, wie in Abbildung 2.21 dargestellt, durch Implementieren eines zusätzlichen Koaxialkabels im zweiten Messkanal.^[43] Der Ursprung der Korrelationsfunktion wird auf diese Weise um einen der Kabellänge proportionalen Versatz hin zu einer positiven Verzögerungszeit verschoben. Der neue Nullpunkt entspricht somit der Zeit, die zwischen der Erfassung zweier am Start- und Stopdetektor gleichzeitig ankommender Photonen vergeht. Um Missverständnisse zu vermeiden und die simultane Photonendetektion bei Abwesenheit einer zeitlichen Verzögerung zu betonen, wird die Abszissenachse üblicherweise wieder zurückgesetzt. Im Gegensatz zu Abbildung 2.22 wäre dann ein im Stopkanal initiiertes Messzyklus mit einer negativen Verzögerungszeit behaftet.

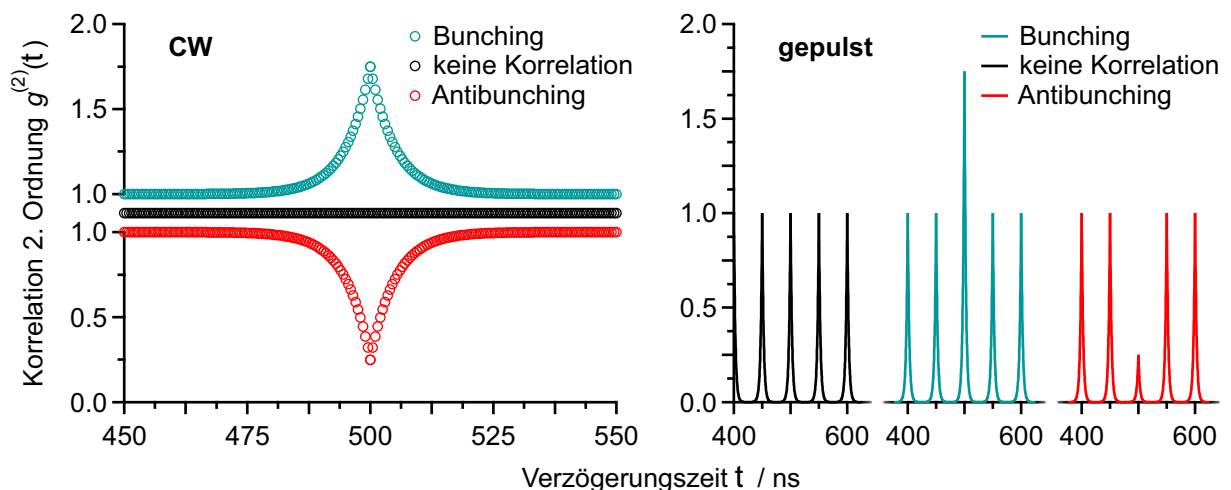


ABB. 2.22: Gemäß ihrer Kategorisierung ist die Korrelationsfunktion zweiter Ordnung für die drei möglichen Photonenflüsse exemplarisch dargestellt. Durch die zusätzliche Kabelverzögerung des Stopkanals ist ihr Ursprung um 500 ns nach rechts verschoben.

Während die Korrelationsfunktion bei Lichtquellen im Dauerstrichbetrieb nur am neuen Koordinatenursprung extremales Verhalten annehmen kann, spiegelt sich bei gepulster Anregung die Impulsfolgefrequenz wider. Sie beträgt in dem hier vorgestellten Beispiel 20 MHz. Das Minimum der Korrelationsfunktion einer Photonantibunching

2 Theoretische und experimentelle Grundlagen

zeigenden Lichtquelle muss nicht notwendigerweise bei $g^{(2)}(\tau) = 0$ liegen. Dies gilt insbesondere dann, wenn das Anregungslicht unzureichend unterdrückt ist, wodurch ein zeitgleiches Eintreffen zweier Lichtquanten nicht mehr auszuschließen ist. In gleicher Weise nimmt das Minimum der Korrelationsfunktion zu, wenn mehrere Einzelphotonenquellen zur Emission beitragen. Bereits bei zwei sich im Anregungsfokus befindlichen Emittlern steigt das Minimum auf $g^{(2)}(\tau) = 0.5$ an.^[44] Tabelle 2.4 fasst die Unterscheidung der Lichtquellen anhand ihres Korrelationsverhaltens und Photonflusses zusammen:

Art der Lichtquelle	Korrelationsfunktion	Photonenfluss zeigt...
chaotisch	$g^{(2)}(0) > 1$	Photonbunching
perfekt kohärent	$g^{(2)}(0) = 1$	keine Korrelation
nicht-klassisch	$g^{(2)}(0) < 1$	Photonantibunching

TAB. 2.4: Die Einteilung der Lichtquellen erfolgt über das Verhalten der Korrelationsfunktion zweiter Ordnung $g^{(2)}(\tau)$ bei $\tau = 0$. Strebt die Verzögerungszeit gegen unendlich, wird der Photonfluss in allen Fällen unkorreliert. Es gilt stets $\lim_{\tau \rightarrow \infty} g^{(2)}(\tau) = 1$.

Eine Lichtquelle, die Photonantibunching zeigt, nennt man auch fermionisch, die Photonen scheinen sich abzustößen. Das gehäufte Auftreten im Falle von Photonbunching entspricht hingegen eher ihrer bosonischen Natur, die Photonen scheinen sich anzuziehen. Unter bestimmten Bedingungen kann, wie Abbildung 2.23 zu entnehmen ist, das Emissionsverhalten einer Einzelphotonenquelle auch zu Photonbunching neigen:

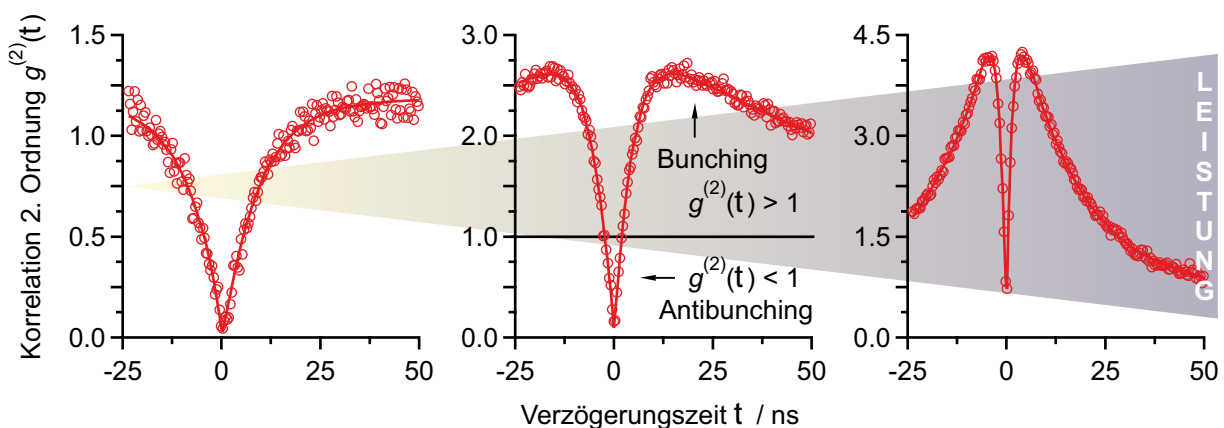


ABB. 2.23: Mit zunehmender Anregungsleistung zeigt die Korrelationsfunktion eines Einzelphotonenemitters jenseits des Nullpunkts zwei weitere Extremalstellen. Wegen $g^{(2)}(\tau) > 1$ handelt es sich bei diesem Phänomen um Photonbunching. Der in der Abbildung gezeigte Datensatz ist generiert und angelehnt an die von Beveratos *et al.* experimentell bestimmte Leistungsabhängigkeit.^[45]

Liegen benachbarte Elektronenzustände unterschiedlicher Spinmultiplizität vor, kann insbesondere bei hohen Pumpraten auf die Absorption ein Interkombinationsübergang in einen energetisch tieferliegenden, metastabilen Dunkelzustand folgen. Die mit seiner Populierung einhergehende Kinetik zeigt sich im Abfallen der Korrelationsfunktion bei größeren Verzögerungszeiten.^[46] Bei einem Emitter mit einem reinen Zweiniveausystem kann ein solches Verhalten hingegen nicht in Erscheinung treten.

Obiges Beispiel zeigt, dass die in Tabelle 2.4 vorgenommene Unterteilung nicht immer strikt erfüllt sein muss. Gleichmaßen gilt dies auch für den Zusammenhang zwischen der Photonenstatistik und der Korrelationsfunktion. Prinzipiell entsprechen sich zwar die nicht-klassische Sub-Poisson-Statistik und das ebenfalls nur im Quantenbild erklärbare Photonantibunching im Sinne eines geordneten Flusses zeitlich aufeinanderfolgender Photonen. Beide Phänomene sind jedoch nicht ausnahmslos kongruent. So kann eine Einzelphotonenquelle, die Photonantibunching zeigt, unter bestimmten Bedingungen auch eine Super-Poisson-Statistik aufweisen.^[47] Ebenso kann auch eine Sub-Poisson-Statistik zusammen mit Photonbunching vorliegen.^[48]

3 Entwicklung und Erprobung des PLE-Aufbaus

Im Folgenden wird der zur Aufnahme von Photolumineszenz-Anregungskarten (PLE-Plots) entwickelte Messaufbau vorgestellt. Neben der Charakterisierung der zentralen Komponenten wie Spektrometer und Lichtquelle wird auch die Umsetzung der Datenerfassung und -verarbeitung näher erläutert. Das Kapitel schließt mit einem Überblick realisierter Messungen anhand ausgewählter Beispiele, wobei der Fokus auf Kohlenstoffnanorohrproben liegt. Grundlegende Eigenschaften einwandiger Kohlenstoffnanoröhren sind im Buch *Neue Kohlenstoffmaterialien* von Anke Krüger zusammengefasst,^[49] oder können auch den bisher im Arbeitskreis Hertel angefertigten Dissertationen entnommen werden.^[50–54]

3.1 Prinzip und Nutzen der PLE-Spektroskopie

Die Photolumineszenz-Anregungsspektroskopie stellt eine umfassende Methode zur Charakterisierung insbesondere nanoskaliger Systeme dar.^[55] Bedingt durch die Heterogenität von Größen- und Längenverteilung ist eine Aufreinigung wie in der Molekülchemie nur bedingt möglich, weswegen je nach Herstellungsmethode und weiterer Prozessierung die Probenbeschaffenheit, auch die optischen Eigenschaften betreffend, stark variieren kann.^[56] Um spektroskopisch dieser Polydispersität Rechnung zu tragen, wird in PLE-Experimenten die Anregungswellenlänge sukzessiv verändert und in Abhängigkeit dieser die spontane Emission der Probe detektiert. Bei herkömmlichen Photolumineszenzmessungen steht nicht selten nur eine breitbandige Lichtquelle zur Verfügung, die lediglich eine unspezifische Anregung erlaubt und durch Bandpassfilter angepasst werden muss. Auch kann der spektral zugängliche Anregungsbereich durch mangelnde Verfügbarkeit passender Laserlinien eingeschränkt sein, was spektrofluorimetrische Studien häufig auf einige wenige Proben begrenzt.

Gerade im Hinblick auf die Untersuchung kolloidal stabilisierter Kohlenstoffnanorohrproben hat sich die PLE-Spektroskopie etabliert,^[57] und dies bereits unmittelbar nach der erstmaligen Entdeckung der Photolumineszenz halbleitender SWNTs.^[58] Analog

3 Entwicklung und Erprobung des PLE-Aufbaus

zu Kashas Regel, die in molekularen Systemen das Relaxationsverhalten nach optischer Anregung diktiert,^[59] findet auch bei Kohlenstoffnanoröhren eine effiziente innere Konversion statt.^[60] Der angeregte S_2 - und der emittierende S_1 -Zustand sind allerdings exzitonischer Natur, was die Photophysik von Kohlenstoffnanoröhren nachhaltig beeinflusst.^[61–63] Abbildung 3.1 zeigt exemplarisch den PLE-Plot, auch PLE-Karte genannt, einer wässrigen Nanorohrprobe, hergestellt im Arbeitskreis Hertel durch chemische Gasphasenabscheidung auf Basis der Ethanolmethode nach Maruyama *et al.*^[64]

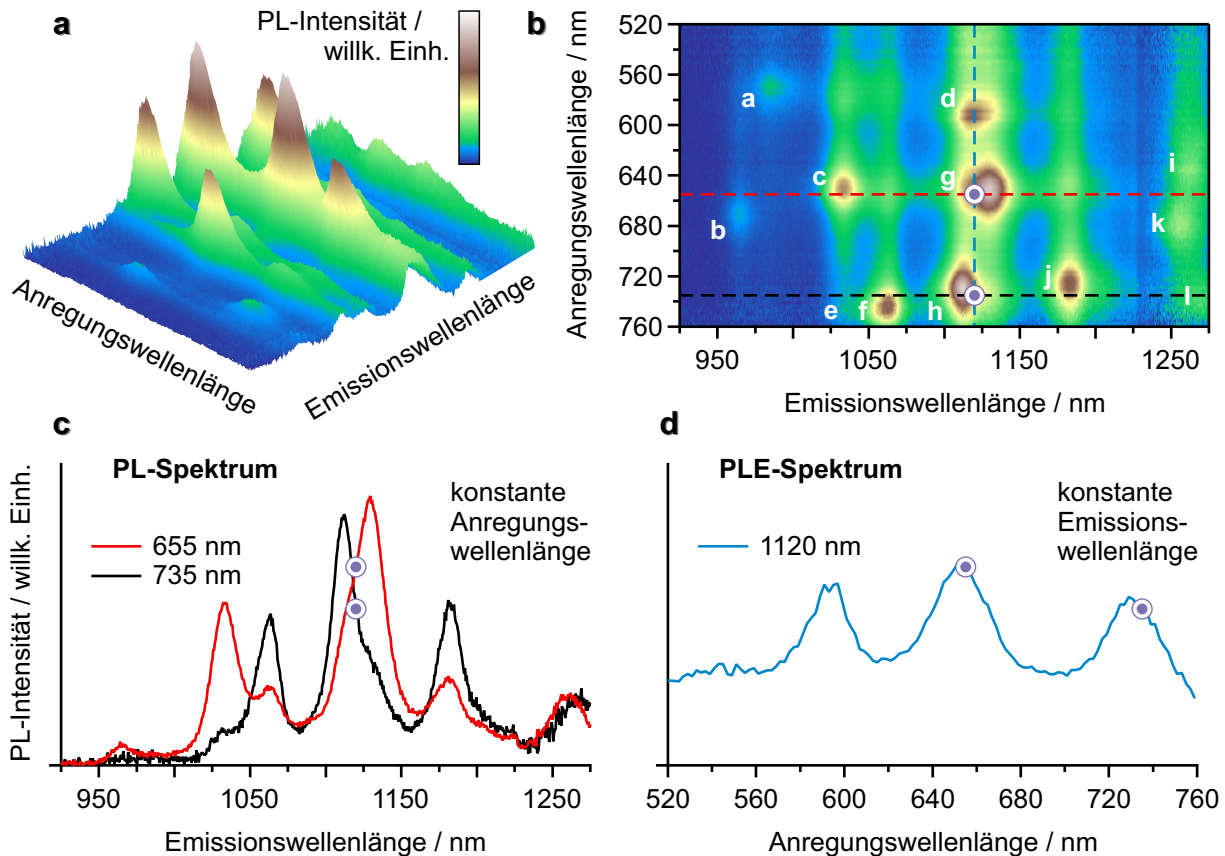


ABB. 3.1: Photolumineszenz-Anregungskarte einer polydispersen CVD-Nanorohrsuspension. Der PLE-Plot kann als a) dreidimensionales Oberflächendiagramm oder b) Konturdiagramm in Falschfarbendarstellung aufgetragen werden. In der Probe vorhandene SWNT-Spezies sind mit Buchstaben versehen. c) Dargestellt sind die Photolumineszenzspektren, die den waagrechten Linien entsprechen. d) Die senkrechte Linie repräsentiert ein Photolumineszenz-Anregungsspektrum.

Im Falle der Konturdiagrammdarstellung wird die Anregungswellenlänge λ_2 als Ordinate (S_2 -Übergang) und die Emissionswellenlänge λ_1 als Abszisse (S_1 -Übergang) gewählt. Die horizontalen bzw. vertikalen Schnitte stellen somit Linien konstanter Anregungs- bzw. Emissionsenergie dar. Sie können als Maß für die Quantenausbeute (PL-Spektrum) bzw. für den Absorptionsquerschnitt (PLE-Spektrum) verstanden werden.

Durch Vergleich mit tabellierten Werten können schließlich die in einer Kohlenstoffnanorohrsuspension enthaltenen Chiralitäten identifiziert werden.^[65] Wie in Abbildung

3.1 Prinzip und Nutzen der PLE-Spektroskopie

3.1 zu sehen, ist die Interpretation der Emissionsprofile allein nicht ausreichend; bei einer unselektiven Anregung würden sich diese überlagern und so die Zuordnung erschweren. Tabelle 3.1 listet die mit Hilfe einer PLE-Messung ermittelten SWNT-Spezies der hier vorgestellten CVD-Nanorohrprobe auf:

	(n,m)	λ_1 / nm	λ_2 / nm	d / nm		(n,m)	λ_1 / nm	λ_2 / nm	d / nm
a	(6,5)	976	566	0.757	g	(7,6)	1120	648	0.895
b	(8,3)	952	665	0.782	h	(9,4)	1101	722	0.916
c	(7,5)	1024	645	0.829	i	(10,3)	1249	632	0.936
d	(8,4)	1111	589	0.840	j	(8,6)	1173	718	0.966
e	(11,0)	1037	745	0.873	k	(9,5)	1241	672	0.976
f	(10,2)	1053	737	0.884	l	(8,7)	1265	728	1.032

TAB. 3.1: Übersicht der in der CVD-Probe enthaltenen Nanorohrspezies, geordnet nach ihrem Durchmesser d . Die Zuordnung erfolgt anhand der von Weisman und Bachilo ermittelten Übergangsenergien des ersten und zweiten exzitonischen Subbands.^[66]

Wie die hier dargestellten Werte vermuten lassen, besteht eine Korrelation zwischen den exzitonischen Wellenlängen und dem Nanorohrdurchmesser.^[67] Das (n,m) -Deskriptorenpaar dient dabei der eindeutigen Benennung der jeweiligen Nanorohrchiralität. Abhängig vom Herstellungsprozess kann das verwendete Rohmaterial auch metallische Nanoröhren enthalten. Aufgrund ihrer fehlenden Bandlücke werden diese einer spektrofluorimetrischen Detektion entzogen. Metallische SWNTs können jedoch die nicht-strahlende Relaxation halbleitender SWNTs begünstigen, wodurch sie deren Quantenausbeute verringern. Sie gilt es daher vor fluoreszenzspektroskopischen Messungen abzutrennen.^[68,69] Neben qualitativen können mit Hilfe der PLE-Spektroskopie auch quantitative Aussagen getroffen werden. So lassen sich durch Analyse der Linienbreiten und Intensitäten bei sorgfältiger Kalibrierung der Messapparatur und Berücksichtigung des nicht-resonanten Hintergrundbeitrags die relativen Signalbeiträge der einzelnen SWNT-Chiralitäten ermitteln.^[70] Durch Kombination der PLE-Daten mit den Ergebnissen aus UV-VIS-NIR-Absorptionsmessungen ist bei bekanntem Extinktionskoeffizient ferner die Bestimmung absoluter Stoffmengenkonzentrationen möglich.^[71] Neben den eigentlichen exzitonischen Emissionssignalen weisen PLE-Karten noch Phononenseitenbanden auf, die aus einer vibronischen Kopplung der angeregten Zustände resultieren.^[72] Liegen Kohlenstoffnanoröhren in aggregierter Form vor oder ist ihr mittlerer Abstand bei einer entsprechend hohen Konzentration ausreichend gering, kann ein Energietransfer stattfinden. Im PLE-Plot treten zusätzliche Kreuzungsbanden bei der Anregungswellenlänge des Donors und der Emissionswellenlänge des Akzeptors in

Erscheinung.^[73] Da die photophysikalischen Eigenschaften von Kohlenstoffnanoröhren empfindlich auf Umgebungseinflüsse reagieren,^[74] lassen sich diese ebenfalls mit Hilfe der PLE-Spektroskopie eingehend studieren.^[75]

3.2 Verwendete Komponenten und Strahlengang

Kommerziell erhältliche Spektrofluorimeter, die zur Aufnahme von Photolumineszenz-Anregungskarten konzipiert sind, verfügen etwa über Xenon-Gasentladungslampen, die ein dem Sonnenlicht ähnliches Spektrum emittieren. Zur Auswahl der Anregungswellenlänge dient dabei ein Doppelmonochromator, der durch die zweifache Czerny-Turner-Geometrie Streulicht effizient zu unterdrücken vermag.^[76] Zwar haben sich solche Systeme in der Untersuchung von Kohlenstoffnanorohrproben bewährt.^[77–81] Hinsichtlich ihrer Variabilität sind Komplettsysteme dieser Art allerdings häufig Einschränkungen unterworfen. So erfordert eine nachträgliche Modifizierung in der Regel ein Einsenden des Geräts oder, wenn dies nicht in Frage kommt, einen Technikerbesuch. Beides ist mit zusätzlichen Kosten verbunden. Auch der Integration bestehender Laborausstattung anderer Hersteller sind gewisse Grenzen gesetzt. Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte PLE-Messeinheit nutzt als Plattform hingegen ein bereits im Arbeitskreis Hertel erfolgreich eingesetztes Forschungsmikroskop.^[82] Als Lichtquelle dient ein Superkontinuumlaser,^[83] der mit einem elektronisch ansteuerbaren Filtermodul zur Wellenlängenselektion ausgestattet ist. Ein abbildender Spektrograph, verbunden mit zwei Sensoren für den VIS- und NIR-Spektralbereich, bildet die Detektionseinheit. Abbildung 3.2 stellt den PLE-Aufbau mit seinen wesentlichen Komponenten vor:

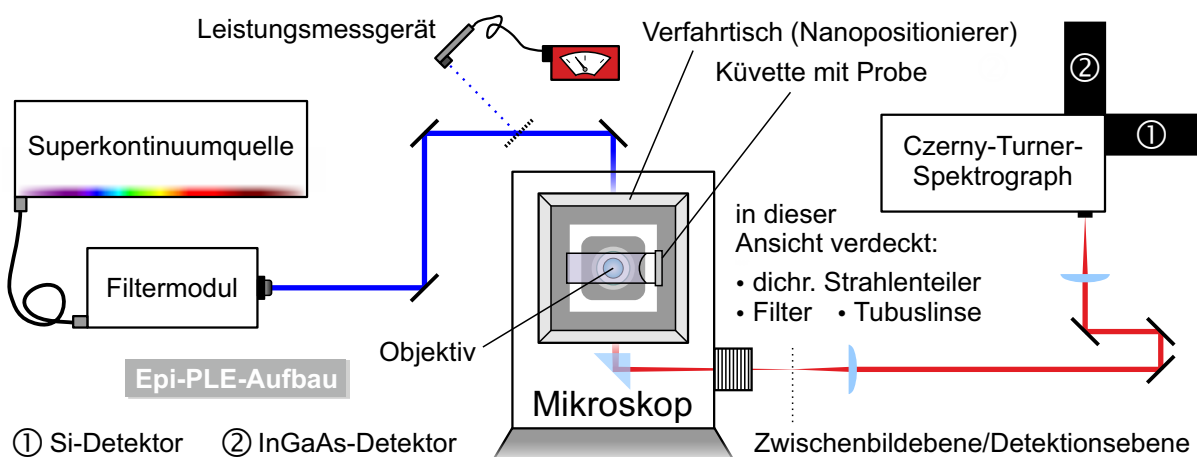


ABB. 3.2: Schematische Skizze des PLE-Messaufbaus, basierend auf einem inversen Auflichtmikroskop. Ein Leistungsmessgerät dient der Aufzeichnung des Anregungsprofils zur nachträglichen Korrektur. Ein piezoelektrisch gesteuerter Verfahrtschisch erlaubt die akkurate Positionierung, wenn anstelle flüssiger Proben z.B. Filme untersucht werden.

3.2 Verwendete Komponenten und Strahlengang

Wie in Abbildung 3.2 dargestellt, befindet sich unmittelbar hinter dem Ausgangsport des Mikroskops die Bildebene. Folglich müsste hier die Eintrittsebene des Spektrographen liegen. Aus Platzgründen ist jedoch eine direkte Ankopplung des Spektrometers häufig nicht möglich. Auch gilt es zu beachten, dass in der Regel die Austrittshöhe des Mikroskops nicht mit der Eintrittshöhe des Spalts und damit auch jener der Detektoren übereinstimmt. Aus diesem Grund wird das Fluoreszenzlicht zunächst kollimiert und in seiner vertikalen Position angehoben. Durch eine zweite Sammellinse erfolgt schließlich die Fokussierung auf die Spaltebene. Mit Hilfe eines dreiachsigen Verfahrtschis kann die optische Achse der Linse noch geringfügig in ihrer Lage verändert werden, was gerade bei Zeilendetektoren aufgrund ihrer geringeren Höhe eine Rolle spielt. Eine Übersicht der im PLE-Experiment zum Einsatz kommenden Geräte und Komponenten einschließlich Typenangabe und Bezugsquelle ist in nachfolgender Tabelle enthalten:

Gerät/Komponente	Bezeichnung	Hersteller/Vertrieb
Mikroskop	Eclipse Ti-U (invers)	Nikon Instruments
Objektiv	CFI S Plan Fluor ELWD 20x	Nikon Instruments
dichr. Strahlenteiler	T760LPXR	Chroma/AHF Analysentechnik
Ordnungsfilter	FR-RG830	Schott/Newport
Leistungsmessgerät	PM100A/S130C	Thorlabs
Superk.quelle	SuperK Extreme EXR-15	NKT Photonics
Filtermodul	SuperK Varia	NKT Photonics
Nanopositionierer	PIMars P-563.3CD	Physik Instrumente PI
Piezocontroller	E-712.3CDA	Physik Instrumente PI
Spektrograph	Shamrock SR-303i-B-SIL	Andor/LOT-QuantumDesign
Si-Detektor	Newton CCD DU920P-OE	Andor/LOT-QuantumDesign
InGaAs-Detektor	iDus PDA DU491A-1.7	Andor/LOT-QuantumDesign

TAB. 3.2: Hauptbestandteile des Photolumineszenz-Anregungsexperiments. Die Spezifikation der im Spektrographen enthaltenen Beugungsgitter findet sich in Abschnitt 3.2.2.

Das eingesetzte Auflichtmikroskop ist zur Verwendung von unendlich korrigierten Objektiven gedacht. Im Geräteinneren befindet sich die Tubuslinse mit der entsprechenden Referenzbrennweite des Herstellers, hier $f_{\text{Ref}} = 20 \text{ cm}$.^[18] Eine zweite Tubuslinse mit $f_{\text{Tub}} = 30 \text{ cm}$ erlaubt die Anpassung des Abbildungsmaßstabs auf den anderthalbfachen nominalen Wert. Der Unendlichstrahlengang durchläuft zuvor zwei Revolvereinheiten, in denen verschiedene Strahlenteiler und Filter eingebracht werden können. Ein Wechsel des dichroitischen Spiegels ist zwar damit herstellerseitig explizit vorgesehen. Wird

3 Entwicklung und Erprobung des PLE-Aufbaus

als Anregungsquelle allerdings ein Laser verwendet, führen unterschiedliche Materialdicken sowie mechanische Toleranzen der Halterung zu einem merklichen Strahlenversatz und damit zu einer unzulänglichen Ausleuchtung des Objektivs. Der Fokus wird in der Bildebene verschoben und ist nicht mehr konzentrisch. Bei reinen PLE-Messungen, insbesondere wenn flüssige Proben untersucht werden, mag dies von untergeordneter Bedeutung sein. Für bildgebende Messungen, die durch den Anschluss einer Kamera am zweiten Mikroskopausgang im Wechsel möglich sind, ist dieser Umstand jedoch als problematisch zu erachten. Aus diesem Grund kommt hier ein Multiphotonenstrahlenteiler zum Einsatz, der neben der Anregung und Detektion von Kohlenstoffnanoröhren zugleich die fluoreszenzmikroskopische Untersuchung der in Abbildung 2.10 gezeigten Fluoreszenzfarbstoffe Rhodamin 6G und 6-Carboxyfluorescein erlaubt. Abbildung 3.3 zeigt das Transmissionsverhalten des verwendeten dichroitischen Spiegels:

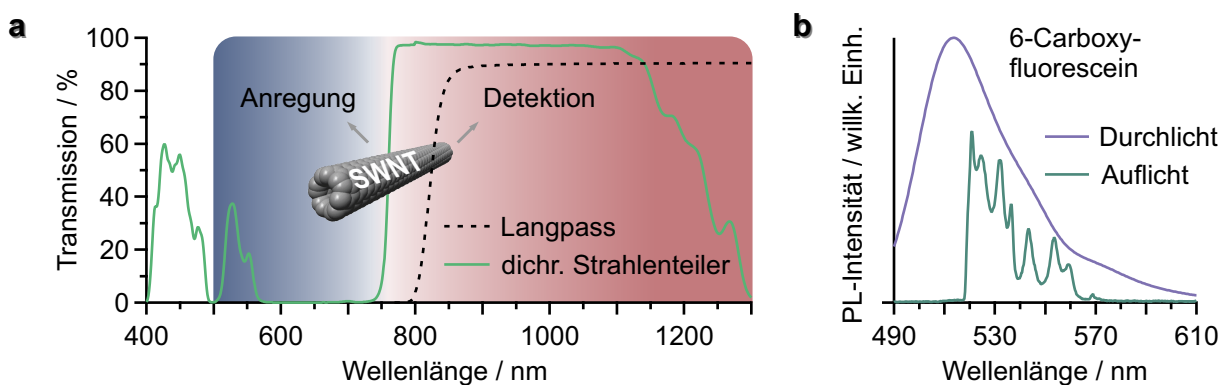


ABB. 3.3: Transmissionsverlauf des Multiphotonenstrahlenteilers. a) Seine Kantenwellenlänge liegt bei 760 nm und trennt den Anregungs- und Detektionsbereich für Nanoröhren. Eingezeichnet ist auch die Kurve des Ordnungsfilters. b) Der dichroitische Spiegel besitzt ein Transmissionsfenster oberhalb von 500 nm. Sein in diesem Bereich inhomogenes Verhalten spiegelt sich im PL-Spektrum von 6-Carboxyfluorescein wider.

Wird am Wendepunkt des Strahlenteilers oder in Bereichen variierender Transmission angeregt bzw. detektiert, bedürfen die aufgezeichneten Fluoreszenzspektren einer nachträglichen Korrektur. Der Einsatz eines Langpassfilters mit einer Kantenwellenlänge von 830 nm unterdrückt das von der Superkontinuumlichtquelle stammende Anregungslicht. Bei Verwendung des Si-Detektors würde dieses ansonsten mit den exzitonenischen Übergängen der Nanoröhren in zweiter Beugungsordnung überlagern.

3.2.1 Charakterisierung der Superkontinuumlichtquelle

Superkontinuumlichtquellen verbinden die Vorteile eines Lasers hinsichtlich Leistungsdichte und Strahlqualität mit dem spektralen Umfang einer thermischen Weißlichtquelle.^[84] Sie ermöglichen damit spektrofluorimetrische Studien unterschiedlichster Pro-

ben bei noch moderater Belichtungszeit. Ferner eignen sie sich für zeitaufgelöste Messungen.^[85] Entdeckt wurde das Phänomen der Superkontinuumzeugung zu Beginn der 1970er Jahre von Alfano und Shapiro.^[86,87] Ursächlich für die extreme Frequenzverbreiterung ist neben einem anomalen Dispersionsverhalten das Zusammenwirken einer Reihe nicht-linearer optischer Prozesse, u.a. Selbst- und Kreuzphasenmodulation, stimulierte Raman-Streuung sowie Vierwellenmischung.^[88] Auch wird in diesem Zusammenhang die Spaltung von Solitonen diskutiert.^[89] Besonders effizient entstehen Superkontinua in den Kavitäten von mikrostrukturierten photonischen Kristallfasern,^[90-92] erstmalig nachgewiesen von Ranka *et al.* im Jahre 1999.^[93] Der zum Pumpen einer PCF erforderliche Photonenfluss kann beispielsweise von einem gepulst betriebenen Nd:YAG-Laser stammen.^[94] Inzwischen kann das so erzeugte Superkontinuum bis in den UV-Bereich ausgedehnt werden.^[95] Eine Emission bis hinab zu 280 nm erscheint möglich.^[96] Aufgrund der zunehmenden Degradierung der Faserstruktur durch Absorption kurzwelligeren Lichts bedarf es hierbei allerdings maßgeschneiderter PCFs.^[97,98] Nicht zuletzt die vielfältige Modifizierbarkeit photonischer Kristallfasern hat Superkontinuumlichtquellen in Wissenschaft und Technik etabliert.^[99,100] Dazu tragen auch Weiterentwicklungen von Seiten der Industrie bei.^[101]

Aufgrund seines Entstehungsprozesses weist das Superkontinuumspektrum einen beträchtlichen IR-Anteil auf. Diesen gilt es zu unterdrücken, wenn Kohlenstoffnanoröhren mit ihrer vergleichsweise geringen PL-Quantenausbeute detektiert werden sollen.^[102] Abbildung 3.4 veranschaulicht dies anhand der PLE-Karten einer SWNT-Probe:

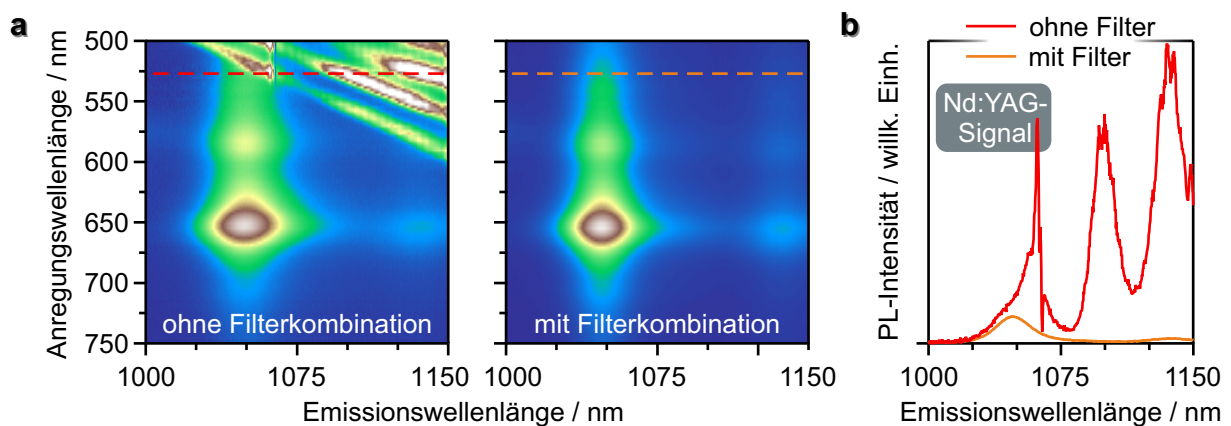


ABB. 3.4: Die spektrofluorimetrische Analyse wird durch die Hintergrundstrahlung der Lichtquelle beeinflusst. **a)** Dargestellt sind PLE-Karten mit und ohne Kurzpassfilter zur IR-Unterdrückung. Anregungs- und Emissionsprofil lassen auf eine (7,5)-Nanoröhre schließen.^[66] **b)** Die ausgewählten PL-Spektren legen nahe, dass zum Teil die unmittelbare Emission des Nd:YAG-Pumplasers für die Artefakte verantwortlich ist.

Die spektrale Verschiebung des von der Lichtquelle stammenden Hintergrundbeitrags mit der Anregungswellenlänge ist auf die Eigenschaften der im SuperK Varia-Modul

3 Entwicklung und Erprobung des PLE-Aufbaus

eingesetzten Interferenzfilter zurückzuführen. Zur Unterdrückung der Infrarotstrahlung dient schließlich eine Kurzpasskombination aus zwei absorptiven NIR-Neutraldichtefiltern (NENIR20A/NENIR30A, Thorlabs). Sie beschneiden dabei den für Kohlenstoffnanoröhren noch interessierenden Anregungsbereich. Da Letzterer im hier vorgestellten Experiment primär durch den dichroitischen Strahlenteiler begrenzt wird, ist dieser Umstand jedoch von untergeordneter Bedeutung. Abbildung 3.5 vergleicht den aus den experimentellen Erfordernissen resultierenden Emissionsverlauf mit der von Seiten des Herstellers spezifizierten Leistungscharakteristik:

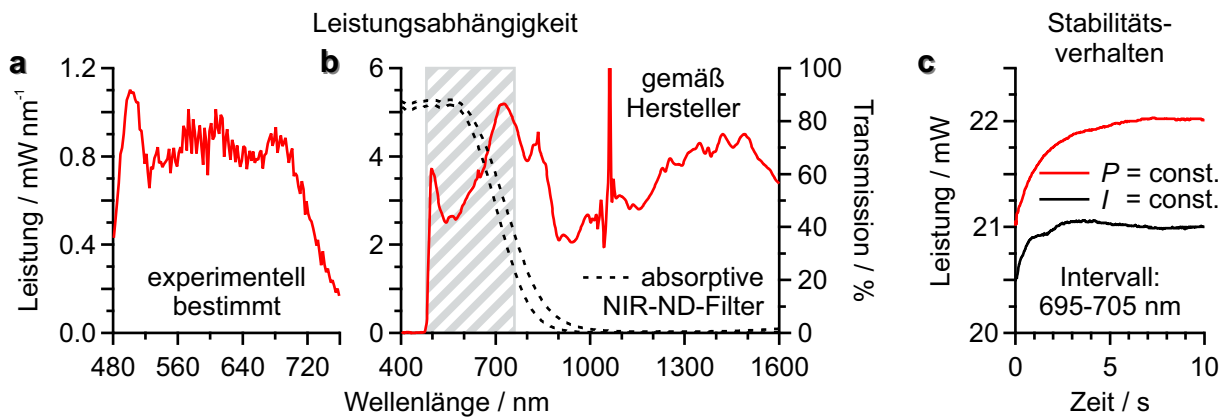


ABB. 3.5: Leistungsabhängigkeit und Stabilitätsverhalten der Superkontinuumquelle. a) Die experimentelle Bestimmung erfolgt mit einem Wellenlängeninkrement des Filtermoduls von 2 nm bei maximaler Repetitions- und Emissionsrate. b) Das eigentliche Superkontinuumspektrum ist dem Datenblatt des Herstellers entnommen.^[103] Dargestellt ist ferner der Transmissionsverlauf der verwendeten Neutraldichtefilter. c) Das Stabilitätsverhalten der Lichtquelle hängt vom Betriebsmodus ab.

Die Lichtquelle lässt sich, wie z.B. auch Gaslaser, entweder bei konstanter Stromstärke oder bei konstanter Leistung betreiben. In beiden Modi wird eine Einschwingzeit beobachtet. Neben der stabilisierten Emission ist der Leistungsmodus auch aus Intensitätsgründen vorzuziehen. Das kurzwellige Ende des Anregungsbereichs resultiert aus der abnehmenden Transmission innerhalb der PCF sowie aus der zunehmend geringeren Effizienz der Weißlichterzeugung. Die gemessenen Leistungen sind hier etwa um einen Faktor vier niedriger als die im Datenblatt angegebenen. Dies liegt zunächst an den Neutraldichtefiltern, die auch jenseits ihrer Kantenwellenlänge keine volle Transmission erreichen. Weitere Leistungsverluste sind der Einkopplung der SM-Fasern geschuldet, welche die Lichtquelle, die Filtereinheit und den Kollimator für die Freistrahlorrichtung miteinander verbinden. Da das aus der Superkontinuumquelle stammende Licht unpolarisiert ist, sollte zur Vermeidung weiterer Einbußen auf Fasern mit polarisationserhaltenden Eigenschaften verzichtet werden. Unterhalb einer Bandbreite von 15–20 nm nimmt das Transmissionsvermögen des SuperK Varia-Moduls merklich ab. Herstellerseitig werden 10 nm als untere Grenze für das Wellenlängeninkrement

empfohlen.^[104] Zwar ließen sich PLE-Karten unabhängig vom Ausmaß der Anregungsschrittweite bei solch großen Bandbreiten aufnehmen, zumal dadurch bei unverändertem Signal-Rausch-Verhältnis Messzeiten verkürzt werden können. Im Falle von auf Monochromatoren basierenden Systemen wird dies auch häufig so gehandhabt.^[105,106] Eine Messung mit kleineren Anregungsintervallen spiegelt allerdings das tatsächliche Absorptionsverhalten der Probe besser wider, gerade wenn dieses in Abhängigkeit einer der Energie reziproken Größe gemessen wird. Auch ist bei größeren Wellenlängeninkrementen die Korrektur der Leistungsabhängigkeit zunehmend fehlerbehaftet. Heeg *et al.* stellten fest, dass eine Zunahme des Anregungsbandpasses zu einer Verbreiterung der PLE-Profile führen kann.^[70] Nutzt man eine Superkontinuumquelle mit Filtermodul, muss beachtet werden, dass das Anregungsprofil um die Zentralwellenlänge zunehmend asymmetrisch wird. Abbildung 3.6 stellt die Intensitätsverteilungen verschiedener Anregungsbandbreiten gegenüber:

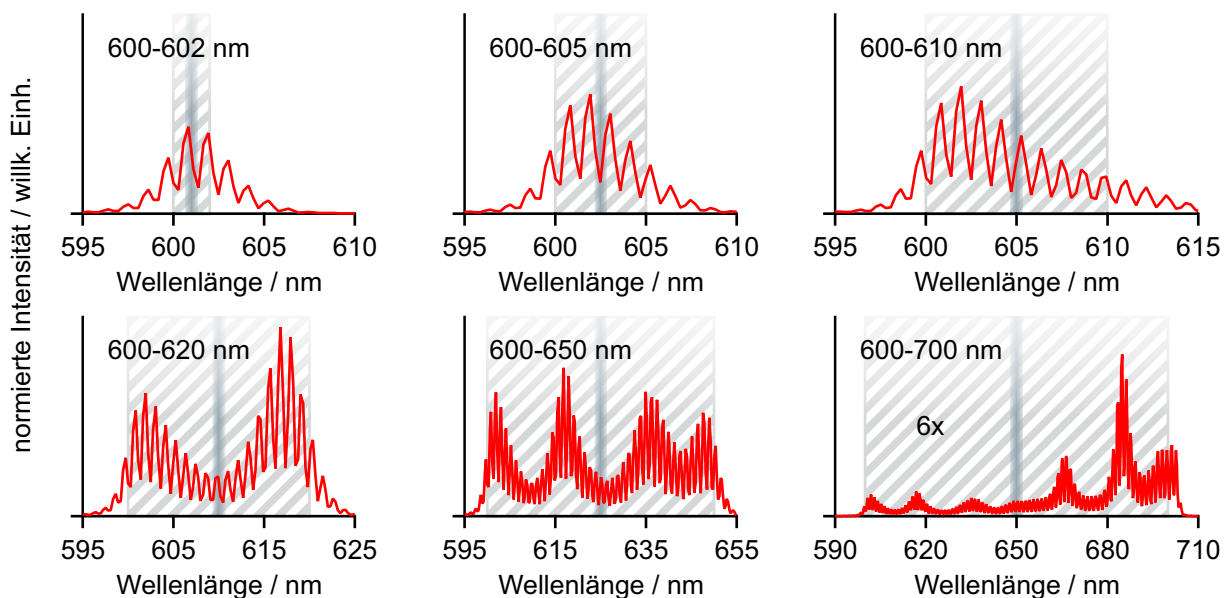


ABB. 3.6: Während bei einem Wellenlängeninkrement von 2 nm das Intensitätsprofil normalverteilt ist, wird es mit zunehmender Bandbreite der Filtereinheit heterogen. Man beachte die abweichende Ordinatenkalierung des Graphen mit dem größten Intervall.

Das Intensitätsmaximum fällt nun nicht mehr mit der eigentlichen Zentralwellenlänge zusammen. Dies würde bei der Aufnahme von PLE-Karten zu einer systematischen Verschiebung des Anregungsprofils führen. Treten bei noch größeren Wellenlängenintervallen mehrere Maxima auf, kann schließlich gar keine sinnvolle Aussage mehr über das Absorptionsverhalten der Probe getroffen werden. Bei der spektralen Einengung mit Hilfe von Monochromatoren ist dies bei entsprechend großen Spaltbreiten so nicht der Fall. Den Spektren ist weiterhin zu entnehmen, dass bei Bandbreiten unterhalb von 10 nm, wie vom Hersteller spezifiziert, das Filtermodul hinsichtlich seines Transmissionsvermögens nicht mehr optimal arbeitet. Eine genauere Analyse der Intensitätsprofi-

3 Entwicklung und Erprobung des PLE-Aufbaus

le kann erfolgen, indem die Kurven mit einer Gauß-Funktion angepasst werden. Abbildung 3.7 zeigt dies exemplarisch für einen typischen Messbereich. Bei einer Anregungsbreite von 2 nm stimmen die auf Basis der Regression ermittelten Zentralwellenlängen durchweg zufriedenstellend mit ihren theoretischen Werten überein. Die Halbwertsbreiten der einzelnen Intervalle schwanken stattdessen periodisch, was auch hier in der Funktionsweise des Filtermoduls begründet liegt:

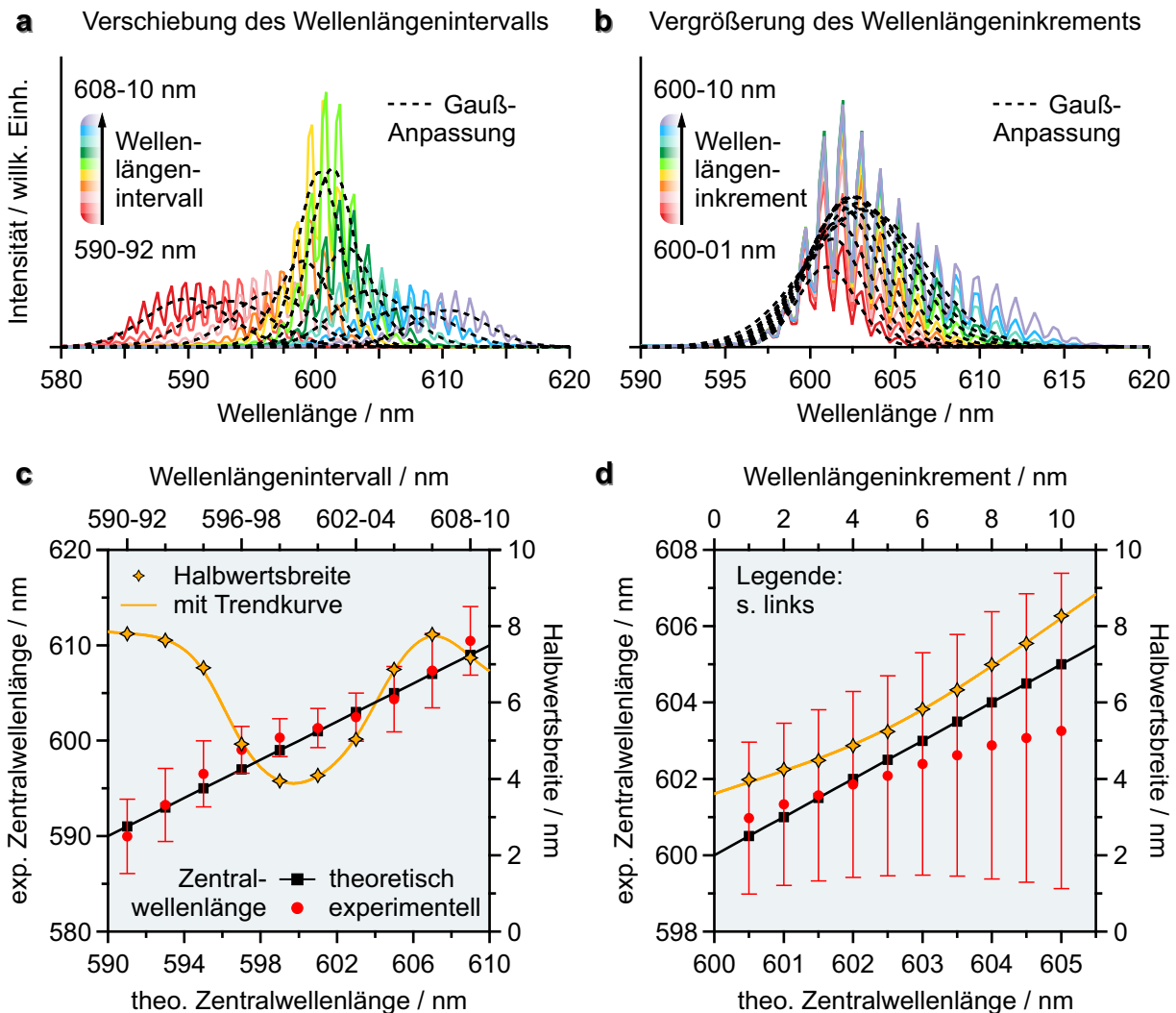


ABB. 3.7: Gauß-Anpassung der Intensitätsprofile und Entwicklung des Emissionsverhaltens bei a) konstanter Bandbreite und b) konstanter Anfangswellenlänge. Die ermittelten Zentralwellenlängen und Halbwertsbreiten sind in c) als Funktion des Wellenlängenintervalls mit den Daten aus a) und in d) als Funktion des Wellenlängeninkrements mit den Daten aus b) aufgetragen. Die Fehlerbalken entsprechen den FWHM-Werten.

Wird hingegen das Wellenlängeninkrement schrittweise erhöht, lässt sich die zunehmende Asymmetrie der Intensitätsprofile belegen. Die experimentell bestimmten Zentralwellenlängen weichen in stärkerem Maße von ihren theoretischen Werten ab. Bei dem in Abbildung 3.7 dargestellten Beispiel kommt es zu einer Rotverschiebung. Auch nimmt die Halbwertsbreite der Intensitätsprofile nicht-linear zu. Die im Filtermodul

eingestellte Bandbreite sollte einen Wert von 5 nm nicht überschreiten. Aus Gründen der Messgenauigkeit ist jedoch eine Aufnahme der Photolumineszenz-Anregungskarten mit einem Anregungsbandpass von 2 nm ratsam, auch wenn dies längere Belichtungszeiten bedingt. Bei den in dieser Arbeit vorgestellten PLE-Datensätzen ist dies, wenn nicht anders angegeben, auch durchweg der Fall. Die eingestellte Bandbreite legt zugleich die obere Grenze für die Schrittweite fest. Sie beträgt hier ebenfalls 2 nm.

Bedingt durch die hohen Leistungsdichten, die insbesondere zur Erzeugung des kurzwelligeren Bereichs des Superkontinuums notwendig sind, sollte die Lichtquelle bei vorübergehender Nicht-Benutzung ausgeschaltet werden. Bei erneutem Einschalten ist jedoch nicht unmittelbar eine für quantitative Messungen ausreichende Leistungsstabilität gegeben. Dies kann darauf zurückgeführt werden, dass mit dem Ausschalten der Lichtquelle – was entweder durch Drücken der entsprechenden Taste auf dem Gehäuse oder mit Hilfe des proprietären Ansteuerungsprogramms geschehen kann – der Nd:YAG-Oszillator in den Ruhezustand versetzt wird. Um nach einer Deaktivierung der Lichtquelle nahezu instantan ein konstantes Emissionsverhalten zu erreichen, sollte stattdessen von der Leistungskontrollfunktion Gebrauch gemacht werden. Diese schaltet lediglich den Verstärker aus, was für eine Unterdrückung der Superkontinuumzeugung bereits ausreichend ist. Dadurch wird die Lebensdauer der photonischen Kristallfaser erhöht und gleichermaßen der Oszillator geschont, der bei permanentem Ein- und Ausschalten, wie es die Aufnahme von PLE-Karten mitunter erfordert, ansonsten eine verstärkte Abnutzung erfahren kann. Die bei 1064 nm auftretende Emission des Nd:YAG-Pumplasers wird, wie auch die übrigen Artefakte im IR-Bereich, durch die verwendete Kurzpasskombination aus den beiden Neutraldichtfiltern unterdrückt. Da die Leistungskontrollfunktion weder über Hard- noch Software des Herstellers bedient werden kann, bedarf es einer separaten Anschlussplatine, die über ein Koaxialkabel mit dem an der Lichtquelle befindlichen BNC-Eingang verbunden wird. Auf diese Weise wird ein geeignetes TTL-Signal bereitgestellt. Bei dem hier verwendeten USB-Modul (Velleman K8055) kann die Ansteuerung mit Hilfe der graphischen Programmierumgebung LabVIEW erfolgen. Befindet sich die Superkontinuumquelle im Leistungskontrollmodus, wird dies auf dem Gerätedisplay wie folgt visualisiert:

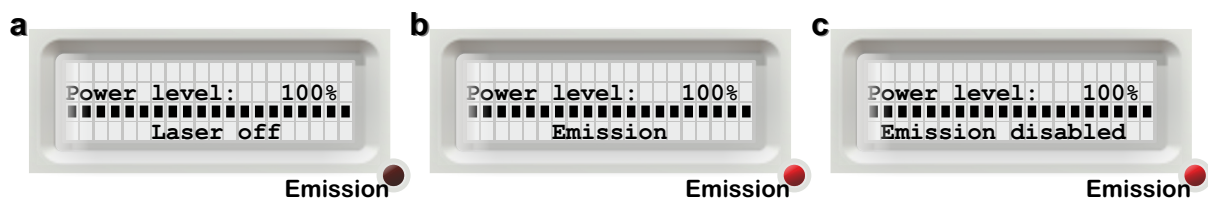


ABB. 3.8: Anzeigefeld des Superkontinuumlasers. In der Regel erfolgt der Betrieb im Leistungsmodus bei 100 % Emission. a) Lichtquelle ausgeschaltet, b) Lichtquelle eingeschaltet, c) Leistungskontrollmodus aktiv. Die LED zeigt an, ob der Oszillator in Betrieb ist.

3 Entwicklung und Erprobung des PLE-Aufbaus

Ein vielversprechender Ansatz, die Emission der Superkontinuumquelle auf den UV-Bereich auszudehnen, liegt in der Frequenzverdopplung mit einem nicht-linearen Medium, beispielsweise einem doppelbrechenden Kristall. Wie Abbildung 3.9 zeigt, kann dies mit einem vergleichsweise geringen experimentellen Aufwand realisiert werden. Um zu gewährleisten, dass das mit einem Prisma spektral zerlegte Licht seinen Ursprung tatsächlich in einem SHG-Prozess hat, wird ein Langpass in den Strahlengang eingebracht. Bei diesem handelt es sich um den auch für PLE-Messungen verwendeten Farbglasfilter, der seine Kantenwellenlänge bei 830 nm aufweist. Bereits bei einer Leistungseinstellung von unter 10 % Emission, wo das kurzwellige Ende des Superkontinuums noch gar nicht zugänglich ist, entsteht sichtbares Licht. Bradler *et al.* charakterisierten die auf analoge Weise erzeugte Ultraviolettstrahlung näher und nutzten sie für zeitaufgelöste Fluoreszenzlebensdauermessungen.^[107] Inzwischen sind auch erste kommerzielle Lösungen verfügbar, mit denen bereits bestehende Superkontinuumsysteme nachgerüstet werden können. Sie sollen ein unkompliziertes Einstellen der benötigten UV-Wellenlänge erlauben. Über einen weiteren Ausgangsport bleibt das primär erzeugte Superkontinuumlicht zugleich für weitere Anwendungen nutzbar.^[108]

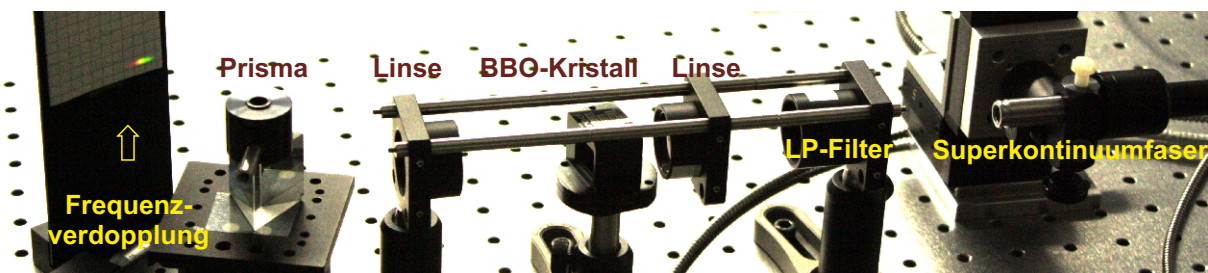


ABB. 3.9: Experimenteller Aufbau zur Erzeugung von frequenzverdoppeltem Licht. Hierzu muss zunächst die Ausgangsfaser der Superkontinuumlichtquelle vom Filtermodul getrennt werden. Als nicht-lineares Medium findet ein BBO-Kristall Verwendung.

3.2.2 Charakterisierung von Spektrograph und Detektoren

Jedes Spektrometersystem bedarf zunächst eines Kompromisses, der Auflösungsvermögen und Lichtstärke je nach Anwendung mit unterschiedlicher Wichtigkeit Rechnung trägt. Da bei der spektrofluorimetrischen Untersuchung von Kohlenstoffnanorohrproben die zügige Identifizierung unterschiedlicher SWNT-Spezies über einen ausgedehnten Emissionsbereich wichtiger ist als die genaue Analyse einzelner PL- bzw. PLE-Details, sollte der spektrale Bandpass $\Delta\lambda_{\text{ges}}$ möglichst groß sein. Nach Gleichung 2.39 führen eine Abnahme der Brennweite des Spektrographen und eine Zunahme seiner Gitterkonstante zu einer Verringerung der linearen Dispersion. Der spektral erfasste Messbereich nimmt zu, wodurch das von einem Pixel gesammelte Signal von einem

3.2 Verwendete Komponenten und Strahlengang

größeren Wellenlängenintervall herrührt. Zusammen entsprechen beide Faktoren dem Streben nach Reduktion der Messzeit. Ist der von einer PLE-Karte erfasste Emissionsbereich ausreichend groß, bedarf es keiner weiteren Aufnahme bei geänderter Zentralwellenlänge. Ferner lässt das gesteigerte Signal-Rausch-Verhältnis eine kürzere Belichtung der Probe zu. Abgesehen von der Konfiguration des Spektrographen hängt der spektral erfasste Messbereich auch von der Breite des Sensors ab. Bei unveränderter Pixelgröße nimmt $\Delta\lambda_{\text{ges}}$ mit der Anzahl der Pixel zu.

Wie in Abschnitt 2.2.2 erwähnt, verfügen Czerny-Turner-Spektrographen über einen Gitterturm, der einen vollautomatisierten Wechsel von bis zu drei Beugungsgittern erlaubt und damit dem Spektrometersystem eine erhöhte Flexibilität verleiht. Sollte bei einem PLE-Experiment doch das Auflösungsvermögen im Vordergrund stehen, kann ein Gitter mit größerer Linienzahl in den Strahlengang eingebracht werden. Auch erlaubt die Variation des Furchenwinkels und damit der Blaze-Wellenlänge eine Anpassung an den zu untersuchenden Spektralbereich. Tabelle 3.3 listet die im hier vorgestellten Aufbau zum Einsatz kommenden Reflexionsgitter mit ihren Spezifikationen auf:

Herstellerbezeichnung	Blaze-Wellenlänge	Blaze-Winkel	Linienzahl	Gitterkonstante
53 [*] -270R	500 nm	4.3°	300 mm ⁻¹	3.3̄ μm
53 [*] -640R	1200 nm	10.4°	300 mm ⁻¹	3.3̄ μm
53 [*] -500R	1250 nm	5.4°	150 mm ⁻¹	6.6̄ μm

TAB. 3.3: Durch das für eine Wellenlänge von 500 nm optimierte Reflexionsgitter wird das Spektrometer auch der Detektion von Fluorophoren wie Rhodamin 6G und 6-Carboxyfluorescein gerecht. Für Photolumineszenzmessungen an Kohlenstoffnanoröhren stehen zwei Beugungsgitter mit unterschiedlicher Linienzahl zur Verfügung.

Die Abmessung der Gitter ist quadratisch, ihre Kantenlänge beträgt 68 mm. Die begrenzende Apertur liegt hingegen bei 64 mm.^[109] Dieser Wert ist für das theoretisch erreichbare Auflösungsvermögen maßgeblich, da sich aus ihm nach Gleichung 2.41 die Anzahl der maximal beleuchtbaren Gitterfurchen errechnen lässt. Wie ein Einsetzen in Gleichung 2.36 zeigt, erfüllen obige Werte die Littrow-Konfiguration in erster Beugungsordnung. Naturgemäß ist eine solche Interferenzanordnung in Czerny-Turner-Spektrographen nicht realisierbar, da bei ihr das eintretende Licht in sich selbst reflektiert würde und damit zurück in die Eintrittsebene gelangte. Durch ihre eindeutige Geometrie eignet sie sich jedoch als Referenzstandard. Allgemein ist der einer bestimmten Wellenlänge entsprechende Blaze-Winkel nach Gleichung 2.35 noch eine Funktion des Einfallswinkels, welcher sich von Hersteller zu Hersteller unterscheiden kann. Nicht zuletzt hängt der Einfallswinkel von der Brennweite des Spektrographen ab. Folglich

3 Entwicklung und Erprobung des PLE-Aufbaus

kann die Blaze-Wellenlänge eines Furchengitters, das in verschiedenen Systemen zum Einsatz kommt, variieren. Dies gilt in gleicher Weise auch für sein Reflektivitätsverhalten. Es wird daher ebenfalls in der Littrow-Anordnung spezifiziert. Bei bekanntem Einfallswinkel erlaubt Gleichung 2.35 schließlich eine Berechnung der tatsächlichen Blaze-Wellenlänge für eine bestimmte Spektrometerkonfiguration.

Die genaue Kenntnis der bei der Beugung am Reflexionsgitter auftretenden Winkelverhältnisse ist nicht nur bei der Diskussion der Blaze-Parameter essenziell. Auch für die Berechnung der linearen Dispersion, anhand derer das experimentelle Auflösungsvermögen sowie der spektral erfasste Bandpass abgeschätzt werden können, bildet sie die Grundlage. Für eine nähere Betrachtung ist es zweckmäßig, die Gittergleichung 2.34 in modifizierter Form zu schreiben und zwei weitere Winkel einzuführen, den Arbeitswinkel φ sowie den Gitterwinkel γ . Unter Zuhilfenahme des trigonometrischen Additionstheorems erhält man folgenden Ausdruck:

$$\Delta s = m \cdot \lambda = d \cdot [\sin(\alpha) + \sin(\beta)] = 2 \cdot d \cdot \sin(\gamma) \cdot \cos(0.5 \cdot \varphi) \quad (3.1)$$

Der Nutzen von Gleichung 3.1 liegt vor allem in ihrer Verwendung von Seiten der Spektrometerhersteller. Sie verknüpft die Interferenzbedingung mit den geometrischen Rahmenbedingungen der Beugungsanordnung.^[110] Für den Ein- und Ausfallswinkel gilt:

$$\alpha = \gamma + 0.5 \cdot \varphi \quad \beta = \gamma - 0.5 \cdot \varphi \quad (3.2)$$

Der Arbeitswinkel φ entspricht damit der Differenz zwischen α und β . Für eine bestimmte Czerny-Turner-Konfiguration ist er stets konstant – unabhängig von eingestrahelter Wellenlänge oder verwendetem Reflexionsgitter. Abbildung 3.10 veranschaulicht den Zusammenhang der bei der Beugung am Gitter auftretenden Winkel:

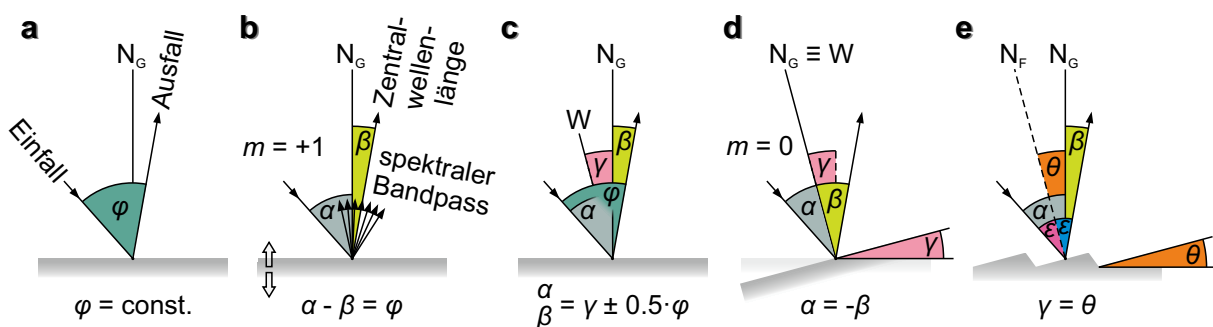


ABB. 3.10: Winkerverhältnisse am Beugungsgitter. a) φ wird von Ein- und Ausfallsstrahl begrenzt. b) Die der Gittergleichung entsprechende Wellenlänge bildet das Zentrum des spektralen Bandpasses. c) γ wird von der Winkelhalbierenden W und der Gitternormalen N_G gebildet. d) In nullter Ordnung entsprechen Letztere einander. e) γ stellt damit den für die vorgegebene Anordnung idealen Furchenwinkel θ dar.

3.2 Verwendete Komponenten und Strahlengang

Wie Abbildung 3.10 entnommen werden kann, entspricht der halbe Arbeitswinkel betragsmäßig Ein- und Ausfallswinkel in nullter Beugungsordnung. Letztere kann als Referenzposition für den Gitterwinkel angesehen werden. Das Reflexionsgitter muss aus eben dieser Nullstellung um den Winkel γ gedreht werden, damit entlang der Ausfallsachse die Interferenzbedingung nach Gleichung 3.1 für eine vorgegebene Zentralwellenlänge erfüllt ist. Während der Arbeitswinkel stets positiv gerechnet wird, können für den Gitterwinkel auch negative Werte auftreten, abhängig von der Lage zur Gitternormalen.^[110] Abbildung 3.11 zeigt die diesbezüglich verwendete Vorzeichenkonvention:

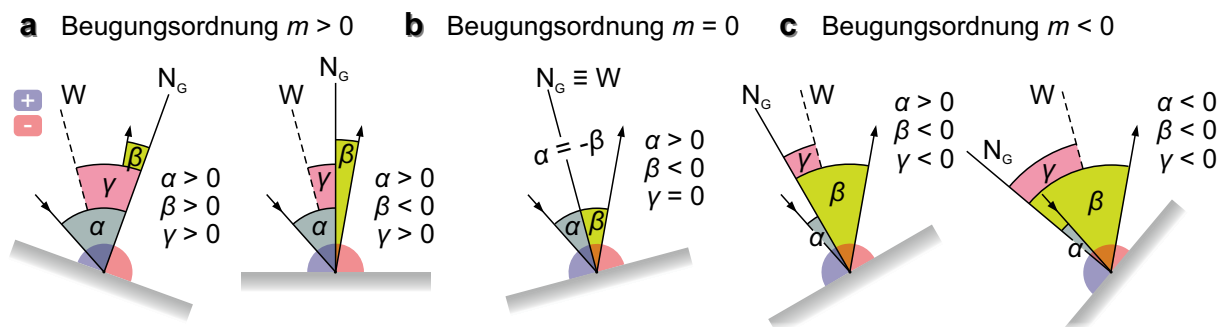


ABB. 3.11: Einfalls-, Ausfalls- und Gitterwinkel können sowohl positiv als auch negativ sein. a) Ist m positiv, gilt dies auch für γ . b) In nullter Beugungsordnung muss der Gitterwinkel definitionsgemäß verschwinden. c) Ist m negativ, resultiert auch für γ ein negatives Vorzeichen. Für α und β treten noch weitere Differenzierungen auf.

Je nach Vorzeichen der Beugungsordnung können mehrere Szenarien unterschieden werden, die auch direkt aus der Gittergleichung folgen. Bei bekanntem Gitterwinkel γ , der vom Spektrographen für eine bestimmte Kombination aus Linienzahl und Wellenlänge einzustellen ist, lässt sich der zumeist nicht näher angegebene Arbeitswinkel φ berechnen.^[111] Ein exemplarischer Datensatz ergibt für das vorliegende System:

$$\varphi = 2 \cdot \arccos \left[\frac{\pm m \cdot \lambda}{2 \cdot d \cdot \sin(\pm \gamma)} \right] \stackrel{\text{z.B.}}{=} 2 \cdot \arccos \left[\frac{\pm 1 \cdot 500 \text{ nm} \cdot 300 \text{ mm}^{-1}}{2 \cdot \sin(\pm 4.394^\circ)} \right] = 23.6^\circ \quad (3.3)$$

Gleichung 3.3 ist für $|m| > 1$ nicht erfüllbar, da das Argument der Arkuskosinusfunktion außerhalb des Definitionsbereichs liegt. Höhere Beugungsordnungen können daher ausgeschlossen werden. Dennoch bleibt die Frage offen, ob das vorliegende System in positiv oder negativ erster Beugungsordnung arbeitet. Prinzipiell kann ein geblaztes Reflexionsgitter in beiden Varianten verwendet werden, allerdings muss es bei einem Vorzeichenwechsel gemäß Gleichung 3.1 spiegelverkehrt angeordnet werden, da der dem idealen Furchenwinkel entsprechende Gitterwinkel sein Vorzeichen tauscht. Der Blaze-Winkel sollte für ein Gitter mit einer Linienzahl von 300 mm^{-1} bei einer Zentralwellenlänge von 500 nm $|\theta| = 4.394^\circ$ betragen.^[111] Tatsächlich hat er, wie der Wert aus Tabelle 3.3 zeigt, einen Wert von 4.3° . Die Abweichung scheint vertretbar, zumal sie

3 Entwicklung und Erprobung des PLE-Aufbaus

sich bei Spektrographen mit größeren Brennweiten, die unter einem kleineren Arbeitswinkel φ operieren, noch verringert. Dies zeigt ein Vergleich mit Gleichung 2.36:

$$\lim_{\varphi \rightarrow 0} \gamma = \lim_{\varphi \rightarrow 0} \arcsin \left[\frac{m \cdot \lambda}{2 \cdot d \cdot \cos(0.5 \cdot \varphi)} \right] = \arcsin \left(\frac{m \cdot \lambda}{2 \cdot d} \right) = \theta_{\text{Littrow}} \quad (3.4)$$

Im Grenzfall kleiner Arbeitswinkel gleichen sich Gitter- und Blaze-Winkel folglich dem Wert der Littrow-Konfiguration an. Im vorliegenden Fall liegt eine Abweichung von etwa 2 % vor. Daher können in guter Näherung die unter senkrechtem Strahleinfall parallel zur Furchennormalen gemessenen Reflektivitätskurven des Herstellers zu Korrekturzwecken herangezogen werden. Betreibt man einen abbildenden Spektrographen in nullter Interferenzordnung, sollte das Beugungsgitter mit dem kleinsten Blaze-Winkel verwendet werden, um Reflektivitätsverluste zu minimieren. Auch wenn wie hier das Spektrometer nicht für Bildgebungsexperimente genutzt wird, ist ein solches Gitter angeraten. So lässt das Justieren in nullter Ordnung eine unkomplizierte Überprüfung der Strahl- und Spaltposition zu.

Mit Hilfe des Arbeitswinkels $\varphi = 23.6^\circ$ können nun die für die Durchführung des PLE-Experiments relevanten Spektrometerparameter wie Auflösungsvermögen und spektral erfasster Bandpass berechnet werden. Als Ausgangspunkt dient eine Zentralwellenlänge von $\lambda = 1000 \text{ nm}$. In diesem Spektralbereich liegt die Emission des S_1 -Exzitons der im CoMoCAT[®]-Material^[112] angereicherten (6,5)-Kohlenstoffnanoröhren,^[113] deren Photophysik Gegenstand einer Vielzahl an im Arbeitskreis Hertel durchgeführten Studien ist.^[114–117] Neben dem Arbeitswinkel und der Zentralwellenlänge fließen noch weitere Konstanten in die Berechnungen ein, die den Datenblättern der Hersteller zu entnehmen sind. Die Brennweite des Spektrographen beträgt $f = 303 \text{ mm}$.^[118] Die Pixel des InGaAs-Sensors weisen eine Abmessung von $L_{\text{Pixel}} = 25 \text{ }\mu\text{m}$ auf,^[119] die des Si-Sensors liegen hingegen bei $26 \text{ }\mu\text{m}$.^[120] Bei einer horizontalen Pixelanzahl von je $N_{\text{Pixel}} = 1024$ resultiert daraus eine Gesamtbreite von $L_{\text{Detektor}} = 25.6 \text{ mm}$ bzw. 26.6 mm . Da der CCD-Detektor aufgrund seiner abfallenden Quanteneffizienzkurve im Nahinfrarotbereich eine eher untergeordnete Rolle bei der Aufnahme von Photolumineszenz-Anregungskarten spielt, beschränken sich die weiteren Betrachtungen auf die InGaAs-Diodenzeile. Die Blendenzahl des Spektrographen liegt bei $k = F/4$.^[118] Mit obiger Brennweite ergibt sich für den kollimierenden Konkavspiegel ein Durchmesser von 76 mm . Ein Vergleich mit den Abmessungen der quadratischen Reflexionsgitter zeigt, dass Letztere die das Auflösungsvermögen begrenzende Apertur im Spektrographen darstellen. Bei den hier angestellten Berechnungen wird die effektive Gitterbreite herangezogen, die wie erwähnt bei $D = 64 \text{ mm}$ liegt.^[109] Als offener Parameter bleibt schließlich noch die Eintrittsspaltbreite S . Exemplarisch werden an dieser Stelle zwei für die Praxis relevante Werte herangezogen, darunter $10 \text{ }\mu\text{m}$ als minimal einstellbare Spalt-

3.2 Verwendete Komponenten und Strahlengang

breite. Tabelle 3.4 listet die Ergebnisse für die experimentell zur Verfügung stehenden Gitterkonstanten bzw. Linienzahlen in positiv und negativ erster Beugungsordnung auf:

Spektrometerparameter	Linienzahl 150 mm ⁻¹	Linienzahl 300 mm ⁻¹
Beugungsordnung	$m = +1 / m = -1$	$m = +1 / m = -1$
Einfallswinkel α	16.194°/7.406°	20.615°/2.985°
Ausfallswinkel β	-7.406°/-16.194°	-2.985°/-20.615°
Gitterwinkel γ	4.394°/-4.394°	8.815°/-8.815°
Winkeldispersion $d\beta/d\lambda$	151.3/156.2 $\mu\text{rad nm}^{-1}$	300.4/320.5 $\mu\text{rad nm}^{-1}$
lineare Dispersion $dx/d\lambda$	45.83/47.33 $\mu\text{m nm}^{-1}$	91.02/97.12 $\mu\text{m nm}^{-1}$
rezip. lin. Dispersion $d\lambda/dx$	21.82/21.13 nm mm^{-1}	10.99/10.30 nm mm^{-1}
spektraler Bandpass $\Delta\lambda_{\text{ges}}$	558.6/540.9 nm	281.2/263.6 nm
Pixelinkrement $\Delta\lambda_{\text{ges}}/N_{\text{Pixel}}$	0.545/0.528 nm	0.275/0.257 nm
theo. Auflösungsgrenze $\Delta\lambda_{\text{min}}^0$	0.103/0.100 nm	0.052/0.049 nm
theo. Auflösungsvermögen R^0	9681/9997	19226/20514
Nyquist-Auflösungsgrenze $\Delta\lambda_{\text{min}}^N$	1.091/1.056 nm	0.549/0.515 nm
Nyquist-Auflösungsvermögen R^N	917/947	1820/1942
⇒ bei Eintrittsspaltbreite $S = 10 \mu\text{m}$ ⇐		
exp. Auflösungsgrenze $\Delta\lambda_{\text{min}}^S$	0.321/0.311 nm	0.162/0.152 nm
exp. Auflösungsvermögen R^S	3111/3212	6178/6591
⇒ bei Eintrittsspaltbreite $S = 50 \mu\text{m}$ ⇐		
exp. Auflösungsgrenze $\Delta\lambda_{\text{min}}^S$	1.194/1.156 nm	0.601/0.564 nm
exp. Auflösungsvermögen R^S	837/865	1663/1774
HERSTELLERANGABEN		
spektraler Bandpass	549.21 nm	267.15 nm
spektrale Auflösung	1.061 nm	0.516 nm
reziproke lineare Dispersion	21.45 nm mm^{-1}	10.44 nm mm^{-1}
Maximalwellenlänge	11302.99 nm	5651.49 nm

TAB. 3.4: Die berechneten Spektrometerparameter zeigen eine zufriedenstellende Übereinstimmung mit den Daten des Herstellers.^[111] Die Winkeldispersion ist für $m = -1$ mit einem negativen Vorzeichen behaftet, selbiges gilt entsprechend für die daraus abgeleiteten Größen. Im Allgemeinen wird – wie auch hier – nur der Betrag angegeben.

3 Entwicklung und Erprobung des PLE-Aufbaus

Etwaige Abweichungen der berechneten Spektrometerparameter von den ebenfalls in Tabelle 3.4 gelisteten Herstellerangaben können ihren Ursprung in modifizierten Dispersionsgleichungen haben, derer sich der Hersteller bedient. Die hier verwendete Berechnungsgrundlage repräsentiert den Idealfall bei Abwesenheit optischer Abbildungsfehler. In Czerny-Turner-Spektrographen tritt neben sphärischen Aberrationen und Astigmatismen an den Hohlspiegeln insbesondere die Koma auf.^[121] Bei Anwendungen wie der Raman-Spektroskopie, wenn keine elektronischen Übergänge, sondern reine Schwingungsanregungen detektiert werden sollen, ist bei der Berechnung des Auflösungsvermögens eine Anpassung mit Korrekturtermen angeraten.^[122] Da im Rahmen dieser Arbeit vielmehr das Zusammenwirken der verschiedenen Parameter untersucht werden soll, um damit der Konfiguration des PLE-Experiments Rechnung zu tragen, soll die Einfachheit und Anschaulichkeit der eingesetzten Gleichungen nicht einem an dieser Stelle untergeordneten Gewinn an Genauigkeit weichen. Auf Basis der in Abschnitt 2.2.1 erfolgten Einführung in die Funktionsweise des Gitterspektrographen werden im Folgenden die für die Berechnungen verwendeten Bestimmungsgleichungen abgeleitet. So folgt für das experimentelle Auflösungsvermögen R^S und die -grenze $\Delta\lambda_{\min}^S$:

$$R^S = \frac{\lambda}{\Delta\lambda_{\min}^S} = \frac{\lambda}{f^{-1} \cdot (S + f \cdot \lambda \cdot D^{-1}) \cdot \frac{d\lambda}{d\beta}} \quad (3.5)$$

Bei einer Spaltbreite $S \rightarrow 0$ erhält man das theoretische Auflösungsvermögen R^0 und die -grenze $\Delta\lambda_{\min}^0$. Der Ausdruck 3.5 wird dabei unabhängig von der Brennweite f :

$$R^0 = \frac{\lambda}{\Delta\lambda_{\min}^0} = \frac{\lambda}{\lambda \cdot D^{-1} \cdot \frac{d\lambda}{d\beta}} = D \cdot \frac{d\beta}{d\lambda} = \frac{D \cdot m}{d \cdot \cos(\beta)} \stackrel{!}{=} N \cdot m \quad (3.6)$$

Mit der Definition der Winkeldispersion 2.38 und unter Annahme des Beugungsgitters als bestimmende Aperturbegrenzung D – wie es hier der Fall ist – vereinfacht sich Gleichung 3.6 erheblich und geht in Gleichung 2.42 über. Letztere bringt zum Ausdruck, dass das theoretische Auflösungsvermögen bei einer unzureichenden Einkopplung des spektral zu untersuchenden Lichts nicht erreicht werden kann, bedingt durch die geringere Anzahl N an beleuchteten Gitterfurchen. Dies ist gleichbedeutend mit einer effektiven Abnahme der Gitterapertur D . Die Güte des experimentellen Auflösungsvermögens kann berechnet werden, indem man die dimensionslosen Größen R^S und R^0 ins Verhältnis setzt oder analog die Auflösungsgrenzen $\Delta\lambda_{\min}^0$ und $\Delta\lambda_{\min}^S$ heranzieht:

$$\frac{R^S}{R^0} = \frac{\Delta\lambda_{\min}^0}{\Delta\lambda_{\min}^S} = \left(\frac{S \cdot D}{f \cdot \lambda} + 1 \right)^{-1} = 32 \% (S = 10 \mu\text{m}) \text{ bzw. } 8.6 \% (S = 50 \mu\text{m}) \quad (3.7)$$

Nach Gleichung 2.29 stellt ein Eintrittsspalt von $S = 8 \mu\text{m}$ den aus Beugungsgründen empfohlenen Mindestwert dar, der gemäß Gleichung 2.33 zu einer Auflösungsgü-

te von einem Drittel führt. Bei einer geräteseitig vorgegebenen minimalen Spaltbreite von $10\ \mu\text{m}$ lässt sich dieser Wert fast erzielen und damit eine ausreichend hohe Lichtstärke wahren. Bei einer Spalteinstellung von $50\ \mu\text{m}$ liegen in der Detektionsebene die frequenzabhängigen Spaltabbildungen hingegen merklich verbreitert vor, woraus eine deutlich geringere Auflösungsgüte resultiert. Dennoch entspricht diese nahezu dem im vorliegenden Experiment erreichbaren Wert. So beruht die bisherige Betrachtung lediglich auf der räumlichen Trennung der Beugungsmaxima im Sinne des Rayleigh-Kriteriums. Ist der Abstand Δx_{\min} jedoch kleiner als die Pixelbreite, kann die aus den Spektrographenparametern f , S , D und $d\beta/d\lambda$ folgende Auflösungsgrenze nicht realisiert werden. Konzeptionell bedeutet dies, dass mit der Einteilung des Messsignals in endlich kleine Inkremente, wie es in jedem Digitalisierungsschritt geschieht, ein Informationsverlust einhergeht. Für das sich hieraus ergebende Auflösungsvermögen R^N gilt:

$$R^N = \frac{\lambda}{\Delta\lambda_{\min}^N} = \frac{\lambda}{2 \cdot \Delta\lambda_{\text{ges}} \cdot N_{\text{Pixel}}^{-1}} = \frac{\lambda}{2 \cdot \frac{d\lambda}{dx} \cdot L_{\text{Pixel}}} \quad (3.8)$$

Gleichung 3.8 lässt sich durch Anwenden des aus der Nachrichtentechnik entlehnten Nyquist-Abtasttheorems herleiten. Die durch die Digitalisierung bestimmte Auflösungsgrenze $\Delta\lambda_{\min}^N$ korreliert mit dem auf ein Pixel bezogenen spektralen Bandpass, seinem Pixelinkrement $\Delta\lambda_{\text{ges}}/N_{\text{Pixel}}$. Da zwei aufzulösende Wellenlängen auf zwei verschiedene Pixel fallen müssen und ein weiteres zur Unterscheidung zwischen ihnen liegen muss, kann nur der doppelte Wert eines Pixelinkrements aufgelöst werden.^[123] Der spektral erfasste Messbereich $\Delta\lambda_{\text{ges}}$ ergibt sich aus dem Integral der reziproken linearen Dispersion $d\lambda/dx$ über die Breite des Detektors. Dessen linker und rechter Begrenzung können folgende Integrationsgrenzen x_1 und x_2 zugeordnet werden:

$$\text{links: } x_1 = f \cdot \beta - 0.5 \cdot L_{\text{Detektor}} \quad \text{rechts: } x_2 = f \cdot \beta + 0.5 \cdot L_{\text{Detektor}} \quad (3.9)$$

Für den spektralen Bandpass erhält man unter Anwenden der Kleinwinkelnäherung:

$$\Delta\lambda_{\text{ges}} = \int_{x_1}^{x_2} \frac{d\lambda}{dx} dx = 2 \cdot \frac{d}{m} \cdot \cos(\beta) \cdot \sin\left(\frac{L_{\text{Detektor}}}{2 \cdot f}\right) \approx \frac{d\lambda}{dx} \cdot L_{\text{Detektor}} \quad (3.10)$$

Das Ausmaß des aus der Näherung resultierenden Fehlers liegt bei unter 1 ‰. Für die durch die Pixelgröße und damit durch den Detektor begrenzte Auflösungsgüte folgt:

$$\frac{R^N}{R^0} = \frac{\Delta\lambda_{\min}^0}{\Delta\lambda_{\min}^N} = \frac{f \cdot \lambda}{2 \cdot D \cdot L_{\text{Pixel}}} = 9.5\ \% \quad (3.11)$$

Aus dem in Gleichung 3.11 berechneten Wert wird ersichtlich, dass bei einer Spaltbreite von $50\ \mu\text{m}$ das Auflösungsvermögen des Spektrometersystems nahezu dem Nyquist-

3 Entwicklung und Erprobung des PLE-Aufbaus

Kriterium entspricht. Kleinere Spaltbreiten bewirken demnach keine erhöhte Genauigkeit, sondern führen nur zu einer Abnahme der von der Eintrittsapertur akzeptierten Lichtstärke. Umgekehrt kann nun die Pixelgröße bestimmt werden, bei der das theoretische Auflösungsvermögen und seine Entsprechung nach Nyquist übereinstimmen:

$$L_{\text{Pixel}}^0 = \frac{1}{2} \cdot \Delta x_{\text{min}}^0 = \frac{1}{2} \cdot \frac{dx}{d\lambda} \cdot \Delta \lambda_{\text{min}}^0 = \frac{f \cdot \lambda}{2 \cdot D} = 2.37 \mu\text{m} \quad (3.12)$$

Dieser Ausdruck folgt auch direkt durch Umstellen von Gleichung 3.11 für den Fall $R^N = R^0$. Soll der spektral erfasste Bandpass unverändert bleiben, müsste der InGaAs-Sensor aus mehr als $2^{13.4}$ Photodioden bestehen. Gleichung 3.12 kann auch mit dem Abstand Δx_{min}^S bzw. der Auflösungsgrenze $\Delta \lambda_{\text{min}}^S$ formuliert werden. Entsprechend erhält man die zu einer vorgegebenen Spalteinstellung passende Pixelgröße. Für die Mindestspaltbreite $10 \mu\text{m}$ ergibt sich $L_{\text{Pixel}}^S = 7.37 \mu\text{m}$. Möchte man bei der Durchführung der Photolumineszenz-Anregungsmessungen das nach Nyquist maximale Auflösungsvermögen erreichen, darf folgende Spaltbreite S^N nicht überschritten werden:

$$S^N = 2 \cdot L_{\text{Pixel}} - \frac{f \cdot \lambda}{D} = 45.3 \mu\text{m} \quad (3.13)$$

Dem Nyquist-Theorem kommt insbesondere auch in der Mikroskopie eine zentrale Rolle zu.^[124] Durch die endliche Ausdehnung der Kamerapixel bzw. der Photorezeptoren auf der Netzhaut des Auges erleidet die Bildinformation einen Verlust. Wie in Abbildung 2.5 veranschaulicht, wird zwar die Detaildarstellung besser, je höher die Vergrößerung oder je kleiner die Detektionseinheit ist. Unterschreitet deren Abmessung allerdings signifikant die beugungsbedingte Auflösungsgrenze, liegt eine sog. leere Vergrößerung vor.^[125] Die in der klassischen Lichtmikroskopie noch förderliche Gesamtvergrößerung M^N hängt wegen Gleichung 2.18 mit der Numerischen Apertur des verwendeten Objektivs zusammen. Als Richtwert gilt $M^N = 1000 \cdot \text{NA}$.^[17] Auch für mikroskopische Anwendungen lässt sich zeigen, dass die Größe eines Pixels der halben Rayleigh-Auflösungsgrenze entsprechen sollte.^[123] Sind die Bildpunkte zu klein oder ist die Vergrößerung zu hoch, nimmt die Helligkeit pro Pixel ab, selbiges gilt dann auch für das Signal-Rausch-Verhältnis.^[126] In gleicher Weise macht sich das Ausleserauschen bemerkbar, das naturgemäß vermehrt auftritt, wenn bei unveränderter Gesamtfläche des Sensors die Größe seiner Pixel abnimmt. Allerdings muss eine solche Überabtastung nicht immer nachteilig sein.^[127] Hinsichtlich des PLE-Experiments sind vergleichsweise große Pixel gerade wünschenswert. Da ihre Sättigungsladung mit der Fläche skaliert, weisen Detektoren mit größeren Pixeln einen höheren Dynamikumfang auf. So lassen sich bei Kohlenstoffnanorohrproben wie etwa dem HiPCO[®]-Material, in dem eine Vielzahl an unterschiedlichen SWNT-Spezies vorliegt, neben den dominierenden Chiralitäten zugleich auch solche nachweisen, die nur in geringem Maße vorhanden sind.

3.2 Verwendete Komponenten und Strahlengang

Vergleicht man die berechneten Auflösungsgrenzen aus Tabelle 3.4 mit den Angaben des Herstellers, so liegt Letzteren ebenfalls das Nyquist-Kriterium zugrunde. Die spezifizierten Werte besitzen nach Gleichung 3.13 ihre Gültigkeit bis zu einer Spaltbreite von $S^N = 45.3 \mu\text{m}$. Wie ein Blick in das EEPROM-Menü der Spektrometersoftware zeigt, ist dort eine Brennweite von 298.406 mm hinterlegt, was einer Abweichung von über 1.5 % bezüglich des im Datenblatt genannten Werts von 303 mm gleichkommt. Da die vom Hersteller veröffentlichten Daten zur spektralen Auflösung allgemeingültig sind, kann diese Diskrepanz nicht in einer werkseitigen Kalibrierung begründet sein. Multipliziert man die berechneten Werte für die reziproke lineare Dispersion und den spektralen Bandpass mit dem Verhältnis der Brennweiten, so ergeben sich die Referenzwerte unter der Annahme $m = -1$. Der Betrieb des Spektrographen in negativ erster Beugungsordnung führt, wie bereits Tabelle 3.4 andeutet, zu einer etwas geringeren reziproken linearen Dispersion – gleichbedeutend mit einem erhöhten Auflösungsvermögen und einem reduzierten Messbereich. Dies zeigt auch Abbildung 3.12 für verschiedene Gitter:

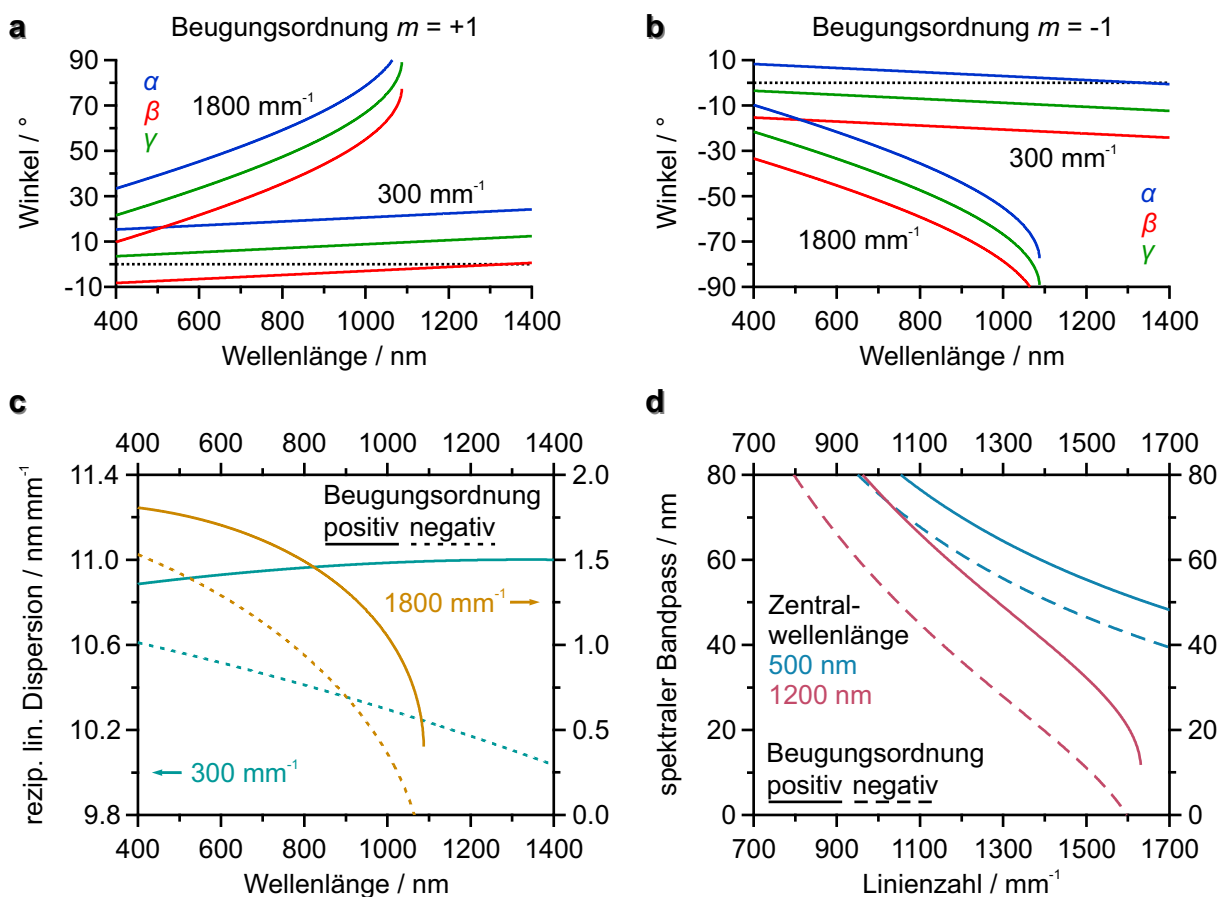


ABB. 3.12: Winkelverhältnisse, reziproke lineare Dispersion und spektraler Bandpass in Abhängigkeit von Wellenlänge und Linienzahl. Der Verlauf des Gitterwinkels γ in a) positiv und b) negativ erster Beugungsordnung macht deutlich, dass Reflexionsgitter mit größeren Linienzahlen im NIR-Bereich ungeeignet sind. Dies spiegelt sich auch c) in der reziproken linearen Dispersion und d) im spektralen Bandpass wider.

3 Entwicklung und Erprobung des PLE-Aufbaus

Die in Abbildung 3.12 dargestellten Dispersionskurven müssen für $m = -1$ mit einem negativen Vorzeichen behaftet sein. Auch hier wird auf dessen Angabe verzichtet, um den Vergleich mit den Werten der positiven Beugungsordnung zu erleichtern. Selbiges gilt auch für den spektralen Bandpass. Anschaulich bedeuten negative Spektrometerparameter, dass die Abbildung des Wellenlängenintervalls in entgegengesetzter Richtung erfolgt. Die auf der Internetpräsenz des Herstellers publizierten Daten zeigen eine Abnahme der reziproken linearen Dispersion sowie des spektralen Bandpasses mit zunehmender Wellenlänge.^[111] Im betrachteten Spektralbereich ist dies nur für $m = -1$ der Fall und bestätigt damit das Vorliegen der negativen Beugungsordnung. Je kleiner die Gitterkonstante bzw. je größer die Linienzahl des Beugungsgitters, desto früher endet der mit einem Czerny-Turner-Spektrograph zugängliche Wellenlängenbereich. Ursächlich hierfür ist der am Gitter entweder zu flach ein- oder austretende Lichtstrahl. Hochauflösende Gitter, wie sie in der Raman-Spektroskopie zum Einsatz kommen, können deswegen im NIR-Bereich nicht mehr verwendet werden. In diesem Fall bedarf es eines Spektrographen größerer Brennweite, um mit einem Gitter geringerer Linienzahl die notwendige Auflösung zu erhalten. Die Maximalwellenlänge λ_{\max} ist bei einer Gitterposition erreicht, wenn diese zur Erfüllung der konstruktiven Interferenz parallel zum ein- oder austretenden Lichtstrahl orientiert ist. Folglich darf in der positiven Beugungsordnung der Einfallswinkel einen Wert von $+90^\circ$ nicht überschreiten, während in der negativen Beugungsordnung der Ausfallswinkel größer als -90° sein muss:

$$\begin{aligned} m = +1 : \alpha < +90^\circ \\ m = -1 : \beta > -90^\circ \end{aligned} \implies \pm 90^\circ = \arcsin \left[\frac{\pm 1 \cdot \lambda_{\max}}{2 \cdot d \cdot \cos(0.5 \cdot \varphi)} \right] \pm \frac{\varphi}{2} \quad (3.14)$$

Für die Maximalwellenlänge λ_{\max} und den zugehörigen Grenzwinkel γ_{\max} ergibt sich:

$$\lambda_{\max} = 2 \cdot d \cdot \cos(0.5 \cdot \varphi) \cdot \sin(90^\circ - 0.5 \cdot \varphi) \quad |\gamma_{\max}| = 90^\circ - \frac{\varphi}{2} \quad (3.15)$$

Für das Beugungsgitter mit einer Linienzahl von 150 mm^{-1} berechnet sich die Maximalwellenlänge zu 12776 nm , für jenes mit der doppelten Furchendichte erhält man 6388 nm . Der Grenzwinkel beträgt $\pm 78.2^\circ$. Bestimmt man mit Gleichung 3.1 auf Basis der Herstellerangaben den maximal akzeptierten Gitterwinkel, so ergibt sich ein Wert von $\pm 60.0^\circ$. Durch den Betrieb des Spektrographen in negativ erster Beugungsordnung lassen sich die berechneten Wellenlängen nicht erreichen. Wie Abbildung 3.13 veranschaulicht, wäre bei Vorliegen eines Ausfallswinkels von -90° eine Beschneidung des Messbereichs die Folge. Während die negative Beugungsordnung Vorteile bezüglich des Auflösungsvermögens besitzt, ist in der positiven Beugungsordnung der spektrale Bandpass größer und kann darüber hinaus bei größeren Wellenlängen liegen. Bei den vorliegenden Reflexionsgittern ist dieser Umstand jedoch untergeordnet, da vielmehr die Quanteneffizienzkurve des Detektors den messbaren Spektralbereich begrenzt.

3.2 Verwendete Komponenten und Strahlengang

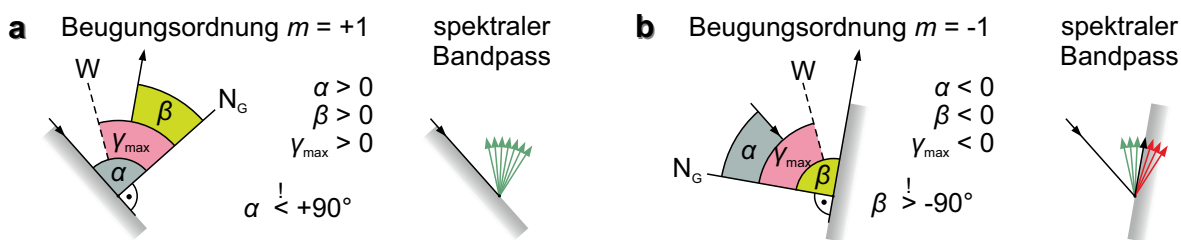


ABB. 3.13: Der Grenzwinkel γ_{\max} ergibt sich, wenn die Gitternormale N_G **a)** senkrecht zum einfallenden Strahl oder **b)** senkrecht zum ausfallenden Strahl orientiert ist. Im zuletzt genannten Fall, welcher der Beugungsordnung $m = -1$ entspricht, tritt jedoch eine Beeinträchtigung des spektral erfassten Bandpasses auf, wodurch sich der Grenzgitterwinkel und damit die Maximalwellenlänge noch weiter verringern.

Ein letzter Parameter, der einer genaueren Betrachtung bedarf, ist der Eintrittsspalt des Spektrographen. Um dem Nyquist-Kriterium zu entsprechen, sollte er nach Gleichung 3.13 eine Breite von $45.3 \mu\text{m}$ nicht überschreiten. Dieser Wert gibt zugleich den lateralen Fokaldurchmesser vor. Ist dessen Halbwertsbreite merklich größer als die Spaltöffnung, sind ein verringertes Signal-Rausch-Verhältnis und längere Belichtungszeiten die Folge. Durch geeignete Wahl der vor dem Spektrographen platzierten Sammellinse kann der Breite des Eintrittsspalts und dem Öffnungsverhältnis des Spektrographen Rechnung getragen werden. Abbildung 3.14 fasst dies schematisch zusammen:

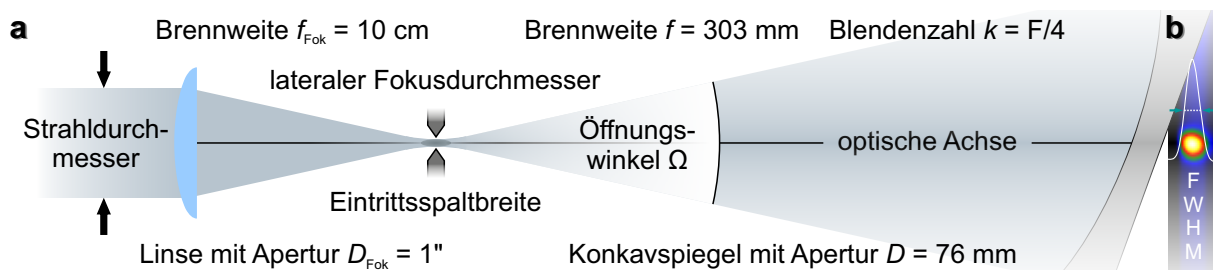


ABB. 3.14: Eintrittsspaltbreite und Öffnungsverhältnis als Rahmenbedingungen für spektrale Auflösung und Lichtstärke. **a)** Das Signal gilt es so auf den Spalt abzubilden, dass die Apertur des Konkavspiegels und damit auch jene des Furchengitters vollständig ausgeleuchtet werden. **b)** Aus Intensitätsgründen sollte die Halbwertsbreite des in der Spaltebene vorliegenden Fokaldurchmessers innerhalb der Spaltöffnung liegen.

Über die Blendenzahl k kann bei bekanntem Strahldurchmesser des PL-Signals die erforderliche Brennweite der Sammellinse bestimmt werden, um eine vollständige Ausleuchtung des Beugungsgitters und seiner Furchen zu gewährleisten. Der in den Spektrographen eintretende Lichtkegel stimmt dann mit dem Öffnungswinkel Ω überein. Nach Gleichung 2.31 beträgt er 49 msr. Als Anhaltspunkt für den zur Bestimmung der Brennweite abzuschätzenden Strahldurchmesser kann die Eintrittsapertur des verwendeten Objektivs dienen. In der Epi-Fluoreszenzanordnung begrenzt sie nach Aufsammlen des PL-Signals dessen räumliche Ausdehnung. Da sich zwischen Mikroskop-

ausgang und Spektrographeneingang allerdings eine kollimierende Linse sowie mehrere Spiegel zur Anpassung der optischen Achse befinden, ist von einer Verbreiterung des Strahls auszugehen. Ein Einfluss diesbezüglich ist ferner von der Superkontinuumlichtquelle zu erwarten. Ihre Beugungsmaßzahl, welche allgemein als Indikator für die Fokussierbarkeit eines Lasers gilt,^[128] liegt bei $M^2 < 1.1$.^[103] Zwar erreicht sie damit nahezu ein Gaußsches Strahlverhalten, allerdings wird dieses durch das Filtermodul einschließlich der zum Anschluss dienenden SM-Fasern manipuliert. Um diesen Unwägbarkeiten gerecht zu werden, wird im Folgenden die Apertur der zur Fokussierung verwendeten Linse als Berechnungsgrundlage herangezogen. Sie beträgt $D_{\text{Fok}} = 1''$. Für die erforderliche Brennweite f_{Fok} erhält man unter Anwenden des Strahlensatzes:

$$f_{\text{Fok}} = D_{\text{Fok}} \cdot \frac{f}{D} = D_{\text{Fok}} \cdot k \quad (3.16)$$

Mit der Blendenzahl $k = F/4$ ergibt sich für die Brennweite $f_{\text{Fok}} \approx 10$ cm. Weist die kollimierende Linse am Mikroskopausgang denselben Wert auf, wird das Photolumineszenzsignal mit der Maßstabszahl $M = 20$ auf den Eintrittsspalt abgebildet. Der laterale Fokusbereich vor der Bildentstehung durch Objektiv und Tubuslinse sollte unter Berücksichtigung von Gleichung 3.13 einen Wert von $2.3 \mu\text{m}$ nicht überschreiten. Mit den Gleichungen 2.19 und 2.23 folgt für die Halbwertsbreite des Anregungsfokus:

$$\text{FWHM}_{\text{Fokus}} = \frac{2 \cdot \ln(2) \cdot \lambda \cdot f_{\text{Obj}}}{\pi \cdot \text{FWHM}_{\text{Strahl0}}} \quad (3.17)$$

Dem Datenblatt des Herstellers zur Folge beträgt der Strahldurchmesser der Superkontinuumquelle bei einer Emission von 530 nm $\text{FWHM}_{\text{Strahl0}} = 1 \text{ mm}$.^[103] Mit der Objektivbrennweite $f_{\text{Obj}} = 1 \text{ cm}$ ergibt sich für den Anregungsfokus $\text{FWHM}_{\text{Fokus}} = 2.3 \mu\text{m}$ und damit der durch den Mindestspalt S^{N} geforderte Wert. Eine Spaltbreite von $50 \mu\text{m}$ erfasst demnach mehr als die Hälfte des Emissionssignals und erreicht dabei 90% des unter Berücksichtigung der Detektorkonfiguration möglichen Auflösungsvermögens im Sinne des Nyquist-Kriteriums. Wechselt man auf einen Sensor mit kleineren Pixeln, ist nach Gleichung 3.13 zum Erreichen des nun gestiegenen Auflösungsvermögens eine geringere Spaltbreite notwendig. In diesem Fall kann durch die Brennweite der Kollimatorlinse am Mikroskopausgang eine Verkleinerung des Spaltbilds bewirkt werden.

3.3 Datenaufnahme und Datenauswertung

Für die Aufnahme und Auswertung der Photolumineszenz-Anregungskarten kommen zwei verschiedene Softwareanwendungen zum Einsatz. Die PLE-Messungen werden mit Hilfe der graphischen Programmierumgebung LabVIEW (National Instruments) durch-

geführt. Diese erlaubt die Vernetzung von Messgeräten unterschiedlichster Art durch herstellerseitig bereitgestellte Schnittstellen. Alle notwendigen Geräteparameter können auf diese Weise angesteuert werden und im Rahmen einer zuvor konzipierten Messroutine die Aufnahme der PLE-Messungen bewerkstelligen. Die automatisch exportierten Daten werden anschließend mit dem Programm IGOR Pro (WaveMetrics) graphisch dargestellt und lassen sich nun hinsichtlich messtechnischer Artefakte korrigieren.

3.3.1 Durchführung der Messung mit LabVIEW

Neben dem Spektrographen einschließlich der beiden Detektoren wird mit Hilfe des in LabVIEW programmierten virtuellen Instruments auch die Lichtquelle und das Leistungsmessgerät angesprochen. Auch die in Abschnitt 3.2.1 beschriebene Leistungskontrollfunktion ist berücksichtigt. Abbildung 3.15 zeigt das graphische Bedienfeld des Messprogramms. Das zugehörige Blockdiagramm wird im Anhang A.1 erläutert.

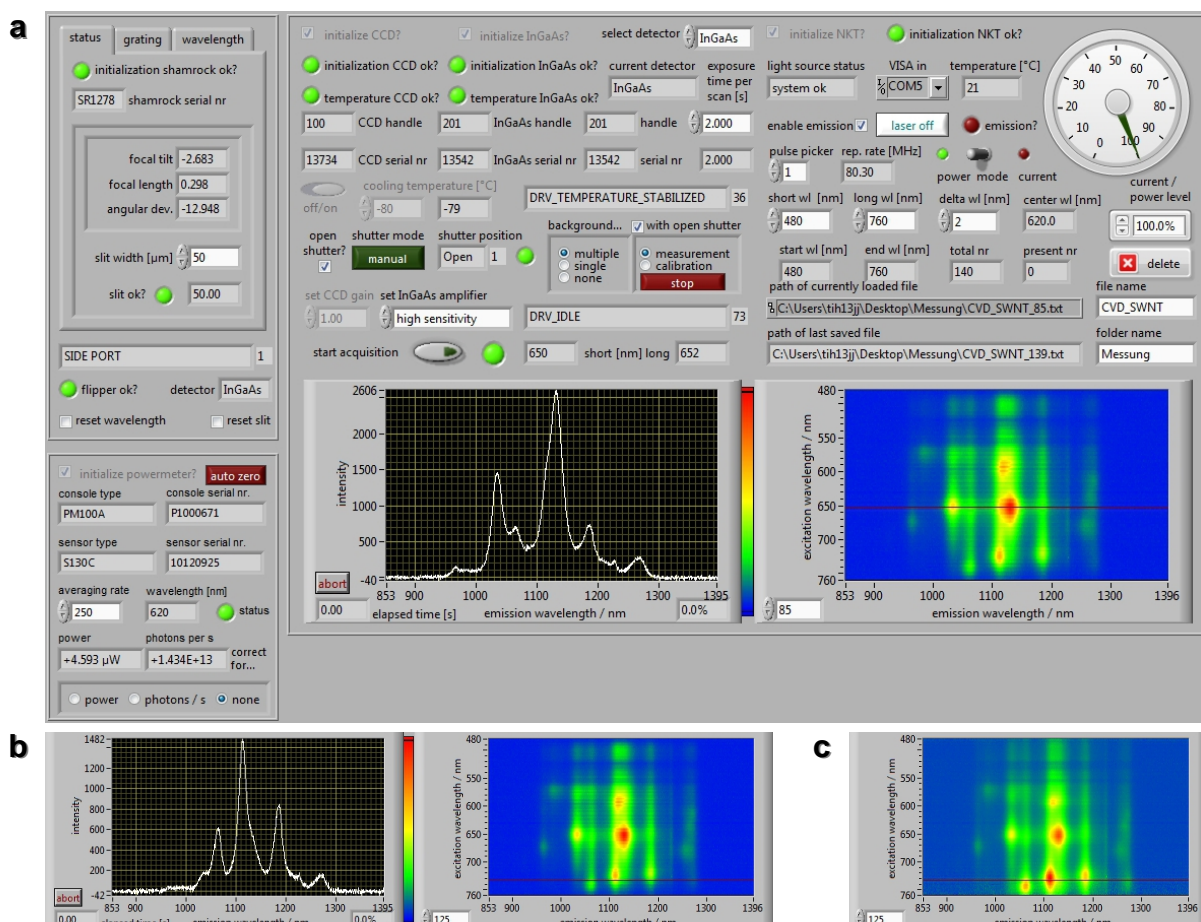


Abb. 3.15: Graphisches Bedienfeld der PLE-Messroutine. a) Dargestellt ist die Abbildung 3.1 zugrunde liegende Aufnahme der CVD-Kohlenstoffnanorohrprobe. b) Das VI erlaubt die Auswahl und Lokalisierung eines beliebigen Photolumineszenzspektrums. c) Die PLE-Karte kann direkt bezüglich der Anregungsleistung korrigiert werden.

3 Entwicklung und Erprobung des PLE-Aufbaus

Wie Abbildung 3.15 veranschaulicht, wird im graphischen Bedienfeld der korrekte Betrieb aller Komponenten, darunter auch Spalt- und Gittereinstellung, durch eine symbolische LED wiedergegeben. Neben der eigentlichen PLE-Karte, die sich während der Messung stets aktualisiert, wird auch das zuletzt aufgenommene PL-Spektrum angezeigt. Am Ende der Messung kann ferner ein beliebiges Spektrum zur genaueren Analyse ausgewählt werden, wobei dessen Position in der PLE-Karte durch eine horizontale Linie kenntlich gemacht wird. Neben der Aufnahme der eigentlichen Photolumineszenzspektren erfolgt im Rahmen der Messroutine auch die Aufzeichnung des Hintergrundsignals, welches durch die verschiedenen Rauschbeiträge des Detektors verursacht wird. Durch das angeschlossene Leistungsmessgerät kann weiterhin eine Registrierung der Anregungsleistung erfolgen. Etwa 7.5 % des Ausgangswerts werden zu diesem Zweck vor Erreichen des Mikroskops abgegriffen. Sowohl Hintergrundabzug als auch Leistungskorrektur können direkt innerhalb der LabVIEW-Umgebung vorgenommen werden, um bereits während der Messung geräteseitige Einflüsse zu minimieren.

Bei der Durchführung der PLE-Messung wird für jedes Einzelspektrum eine Textdatei im ASCII-Format angelegt, die neben den Datenspalten für Wellenlänge und PL-Intensität auch einen Vorspann mit den wichtigsten Geräteparametern enthält. Hiermit wird das nachträgliche Erstellen einer Zusammenstellung der Messbedingungen überflüssig. Lediglich Datei- und Ordnername gilt es vor der Messung zu definieren. Ist der entsprechende Ordner im Desktopverzeichnis des Messrechners nicht vorhanden, wird er dort automatisch erzeugt. Hierin werden nun alle aufgezeichneten Daten mit fortlaufend numerierter Benennung abgelegt. Durch das redundante Speichern von Wellenlänge und Vorspann ist zwar der Datenumfang erhöht, allerdings wird dadurch das Herausgreifen eines beliebigen PL-Spektrums und dessen graphische Darstellung ermöglicht. Abbildung 3.16 zeigt einen exemplarischen Ausschnitt eines PLE-Datensatzes:

The image shows a screenshot of a LabVIEW data file named 'CVD_SWNT_0.txt'. The file contains a header section with the following information:

```
scanning app (copyright by Tilman C. Hain)
* light source settings: lambda short [nm] = 480 lambda long [nm] = 482 excitation power [W] = 0.000046078989 number of photons = 111576137215705
* detector settings: detector = InGaAs cooling temperature [°C] = -80 gain = high sensitivity exposure time [s] = 2.000
* spectrograph settings: grating = 1250 nm blaze, 150 l/mm slit [µm] = 50.00 lambda central [nm] = 1125.050
wavelength [nm] intensity [arb. u.]
```

Below the header, there are several columns of data representing wavelength and intensity. The data is organized into multiple sections, each corresponding to a different measurement or background signal. The file also includes a section for power and number of photons, which is used for background subtraction and power correction.

Abb. 3.16: Der hier gezeigte Datensatz besteht aus je 140 PL-Einzelspektren und Hintergrundaufnahmen. Dazu kommt noch eine Textdatei mit den aufgezeichneten Leistungen.

Neben dem eigentlichen Messmodus enthält das Ansteuerungsprogramm auch einen Kalibriermodus. Dieser erlaubt durch sukzessive Aufnahme einzelner Photolumineszenzspektren bei fixiertem Anregungsintervall ein Justieren des Aufbaus. So kann mit Hilfe einer Referenzprobe, beispielsweise einer monodispersen Kohlenstoffnanorohr-suspension der optische Strahlengang korrigiert und das PL-Signal maximiert werden. Gerade bei langen Integrationszeiten ist eine Fortschrittsanzeige wünschenswert, die die bereits verstrichene Zeit einer Einzelmessung repräsentiert. Auch die Möglichkeit, ein sofortiges Abbrechen der Messung herbeizuführen – sollte diese durch externe Einflüsse gestört worden sein – erscheint insbesondere bei längeren Belichtungszeiten sinnvoll. Beides ist im vorliegenden VI realisiert. Dieses bietet weiterhin die Option, auf die Aufnahme multipler Hintergrundspektren zu verzichten, wenn bei Proben geringer optischer Dichte bzw. PL-Quantenausbeute die Messdauer den begrenzenden Faktor darstellt. Eine größere Spaltbreite oder ein ausgedehnteres Anregungsinkrement sollte demnach erst in Erwägung gezogen werden, nachdem von dieser Option Gebrauch gemacht worden ist. Ist die Laborumgebung des PLE-Aufbaus durch Streulicht beeinträchtigt, kann die Hintergrundmessung ferner bei offenem anstatt geschlossenem Spektrographenverschluss erfolgen. Abbildung 3.17 vergleicht die beiden Varianten:

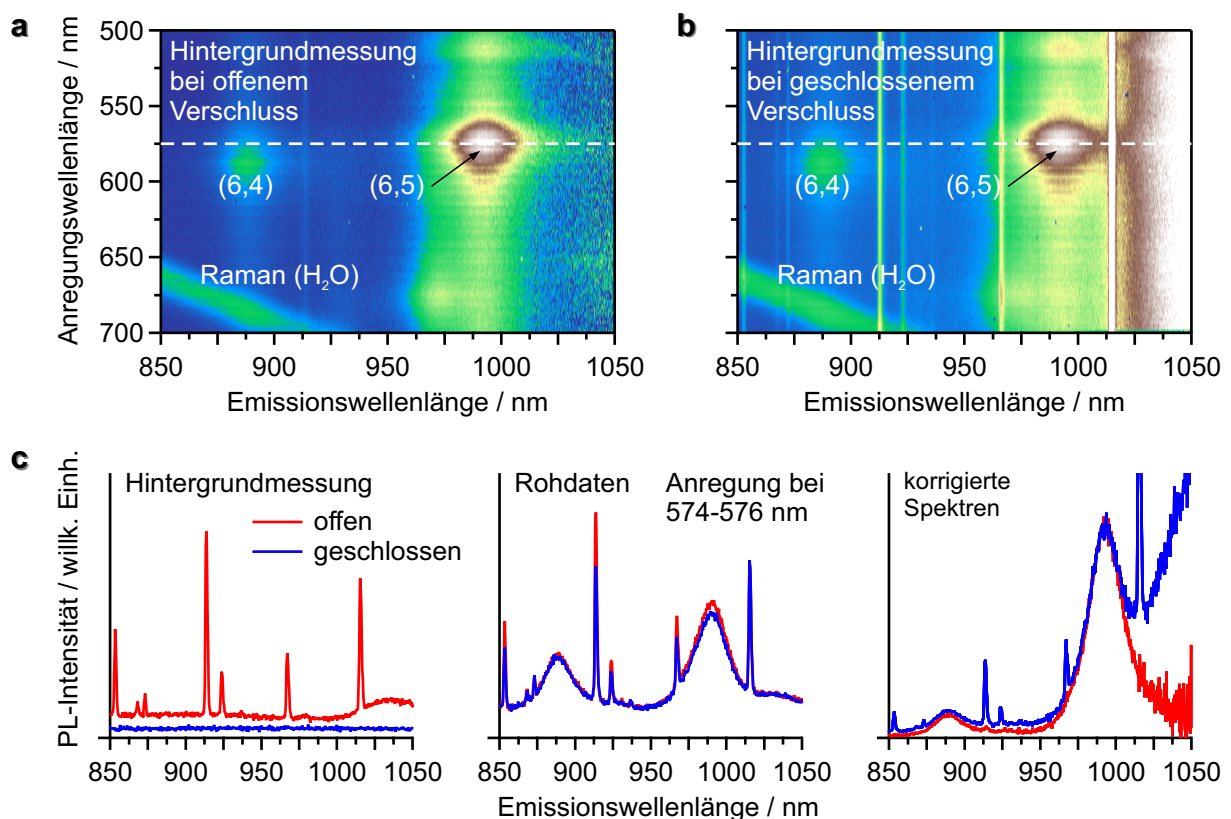


ABB. 3.17: Einfluss der Hintergrundmessung auf die Gestalt der PLE-Karte bei a) offenem und b) geschlossenem Verschluss. c) Die Einzelspektren zeigen den Einfluss des Streulichts auf. Die mit dem CCD-Detektor aufgenommenen PLE-Daten sind für dessen Quanteneffizienz korrigiert, um den Unterschied im NIR-Bereich zu verdeutlichen.

3 Entwicklung und Erprobung des PLE-Aufbaus

Erfolgt die Hintergrundmessung bei offenem Verschluss, erfordert dies ein temporäres Ausschalten der Superkontinuumemission. Dies geschieht über die Leistungskontrollfunktion, wodurch eine Einschwingzeit, wie sie Abbildung 3.5 aufzeigt, unterbunden wird. Bei verhältnismäßig schwach konzentrierten bzw. lumineszierenden Proben, wie es auf die mit einsträngiger DNA dispergierte SWNT-Suspension aus Abbildung 3.17 zutrifft, nimmt der Einfluss von Streulicht und damit die Präsenz der vertikalen Streifen in den PLE-Karten zu. Auch kann unter diesen Umständen ein weiterer Signalbeitrag zu Tage treten, bei dem es sich um die Stokes-Bande des Raman-Signals handelt, welches vom verwendeten Suspensionsmedium Wasser herrührt. Die Wellenzahl $\tilde{\nu}_{\text{Raman}}$ der zugrunde liegenden Schwingung ergibt sich wie folgt:

$$\tilde{\nu}_{\text{Raman}} = \frac{1}{\lambda_{\text{Anregung}}} - \frac{1}{\lambda_{\text{Emission}}} \stackrel{\text{z.B.}}{=} \frac{1}{700 \text{ nm}} - \frac{1}{900 \text{ nm}} \approx 3200 \text{ cm}^{-1} = \text{const.} \quad (3.18)$$

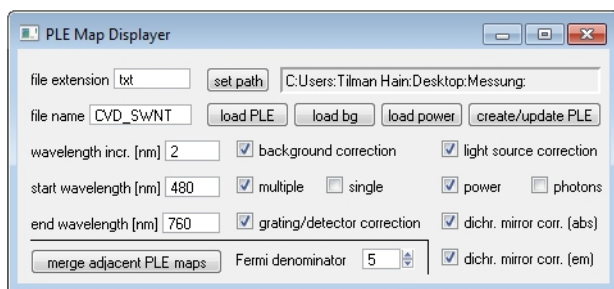
Entsprechend handelt es sich hier um die Valenzschwingung der Hydroxygruppe.^[129] Zwar treten das Raman-Signal ebenso wie die vom Streulicht verursachten Artefakte in Proben mit hoher PL-Intensität nicht nennenswert in Erscheinung. Doch auch hier machen sich unerwünschte Umgebungseinflüsse bemerkbar. Gerade bei zweidimensionalen Sensoren, wie in Abbildung 3.17 der Fall, kann kosmische Strahlung verstärkt zu einer punktuellen Ladungspopulation von Pixeln bis hin zu deren Sättigung führen.

3.3.2 Darstellung der PLE-Karten mit IGOR Pro

Das Format der mit Hilfe der LabVIEW-Messroutine erhaltenen PLE-Daten muss für eine detailliertere Interpretation mit den Anforderungen gängiger Auswertungsprogramme kompatibel sein, in diesem Fall mit der Analysesoftware IGOR Pro. Aufgrund des sich vor jedem Datensatz befindlichen Vorspanns muss beim Laden der Textdateien von der Standardeinstellung abgewichen werden. Anstelle des abgegrenzten (*engl.* delimited) gilt es den allgemeinen (*engl.* general) Textmodus auszuwählen.^[130] In diesem Fall wird der Dateikopf mit den Geräteparametern ignoriert und die beiden Spalten mit Wellenlänge und PL-Intensität korrekt erfasst. Der Umfang der Spektren pro PLE-Messung einschließlich Hintergrundaufnahmen und Leistungsaufzeichnung macht ein automatisiertes Einlesen der ASCII-Dateien nahezu unumgänglich. Auch was die Korrektur der PLE-Daten anbelangt, die für eine akkurate Auswertung spektrofluorimetrischer Messungen unumgänglich ist,^[131,132] erscheint eine Automatisierung sinnvoll, zumal diese stets in gleicher Weise zu erfolgen hat, solange der Aufbau nicht weiter modifiziert wird. Daher bietet sich in IGOR Pro ein mit der LabVIEW-Umgebung vergleichbares graphisches Bedienfeld an, über welches die PLE-Daten nicht nur importiert und in Diagrammform dargestellt, sondern auch alle Korrekturmaßnahmen durchge-

führt werden können. Abbildung 3.18 zeigt das zu diesem Zweck erstellte und aus zwei Komponenten bestehende Eingabefeld, welches als Menüeintrag beim Initialisieren der Software unmittelbar aufgerufen werden kann. Neben dem Ordnerpfad sowie dem Dateinamen und dessen Format bedarf es lediglich der Eingabe des untersuchten Anregungsbereichs und der Schrittweite des Wellenlängeninkrements, was im Zweifelsfall dem Vorspann der ASCII-Dateien entnommen werden kann. Neben einer Berechnung der Anzahl der zu ladenden Textdateien erfolgt zugleich auch die Bereitstellung der Skalierungsinformation für die Anregungsachse. Nähere Einzelheiten zum Quelltext können Anhang A.2 entnommen werden. Durch Ausführen der Prozedur werden nun alle Rohdaten einer PLE-Messung in das Programm geladen und als Konturdiagramm dargestellt. Beim Einbinden der Textdateien muss beachtet werden, dass der Zeichenumfang des Dateinamens Beschränkungen unterliegt. Da er sich in Form des IGOR-Datensatzes widerspiegelt, erfordert dies unter Umständen eine vorherige Kürzung. Ein nachträgliches Anpassen der Dateibezeichnung kann beispielsweise mit verschiedenen Stapelverarbeitungsprogrammen erfolgen, welche als frei erhältliche Software ein komfortables Umbenennen gesamter Ordnerinhalte erlauben. [133,134]

a Auswahl des PLE-Datensatzes und der Korrekturart



b Auswahl der Detektor-/Gitterkorrektur

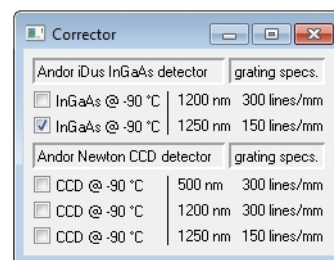


ABB. 3.18: Eingabefeld zum Importieren, Anzeigen und Korrigieren von PLE-Karten mit dem Programm IGOR Pro. Der Übersichtlichkeit halber erfolgt die Korrekturauswahl für Detektor und Gitter nicht a) im Hauptfeld, sondern b) in einem zweiten Fenster.

Bereits im Rahmen der PLE-Messroutine wird standardmäßig der Abzug des vom Detektor herrührenden Hintergrundsignals vorgenommen. In der Lade- und Korrekturprozedur muss nun ebenfalls ausgewählt werden, ob ein einfacher oder ein vielfacher Hintergrundabzug stattfinden soll. Letzterer kann erfolgen, wenn für jedes Einzelspektrum auch ein entsprechendes Hintergrundspektrum bei geschlossenem oder bei vorzugsweise offenem Spektrographenverschluss aufgenommen worden ist. Im Falle des einfachen Hintergrundabzugs, bei dem das Hintergrundspektrum der ersten Photolumineszenzmessung allen weiteren zugrunde gelegt wird, treten mitunter Artefakte in Form vertikaler Linien zum Vorschein. Ursächlich hierfür können Schwankungen des Dunkelstroms sein, die sich bei Gesamtmesszeiten in der Größenordnung von 10^3 Sekunden bemerkbar machen. Trägt man die Rohdaten ohne jegliche Subtraktion des Hin-

3 Entwicklung und Erprobung des PLE-Aufbaus

tergrunds graphisch auf, dominieren die zwischen den Pixeln vorherrschenden, aber noch innerhalb der Herstellerspezifikation liegenden Quanteneffizienzabweichungen. Im PLE-Plot ist nun ein noch ausgeprägteres senkrechtes Streifenmuster zu erkennen. Bei Verwendung des CCD-Detektors, dessen Einsatz in der vorliegenden Arbeit von untergeordneter Bedeutung ist, tritt dieses Phänomen weit weniger in Erscheinung, da es durch vertikales Binning größtenteils herausgemittelt wird. Abbildung 3.19 fasst die Auswirkung der Hintergrundkorrektur für die InGaAs-Photodiodenzeile zusammen:

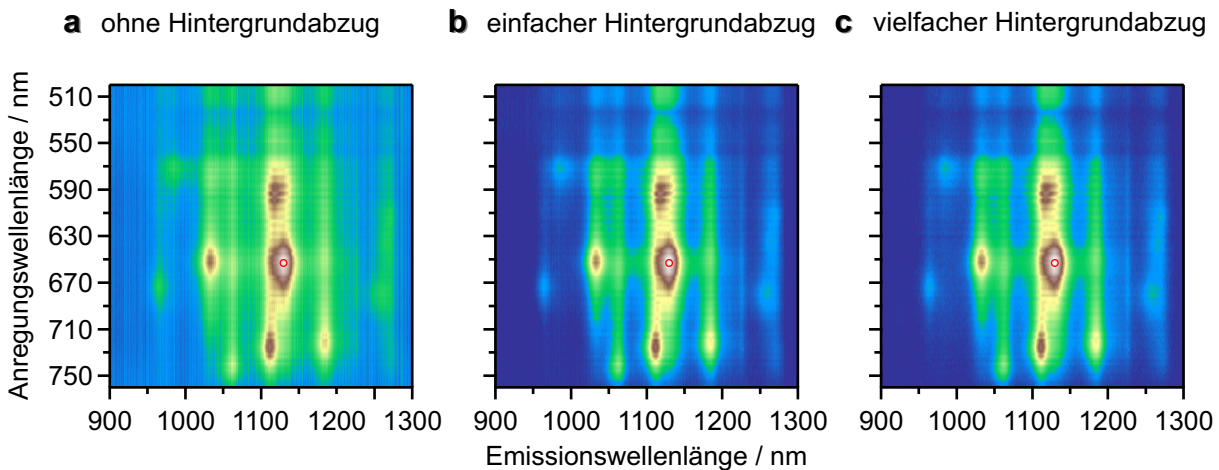


ABB. 3.19: Einfluss der Hintergrundkorrektur auf die Beschaffenheit der PLE-Karte. a) Ohne Abzug des Detektorhintergrunds treten die QE-Schwankungen der Pixel merklich zum Vorschein, während sie b) bei einem einfachen Hintergrundabzug kaum und c) bei einer multiplen Korrektur praktisch gar nicht mehr wahrzunehmen sind. Die PLE-Karten sind auf die rot markierte Signatur normiert, um die spektralen Änderungen bei gleichbleibender Falschfarbendarstellung nachvollziehen zu können.⁴

Was die Berücksichtigung des in Abbildung 3.5 dargestellten Leistungsverlaufs der Superkontinuumquelle betrifft, stehen prinzipiell zwei Korrekturmöglichkeiten zur Verfügung. Eine Division der PLE-Spektren durch die aufgezeichnete Leistungscharakteristik erscheint zunächst naheliegend. Gerade bei der Diskussion spektrofluorimetrischer Daten erweist sich jedoch eine Normierung auf die Photonenzahl als zweckmäßiger. So sind bei identischen Massenkonzentrationen innerhalb einer polydispersen Probe die auftretenden Intensitäten dem Produkt aus Photolumineszenzquantenausbeute und Absorptionsquerschnitt, dem sog. PL-Aktionsquerschnitt proportional.^[135] Der Unterschied zwischen beiden Korrekturvarianten ist linearer Natur. Er ergibt sich wie folgt:

$$\frac{N_{\text{Photonen}}}{t} = \frac{P}{E_{\text{Photon}}} = \frac{P \cdot \lambda}{h \cdot c} \quad \Rightarrow \quad \text{Wichtung mit reziproker Wellenlänge} \quad (3.19)$$

Erfolgt die Normierung der PLE-Karten auf die Photonenzahl N_{Photonen} , wird den spektralen Anteilen hin zu kürzeren Anregungswellenlängen stärker Rechnung getragen.

⁴ Dies gilt in gleicher Weise auch für die in Abbildung 3.20, 3.21 und 3.23 dargestellten PLE-Plots.

Wie Abbildung 3.20 veranschaulicht, ist der visuelle Unterschied zwischen den beiden Korrekturvarianten zwar gering. Für quantitative Auswertungen wie etwa die Bestimmung von Stoffmengenverhältnissen sollte er jedoch nicht vernachlässigt werden.

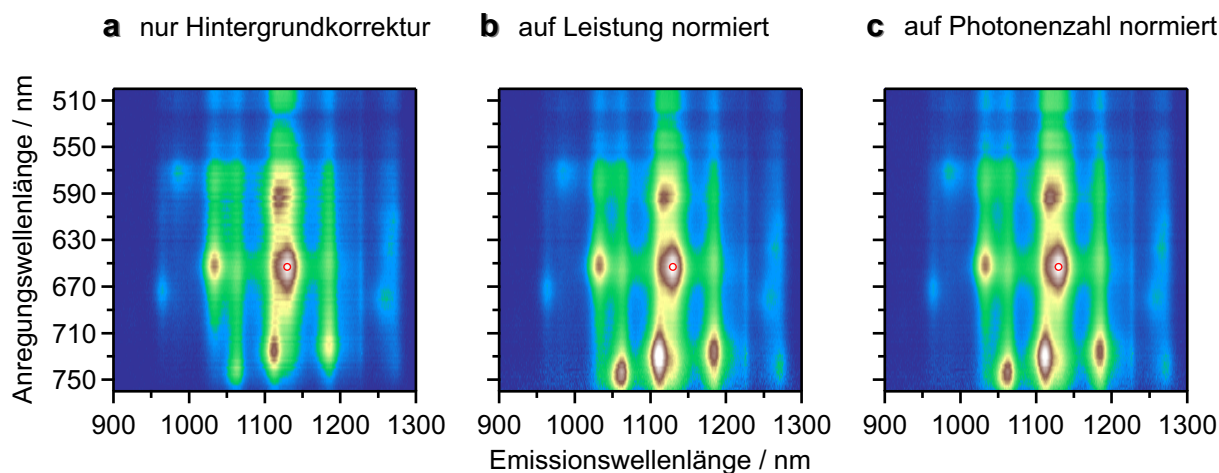


ABB. 3.20: Einfluss der Leistungsabhängigkeit. **a)** Die um den Detektorhintergrund korrigierte PLE-Karte unterscheidet sich signifikant von den **b)** auf Leistung bzw. **c)** auf Photonenzahl korrigierten Plots, insbesondere bei größeren Anregungswellenlängen.

Gerade an der langwelligen Grenze des spektral zugänglichen Anregungsfensters, wo eine Reihe an SWNT-Chiralitäten ihren zweiten exzitonischen Übergang besitzt, kommt der Einfluss der Leistungs- bzw. Photonenkorrektur zum Tragen. Die PL-Signalbeiträge erfahren in diesem Bereich eine deutliche Intensitätszunahme. Darüber hinaus hebt sich das horizontale Streifenmuster in den PLE-Karten auf, dessen Ursprung im Transmissionsverhalten des Filtermoduls liegt.

Neben der Berücksichtigung der Leistungsabhängigkeit müssen ferner die messtechnischen Artefakte im Detektionskanal bereinigt werden. Das zweite Anzeigefeld aus Abbildung 3.18 erlaubt für eine bestimmte Spektrometereinstellung die Auswahl der passenden Korrekturkurve. Letztere stellt dabei stets eine Kombination aus den in Abbildung 2.15 und 2.16 exemplarisch dargestellten Gitterreflektivitäten und Detektorquanteneffizienzen dar. Beim erstmaligen Aufrufen der IGOR-Prozedur werden die Korrekturdaten automatisch aus einem zuvor definierten Verzeichnis importiert. Durch lineare Interpolation erfolgt eine Anpassung an die Wellenlängen des erfassten Emissionsbandpasses. Dabei gilt es zu beachten, dass in Spektralbereichen mit geringer Detektorempfindlichkeit dem Korrekturverfahren naturgemäß Grenzen gesetzt sind. Durch die starke Wichtung, die ein vergleichsweise schwaches Ausgangssignal hierbei erfährt, rückt dessen Messunsicherheit in Bezug auf die Gesamtheit des PLE-Konturdiagramms trotz unverändertem Signal-Rausch-Verhältnis mehr und mehr in den Vordergrund. Abbildung 3.17 bringt dies für den Si-Sensor mit seiner im Nahinfrarotbereich rapide abfallenden Quanteneffizienz zum Ausdruck. Im Falle des InGaAs-Sensors sind die Auswir-

3 Entwicklung und Erprobung des PLE-Aufbaus

kungen im interessierenden Messbereich hingegen weniger stark ausgeprägt, da dessen QE-Kurve hier ein Plateau durchläuft.

Abschließend sollte noch die Korrektur für den dichroitischen Strahlenteiler erfolgen. Dieser übt sowohl bei der Anregung als auch bei der Emission durch sein begrenztes Reflektivitäts- bzw. Transmissionsverhalten, welches Abbildung 3.3 entnommen werden kann, einen Einfluss auf die gemessenen Intensitäten und damit die Gestalt der PLE-Karte aus. Während auf der Detektionsseite die zunehmende Undurchlässigkeit für Wellenlängen im Nahinfrarotbereich ins Gewicht fällt, macht sich auf der Anregungsseite die zur Messung von Fluorophoren beabsichtigte Verringerung der Reflektivität bemerkbar. Letztere äußert sich in Form einer Absenkung des Signals im Bereich von 530 nm. Abbildung 3.21 fasst die Auswirkung der Korrekturschritte zusammen:

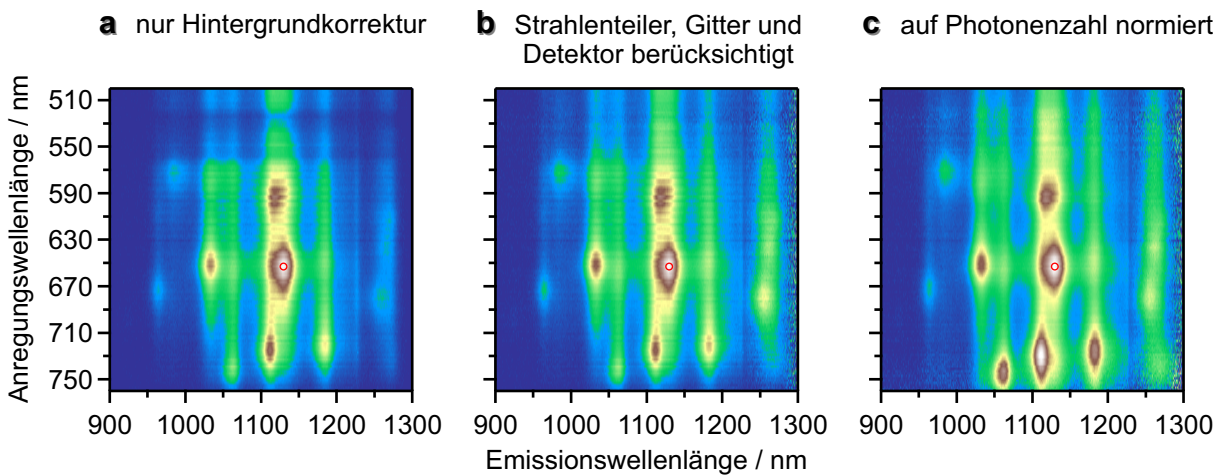


ABB. 3.21: Finale PLE-Darstellung durch Zusammenwirken aller Korrekturterme. a) Als Referenz dient erneut der nur einem Hintergrundabzug unterzogene PLE-Datensatz. b) Die Durchführung der Korrekturen stößt an ihre Grenzen. Oberhalb von 1300 nm ist aufgrund der unzureichenden Transmission des Strahlenteilers keine Detektion mehr möglich. c) Die zusätzlich auf die Photonenzahl korrigierte PLE-Karte entspricht schließlich der Darstellung in Abbildung 3.1.

Neben der Lade- und Korrekturfunktion verfügt die in IGOR Pro erstellte Prozedur auch über einen Algorithmus, um zwei spektral benachbarte PLE-Karten zu einem Konturdiagramm zusammenzufassen. Dies kann beispielsweise erforderlich sein, wenn ein ausgedehnter Emissionsbereich untersucht werden soll, aus Gründen des spektralen Auflösungsvermögens allerdings auf ein Beugungsgitter mit großer Furchendichte zurückgegriffen werden muss.^[136] Bedingt durch optische Abbildungsfehler des Czerny-Turner-Spektrographen, wie sie in Abschnitt 3.2.2 zur Sprache kommen, sind die gemessenen Photolumineszenzintensitäten an den Rändern des spektralen Bandpasses mit Messunsicherheiten behaftet, wodurch sie je nach Zentralwellenlänge verschieden sein können. Ein Angleichen der überlappenden Spektralbereiche ist demnach zwingend erforderlich, was beispielsweise mit Hilfe zweier zueinander punktsymmetrischer

Fermi-Funktionen erfolgen kann. Abbildung 3.22 veranschaulicht die so durchgeführte spektrale Verschmelzung zweier PLE-Karten:

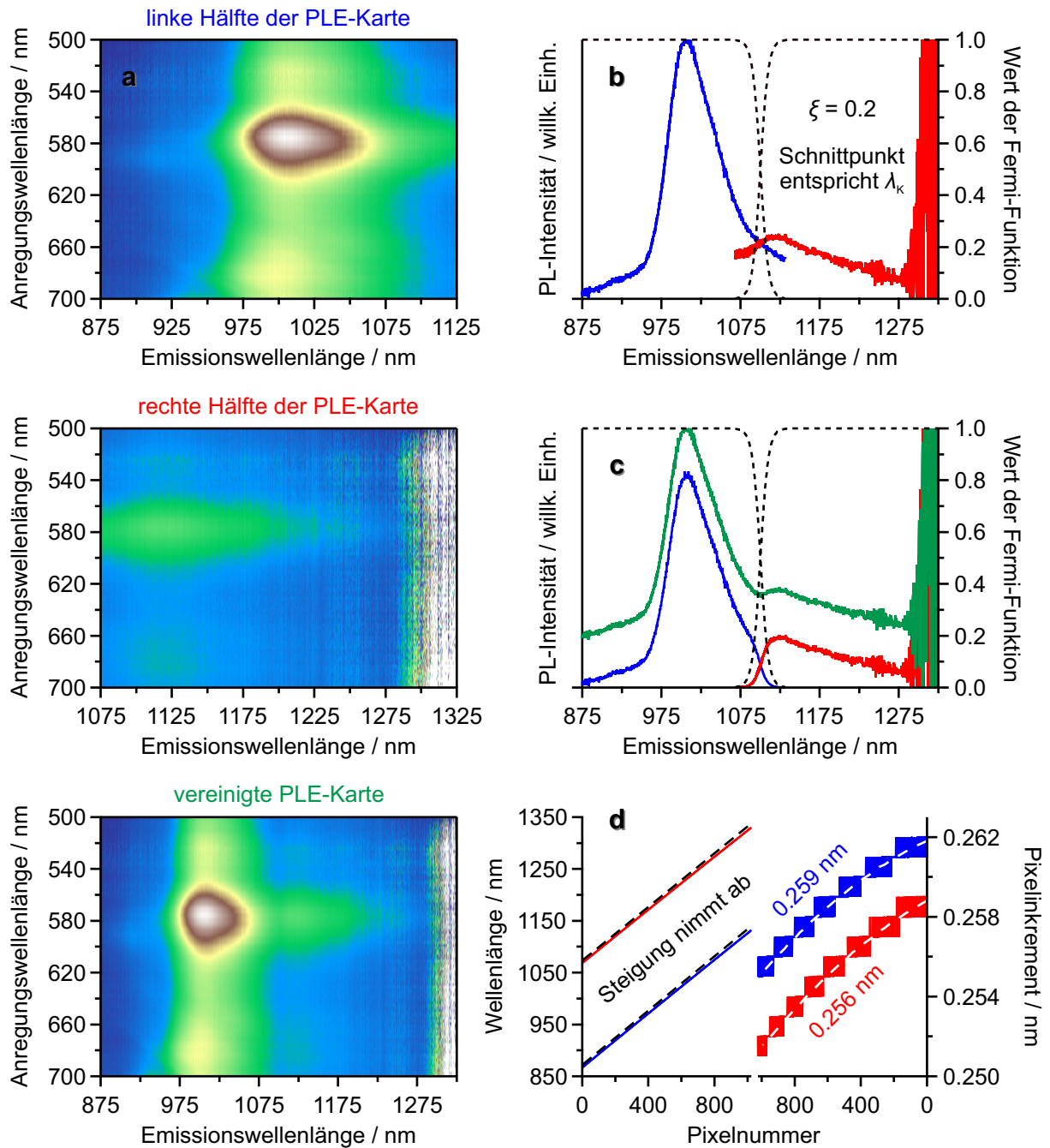


ABB. 3.22: Vereinigung zweier spektral benachbarter PLE-Karten. **a)** Dargestellt sind die PLE-Plots vor und nach dem Zusammenfügen. **b)** Alle PL-Spektren werden dabei mit der entsprechenden Fermi-Funktion multipliziert. **c)** Die sich nicht kongruent zueinander verhaltenden Ränder des spektralen Bandpasses ergeben so einen gleichmäßigen Übergang. **d)** Aufgrund der zu größeren Wellenlängen hin abnehmenden Pixelinkremente entsteht bei der Reskalierung der Abszisse ein geringer Versatz.

Die bereits korrigierten Einzelspektren des linken und rechten PLE-Datensatzes werden vor ihrem Zusammenfügen mit der entsprechenden Fermi-Funktion $\mathcal{F}_1(\lambda_1)$ bzw. $\mathcal{F}_2(\lambda_2)$

gewichtet. Mathematisch kann diese Anpassung folgendermaßen ausgedrückt werden:

$$\text{links: } \mathcal{F}_1(\lambda_1) = \left[1 + e^{\zeta \cdot (\lambda_1 - \lambda_K)}\right]^{-1} \quad \text{rechts: } \mathcal{F}_2(\lambda_2) = 1 - \left[1 + e^{\zeta \cdot (\lambda_2 - \lambda_K)}\right]^{-1} \quad (3.20)$$

Nach der Wichtung werden die Einzelspektren addiert. λ_1 und λ_2 stellen dabei die Wellenlängen des linken und rechten PLE-Datensatzes dar. Am Schnittpunkt der beiden Fermi-Funktionen, deren Summe stets eins ist, sind diese auf ihren halben Maximalwert gesunken. Die Kantenwellenlänge λ_K wird dabei automatisch ermittelt und entspricht dem Zentrum des Überlappungsbereichs. Hier repräsentiert die vereinigte PLE-Karte den Mittelwert der sie konstituierenden Photolumineszenzintensitäten. Der Parameter ζ kann prinzipiell frei gewählt werden. Er stellt ein Maß für das Steigungsverhalten dar. Je größer ζ , desto steiler fallen die Fermi-Funktionen ab bzw. steigen sie an. Dementsprechend wird das um den Kreuzungspunkt effektiv berücksichtigte Datenintervall kleiner. In der Praxis hat sich der Wert $\zeta = 0.2$ bewährt. Der IGOR-Prozedur ist an dieser Stelle der Kehrwert zugrunde gelegt, womit sie sich an der Formulierung orientiert, die auch in der Fermi-Dirac-Statistik Verwendung findet. In dieser stellt der Vorfaktor im Exponenten das Produkt aus Boltzmann-Konstante und thermodynamischer Temperatur dar.^[137] Wie Abbildung 3.22 aufzeigt, sind aufgrund der sich ändernden linearen Dispersion die spektral erfassten Bandpässe unterschiedlich, was über den hier dargestellten Emissionsbereich einen Versatz von etwa 3 nm bedeutet.

3.4 Anwendungen und Beispiele

Bereits zu Beginn des vorliegenden Kapitels ist mit der spektrofluorimetrischen Chiralitätszuordnung einer polydispersen Kohlenstoffnanorohrprobe die Leistungsfähigkeit des entwickelten PLE-Aufbaus unter Beweis gestellt worden. Im Folgenden soll diese anhand einiger weiterer Beispiele illustriert werden. Insbesondere bei der Untersuchung von Nanorohrrohmaterialien erlauben Photolumineszenz-Anregungskarten eine nicht nur qualitative Aussage über die Zusammensetzung der Probe. Die bereits angesprochenen und kommerziell erhältlichen SWNT-Rohmaterialien, HiPCO[®] und CoMoCAT[®], basieren beide auf derselben Herstellungstechnologie. Als Ausgangspunkt in der chemischen Gasphasenabscheidung dient jeweils Kohlenstoffmonoxid, welches bei ausreichend hohen Temperaturen die Einstellung des Boudouard-Gleichgewichts erlaubt.^[138,139] Die Kompression des Gasraums begünstigt dabei die Disproportionierung. Nicht zuletzt aufgrund des Herstellungsverfahrens umfassen vergleichende Nanorohrstudien häufig diese beiden SWNT-Rohmaterialien.^[140–142] Durch den Einsatz unterschiedlicher Katalysatoren lässt sich der Wachstumsprozess gezielt steuern, sowohl in Bezug auf die Länge der Nanoröhren als auch ihren Durchmesser.^[143,144] Wäh-

rend im HiPCO-Prozess hierzu Eisenpentacarbonyl verwendet wird, kommt im CoMoCAT-Verfahren ein Gemisch aus den namensgebenden Kobalt- und Molybdänverbindungen zum Einsatz. Abbildung 3.23 stellt die PLE-Karten zweier kolloidal stabilisierter CoMoCAT- und HiPCO-Suspensionen gegenüber. Als Amphiphil dient das Tensid Natriumcholat, die korrespondierende Base der Cholsäure, welches durch sein lipohiles Steroidgerüst zu einem der effizientesten Dispergierungsmittel für SWNTs zählt.^[145]

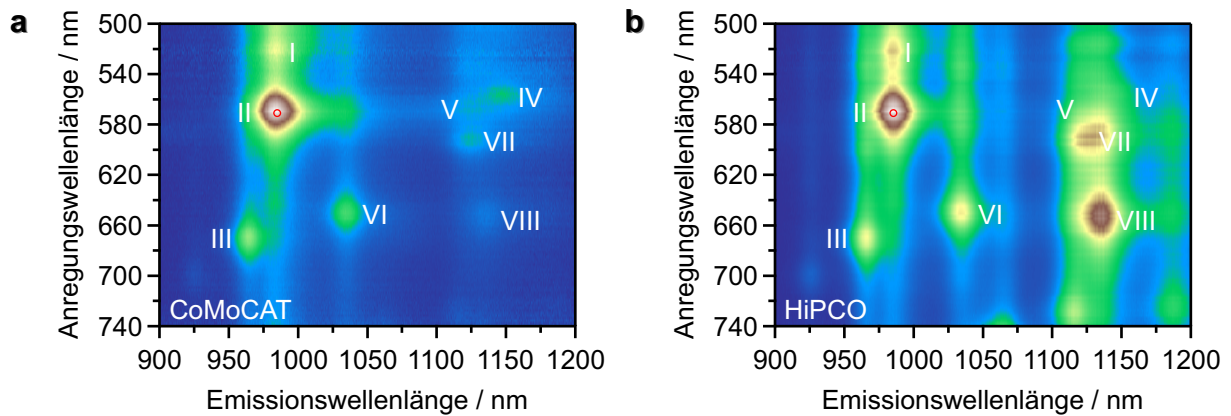


ABB. 3.23: PLE-Karten der SC-haltigen a) CoMoCAT- und b) HiPCO-Kohlenstoffnanorohrsuspensionen. Die innerhalb des untersuchten Wellenlängenbereichs in beiden Materialien gemeinsam identifizierte SWNT-Spezies sind mit römischen Ziffern versehen.

Durch Gauß-Anpassung der zuordenbaren PL-Signale lässt sich das spektrale Gewicht einzelner Chiralitäten abschätzen. Tabelle 3.5 stellt die Ergebnisse der PLE-Analyse vor:

	(n,m)	λ_1 / nm	λ_2 / nm	d / nm	CoMoCAT	HiPCO	Δ_{rel}	Δ_{abs}
I	(7,3)	992	505	0.706	16.4 %	9.7 %	-41 %	+10 %
II	(6,5)	976	566	0.757	46.0 %	24.9 %	-46 %	± 0 %
III	(8,3)	952	665	0.782	12.4 %	9.9 %	-20 %	+48 %
IV	(10,0)	1156	537	0.794	5.4 %	7.1 %	+32 %	+144 %
V	(9,2)	1138	551	0.806	3.5 %	8.9 %	+157 %	+376 %
VI	(7,5)	1024	645	0.829	9.2 %	9.5 %	+3 %	+90 %
VII	(8,4)	1111	589	0.840	4.6 %	16.0 %	+244 %	+536 %
VIII	(7,6)	1120	648	0.895	2.5 %	14.0 %	+462 %	+940 %

TAB. 3.5: Analog zu Tabelle 3.1 sind die unterschiedlichen Nanorohrspezies nach ansteigendem Durchmesser geordnet. Neben den Wellenlängen der exzitonischen Übergänge, welche erneut aus dem von Weisman und Bachilo publizierten Datensatz stammen,^[66] sind der spektrale Anteil einer (n,m) -Röhre im vorliegenden Anregungs- bzw. Emissionsfenster sowie ein relativer und absoluter Vergleich der Zusammensetzung angegeben.

3 Entwicklung und Erprobung des PLE-Aufbaus

Der Vergleich der Rohmaterialien zeigt auf, dass über das CoMoCAT-Verfahren Nanoröhren mit kleineren Durchmessern erhalten werden können. Auf den Signalbeitrag der (6,5)-Kohlenstoffnanoröhre normiert zeigt die HiPCO-Suspension zwar eine absolute Zunahme aller auch im CoMoCAT identifizierten SWNTs. Der relative Anteil von Röhren mit Durchmessern unter 0.79 nm nimmt jedoch signifikant ab. Stattdessen weist die HiPCO-Suspension einige Spezies auf, die auch das im Arbeitskreis Hertel etablierte CVD-Verfahren auf Ethanolbasis hervorbringt, wie beispielsweise die bei 718 nm absorbierende und bei 1173 nm emittierende (8,6)-Röhre mit einem Durchmesser von 0.966 nm.^[66] Durch den verbreiteten Einsatz von Si-Detektoren bzw. die mangelnde Verfügbarkeit von IR-sensitiven Sensoren, wie es beispielsweise bei Lawinenphotodiode der Fall ist, sind in spektroskopischen Studien in der Regel solche Nanoröhren von großem Interesse, deren Emissionswellenlängen unterhalb von 1000 nm liegen. Dies gilt wegen der größeren Bandlücke auch für den Einsatz halbleitender SWNTs in Solarzellen und Transistoren.^[146] Auch für umweltrelevante Fragestellungen sind häufig Nanoröhren mit kleineren Durchmessern erforderlich, wie etwa bei der Herstellung permeabler SWNT-Membranen zur Wasseraufbereitung.^[147] Zur Steuerung der Durchmesserereigenschaften wird in jüngster Vergangenheit verstärkt an nanopartikulären Katalysatoren geforscht, die aus Edelmetallen wie Platin oder Gold bestehen.^[148,149] Trotz ihrer Heterogenität eignen sich auch die hier untersuchten Rohmaterialien als Ausgangspunkt für weitere Anwendungen, da sich durch Fortschritte in der Probenaufbereitung, wie sie z.B. in der nicht-linearen und elektrolytgestützten Dichtegradientenultrazentrifugation oder im Einsatz magnetischer Verfahren zum Ausdruck kommen,^[150–152] die gewünschte Probenreinheit und Durchmessererteilung erreichen lässt. Dies gilt auch für die Trennung von Enantiomeren mit Hilfe chiraler Tenside wie eben Natriumcholat.^[153]

Eine spektrale PLE-Analyse lässt prinzipiell keine valide Aussage über die tatsächlichen Konzentrationsverhältnisse innerhalb einer polydispersen SWNT-Probe zu. Dies setzte voraus, dass Kohlenstoffnanoröhren unabhängig von ihrer strukturellen Identität einen einheitlichen Absorptionsquerschnitt besäßen.^[154] Violla *et al.* zeigen in ihrer Studie auf, dass sich unterschiedliche Nanorohrtypen hinsichtlich ihres Absorptionsverhaltens signifikant unterscheiden können, während ihre intrinsischen Emissionseigenschaften nahezu chiralitätsunabhängig sind.^[155] Publierte Werte sind darüber hinaus auf einige wenige Spezies beschränkt. Aufgrund ihres Vorkommens in den gängigen Rohmaterialien und nicht zuletzt durch das Vorhandensein selektiver Anreicherungsprotokolle ist erneut die (6,5)-Kohlenstoffnanoröhre Gegenstand der Untersuchung.^[71,156,157] Was die Photolumineszenzquantenausbeuten der SWNTs anbelangt, gilt es allerdings deren Längenabhängigkeit Rechnung zu tragen.^[102,158–160] Da ihre mechanischen Eigenschaften mit dem Durchmesser skalieren,^[161] erleiden SWNTs bei der Dispergierung mit Hilfe von Ultraschall eine unterschiedlich starke Kürzung.^[162] Ein Vergleich zwischen

den Rohmaterialien HiPCO und CoMoCAT, der wie hier auf das spektrale Gewicht bestimmter Chiralitäten gerichtet ist, bleibt davon jedoch unberührt.

Wie bereits eingangs erwähnt, eignet sich die PLE-Spektroskopie zum Nachweis intermolekularer Energietransferprozesse. Bei energetisch passender Lage der exzitonicen Zustände können Nanoröhren unterschiedlicher Chiralität ein Donor-Akzeptor-Paar bilden. Da die Wahrscheinlichkeit eines Energietransfers mit dem räumlichen Abstand der beteiligten Partner abnimmt, kommt hier vor allem die Untersuchung von Nanoröhrenfilmen in Frage, welche durch Abscheiden aus suspendierter Phase erhalten werden können. Innerhalb des so entstandenen Netzwerks liegt eine isotrope Orientierung der SWNTs vor, wodurch ein Ausbleiben des Energietransfers aufgrund einer eventuell ungeeigneten Ausrichtung auszuschließen ist.^[163] Abbildung 3.24 zeigt die Ergebnisse einer an (6,5)- und (7,5)-Nanoröhren durchgeführten PLE-Studie. Bei den untersuchten SWNTs handelt es sich um toluolische CoMoCAT-Proben, dispergiert mit einem aus 9,9-Dioctylfluorenyl-2,7-diyl(-Bipyridin)-Einheiten bestehenden (Co-)Polymer.^[164]

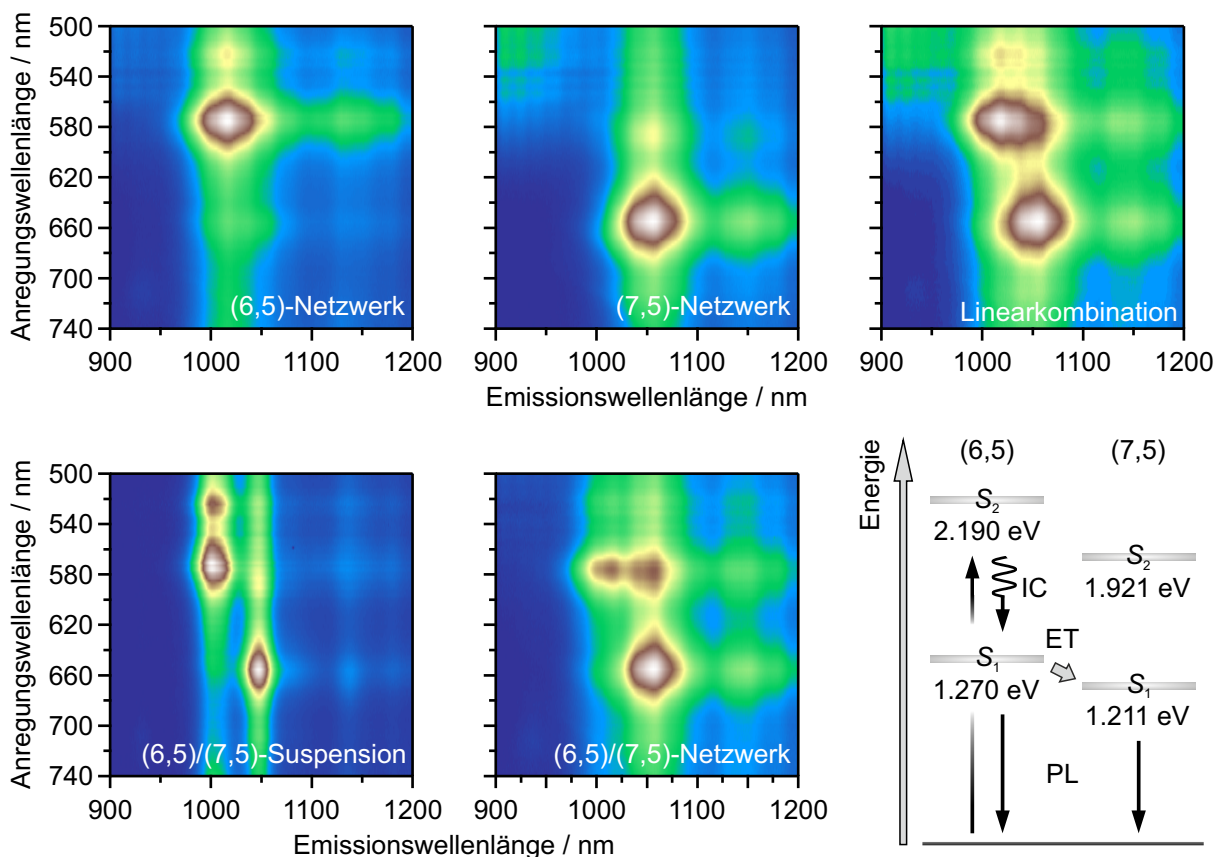


ABB. 3.24: Energietransfer in Kohlenstoffnanoröhrennetzwerken. Als Referenz dienen die nur aus (6,5)- und (7,5)-SWNTs bestehenden Filme sowie deren Linearkombination. Im Vergleich zur Suspension aus beiden Nanoröhrenspezies zeigt das gemischte Netzwerk ein deutliches Kreuzungssignal, welches sich der (6,5)-Absorption und (7,5)-Emission zuordnen lässt. Das Jablonski-Diagramm fasst die relevanten photophysikalischen Prozesse zusammen. Die Exzitonenergien stammen von Weisman und Bachilo.^[66]

3 Entwicklung und Erprobung des PLE-Aufbaus

Bedingt durch die geänderten Umgebungseinflüsse in abgeschiedener Form weisen die reinen (6,5)- und (7,5)-SWNT-Filme ein verbreitertes Emissionssignal sowie eine Verschiebung der Oszillatorstärke hin zu ihrer phononischen Seitenbande auf.^[165] Die Ausgangssuspension, welche beide SWNT-Chiralitäten enthält, besitzt im Absorptionsfenster der (6,5)-Röhre eine merkliche Photolumineszenzintensität bei 1050 nm. Diese lässt sich auf das nicht-resonante Absorptionsverhalten der (7,5)-Nanoröhre zurückführen. Wird der polydisperse Netzwerkfilm bei 575 nm angeregt, nimmt die PL-Intensität bei 1050 nm signifikant zu und erreicht sogar das Ausmaß der in ihrem Absorptionsmaximum angeregten (6,5)-Nanoröhre. Neben der nicht-resonanten Anregung trägt nun auch der Energietransfer auf die (7,5)-SWNT zu deren PL-Signal bei, was gleichzeitig die Abnahme der Photolumineszenzquantenausbeute der (6,5)-Nanoröhre bedingt. Dies zeigt auch der Vergleich mit der Linearkombination der reinen Netzwerkfilme. Ein inverser Energietransfer kann aus der PLE-Studie nicht abgeleitet werden. Wie das Jabłoński-Schema untermauert, wäre dies aus energetischer Sicht nur möglich, wenn der Transfer unmittelbar aus dem primär angeregten Zustand der (7,5)-Nanoröhre heraus stattfände. Das Ausbleiben jener Energieübertragung kann somit als Indiz gewertet werden, dass dem Transfer eine innere Konversion zwischen dem S_2 - und S_1 -Exziton vorausgeht. Die Intersubbandrelaxation erfolgt dabei innerhalb von 40 fs,^[166] begünstigt durch einen effizienten Phononenstreumechanismus.^[60] Ultrakurzzeitspektroskopische Untersuchungen zeigen, dass in SWNT-Aggregaten der Energietransfer auf einer vergleichbaren Zeitskala erfolgt und somit prinzipiell in Konkurrenz zur inneren Konversion steht. Ergebnisse aus Anrege-Abfrage-Messungen legen jedoch nahe, dass die Anregungsenergie nach erfolgtem IC-Prozess übertragen wird.^[167] Eine Dipol-Dipol-Kopplung, wie sie im Rahmen eines Förster-Resonanzenergietransfers vorliegt, kann bei Transferraten in der Größenordnung reziproker Femtosekunden ausgeschlossen werden.^[168] Grechko *et al.* kommen zu dem Schluss, dass angeregte Exzitonen, begünstigt durch ihre schnelle intratubuläre Diffusion, an Stellen, wo sie mit anderen SWNTs räumlich in Kontakt stehen, auf diese migrieren können.^[169] Für den Einsatz von Kohlenstoffnanoröhren in photovoltaischen Anwendungen, die eines schnellen Transports photoangeregter Ladungsträger bedürfen, erweist sich dies als vielversprechend.^[170]

Kohlenstoffnanorohrfilme lassen sich auch passiv durch eine verdunstungsinduzierte Selbstassemblierung herstellen, wie sie allgemein für Nanopartikel Anwendung findet.^[171] Durch die damit einhergehende regelmäßige Anordnung der SWNTs in Form von Streifen eignen sich solche Strukturen zur Herstellung nanorohrbasierter Dünnschichttransistoren.^[172] Auch bei ihrer Charakterisierung erwächst die Fragestellung, ob die in den Filamenten vorliegenden Kohlenstoffnanoröhren ihre halbleitenden Eigenschaften bewahren und noch Photolumineszenz zeigen. Eine an solch selbstassemblierten Filmen aus (6,5)-SWNTs durchgeführte PLE-Studie zeigt, dass eine Rotverschie-

bung des Photolumineszenzmaximums und eine deutliche Zunahme der Halbwertsbreite die Folge sind. Insgesamt nimmt die Emission des S_1 -Exzitons um etwa 20 % im Vergleich zur monodispersen Ausgangssuspension ab, wenn man näherungsweise von gleichen Kohlenstoffkonzentrationen im Anregungsfokus ausgeht. Ursächlich für die spektralen Veränderungen ist auch hier der Einfluss der neuen dielektrischen Umgebung, welche nicht zuletzt durch das Siliziumsubstrat, auf dessen Oberfläche der Verdampfungsprozess stattfindet, hervorgerufen wird.^[173] Abbildung 3.25 stellt die PLE-Signatur des selbstassemblierten Nanorohrfilms derjenigen seiner Ausgangssuspension gegenüber:

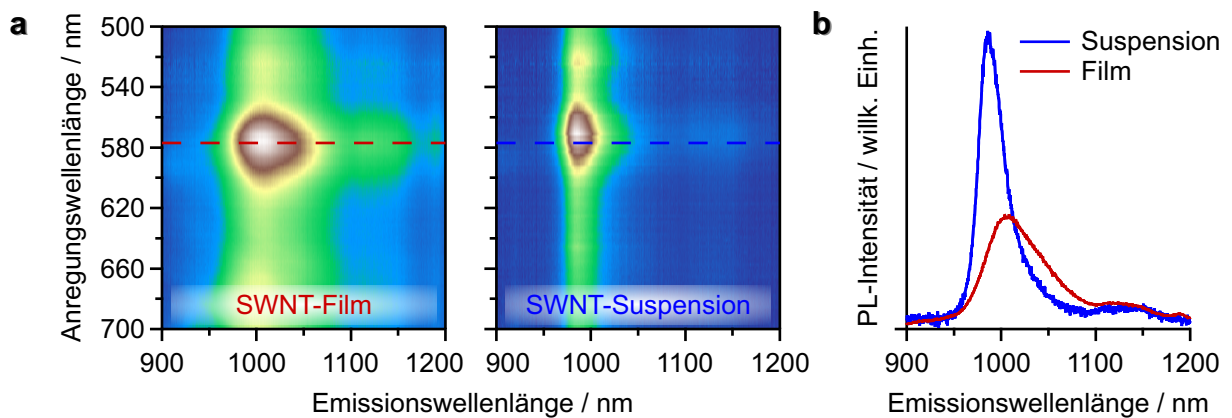


Abb. 3.25: Photolumineszenzeigenschaften des durch verdunstungsinduzierte Selbstassemblierung erhaltenen SWNT-Films. **a)** Ein Vergleich mit der PLE-Karte der Suspension macht die spektralen Veränderungen deutlich. **b)** Sieht man von einer Normierung ab, spiegeln die horizontalen PL-Profile auch die Abnahme der Emission wider.

4 Einzelmolekülmessungen in mikrofluidischer Umgebung

Dieses Kapitel stellt die Ergebnisse der photolumineszenzmikroskopischen Studien vor, die an individualisierten und insbesondere in ihrer räumlichen Position fest verankerten Kohlenstoffnanoröhren durchgeführt worden sind. Auch hier findet der bereits vorgestellte PLE-spektroskopische Aufbau Verwendung und dient der chiralen Zuordnung der untersuchten SWNTs. Die Betrachtung des Fluoreszenzsignals gilt nun aber weniger den Nanoröhren selbst, sondern vielmehr dem mit ihnen in nicht-kovalenter Wechselwirkung stehenden Dispergiermittel. Aufgrund der vielfältigen Modifizierbarkeit hinsichtlich Sequenzlänge, Basenzusammensetzung und Funktionalisierung kommen hierfür einsträngige DNA-Oligomere zum Einsatz.^[174] Die Durchführung der Messungen in mikrofluidischer Umgebung erscheint neben der Möglichkeit das Adsorptiv kontrolliert zuführen zu können nicht zuletzt aus Gründen des Verbrauchs vorteilhaft.^[175]

4.1 Konzept zur Bestimmung des Adsorptionsausmaßes

Die Untersuchung der nicht-kovalenten Wechselwirkung von Kohlenstoffnanoröhren mit unterschiedlichen Dispersionsmedien wie Tensiden und Biomolekülen ist nicht selten rein pragmatischer Natur. Häufig zielt sie auf einen Vergleich hinsichtlich der Fähigkeit ab Nanoröhren individualisieren und anreichern zu können.^[176–178] Entsprechend steht in diesen Fällen bei einer genaueren Analyse die Bestimmung von kolloidchemischen Parametern wie Schwimmdichten und Sedimentationsgeschwindigkeiten im Vordergrund.^[179] Experimentelle Studien, deren Fokus auf eine thermodynamische Charakterisierung der DNA-SWNT-Wechselwirkung gerichtet ist,^[180] sind vergleichsweise rar und basieren zumeist auf mit Seifenmolekülen suspendierten Nanoröhren als Ausgangspunkt.^[181–183] Im Allgemeinen liegt jenen Studien die Untersuchung der entsprechenden Austauschreaktion zugrunde,^[184] wodurch nur indirekt Aussagen zur Affinität zwischen Nanoröhren und DNA-Oligomeren getroffen werden können. Was hingegen theoretische Betrachtungen anbelangt, sind im Rahmen molekulardynamischer Simulationen DNA-SWNT-Konjugatstrukturen eingehend untersucht worden.^[185] Die

4 Einzelmolekülmessungen in mikrofluidischer Umgebung

Quantifizierung der Wechselwirkung ist in der Begriffswelt der Adsorptionsterminologie gleichbedeutend mit der Bestimmung des Ausmaßes, in welchem das Adsorpt auf dem Adsorbens vorliegt.^[186] Während man sich bei der Bestimmung von Adsorptionsgleichgewichten häufig nasschemischer Analyseverfahren wie etwa der Titrimetrie bedient,^[187] soll in der vorliegenden Arbeit die Charakterisierung der auf den SWNTs vorliegenden DNA-Belegung auf photophysikalischem Weg erfolgen. Aus diesem Grund finden DNA-Oligomere Verwendung, die mit einem Fluorophor versehen sind, wodurch sie über eine externe spektroskopische Sonde zur Untersuchung der DNA-SWNT-Interaktion verfügen.^[188] Zwar zeigen auch die unmodifizierten Nukleinbasen ein Absorptionsfenster. Dieses liegt jedoch im UV-Bereich und ist daher von Seiten der Anregung nur bedingt zugänglich. Zur Vermeidung von photochemisch induzierten Schäden weisen die DNA-Basen mit ihrem Purin- bzw. Pyrimidingerüst darüber hinaus eine hocheffiziente strahlungslose Relaxation auf,^[189] was mit einer geringen Photolumineszenzquantenausbeute einhergeht. Ferner überlagert sich ihre Absorption mit den π -plasmonischen Banden der SWNTs,^[190] wodurch die Anregungsenergie für den eigentlichen Zweck nur partiell zur Verfügung steht. Mit Hilfe der Fluorophoremission können Kohlenstoffnanoröhren im VIS-Bereich mikroskopisch studiert werden.^[191–193] Der Fortschritt des Adsorptionsprozesses lässt sich auf diese Weise zeitlich verfolgen und einer kinetischen Analyse zuführen. Abbildung 4.1 stellt das Messprinzip vor:

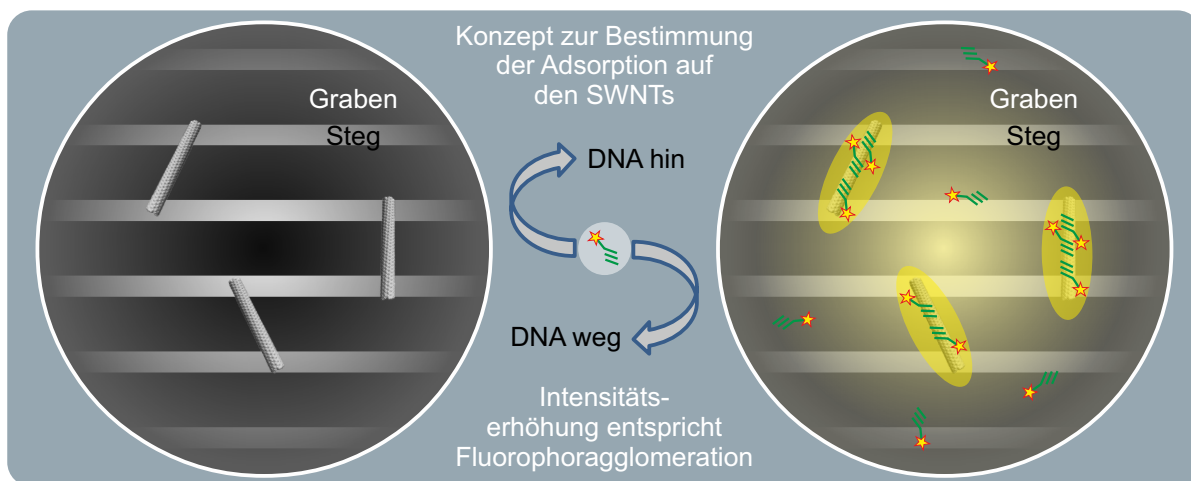


ABB. 4.1: Konzept zur Untersuchung der DNA-SWNT-Adsorption mit Hilfe farbstoffmarkierter Oligomere. Schematisch skizziert ist eine Probe mit Mikrogräben und -stegen, wie sie in Abschnitt 4.2.3 noch genauer vorgestellt wird.

Tritt die DNA-Lösung in den Anregungsfokus, erfolgt eine unspezifische Zunahme der Fluoreszenzintensität. An Stellen, wo Kohlenstoffnanoröhren vorliegen, sollte diese lokal erhöht sein, was der Agglomeration der hier in helikaler Wicklung gezeigten DNA-Oligomere entspricht. Dabei gilt es zu berücksichtigen, dass an DNA-Oligomere gebundene Farbstoffe einem Resonanzenergietransfer unterliegen.^[194] Kohlenstoffnano-

röhren können hier als Akzeptor agieren,^[195] wobei Defektstellen auf den SWNTs den Energieübertrag begünstigen und damit die Fluoreszenzlöschung verstärken.^[196,197] Für eine effektive Zunahme der Fluoreszenzintensität an der Nanorohroberfläche entscheidend zeigt sich die absolute Anzahl adsorbierter Oligomere und damit agglomerierter Fluorophore. Durch Anpassen der Sequenzlänge kann der Umfang der zur Verfügung stehenden Adsorptionsplätze angepasst werden. Ein möglicher Erklärungsansatz, weshalb Adsorptionsprozesse an Kohlenstoffnanoröhren bislang noch nicht eingehend studiert worden sind, mag in ihrer strukturellen Heterogenität begründet sein. Trotz steter Verbesserung der Herstellungsverfahren und chiralen Aufreinigung tritt diese in den meisten Fällen nach wie vor zu Tage. Ein Vergleich mit dem Kohlenstoffallotrop Graphen macht dies deutlich. Bei diesem liegen zumindest in Bezug auf die Adsorption der isolierten Nukleinbasen experimentelle Daten vor.^[198] Im Falle von Guanin zeigt sich beispielsweise, dass der Anlagerungsvorgang einer Langmuir-Isotherme folgt. Die mittels einer van't Hoff-Auftragung bestimmte Adsorptionseenthalpie gilt demnach nicht nur für den isosteren Fall.^[199] Im Gegensatz zu Graphen zeigen Kohlenstoffnanoröhren jedoch eine Vielfalt verschiedener Modifikationen, welche sich wie erwähnt in unterschiedlichen Durchmessern manifestiert. Da das Ausmaß der π - π -Wechselwirkung,^[200,201] welche für die Exothermie der Adsorption verantwortlich ist, invers mit der SWNT-Krümmung skaliert,^[202] sollte sich eine Untersuchung der DNA-SWNT-Adsorption auf eine definierte Nanorohrspezies stützen.^[203] Aus diesem Grund erscheinen Einzelmolekülmessungen für die Studie von Adsorptionsphänomenen an Kohlenstoffnanoröhren prädestiniert. Wird anstelle von Nukleinbasen die Anlagerung von Oligonukleotiden untersucht, ist davon auszugehen, dass die Adsorption abhängig vom Ausmaß der Bedeckung wird. Aufgrund des negativ geladenen Zucker-Phosphat-Rückgrats, welches die Dispergierung in polaren Medien bewirkt,^[204] sollte mit zunehmender Belegung der Röhren die Tendenz zur Adsorption weiterer DNA-Oligomere abnehmen.

4.2 Experimentelle Vorgehensweise

Im Folgenden soll der fluoreszenzmikroskopische Aufbau zur Durchführung der Einzelmolekülmessungen vorgestellt werden. Besonderes Augenmerk kommt dabei der speziell auf die Bedürfnisse des vorliegenden Projekts angepassten Mikrofluidikzelle zu.

4.2.1 Konfiguration des Fluoreszenzmikroskops

Der zur Untersuchung der DNA-SWNT-Adsorption konzipierte Messaufbau beruht im Wesentlichen auf der in Abbildung 3.2 dargestellten Plattform, bestehend aus dem in-

versen Auflichtmikroskop und der Superkontinuumlichtquelle. Alternativ zu Letzterer kann auch das Signal eines im Dauerstrichmodus betriebenen Argon-Ionen-Lasers (Stabilité 2016, Spectra Physics) in den Strahlengang eingekoppelt werden. Seine Ausgangswellenlänge bei 488 nm eignet sich in besonderer Weise zur Anregung des Fluoreszenzfarbstoffs 6-Carboxyfluorescein – dessen Absorptions- und Emissionsverhalten Abbildung 2.10 entnommen werden kann – was ihn und andere Fluoresceinderivate als spektroskopische Sonden in fluoreszenzmikroskopischen Anwendungen besonders geeignet erscheinen lässt.^[205] Vor dem Eintritt des Anregungslichts in das Mikroskopgehäuse wird, wie in Abbildung 2.12 beschrieben, eine Sammellinse in den Strahlengang eingebracht, um einen hinreichend großen Probenausschnitt zu erfassen. Ihre Brennweite beträgt 3.5 cm und ist auf das verwendete Objektiv (Plan N, 20x, NA 0.40, Olympus) abgestimmt. Am linksseitigen Mikroskopausgang wird nun die für den jeweiligen Wellenlängenbereich passende Digitalkamera positioniert. Zur Detektion der Fluorophoremission im sichtbaren Spektralfenster dient eine Zwischenzeilen-CCD-Kamera (Clara, Andor/LOT-QuantumDesign),^[206] während für die Bildgebung von Kohlenstoffnanoröhren im Nahinfrarotbereich eine Kamera mit InGaAs-Sensor (Xeva-1.7-320, Xenics/LOT-QuantumDesign) zum Einsatz kommt.^[207] Der rechtsseitige Ausgangsport wird unverändert belassen und erlaubt die PLE-spektroskopische Zuordnung der untersuchten Kohlenstoffnanoröhren. Mit Hilfe eines sich im Mikroskop befindlichen Umlenkprismas kann zwischen dem linken und rechten Messkanal gewählt werden. Aufgrund seines Transmissions- bzw. Reflexionsprofils ist bei einem Wechsel des Emissionsfensters kein Austausch des dichroitischen Spiegels notwendig. Lediglich der sich direkt unterhalb des Strahlenteilers befindliche Band- oder Langpassfilter muss angepasst werden, was auf unkomplizierte Weise durch Drehen des Optikschafts erfolgt.

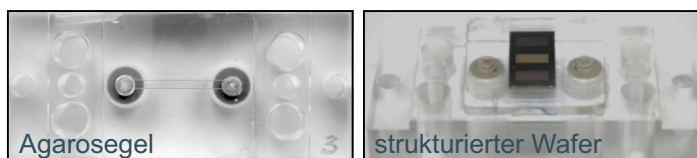
4.2.2 Ausführung und Charakterisierung der Mikrofluidikzelle

Zentrales Element des zur Durchführung von Einzelmolekülmessungen realisierten Aufbaus ist die mikrofluidische Probenkammer,^[208] welche auf dem Nanopositioniertisch platziert wird. Durch Anschluss an eine mittels Schrittmotor getriebene Spritzenpumpe (Zweikanal-Dilutorsystem mit je 50 μL Fassungsvermögen, GeSiM) kann die Adsorptivlösung zugeführt werden. Neben den farbstoffmarkierten DNA-Oligomeren enthält sie noch mehrere Pufferkomponenten. Über den zweiten Spritzenkanal kann die Mikrofluidikzelle schließlich mit einer reinen Pufferlösung gespült werden, um den Desorptionsvorgang zu initiieren. Im Arbeitskreis Hertel hat sich PBS als Standardmedium in der DNA-basierten Dispersion von Kohlenstoffnanoröhren etabliert,^[71,188] weswegen es auch hier verwendet wird. Der Phosphatpuffer stellt eine isotonische Salzlösung mit einem pH-Wert von 7.4 dar, womit er den Erfordernissen beim Arbeiten mit Nuklein-

säuren Rechnung trägt.^[209] Eine Zersetzung der Primär- und Sekundärstruktur durch Hydrolyse und Denaturierung kann daher nahezu ausgeschlossen werden, zumal in adsorbierter Form die Oligonukleotide vor einer katalytisch induzierten Degradierung durch allgegenwärtige Nukleasen geschützt sind.^[210]

Die Herstellung des Mikrofluidikträgers greift auf die Arbeiten von Bergler und Stocker zurück, die im Arbeitskreis Hertel die MF-Technologie erprobt haben.^[211,212] Als Materialgrundlage dient das anorganische Polymer Polydimethylsiloxan,^[213] welches chemisch inert, elastisch, transparent und hitzebeständig ist.^[214–216] Letztgenannte Eigenschaft ist insbesondere von Bedeutung, wenn die Mikrofluidikzelle mit einer thermostatisch geregelten Heizvorrichtung versehen wird,^[217] wie es z.B. die Aufnahme von Adsorptionsisothermen erfordert. Selbiges gilt auch in biochemischen Anwendungen, wo enzymkatalytisch unterstützte Reaktionen häufig nur in einem eingeschränkten Temperaturfenster stattfinden können.^[218] Auch was die Dauer der Chipanferti-gung anbelangt, erweist sich die Verwendung von Polydimethylsiloxan als vorteilhaft. Innerhalb weniger Stunden härtet das Material, welches zuvor in situ aus zwei Komponenten (Sylgard[®] 184, Dow Corning) angesetzt wird, aus. Die Gussform kann anschließend mit einem Deckglas durch Adhäsion versiegelt werden. Nach Fertigstellung der PDMS-Matrix ist diese noch flexibel. Eine mechanische Stabilisierung kann mit einem Polymethylmethacrylatblock erfolgen, auf den das PDMS in noch flüssiger Form aufgebracht wird. Das kommerziell erhältliche MicCell-System^[219] (GeSiM) macht sich dies zu eigen und erlaubt so eine unkomplizierte Verbindung mit den Schlauchzuführungen.^[220] Allerdings ist durch die PMMA-Schablone die Gestaltung der Kanalgeometrie Einschränkungen unterworfen. Dies trifft vor allem auf die Konfiguration der Pumpenanschlüsse zu. Abbildung 4.2 stellt die Verwendung des MicCell-Systems vor:

a PDMS-basierte Mikrofluidikzelle auf PMMA-Plattform



b Fixierung mit Widerstandsheizung

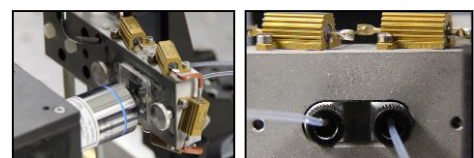


ABB. 4.2: Gestalt der auf dem MicCell-System beruhenden Mikrofluidikzelle. **a)** Dargestellt ist der PMMA-Träger mit zwei Anschlüssen zur Zu- bzw. Abfuhr von Reagenzien. **b)** Der Mikrofluidikchip kann z.B. in einer Aluminiumhalterung fixiert werden, die zugleich der Übertragung der von einer Widerstandsheizung freigesetzten Wärme dient.

In der quadratischen PDMS-Kammer können je nach zu untersuchender Probe verschiedene Kanalgeometrien realisiert sein. Näheres dazu findet sich in Abschnitt 4.2.3. Die Verwendung von Polymeren in der Mikrofluidiktechnik, was als Softlithographie Eingang in die Literatur gefunden hat,^[221,222] bietet gegenüber dem direkten Einritzen der

4 Einzelmolekülmessungen in mikrofluidischer Umgebung

Kanalstruktur in ein Glassubstrat den Vorteil, dass einzelne Mikrofluidikträger bei Bedarf repliziert werden können. Lediglich eine Mastervorlage, deren Struktur sich im ausgehärteten PDMS widerspiegelt, muss einmalig hergestellt werden. Sie wird hier auf photolithographischem Weg mit dem Reagenz SU-8 angefertigt.^[223] Bei dem zur Gruppe der Epoxidharze gehörenden Photolack wird durch Belichtung mit UV-Strahlung eine Polymerisation in Gang gesetzt. Die vor Lichtexposition geschützten Anteile lösen sich beim Entwickeln vom Siliziumsubstrat ab. Demnach handelt es sich bei SU-8 um einen Negativlack. Aufgrund seiner einfachen Handhabung und Unempfindlichkeit gegenüber äußeren Einflüssen kann auf ein Arbeiten unter Reinraumbedingungen verzichtet werden.^[224] Den zu beschichtenden Siliziumwafer gilt es dennoch gründlichst zu reinigen, beispielsweise mit Caroscher Säure, da anderenfalls nach der Verarbeitung Unebenheiten in der Photolackschicht zurückbleiben und sich im Mikrofluidikchip wiederfinden. Abbildung 4.3 fasst die wesentlichen Prozessierungsschritte zusammen:

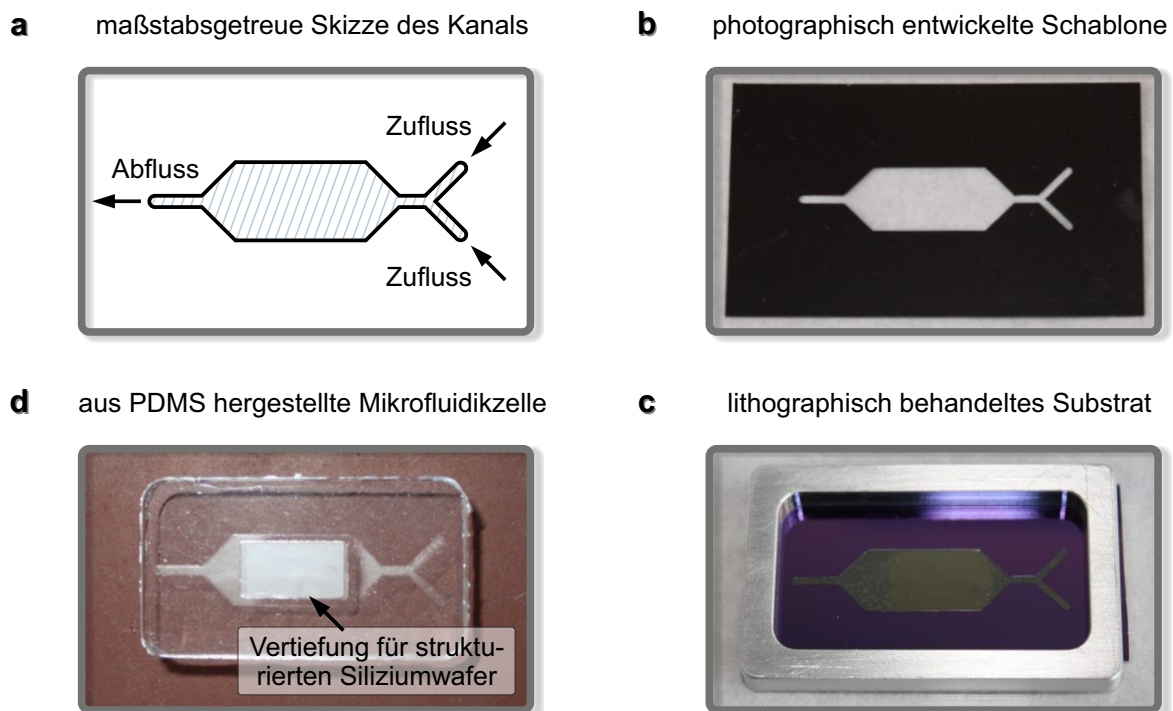


ABB. 4.3: Entwurf und lithographische Herstellung der MF-Mastervorlage. a) Eine Vektorgrafik mit der zu erzeugenden Kanalgeometrie dient als Ausgangspunkt. b) Mit Hilfe eines Photoplotters wird ein lichtempfindliches Substrat mit der Komplementärinformation beschrieben, woraus die Maske für die Belichtung des SU-8-Epoxidharzes resultiert. c) Der entwickelte Mikrofluidikmaster wird mit einem Rahmen versehen und mit PDMS befüllt. d) Bevor dies geschieht, wird auf den ausgehärteten Photolack noch eine der späteren Probe entsprechende Form identischer Abmessung platziert.

Verzichtet man, wie in Abbildung 4.3 dargestellt, auf das MicCell-System einschließlich des PMMA-Trägers, müssen nachträglich die Anschlüsse der Zu- und Ableitungen integriert werden. Mit Hilfe einer Biopsi stanze, die auf den Durchmesser der aus

Polytetrafluorethen gefertigten Mikrofluidikschläuche abgestimmt ist, wird der PDMS-Abdruck mit den erforderlichen Bohrungen versehen. Werden im Zuge dessen die PTFE-Schläuche direkt an die Probenkammer angeschlossen, führt dies in der Regel zu mechanischen Spannungen innerhalb der PDMS-Matrix, was ein Ablösen des anhaftenden Deckglases bewirken kann. Aus diesem Grund erfolgt eine indirekte Kontaktierung mit einem Übergangsstück, welches ebenfalls aus Polydimethylsiloxan besteht. Es verfügt in gleicher Weise über eine entsprechende Bohrung und wird mit Hilfe eines Elastomerfilms fest mit der Probenkammer verschmolzen. Einzelheiten hierzu können der Diplomarbeit von Stocker entnommen werden.^[212]

Da das Aufbringen des SU-8-Epoxidharzes auf das Siliziumsubstrat per Rotationsbeschichtung erfolgt, bestimmen die gewählten Prozessparameter, allen voran die Winkelgeschwindigkeit, unmittelbar die Dicke der Photolackschicht und damit indirekt die Tiefe des Kanals.^[225] Letztere muss mit Bedacht gewählt werden, da sie bei vorgegebener Flussgeschwindigkeit der Spritzenpumpe den Zeitrahmen festlegt, innerhalb dessen das zugeführte Adsorptiv mit dem Adsorbens in Wechselwirkung treten kann. Auch das Strömungsverhalten ist eine Funktion der Kanaltiefe.^[226] Nicht zuletzt von ihr hängt ab, ob ein laminarer oder turbulenter Fluss vorliegt, was insbesondere eine Rolle bei diffusiven Mischungsvorgängen spielt. Ein in der Praxis häufig auftretendes Problem bei zu geringen Kanaltiefen ist ferner der Einschluss von Gasblasen. Nach Bergler *et al.* erweisen sich für mikrofluidische Studien Werte zwischen 40 und 80 μm als besonders geeignet.^[227] Eine Messung der Kanaltiefe kann entweder anhand der Mastervorlage oder ihres softlithographischen Abdrucks erfolgen. Aufgrund der Flexibilität erweist sich die PDMS-Matrix für eine genauere Untersuchung eher ungeeignet, da sie bei einer Manipulation schnell einer Verformung unterliegen kann und ihre Charakterisierung damit an Aussagekraft verliert. Die Vermessung der Mastervorlage ist aus dieser Sicht unproblematisch und kann unter Zuhilfenahme des Mikroskopaufbaus erfolgen. Abbildung 4.4 stellt die Ergebnisse einer so durchgeführten Kanaltiefenbestimmung vor:

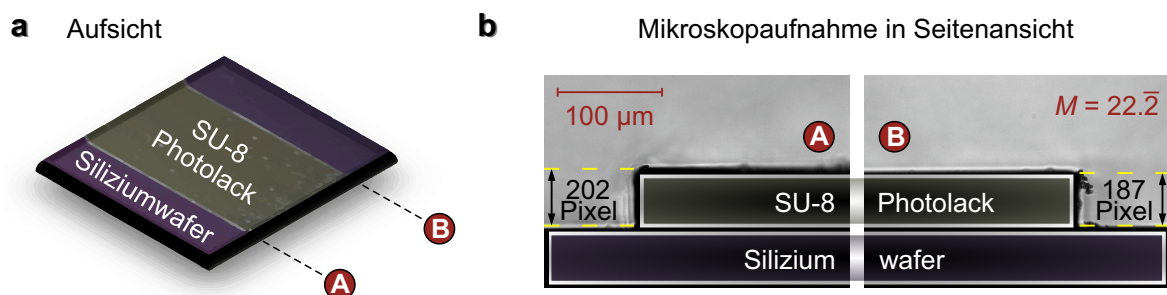


ABB. 4.4: Bestimmung der mikrofluidischen Kanaltiefe mittels Mikroskopie. a) Photographie und b) Kamerabild der Mastervorlage. Die Maßstabszahl ergibt sich unter Berücksichtigung der Referenzbrennweite aus Tabelle 2.1 nach Gleichung 2.6. Bei einer Pixelgröße von 6.45 μm ^[206] erhält man für die Kanaltiefe Werte von 58.6 μm bzw. 54.3 μm .

Wie die Charakterisierung der Mikrofluidikmastervorlage verdeutlicht, ist die Dicke der SU-8-Schicht entlang ihres Querschnitts einer Abweichung unterworfen. Deren Ausmaß ist mit einem Wert von unter 10 % noch vertretbar. Ursächlich hierfür kann eine geringfügige Neigung sein, derer das Siliziumsubstrat beim Beschichten ausgesetzt war.

An dieser Stelle soll eine weitere Möglichkeit zur Bestimmung der Kanaltiefe vorgestellt werden, welche auf einer spektroskopischen Herangehensweise beruht.^[228] Nach ihrem Entdecker wird sie auch als Swanepoel-Methode bezeichnet.^[229] Unter bestimmten Voraussetzungen lässt sich im Transmissionsspektrum beschichteter Materialien, wie beispielsweise die mit Photolack versehene Mastervorlage, ein Oszillationsmuster beobachten. Ursächlich hierfür sind die bei Lichteinstrahlung auftretenden Reflexionen an den Grenzflächen, namentlich Luft, Dünnschichtfilm und Substrat. Die durch die Überlagerung der Lichtstrahlen auftretenden Interferenzen sind sowohl konstruktiver als auch destruktiver Natur und finden sich als Maxima oder Minima in der Transmission wieder. Dabei korrelieren die Wellenlängen der Extremalwerte mit der Dicke des SU-8-Films, was jene zugleich einer indirekten Messung zugänglich macht. Liegt jedoch ein strukturell heterogener Film vor, ist eine Aufhebung der Interferenzstruktur die Folge. Man erhält schließlich das Transmissionsspektrum des unbeschichteten Films. Voraussetzung für die Anwendung der Swanepoel-Methode ist ferner eine geringe Substratopazität. Für den Siliziumwafer ist dies im Infrarotbereich erfüllt. Auch der Dünnschichtfilm sollte ausreichend transparent sein und sich hinsichtlich seiner Dicke um mehrere Größenordnungen vom Substrat unterscheiden. Analog zur Gittergleichung 2.34 aus Abschnitt 2.2.1 erhält man für die Interferenzbedingung im vorliegenden Fall:

$$\text{Maximum: } 2 \cdot n \cdot d = m \cdot \lambda \quad \text{Minimum: } 2 \cdot n \cdot d = (m \pm 0.5) \cdot \lambda \quad (m \in \mathbb{N}) \quad (4.1)$$

Aus Gleichung 4.1 kann die Filmdicke d noch nicht direkt ermittelt werden, selbst wenn der Brechungsindex n als Funktion der Wellenlänge bekannt ist. Die Ordnung der Extremwerte m ist nicht ohne Weiteres aus dem Transmissionsspektrum zu entnehmen, zumal das hypothetische Maximum nullter Ordnung seine Position jenseits des Messbereichs aufweist. Das erste nach Anstieg der Transmissionskurve identifizierbare Maximum wäre somit jenes höchster Ordnungszahl.^[230] Während die eigentliche Auswertung ein Anpassen der Transmissionskurve mit zwei Einhüllenden vorsieht,^[229] kann in vielen Fällen auf solch einen numerischen Ansatz verzichtet werden. Was die Interferenzordnung anbelangt, ist deren Kenntnis nicht länger notwendig, wenn zwei aufeinanderfolgende Extrema entsprechend Gleichung 4.1 zusammengefasst werden:

$$d = \frac{1}{2} \cdot \frac{\lambda_m \cdot \lambda_{m+1}}{\lambda_m \cdot n_{m+1} - \lambda_{m+1} \cdot n_m} \approx \frac{1}{2 \cdot n} \cdot \frac{\lambda_m \cdot \lambda_{m+1}}{\lambda_m - \lambda_{m+1}} \quad (4.2)$$

Werden anstelle zweier Maxima oder Minima benachbarte Extremwertkombinationen

mit $\Delta m = \pm 1/2$ analysiert, tritt im Zähler von Gleichung 4.2 noch ein Faktor $1/2$ auf.^[231] Da sich nach der Cauchy-Formel das Dispersionsverhalten im NIR-Bereich nur geringfügig mit der Wellenlänge ändert,^[232] können die Brechungsindizes in guter Näherung gleichgesetzt werden. Ihre Abhängigkeit von der Filmdicke bleibt jedoch weiterhin bestehen.^[233] Für den Photolack SU-8 beträgt der Brechungsindex im NIR-Bereich $n \approx 1.6$.^[234] Den hier angestellten Rechnungen liegt durchweg ein Brechungsindex von $n = 1.585$ zugrunde.^[235] Abbildung 4.5 zeigt die Ergebnisse der mit einem UV-VIS-NIR-Spektrophotometer (Cary 5000, Varian/Agilent Technologies) durchgeführten Kanaltiefenbestimmung, wobei sich hier auf die Auswertung der Maxima beschränkt wird:

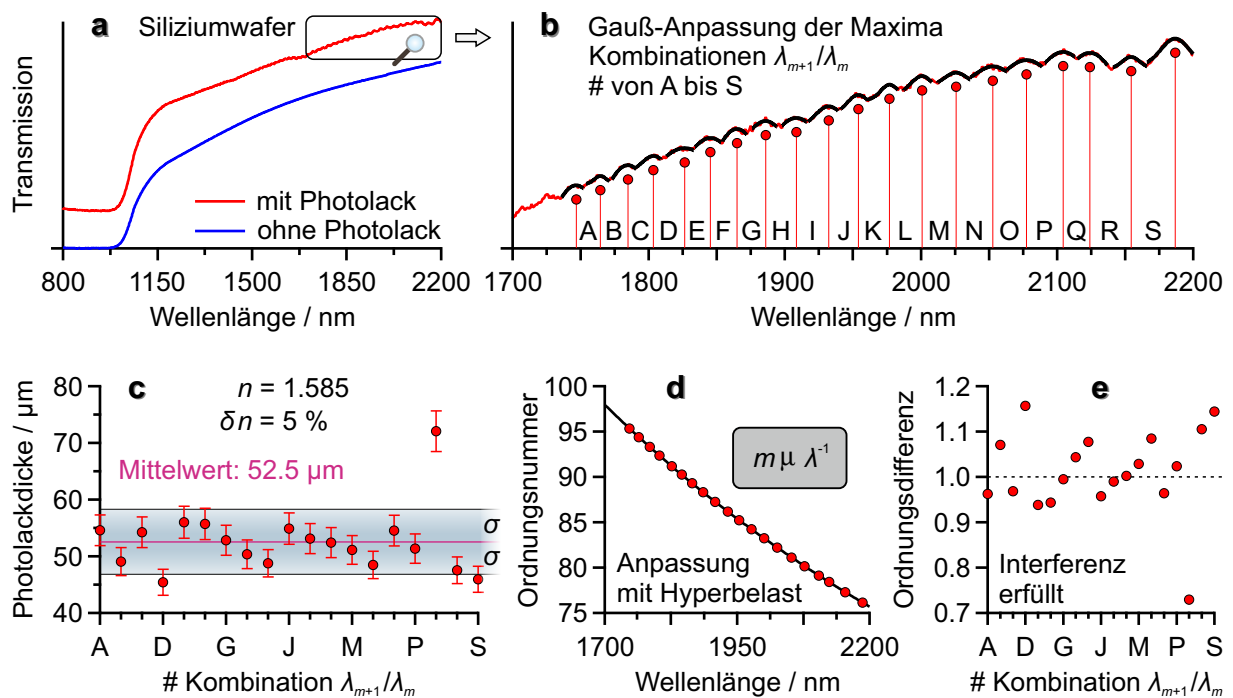


ABB. 4.5: Bestimmung der Filmdicke nach Swanepoel. a) Das Transmissionsspektrum der MF-Mastervorlage weist ein gut strukturiertes Interferenzmuster auf. b) In vergrößerter Darstellung ist der zur Auswertung herangezogene spektrale Ausschnitt veranschaulicht. c) Abgesehen von einem deutlichen Ausreißer zeigen die ermittelten Werte eine akzeptable Übereinstimmung. d) Die mit der mittleren Dicke nach Gleichung 4.1 berechneten Ordnungsnummern folgen erwartungsgemäß einem Hyperbelast. e) Die Differenz der Ordnungszahlen rechtfertigt die hier vorgenommenen Vereinfachungen.

Insgesamt werden 20 Maximalwerte einer Gauß-Anpassung unterzogen und ausgewertet. Wie Abbildung 4.5 verdeutlicht, ist deren spektraler Abstand vergleichsweise gering. Mit zunehmender Dicke des untersuchten Films liegen die Wellenlängen der Interferenzerscheinungen nach Gleichung 4.2 näher beieinander und entziehen sich schließlich unterhalb der geräteseitigen Auflösungsgrenze der Detektion. Weiterhin ist ersichtlich, dass die analysierten Maxima bereits vorangeschrittene Ordnungszahlen aufweisen. Für den Brechungsindex wird hier eine Genauigkeit von 95 % angenommen. Unter Berücksichtigung der daraus resultierenden Fehlerbalken liegen die Einzelwerte mit ei-

ner Wahrscheinlichkeit von mehr als 70 % innerhalb der Standardabweichung σ des Mittelwerts. Dies ist charakteristisch für normalverteilte Messgrößen, wenn systematische Fehler auszuschließen sind. Die mittlere Dicke des SU-8-Films beträgt $52.5 \mu\text{m}$ und ist damit in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Mikroskopiestudie, zumal die hier gewählte Auswertung eine vereinfachte Form der Swanepoel-Methode darstellt. Im Vergleich zur optischen Charakterisierung beansprucht sie zwar insgesamt mehr Zeit. Ihr eigentlicher Nutzen äußert sich hingegen im gesteigerten Informationsgehalt, den sie bereitzustellen vermag. So sind im Rahmen einer profunderen Auswertung Materialgrößen wie Absorptionskoeffizienten zugänglich. In Halbleitern kann darauf basierend die energetische Lage von Bandlücken bestimmt werden.^[236]

4.2.3 Form und Beschaffenheit der zur Verfügung stehenden Proben

Da die Untersuchung der DNA-Anlagerung anhand fluoreszenzmikroskopischer Methoden in mikrofluidischer Umgebung erfolgen soll, bedarf es hierzu immobilisierter Kohlenstoffnanoröhren. Eine räumliche Veränderung der SWNT-Position beim Zuführen der Adsorptivlösung würde die quantitative Auswertung der PL-Aufnahmen in erheblichem Ausmaß erschweren bzw. gänzlich unterbinden, insbesondere wenn es zu einer Loslösung der Nanoröhren vom Substrat kommt. Ein möglicher Ausgangspunkt bei der Eruierung des in Frage kommenden Probenraums können chiral angereicherte Nanorohrsuspensionen sein. Werden diese mit einem Gelbildner vermengt, lassen sich die SWNTs auf diese Weise in eine dreidimensionale Netzwerkstruktur einbetten. Zu diesem Zweck geeignet erscheint unter anderem das Polysaccharid Agarose, welches auch in der gelelektrophoretischen Trennung halbleitender und metallischer Kohlenstoffnanoröhren zum Einsatz kommt.^[237] Die Filamentstruktur des Gels muss dabei ausreichend lose sein, damit Flüssigkeiten wie auch Reagenzien ungehindert durch dessen Poren hindurchtreten können. Durch geeignete Wahl der Stoffmengenanteile lässt sich dies jedoch gewährleisten. In der Praxis wird das in erhitztem Zustand zähflüssige SWNT-Agarosegemisch in die mikrofluidische Probenkammer injiziert, woraufhin es innerhalb weniger Minuten aushärtet.^[211] Die so durchgeführte Immobilisierung der Nanoröhren hat sich in kinetischen Studien nicht-kovalenter Austauschreaktionen bewährt, wenn beispielsweise die Wechselwirkung mit Tensidmolekülen im Mittelpunkt des Interesses steht.^[227] Im Falle von Oligonukleotiden, denen ihrer Molmasse entsprechend bereits makromolekularer Charakter bescheinigt werden muss, ist die Vernetzung der Nanoröhren mit der Gelstruktur eher hinderlich. Zum einen besteht die Gefahr, dass die DNA-Oligomere mit den polaren Agarosefasern wechselwirken und so den Zeitrahmen des Adsorptionsvorgangs verändern. Zum anderen kann das Eingebundensein der Nanoröhren in die Gelmatrix einer helikalen Umwicklung, wie sie einsträn-

gige DNA-Oligomere in wässrigen Dispersionen zeigen,^[238] entgegenwirken. SWNT-Proben, die weder durch ein sie immobilisierendes Netzwerk noch durch ein ihnen anhaftendes Substrat einer Beeinflussung ausgesetzt sind, müssen demnach in freihängender Form vorliegen.^[239] Wie bereits angedeutet, lassen sich zu diesem Zweck lithographisch behandelte Substrate verwenden. Durch chemische Gasphasenabscheidung können diese mit Nanoröhren populiert werden. Nach dem Wachstumsprozess kann mit Hilfe rasterelektronenmikroskopischer Verfahren die abhängig von der Wahl der CVD-Parameter resultierende SWNT-Dichte abgeschätzt werden. Abbildung 4.6 stellt die hier zum Einsatz kommenden Substratstrukturen anhand von SEM-Aufnahmen vor:

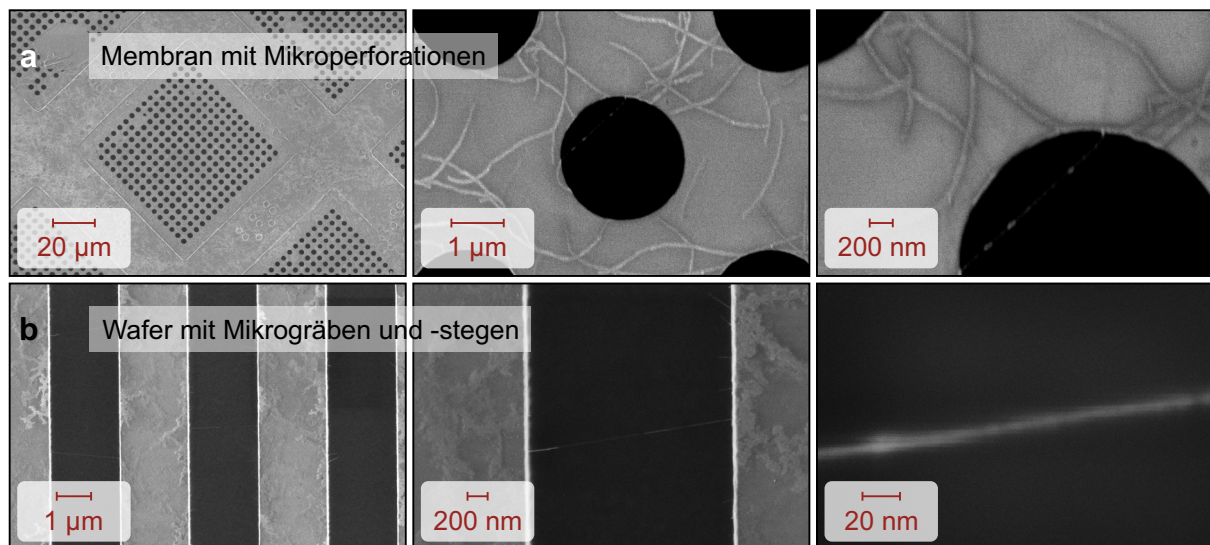


ABB. 4.6: SEM-Studien der zur Untersuchung von freihängenden Nanoröhren in Frage kommenden Substrate, durchgeführt an einem kommerziellen Elektronenmikroskop (Zeiss, UltraPlus). Neben **a**) periodischen Lochmustern erscheinen vor allem **b**) linear angeordnete Vertiefungen zweckmäßig. Bei ausreichender Vergrößerung sind die durch Gasphasenabscheidung erhaltenen SWNTs der Form nach deutlich erkennbar.

Die Abmessung der Mikrostrukturierungen, ob Löcher oder Vertiefungen, sollte so gewählt werden, dass deren Überbrückung während des CVD-Wachstums so weit wie möglich begünstigt wird. Wie Abbildung 4.6 nahelegt, zeigt häufig nur ein Bruchteil der abgeschiedenen Nanoröhren die gewünschte Ausrichtung auf dem Substrat. Zwar erweisen sich verhältnismäßig kleine Breiten oder Durchmesser wie beispielsweise $2\ \mu\text{m}$ für das Entstehen freihängender SWNTs als geeigneter.^[240] Allerdings nimmt damit einhergehend das Ausmaß einer unbeabsichtigten Anregung des zugrunde liegenden Substrats zu, was störende Hintergrundsignale zur Folge haben kann. Bei Verwendung der mit Gräben strukturierten Wafer ist deren Auftreten nahezu unausweichlich, wenn die Detektion nicht-konfokal erfolgt. Die eigentliche Messdurchführung ist hier ferner auf eine Epi-Anordnung beschränkt. Die mit Mikroperforationen versehenen Membranen erlauben hingegen eine Durchlichtgeometrie und erleiden auch keinen steten Hin-

tergrundbeitrag durch das Substrat. Aufgrund ihrer Materialstärke, welche im Submikrometerbereich liegt, sind sie jedoch einer mechanischen Beanspruchung gegenüber empfindlicher. Mit beiden Strukturen sind somit Vor- und Nachteile verbunden, die es in der Praxis je nach Anwendung abzuwägen gilt.^[241,242]

Ein kritischer Parameter bei der Durchführung von SEM-Messungen ist die Beschleunigungsspannung, welcher der zur Abrasterung dienende Elektronenstrahl ausgesetzt wird. Zwar ist die kinetische Energie der auf die Probe fokussierten Elektronen weitaus geringer als bei Transmissionsmessungen.^[243] Bei typischen Werten von einem Kilo-elektronenvolt wie im vorliegenden Fall ist dennoch von einer Beschädigung der Nanoröhren auszugehen,^[244] was den Verlust ihres halbleitenden Charakters einschließlich des Ausbleibens der Photolumineszenz zur Folge hat. Aus diesem Grund sollte eine SEM-Charakterisierung nur exemplarisch durchgeführt werden, was bei konstanten Bedingungen eines CVD-Probenlaufs auch ausreichend erscheint. Eine chirale Zuordnung basierend auf den hier gezeigten Aufnahmen ist nicht möglich, da der Durchmesserbereich einwandiger Kohlenstoffnanoröhren in der Größenordnung der elektronenmikroskopischen Auflösungsgrenze liegt.^[245] Eine PLE-spektroskopische Identifizierung ist daher aufgrund der begrenzten Selektivität des Wachstumsprozesses angeraten.

4.3 Ergebnisse der Einzelmolekülstudien

Wie in den vorangegangenen Ausführungen zum Ausdruck gebracht, beruht die fluoreszenzmikroskopische Charakterisierung der DNA-SWNT-Wechselwirkung auf einem Zusammenwirken verschiedener experimenteller Arbeitstechniken. Die mikrofluidische Umgebung, innerhalb derer individualisierte und zum Teil freihängende Nanoröhren vorliegen, bildet den Rahmen für die Adsorption farbstoffmarkierter Oligonukleotide. Der folgende Abschnitt soll die hierbei gewonnenen Erkenntnisse zusammenfassen:

4.3.1 Photolumineszenz farbstoffmarkierter DNA-Oligomere

Um der Pixelgröße von $6.45\ \mu\text{m}$ der verwendeten CCD-Kamera gerecht zu werden,^[206] wird für die Fluorophordetektion ein Objektiv mit 20x Abbildungsmaßstab gewählt. Der Referenzbrennweite des Herstellers Olympus entsprechend wird damit eine Gegenstandsgröße von etwa $0.3\ \mu\text{m}$ auf ein Kamerapixel abgebildet. Dies entspricht folglich weniger als dem halben Wert des nach Gleichung 2.18 berechenbaren Auflösungskriteriums, welches im vorliegenden Fall ca. $800\ \text{nm}$ beträgt. Allerdings muss dieses zur Erfüllung des Nyquist-Theorems gerade um einen Faktor zwei unterschritten werden.^[126] Eine darüber hinausgehende Objektivvergrößerung ist jedoch als nicht mehr förderlich

zu erachten. Der quadratisch mit der Numerischen Apertur steigenden Lichtsammel­fähigkeit steht eine ebenfalls quadratisch mit der Objektivvergrößerung beleuchtete Sensorfläche und damit auch Pixelanzahl gegenüber. Da die NA, wie Abbildung 2.8 zu entnehmen ist, degressiv mit der Maßstabszahl wächst, nimmt das Signal-Rausch-Verhältnis somit effektiv ab. Ferner ist der auf die Kamera abgebildete Probenausschnitt verringert, was gerade bei der Aufnahme von Übersichtsbildern nachteilig ist.

Um eine präferenzielle DNA-Anlagerung an die SWNT-Oberfläche zu gewährleisten, die prinzipiell mit dem Agarose- bzw. Siliziumsubstrat um das Adsorptiv konkurriert, kommen DNA-Oligomere mit alternierenden Guanin-Thymin-Einheiten zum Einsatz. Sie zeigen bei der Dispersion von Kohlenstoffnanoröhren eine vergleichsweise hohe Affinität.^[246] Die sich formierenden Konjugatstrukturen weisen eine homogene Ladungsdichte auf, was auf einen wohldefinierten Konformationsraum schließen lässt.^[247] Auch in der Dichtegradientenultrazentrifugation haben sich solche Sequenzen bewährt.^[248] Sind die Oligomere ausreichend lang, können die Suspensionen filtriert und resuspendiert werden, ohne dass spektrale Veränderungen in der Absorption und Photolumineszenz aufgrund einer möglichen Aggregation auftreten.^[209] Im vorliegenden Fall wird deshalb ein aus zwölf Guanin-Thymin-Einheiten bestehendes Oligonukleotid verwendet. An dessen 5'-Ende befindet sich der kovalent gebundene Fluoreszenzfarbstoff 6-Carboxyfluorescein, was der Literatur entsprechend in der Gesamtheit als d(GT)₁₂-6-FAM bezeichnet wird.^[249] Abbildung 4.7 zeigt eine mit Löchern versehene Membran, die in mikrofluidischer Umgebung mit jenem Oligomer versetzt worden ist:

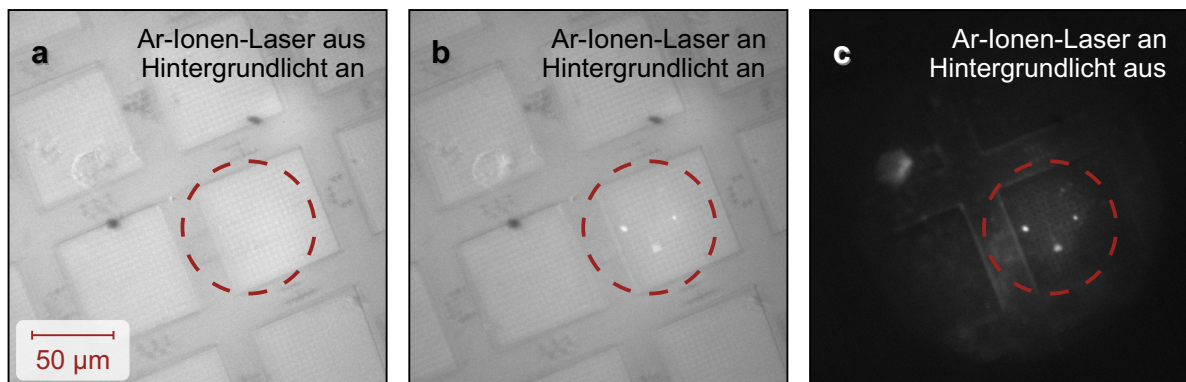


ABB. 4.7: CCD-Aufnahmen der mikrostrukturierten Membran. Der Lochdurchmesser beträgt 2 µm. a) Bei eingeschalteter Laborbeleuchtung wird das an der Substratoberfläche reflektierte Licht detektiert. b) Schaltet man den Argon-Ionen-Laser ein, erscheinen innerhalb des zentral beleuchteten Planquadrats diskrete Stellen mit erhöhter Helligkeit. c) Bei Abwesenheit des gestreuten Umgebungslichts ist der Kontrast verbessert.

Der in Abbildung 4.7 kenntlich gemachte Bereich mit lokalen Intensitätszunahmen muss von einer dort herrschenden Konzentrationserhöhung des funktionalisierten Oligonukleotids herrühren, was als Indiz für die grundsätzliche Anwendbarkeit des in

4 Einzelmolekülmessungen in mikrofluidischer Umgebung

Abschnitt 4.1 dargelegten Konzepts zur Bestimmung des Adsorptionsausmaßes gelten kann. Trotz Abwesenheit unspezifischen Umgebungslichts kann die Membranstruktur nach wie vor mikroskopisch erfasst werden. Insbesondere gilt dies für ihre Längs- und Querverstrebungen. Zwar stellt eine Filterkombination weitestgehend sicher, dass kein Anregungslicht auf den Kamerasensor fällt. Durch Raman-Streuung bathochrom verschobenes Reflexionslicht kann dennoch nicht ausgeschlossen werden. Systematische Mikrofluidikstudien sind aufgrund der Rissanfälligkeit der Membran bislang nicht möglich. Als Alternative werden daher – trotz der erwähnten Einschränkungen – in Agarosegel immobilisierte SWNTs in Betracht gezogen. Als Adsorptiv dient auch hier die aus 24 DNA-Basen bestehende Sequenz alternierender Guanin-Thymin-Einheiten mit einer 6-FAM-Fluorophorverknüpfung. Abbildung 4.8 stellt die Ergebnisse vor:

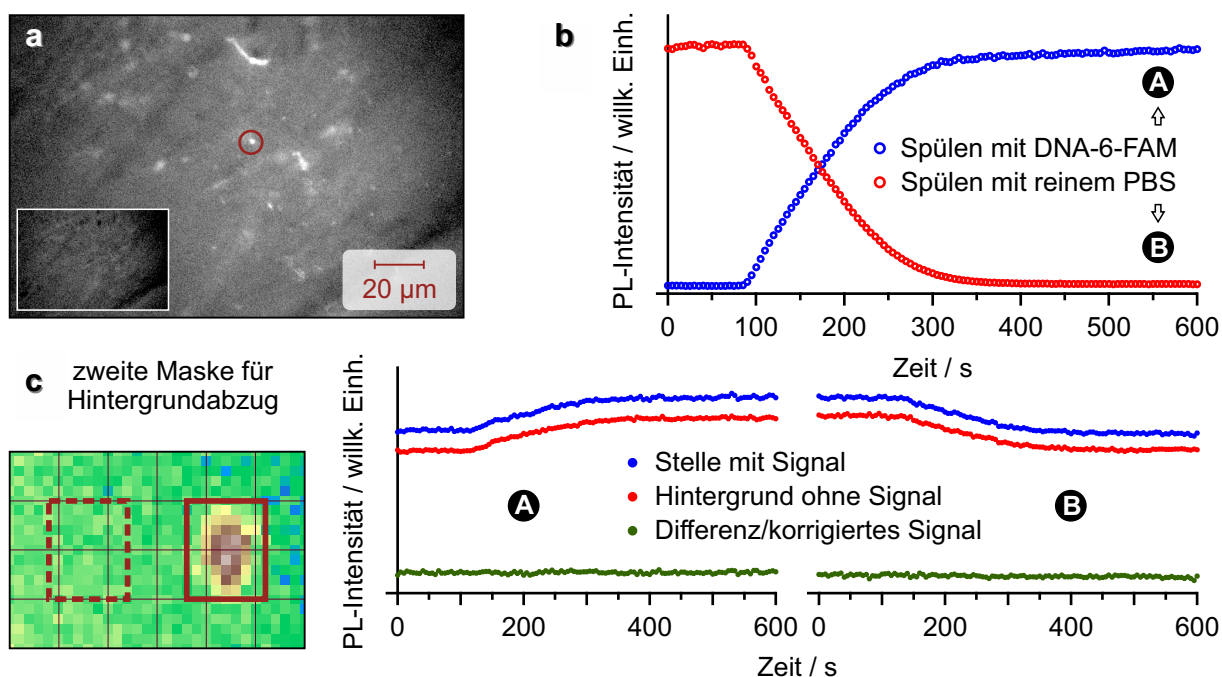


ABB. 4.8: Mikrofluidikstudien in Agarosegel. a) Auch hier zeigen sich diskrete Stellen mit erhöhter Fluoreszenzintensität. Zum Vergleich dient eine Aufnahme bei ausgeschaltetem Laser. b) Aus sukzessiv aufgenommenen PL-Bildern lassen sich die Zeitprofile an einer beliebigen Probenstelle extrahieren. c) Ein Hintergrundabzug ist erforderlich, um dem in der Probenkammer noch frei vorliegenden Adsorptiv Rechnung zu tragen.

Wie die Zeitprofile vermuten lassen, spiegelt sich in ihnen die Kinetik des Spülvorgangs wider. Ein geeigneter Hintergrundabzug ist bei der Interpretation der Fluoreszenzmikroskopiestudien daher unerlässlich. Bei den Agaroseproben kann hierzu im einfachsten Fall eine optisch dunkle Referenzmaske identischer Pixelanzahl dienen, die aufgrund der Gaußschen Anregungscharakteristik in unmittelbarer Nähe des interessierenden Objekts liegen sollte. Um störende Einflüsse der Mikrofluidikpumpe auf den Messvorgang größtenteils zu reduzieren, sollten sich die Zuflüsse der Flüssigkeitsreservoirs nahe der Probe befinden, um bei einem Wechsel der Spritzenkanäle keinen Mischvorgang

zu induzieren. Der sich in der Praxis sowohl anregungs- als auch detektionsseitig realisierbare Konzentrationsbereich des farbstoffmarkierten Oligonukleotids reicht von 10^{-7} bis 10^{-5} mol L⁻¹. Trotz permanenten Spülens mit reinem Phosphatpuffer erscheint das korrigierte Fluoreszenzsignal des hier verwendeten Tetracosamers über die Gesamtdauer der Messung nahezu unverändert, was einen irreversiblen Adsorptionsvorgang bedeuten würde. Auch die PL-Aufnahmen legen dies nahe. Stellen, die eine lokal erhöhte Helligkeit aufweisen, bleiben nach dem Spülen mit PBS weiterhin sichtbar.

Im Falle der lithographisch mit Vertiefungen strukturierten Siliziumwafer gestaltet sich die Korrektur der PL-Mikroskopaufnahmen komplizierter. Der Hintergrundabzug kann hier nicht durch Differenz einer in Nachbarschaft liegenden Referenzmaske erfolgen, da sich jene aufgrund der unterschiedlichen Helligkeit der Gräben und Stege, wie sie Abbildung 4.9 zum Ausdruck bringt, als ungeeignet erweist:

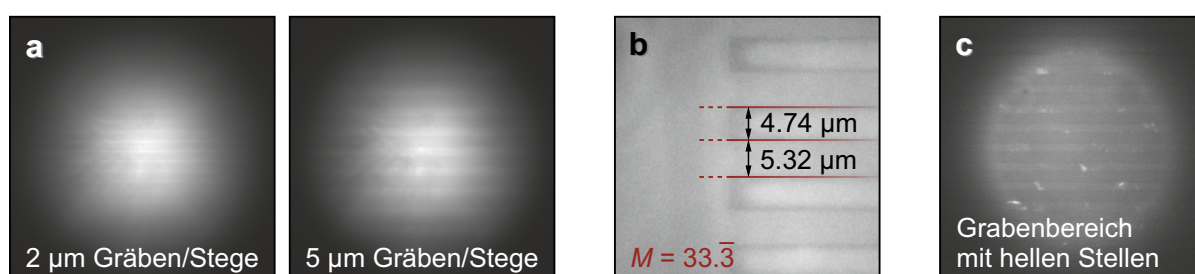


ABB. 4.9: CCD-Aufnahmen des mikrostrukturierten Siliziumwafers. a) Das die Gräben und Stege repräsentierende Streifenmuster wird deutlich sichtbar, sobald sich in der Probenkammer die mit 6-FAM funktionalisierte DNA befindet. b) Bei bekannter Vergrößerung kann die Breite der Streifen bestimmt werden. c) Wird der MF-Chip mit Phosphatpuffer gespült, bleiben diskrete Stellen mit erhöhter Intensität zurück.

Neben den Vertiefungen mit 2 µm und 5 µm besitzen die Siliziumwafer noch einen dritten Bereich. In diesem befinden sich Gräben und Stege mit einer Abmessung von 10 µm, welche jedoch praktisch keine freihängenden Nanoröhren aufweisen, wie die SEM-Messungen zeigen. Obwohl die Dimensionen der Stege und Gräben äquidistant sind, suggerieren die Fluoreszenzaufnahmen eine etwas geringere Breite bei den Vertiefungen. Letztere weisen auch eine erhöhte Helligkeit auf, was sich durch die Ansammlung von Fluorophoren in den Kavitäten erklären lässt. Die für eine quantitative Auswertung geeigneten leuchtenden Stellen liegen in Bereichen der Grabenstruktur, was zumindest eine Überbrückung andeutet. Der Hintergrundabzug erfolgt nun durch lineare Interpolation, die auf einer Anpassung der horizontalen oder vertikalen Ränder der Pixelmaske beruht. Auch hier muss für eine erfolgreiche Korrektur die lumineszierende Signalstelle ortsfest bleiben, was im Falle der lithographisch behandelten Wafer nicht immer gewährleistet ist. Durch die beim Flüssigkeitszufluss herrschende Krafteinwirkung kann es zu einem Wegspülen der Farbstoffagglomerate kommen. Um das Risiko einer Ablösung vom Substrat zu minimieren, wird die Mikrofluidikpumpe

4 Einzelmolekülmessungen in mikrofluidischer Umgebung

ausgeschaltet, nachdem bei einem Wechsel der Spülflüssigkeit das neue Medium die Probenkammer erreicht hat. Bei der Untersuchung des Desorptionsvorgangs bedeutet dies, dass der Zufluss eingestellt wird, sobald die reine PBS-Lösung in den zuvor mit farbstoffmarkierten Oligomeren gefüllten Mikrofluidikchip eintritt. Eine plötzliche Abnahme der Kamerahelligkeit dient hierbei als Indikator. Abbildung 4.10 zeigt den Verlauf einer so durchgeführten Kinetikstudie auf:

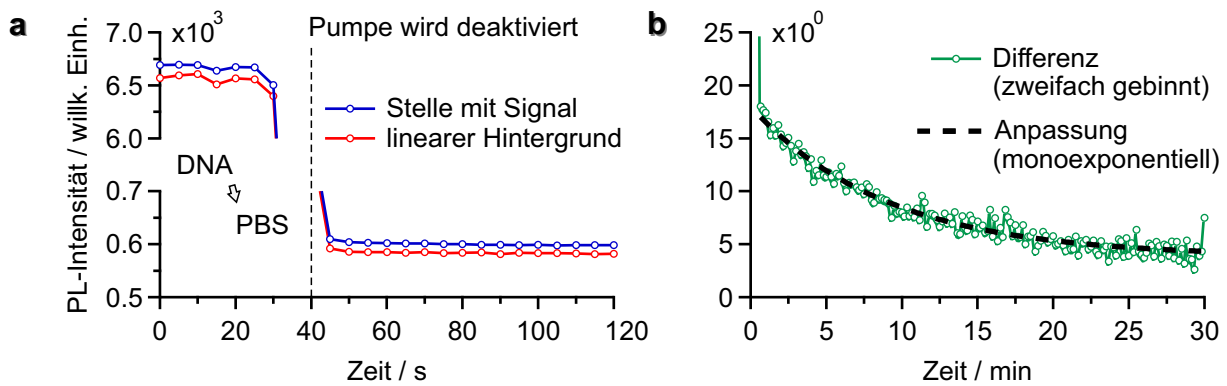


ABB. 4.10: Zeitprofile des Desorptionsvorgangs an einem Si-Wafer mit Vertiefungen. a) Vor der eigentlichen Messung ist der Mikrofluidikchip mit $d(\text{GT})_{16}$ -6-FAM versetzt worden. Dargestellt ist der Anfangsbereich nach Beginn des PBS-Zuflusses und dem Anhalten der Pumpe. b) Das um den Hintergrundbeitrag korrigierte Signal zeigt einen stetigen Abfall und kann mit einer Exponentialfunktion angepasst werden. Es sei hier auf die unterschiedlichen Zeitskalen und PL-Intensitätsachsen hingewiesen.

Nach Beenden des PBS-Zuflusses strebt das Sorptionsverhalten erneut seinem Gleichgewichtszustand entgegen. Eine monoexponentielle Anpassung des korrigierten Fluoreszenzsignals ergibt eine Zeitkonstante von $\tau \approx 9$ min bei 20°C . Insgesamt fällt es um etwa 80 % gegenüber seinem Anfangswert ab, was darauf schließen lässt, dass ein Fünftel aller adsorbierten Oligomere auf der Oberfläche verbleiben. Für die Kolloidstabilität von mit Oligonukleotiden dispergierten Nanoröhren erscheint dies den Erfahrungen nach ausreichend, wenn der DNA-Strang, wie im Falle des hier verwendeten $d(\text{GT})_{16}$ -6-FAM, genügend lang ist. Dies gilt auch bei anhaltendem Spülen mit Pufferlösung. Die lokal leuchtenden Stellen bleiben weiterhin fluoreszenzmikroskopisch sichtbar. Dementsprechend muss den Adsorptionsplätzen ein heterogener Charakter zugesprochen werden. Bei einer hohen Belegung, wie sie zu Beginn des Desorptionsexperiments durch den Überschuss an Adsorptivlösung in der Probenkammer gewährleistet sein sollte, kommen sich einzelne Oligomere sterisch nahe, was zu repulsiven elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen ihnen führt. Die Freisetzung des Großteils an adsorbierten Oligomeren ist die Folge, wenn in der Umgebung kein gegenläufiger Zwang durch eine hohe Adsorptivkonzentration ausgeübt wird. Das hier bestimmte Adsorptionsausmaß steht im Einklang mit den Ergebnissen der im Arbeitskreis Hertel entwickelten Methode zur Bestimmung der DNA-SWNT-Belegung, die auf der Positi-

onsänderung spektraler Banden durch Tensidzugabe beruht.^[209] So erfährt eine mit der gleichen, allerdings unfunktionalisierten Basensequenz dispergierte und mittels DGU gereinigte (6,5)-SWNT-Probe eine hypsochrome Verschiebung von einigen Nanometern, wenn sie mit Natriumcholat versetzt wird.^[71] Ein Vergleich der resultierenden Absorptionswellenlänge mit denjenigen der nur DNA oder SC enthaltenden Nanorohrsuspensionen zeigt, dass stabile d(GT)₁₆-SWNT-Hybride einen Bedeckungsgrad von etwa 20 % aufweisen.

Anstelle von Einzelmolekülstudien lässt sich das Desorptionsverhalten von Biopolymeren auf Nanorohroberflächen auch mit Hilfe von Ensemblemessungen untersuchen. Im Arbeitskreis Hertel durchgeführte Verdünnungsexperimente bestätigen die hier bei Raumtemperatur festgestellte hohe Stabilität der DNA-SWNT-Konjugate, wenn man von kurzen Oligomeren mit wenigen repetitiven Einheiten absieht.^[250]

4.3.2 Photolumineszenz freihängender Kohlenstoffnanoröhren

Um sicherzustellen, dass die detektierten Farbstoffansammlungen ihren Ursprung in einer Anlagerung auf den SWNTs haben, werden die zu untersuchenden Proben einer PL-Charakterisierung im Nahinfrarotbereich unterzogen. Wie auch bei der Detektion der farbstoffmarkierten Oligonukleotide kann diese fluoreszenzmikroskopisch erfolgen, was jedoch eines InGaAs-Sensors bedarf. Abbildung 4.11 zeigt exemplarisch NIR-Aufnahmen eines lithographisch behandelten Siliziumwafers und einer Lochmembran, die zuvor einer chemischen Gasphasenabscheidung unterzogen worden sind:

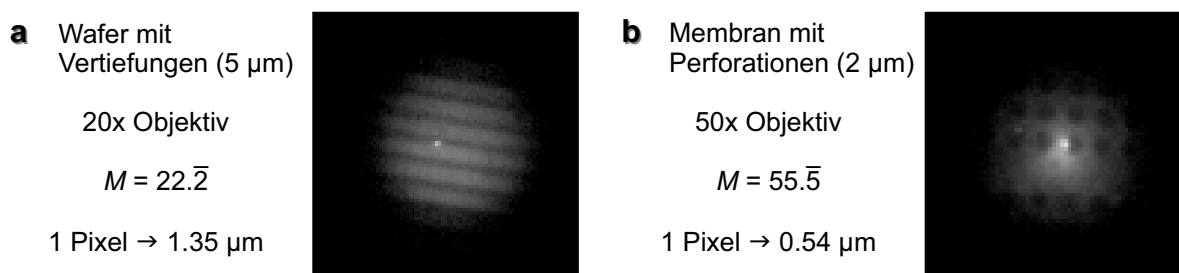


ABB. 4.11: PL-Mikroskopaufnahmen freihängender SWNTs. Sowohl im Falle a) des Wafers als auch b) der Membran lässt sich neben der detektierten Nanoröhre auch die Substratstruktur erfassen, was die systematische Untersuchung der Proben erleichtert.

Im Gegensatz zu den Fluoreszenzmikroskopaufnahmen des DNA-gebundenen Farbstoffs stellen die hellen Streifen nicht die Vertiefungen, sondern die Substratoberfläche dar. Anders als bei den SEM-Messungen werden hier auch keine auf dem Substrat liegenden Nanoröhren beobachtet, was auf die nicht-strahlende Desaktivierung angeregter Exzitonen an den Auflagepunkten zurückzuführen ist.^[251] Demnach kann bei den

4 Einzelmolekülmessungen in mikrofluidischer Umgebung

PL-mikroskopisch erfassten SWNTs tatsächlich von einem freihängenden Zustand ausgegangen werden. Da die Kenntnis der Nanorohrchiralität für die quantitative Interpretation von Adsorptionsexperimenten unerlässlich ist, gerade im Hinblick auf thermodynamische Parameter wie Gleichgewichtskonstanten und Adsorptionenthalpien, reicht die Aussagekraft der Mikroskopaufnahmen allein nicht aus. Zwar kann durch Variation der Anregungswellenlänge ein erster Eindruck über das Absorptionsfenster der untersuchten Nanorohrspezies gewonnen werden. Aufgrund der Leistungsabhängigkeit der Lichtquelle wie auch der Quanteneffizienz des Kameradetektors bleibt dieser allenfalls qualitativ. Dementsprechend werden die Proben zugleich PLE-spektroskopisch vermessen, um eine chirale Zuordnung zu ermöglichen. Abbildung 4.12 zeigt die spektrale Charakterisierung der zu oben dargestellter Lochmembran gehörenden Nanoröhre:

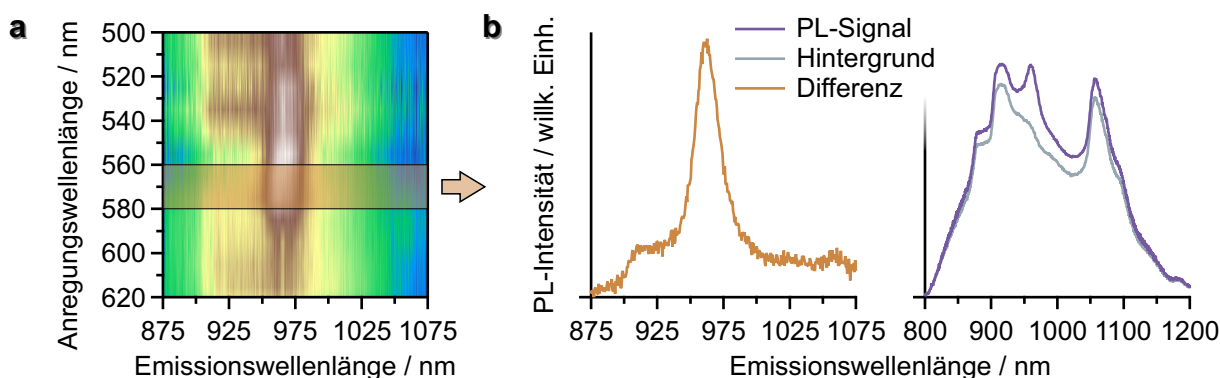


ABB. 4.12: Spektral aufgelöste Photolumineszenz einer freihängenden Nanoröhre. a) Die PLE-Karte ist bereits hintergrundkorrigiert. b) Das für den Anregungsbereich von 560 bis 580 nm gezeigte PL-Spektrum lässt auf eine (6,5)-Nanoröhre schließen.^[66] Das anregungsseitige Wellenlängeninkrement beträgt 10 nm.

Die hier beobachtete Blauverschiebung in Bezug auf kolloidale Suspensionen ist charakteristisch für freihängende SWNTs, was als weiterer Beleg für eine Überbrückung im vorliegenden Fall dient.^[252] Wie den PL-Daten zu entnehmen ist, erschwert der vom Substrat stammende Hintergrundbeitrag die unmittelbare Auswertung, obwohl bei einem Wechsel vom Kamera- zum Spektrometerkanal die aufweitende Linse aus dem Strahlengang gemäß Abbildung 2.12 entfernt wird. Entsprechend muss an einem Referenzpunkt eine zweite PLE-Karte zur nachträglichen Subtraktion aufgenommen werden. Ein konfokaler Detektionsweg könnte prinzipiell eine Verbesserung bewirken. Durch die Konstruktion des Mikroskops ist dies von Seiten des Herstellers allerdings nicht angedacht.

5 Untersuchung elektronenbestrahlter Siliziumcarbidproben

Zur Validierung des im Rahmen der vorliegenden Dissertation entwickelten spektrofluorimetrischen Mikroskopaufbaus sollen neben Kohlenstoffnanorohrproben auch andere Nanomaterialien herangezogen werden. Ein Vertreter, dem im Weiteren das Interesse gilt, stellt mit Defektzentren behaftetes Siliziumcarbid dar.^[253] Das räumliche Ausmaß der auch Lumineszenz zeigenden Defektstellen, welche aufgrund ihrer Spineigenschaften für quantentechnologische Anwendungen von Relevanz sind,^[254] beschränkt sich innerhalb der zugrunde liegenden Elementarzelle auf einen lokal begrenzten Bereich. Letztlich kann dieser der Größenordnung eines Gitterplatzes entsprechen, worin sich der nanoskopische Charakter des kristallinen SiC-Festkörpers manifestiert. Bei den hier untersuchten Proben, die aus einer Kooperationsarbeit mit der Arbeitsgruppe um Prof. Vladimir Dyakonov (Physikalisches Institut, Universität Würzburg) stammen, handelt es sich um Siliziumcarbid mit Siliziumfehlstellen. Im Folgenden werden diese Defektzentren gemäß der Literaturbenennung als V_{Si} bezeichnet.^[255] Zur Erzeugung der Defekte ist epitaxisch gewachsenes 4-H-Siliziumcarbid, welches in Form von Schichten auf einem Wafer identischen Polytyps vorliegt, zuvor einem hochenergetischen Elektronenstrahl ausgesetzt worden. Gegenstand der hier durchgeführten Charakterisierung ist die Fragestellung, ob durch Variation der Bestrahlungsdosis Einzeldefekte generiert werden können und diese auch als Einzelphotonenemitter in Erscheinung treten.

5.1 Räumliche, spektrale und zeitliche Charakterisierung

Die optische Analyse der V_{Si} -Defektstellen beruht auf der Herangehensweise, wie sie auch für die Studie der DNA-SWNT-Konjugate verwendet wird. Dementsprechend erfolgt zunächst die fluoreszenzmikroskopische und -spektroskopische Untersuchung der Proben. Der Einsatz der Superkontinuumlichtquelle ermöglicht dabei die PLE-basierte Optimierung des Anregungsfensters. Ferner erlaubt der Weißlichtlaser die Vermessung des Emissionszerfalls, solange die Lebensdauer der angeregten Defektzentren mit Impulsfolgefrequenz und Zeitauflösung der Lichtquelle in Einklang steht. Die für die

Durchführung der TCSPC-Messungen notwendigen Modifizierungen am Messaufbau werden im Folgenden erläutert.

5.1.1 Experimentelle Durchführung

Um die Lawinenphotodiode (PDM Serie, Mirco Photon Devices), welche neben der Messelektronik (HydraHarp 400, PicoQuant) das zentrale Modul bei der Aufnahme von PL-Zerfallskurven darstellt,^[256,257] möglichst ohne größere Änderungen in den bestehenden Aufbau zu integrieren, wird auf eine Fasereinkopplung zurückgegriffen. Hierdurch wird ferner eine konfokale Detektion des Emissionssignals ermöglicht, wodurch der die Lebensdauerbestimmung beeinflussende Hintergrundsignalbeitrag unterdrückt wird. Da der linksseitige Mikroskopausgang, an dem sich entweder die CCD- oder die InGaAs-Kamera befindet, zur Überprüfung der Probenposition und Fokusebene unverändert belassen werden soll, wird die Faserzuführung zu Lasten des spektralen Messkanals installiert. Die Eintrittsapertur der Multimodenfaser (Thorlabs, M15L01) befindet sich hierzu im Brennpunkt jenseits des rechten Ausgangsports, wie er in Abbildung 3.2 dargestellt ist. Der zum Spektrometer führende Strahlengang bleibt davon unberührt, die kollimierende Linse muss aufgrund ihrer ausreichend großen Brennweite nicht entfernt werden. Um die Austrittsapertur der MM-Faser in ihrem ganzen Umfang auf die mit 50 μm bemessene Eintrittsöffnung der APD abzubilden, wird eine verkleinernde Linsenkombination gewählt, bestehend aus den Brennweiten $f_1 = 6 \text{ cm}$ und $f_2 = 3 \text{ cm}$. Eine systematische Justierung der TCSPC-Messeinheit wird ermöglicht, indem die beiden Sammellinsen, wie auch der Adapter des Fasereingangs, mit einer in drei Dimensionen verstellbaren Halterung versehen werden. Zwecks Stabilisierung findet ein optisches Käfigsystem Verwendung, an dessen Ende sich die Lawinenphotodiode befindet. Im Unendlichstrahlengang können noch Filter implementiert werden.

5.1.2 Ergebnisse und Auswertung

Die Untersuchung der V_{Si} -Defektstellen umfasst wie bereits angedeutet unterschiedlich stark bestrahlte Substrate. Die einer Elektronendichte von $2.2 \cdot 10^{18} \text{ cm}^{-2}$ ausgesetzten Siliziumcarbidproben zeigen im Fluoreszenzmikroskop eine kontinuierliche Defektverteilung. Verringert man die Bestrahlungsdosis um zwei Größenordnungen, zeigen sich unter denselben Messbedingungen diskrete, allerdings in ihrer Form heterogene PL-Strukturen unterschiedlichen räumlichen Ausmaßes, die auf Agglomerationen einzelner Defektstellen schließen lassen. Mechanistisch betrachtet deutet dies daraufhin, dass die unmittelbare Umgebung eines Defekts aufgrund der durch den Teilchenbeschuss verursachten Störung der Gitterstruktur eine lokal erhöhte Wahrscheinlichkeit zur Aus-

bildung weiterer Defektzentren im Falle einer erneuten Elektronenkollision aufweist. Bei einer schrittweisen Verringerung der Bestrahlungsintensität ist demnach davon auszugehen, dass Einzeldefekte ohne begleitende Defektstellen in direkter Nachbarschaft erzeugt werden können. Wie Abbildung 5.1 zeigt, lässt sich dies erreichen, wenn das Dosisverhältnis bezogen auf den Ausgangswert um einen Faktor 10^{-3} verringert wird:

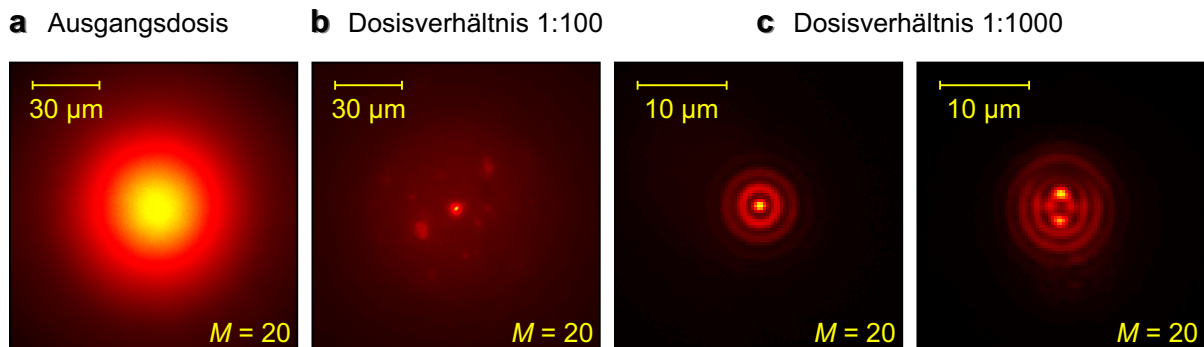


ABB. 5.1: PL-Mikroskopaufnahmen von mit unterschiedlichen Elektronendosen bestrahlten Siliziumcarbidproben. **a)** Bei der Ausgangsdosis liegt eine kontinuierliche Defektzentrenverteilung vor. **b)** Wird sie um zwei Größenordnungen verringert, lassen sich diskrete Fluoreszenzstrukturen erkennen. **c)** Bei einer Reduktion der Bestrahlungsintensität um weitere 90 % treten keine Defekttagglomerate mehr in Erscheinung.

Neben Einzeldefekten werden in Ausnahmefällen Doppeldefekte als Minoritätsspezies detektiert. Wie es für Strukturen unterhalb der Auflösungsgrenze charakteristisch ist, zeigen die PL-Mikroskopaufnahmen ein konzentrisches Interferenzmuster, welches den in Abschnitt 2.1.2 erwähnten Airy-Scheibchen gleicht. In der Praxis weicht die Intensitätsverteilung der Beugungsringe aufgrund von Abbildungsfehlern jedoch von den durch die Bessel-Funktion 2.13 gegebenen Werten ab, was in der sog. Punktspreizfunktion zum Ausdruck kommt. Diese beschreibt die Systemantwort einer der Bildgebung dienenden Apparatur auf die Emission einer punktförmigen Lichtquelle. Wird die PSF experimentell oder theoretisch bestimmt, kann mit Hilfe einer Dekonvolution der Bildinformation eine Korrektur der Aberrationen erfolgen und so die tatsächliche Form des abgebildeten Objekts rekonstruiert werden.^[258]

Betrachtet man die von einzelnen Defektstellen herrührenden Beugungsmuster näher, zeigt sich eine deutlich erhöhte Intensität der Nebenmaxima im Vergleich zum zentralen Airy-Scheibchen. Als ursächlich hierfür kann die sphärische Aberration des Objektivs gemacht werden.^[259] Ferner zeigen die Beugungsminima eine von null verschiedene Intensität. Beide Umstände wirken sich nachteilig auf das experimentell erreichbare Auflösungsvermögen aus. Nach Gleichung 2.18 erhält man bei einer Detektionswellenlänge von 900 nm für das hier verwendete 20x Objektiv (NA 0.45, Nikon) einen gegenstandsseitigen Mindestabstand von ca. 1.2 µm, was wiederum vier Pixel des CCD-Kamerasensors entspricht. Dieser Wert für den Mindestabstand zweier Objektpunkte

5 Untersuchung elektronenbestrahlter Siliziumcarbidproben

kann nur einen groben Anhaltspunkt darstellen. Der in Abbildung 5.1 gezeigte Doppeldefekt kann dennoch zweifelsfrei als ein solcher identifiziert werden. Die beiden Bildpunkte maximaler Helligkeit liegen hier ungefähr $2.7 \mu\text{m}$ auseinander und sind somit um mehr als einen Faktor zwei von der theoretischen Auflösungsgrenze entfernt.

Neben der Untersuchung der lateralen Punktstreifung anhand der ringförmigen Beugungsstruktur erlauben die Einzeldefektstellen auch eine axiale Bestimmung der Systemantwort. Mit Hilfe des piezoelektrisch geregelten Nanopositionierers kann die SiC-Probenposition in definierten Schritten geändert und so der Anregungsfokus vertikal durch das untersuchte Defektzentrum bewegt werden. Da die hierfür notwendige Messprozedur im Ansatz mit derjenigen, die bei der Aufzeichnung von PLE-Karten zum Einsatz kommt, identisch ist, sollen hierbei nicht PL-Mikroskopaufnahmen, sondern PL-Spektren als Indikator herangezogen werden. Letztere können unter Zuhilfenahme der LabVIEW-Routine aufgezeichnet und analog zu den PLE-Messungen mit Hilfe des in IGOR Pro geschriebenen Ladeprogramms ausgewertet werden. Lediglich das Verfahren des Piezotisches und das Starten der Messungen muss händisch erfolgen. Die so erhaltene Signaturkarte der Schärfentiefe lässt sich anschließend für jede beliebige Wellenlänge einer Anpassung unterziehen. Dem Konzept der Gaußschen Strahlenoptik folgend sollte diese auf Grundlage einer Lorentz-Funktion geschehen. Deren Halbwertsbreite entspricht dann nach Gleichung 2.21 der zweifachen Rayleigh-Länge. Abbildung 5.2 fasst die Ergebnisse der axialen und lateralen Charakterisierung zusammen:

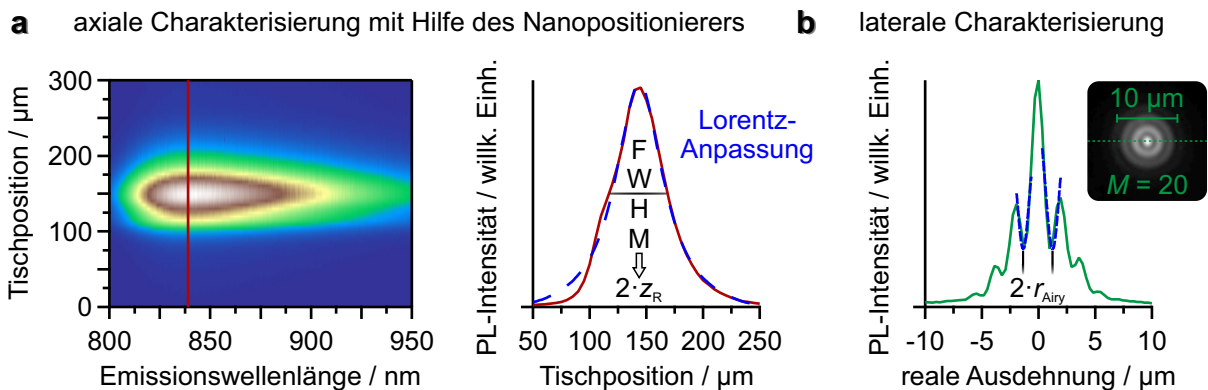


ABB. 5.2: Systemantwort des abbildenden Systems auf die spontane Emission eines lumineszierenden SiC-Einzeldefekts. a) Die spektroskopisch durchgeführte Analyse des axialen Fluoreszenzverhaltens erfolgt durch Verschieben des Nanopositionierers in Inkrementen von $5 \mu\text{m}$. Ein vertikaler Schnitt durch das Konturdiagramm ist exemplarisch dargestellt. b) Die laterale Analyse anhand der PL-Mikroskopaufnahme zeigt die erwähnten Intensitätsabweichungen im Vergleich zu Abbildung 2.7.

Aus der Lorentz-Anpassung ergibt sich für die Rayleigh-Länge z_R ein Wert von $25.8 \mu\text{m}$. Wie in Abschnitt 2.1.2 erwähnt, umfasst diese das halbe Ausmaß des anregungsseitigen Brennpunkts in axialer Dimension. Entsprechend muss bei einer rechnerischen Ab-

schätzung, wie sie nach Gleichung 2.23 erfolgen kann, die an der Superkontinuumquelle eingestellte Zentralwellenlänge von 510 nm eingesetzt werden. Damit erhält man bei einer Objektivbrennweite von 1 cm für die Rayleigh-Länge $z_R = 22.5 \mu\text{m}$. Der ebenfalls in die Rechnung einfließende und dem Datenblatt des Herstellers zu entnehmende Wert für die Strahlhalbwertsbreite von 1 mm ist dabei als obere Grenze anzusehen,^[103] womit der berechnete Wert sich dem experimentell bestimmten nähert. Bei der Diskussion des axialen Auflösungsvermögens, welches auch hier von dem durch Beugung an der Objektivapertur entstehenden Interferenzmuster abhängt, muss naturgemäß die Emissionswellenlänge herangezogen werden. Für die Auflösungsgrenze in axialer Richtung ergibt sich schließlich ein Ausdruck,^[260] der dem aus Gleichung 2.18 ähnelt:

$$\text{axiale Auflösung: } x_{\min(G)} = 2 \cdot \frac{\lambda_0 \cdot n}{\text{NA}^2} \quad \text{laterale Auflösung: } x_{\min(G)} = 0.61 \cdot \frac{\lambda_0}{\text{NA}} \quad (5.1)$$

Man erhält als minimalen axialen Objektastand einen Wert von $8.9 \mu\text{m}$. Dieser stellt demnach die beugungsbedingte Untergrenze dar, die ein nicht-konfokal arbeitendes PL-Mikroskop unter idealen Bedingungen noch aufzulösen im Stande ist. Voraussetzung hierfür ist jedoch, dass die Schärfentiefe das Auflösungskriterium nicht überschreitet. Wie Abbildung 5.2 andeutet, erlauben die bei Raumtemperatur durchgeführten PL-Messungen keine spektrale Charakterisierung der Null-Phonon-Übergänge, wie dies unter kryostatischen Bedingungen möglich wäre.^[261] Anstelle diskreter Linien sind die Spektren durch einen breitbandigen Emissionsbereich gekennzeichnet. Stellt man das Emissionsprofil des zur Bestimmung der Rayleigh-Länge untersuchten Einzeldefekts dem Photolumineszenzverhalten der SiC-Probe mit kontinuierlicher Defektverteilung gegenüber, so tritt bei Letzterer eine signifikante Rotverschiebung hervor:

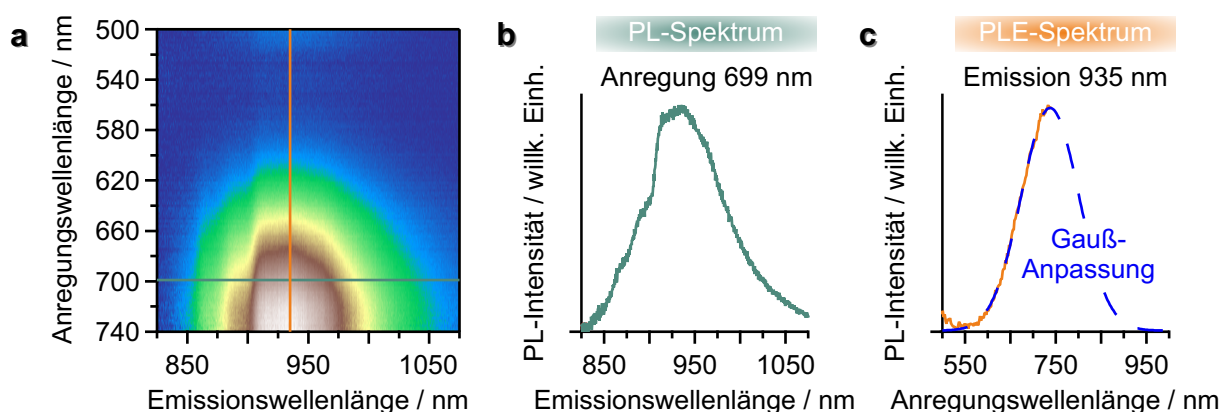


Abb. 5.3: PLE-Analyse der mit der höchsten Elektronendosis bestrahlten SiC-Probe. a) PLE-Karte und b) PL-Spektrum zeigen auch hier ein Ausbleiben von ZPL-Signalen. c) Die Anpassung des PLE-Spektrums erlaubt die Bestimmung des Absorptionsmaximums.

Wie die PLE-Karte der mit höchster Bestrahlungsdosis behandelten SiC-Probe aufzeigt, lässt sich bei einer Anregungswellenlänge von 500 bis 520 nm ein schwacher Signalbei-

5 Untersuchung elektronenbestrahlter Siliziumcarbidproben

trag erkennen. Er kann tendenziell mit der Anregung von Einzeldefektzentren in Einklang gebracht werden und entgeht bei einer kontinuierlichen Defektzentrenverteilung nahezu der Detektion. Ein Erklärungsansatz für das abweichende Absorptions- und Emissionsverhalten kann in der lokal geänderten Umgebung liegen, die sich bei einer hohen Defektdichte einstellt. So können neben den eigentlich bezweckten V_{Si} -Defekten auch kohlenstoffhaltige Fehlstellen anwesend sein.^[255] Das spektrale Gewicht einzelner Signalbeiträge zeigt sich auch in dem exemplarisch dargestellten PLE-Spektrum aus Abbildung 5.3. Wird dieses einer Gauß-Anpassung unterzogen, lässt sich das Anregungsmaximum des Hauptsignalbeitrags abschätzen, welches jenseits von 750 nm liegt. Aufgrund des begrenzenden Strahlenteilers im PL-Mikroskop kann es jedoch nicht mehr verlässlich bestimmt werden. Bereits unterhalb seiner Kantenwellenlänge von 760 nm blockiert er merklich die Superkontinuumemission, was die Notwendigkeit einer Leistungskorrektur erneut unterstreicht. Das in Richtung NIR-Bereich zunehmende PLE-Signal lässt sich auch quantitativ untersuchen, indem die PL-Intensität als Funktion der Anregungsleistung aufgezeichnet wird. Letztere kann beispielsweise mit einem Gradientenfilter stufenlos angepasst und für die Messreihen variiert werden. Abbildung 5.4 fasst die Ergebnisse zweier verschiedener Anregungsintervalle zusammen:

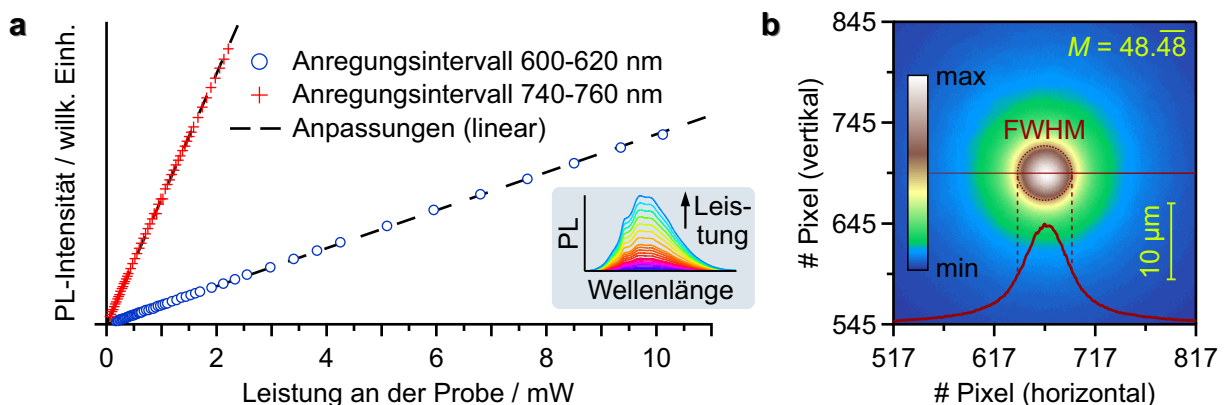


ABB. 5.4: Korrelation zwischen PL-Intensität und eingestrahelter Leistung. a) In beiden Anregungsbereichen liegt ein linearer Zusammenhang der Größen vor. Die Datenpunkte mit höchster Anregungsleistung sind mit der maximal zur Verfügung stehenden Emission der Superkontinuumquelle gemessen. b) Anstelle der Integration von PL-Spektren kann die Auswertung auch anhand von PL-Mikroskopaufnahmen erfolgen.

Die Leistungsmessung erfolgt mit einem hochaperturigen Objektiv (C-Apochromat, 40x, NA 1.20, Zeiss), um einen möglichst kleinen Anregungsfokus zu erhalten. Bestimmt man die Halbwertsbreiten der fluoreszenzmikroskopischen Emissionsprofile, lässt sich eine flächenbezogene Normierung durchführen. Daraus resultieren maximale Leistungsdichten von 20 kW cm^{-2} (600–620 nm) und 3 kW cm^{-2} (740–760 nm).^[262] Das fehlende Sättigungsverhalten im betrachteten Leistungsbereich legt nahe, dass die angeregten Defektzentren einen verhältnismäßig kleinen Absorptionsquerschnitt aufweisen.

Neben der räumlich und spektral aufgelösten Untersuchung der Fluoreszenzeigenschaften bedarf eine eingehende Charakterisierung der V_{Si} -Defektzentren noch der Bestimmung der Photolumineszenzlebensdauer. Um bei den TCSPC-Messungen ein fehlerhaftes Histogramm der registrierten Photonen zu vermeiden, wird im vorliegenden Fall die Impulsfolgefrequenz des Anregungslichts reduziert. Bezogen auf den Ausgangswert von $\nu_{PRF} = 80$ MHz umfasst die Superkontinuumquelle insgesamt 22 Abstufungen mit Teilungsverhältnissen zwischen 1:2 und 1:40. Um die Leistungseinbußen durch den Pulspicker nicht zu groß werden zu lassen, wird die Repetitionsrate auf 10 MHz eingestellt, was einem Detektionszyklus von 100 ns entspricht. Die Anregung erfolgt breitbandig und entspricht dem Wellenlängenbereich, wie er auch bei den PLE-Messungen vorliegt. Zur Aufnahme der Apparatefunktion dient das an einem Glasplättchen gestreute Licht mit $\lambda = 800\text{--}840$ nm, was dem langwelligen Ende des SuperK Varia-Filtermoduls entspricht.^[104] Abbildung 5.5 fasst die Ergebnisse graphisch zusammen:

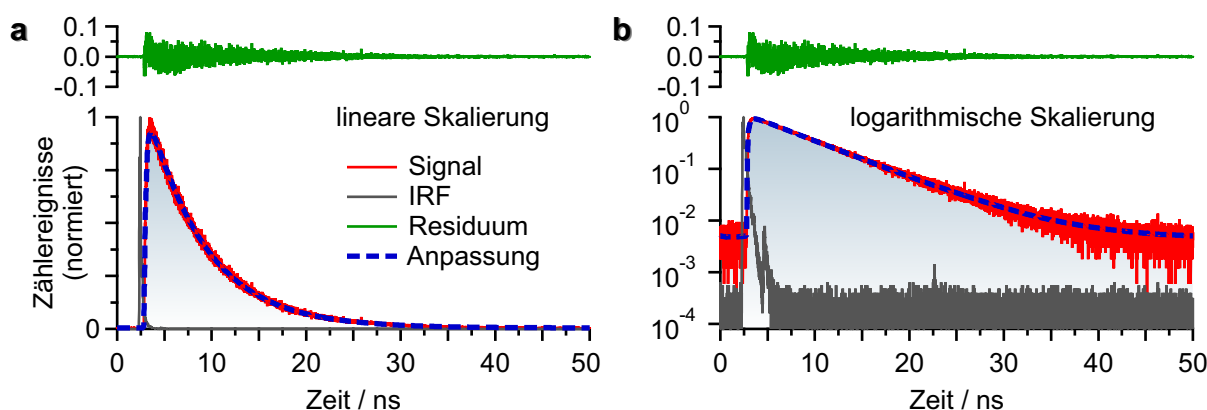


ABB. 5.5: Durch zeitkorreliertes Einzelphotonenzählen bestimmte PL-Lebensdauer von V_{Si} -Defekten in a) linearer und b) logarithmischer Skalierung. Dargestellt ist jeweils auch die einem exponentiellen Zerfall folgende Anpassung einschließlich des Residuums.

Die Auswertung der TCSPC-Messungen erfolgt durch Faltung der IRF mit einer den Photolumineszenzzerfall beschreibenden Modellfunktion und anschließender Iteration bezüglich des eigentlichen Messsignals. Wie Abbildung 5.5 zeigt, erhält man mit einem Monoexponentialterm eine zufriedenstellende Anpassung. Setzt man hingegen ein aus zwei Komponenten bestehendes Zerfallsverhalten voraus, wie es im Ansatz der erwähnten Heterogenität der V_{Si} -Defektzentren Rechnung tragen könnte, muss eine Wichtung der beiden Lebensdauern τ_1 und τ_2 erfolgen. Für den jeweiligen Vorfaktor f_i ergibt sich:

$$f_i = \frac{\int_{t=0}^{t \rightarrow \infty} I_i(t) dt}{\int_{t=0}^{t \rightarrow \infty} I_{\text{ges}}(t) dt} = \frac{\int_{t=0}^{t \rightarrow \infty} \alpha_i \cdot e^{-t/\tau_i} dt}{\int_{t=0}^{t \rightarrow \infty} \sum_j \alpha_j \cdot e^{-t/\tau_j} dt} = \frac{\alpha_i \cdot \tau_i}{\sum_j \alpha_j \cdot \tau_j} \quad (5.2)$$

Mit $I_i(t)$ ist der Exponentialterm einer Komponente und mit $I_{\text{ges}}(t)$ derjenige der zusammengesetzten Intensitätsfunktion gemeint. Die Wichtung beruht somit auf den endlichen Integralen der Zerfallskurven und nicht allein auf deren präexponentiellen Faktoren α_j .^[25] Für die mittlere Lebensdauer $\bar{\tau}$ erhält man schließlich folgenden Ausdruck:

$$\bar{\tau} = \sum_j^n f_j \cdot \tau_j = \sum_j^n \frac{\alpha_j \cdot \tau_j^2}{\sum_j^n \alpha_j \cdot \tau_j} = \frac{\sum_j^n \alpha_j \cdot \tau_j^2}{\sum_j^n \alpha_j \cdot \tau_j} \quad \text{mit } n = 2 \Rightarrow \bar{\tau} = \frac{\alpha_1 \cdot \tau_1^2 + \alpha_2 \cdot \tau_2^2}{\alpha_1 \cdot \tau_1 + \alpha_2 \cdot \tau_2} \quad (5.3)$$

Wie die quantitative Auswertung zeigt, folgt die mittlere Lebensdauer des Biexponenten dem Wert der monoexponentiellen Anpassung mit $\tau = 6.1$ ns. Dies lässt den Schluss zu, dass der angeregte V_{Si} -Defektzustand durch einen einzigen Zerfallskanal geprägt ist.

5.2 Studie des Photonenkorrelationsverhaltens

Die Kenntnis der Fluoreszenzlebensdauer ist nicht nur aus photophysikalischer, sondern auch aus quantenoptischer Sicht von Interesse, beschreibt sie doch das zeitliche Ausmaß, das zwischen der konsekutiven Emission zweier Lichtquanten liegt. Entsprechend spiegelt sie sich in der Signatur des Photonenflusses wider. Dessen Charakterisierung erlaubt schließlich eine Aussage über das Vorliegen von Einzelphotonenquellen.

5.2.1 Experimentelle Durchführung

Die Untersuchung des Photonenkorrelationsverhaltens erfolgt anhand eines Hanbury Brown–Twiss-Aufbaus, wie er in Abbildung 2.21 skizziert ist. Hierzu wird an den Synchronisationseingang des Hydreharp-Moduls eine weitere Lawinenphotodiode angeschlossen, welche schließlich als Startkanal fungiert. Sie ersetzt das gepulste Referenzsignal der Superkontinuumlichtquelle. Dieses wird nicht länger benötigt, da ein Messzyklus nicht wie bei einer TCSPC-Messung durch einen Anregungsimpuls initiiert wird, sondern durch ein an der ersten APD registriertes Fluoreszenzphoton. Die zweite APD wird mit einer Kabelschleife versehen, um eine elektronische Signalverzögerung hervorzurufen. Diese erlaubt nach Abschnitt 2.3.2 die Erfassung von Photonenpaarereignissen, welche im Stopkanal ausgelöst werden. Die Aufteilung des von der Multimodenfaser abgestrahlten Photonenflusses geschieht mit einem für den Nahinfrarotbereich optimierten Strahlenteiler (CM1-BP145B2, Thorlabs) mit näherungsweise äquivalentem Transmissions- und Reflexionsverhalten. Die Messdurchführung kann entweder im Sinne von Gleichung 2.56 oder 2.63 erfolgen. Im ersten Fall werden die absoluten An-

kunftszeiten aller Photonen gespeichert und einer Korrelation unterzogen. Im zweiten Fall wird lediglich die Häufigkeitsverteilung der Photonenpaarereignisse festgehalten. Die Vor- und Nachteile beider Vorgehensweisen werden im Folgenden erläutert.

5.2.2 Ergebnisse und Auswertung

Soll die Charakterisierung des Photonenflusses anhand der Korrelation von Intensitäten erfolgen, muss die Messung im TTTR-Modus durchgeführt werden, wie dies allgemein für Korrelationsstudien gilt. Prinzipiell stehen zwei verschiedene Einstellungen zur Verfügung, die als t_2 und t_3 bezeichnet werden. Der wesentliche Unterschied beider Varianten liegt in der Verarbeitung des Synchronisationssignals, welches wie erwähnt von einer der beiden Lawinenphotodioden stammt. Während bei einem definierten Referenzsignal ein relativer Zeitbezug ankommender Photonen möglich wäre, ist dies hier nicht der Fall. Aufgrund der Unvorhersagbarkeit einzelner Detektionsereignisse muss die Zeitinformation beider Kanäle gespeichert werden, was die Auswahl des t_2 -Modus bedingt.^[263,264] Beschränkt man sich bei der Untersuchung des Korrelationsverhaltens jedoch auf die Aufzeichnung einzelner Start-Stop-Koinzidenzen, bedarf es keiner Registrierung absoluter Ankunftszeiten, da die Messelektronik nach jedem Zyklus gewissermaßen wieder in den Ausgangszustand zurückgesetzt wird. Das Entstehen des Histogramms lässt sich dabei direkt verfolgen, während im TTTR-Modus das Korrelogramm im Anschluss an die Messung erst noch berechnet werden muss. Abbildung 5.6 zeigt die mit beiden Methoden erhaltenen Datensätze der maximal bestrahlten SiC-Probe:

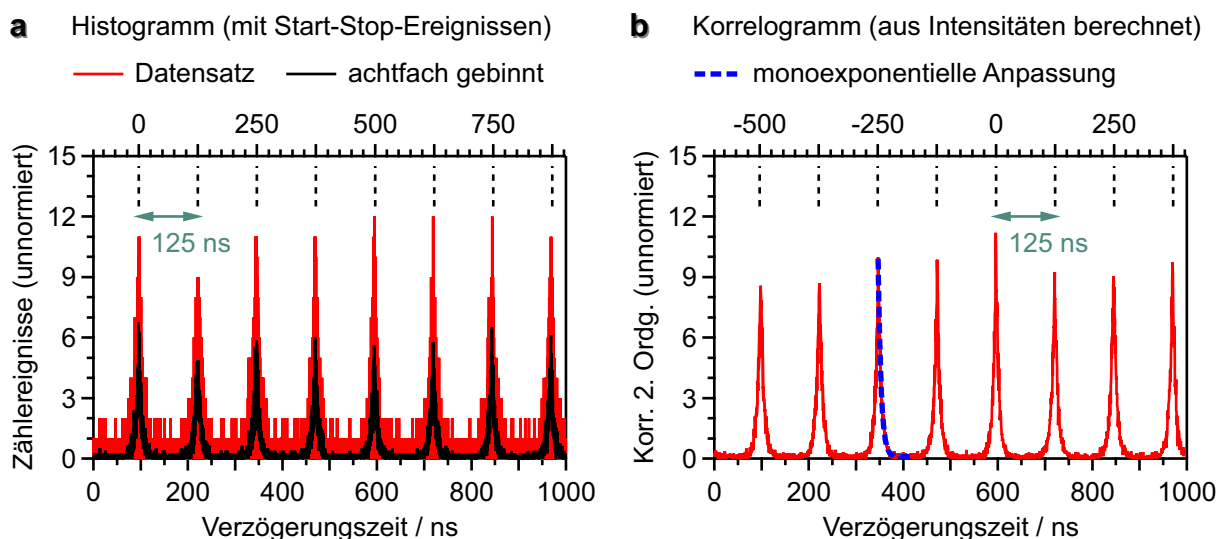


ABB. 5.6: Analyse des Photonenflusses der SiC-Probe mit kontinuierlicher Defektzentrenverteilung. a) Das Photonenpaarhistogramm und b) das Intensitätskorrelogramm sind unter identischen Messbedingungen aufgenommen. Man beachte die oberen Abszissenachsen, welche die tatsächliche Lage des Koordinatenursprungs repräsentieren.

Sowohl das Histogramm als auch das Korrelogramm lassen erwartungsgemäß auf eine Poisson-Statistik schließen, was durch die Homogenität der Kammstruktur ihren Ausdruck findet und durch die Anwesenheit mehrerer unabhängig voneinander angeregter Defektzentren erklärt werden kann. Im Steigungsverhalten der Korrelationsäste findet sich schließlich die PL-Lebensdauer des V_{Si} -Defekts wieder, was die monoexponentielle Anpassung eines exemplarisch gewählten Bereichs zeigt. Beiden Messmethoden ist gemein, dass sie der Korrelationsfunktion $g^{(2)}(\tau)$ proportionale, jedoch unnormierte Werte ergeben. Im Falle der Histogrammdarstellung stellt das Messergebnis den Zähler aus Gleichung 2.63 dar. Eine Normierung kann nach Kurtsiefer *et al.* erfolgen,^[265] indem die gemessene Häufigkeitsverteilung durch folgenden Ausdruck dividiert wird:

$$\langle n_{\text{Det.1}}(t) \rangle \langle n_{\text{Det.2}}(t + \tau) \rangle \equiv \text{Zählrate 1} \times \text{Zählrate 2} \times \text{Zeitinkrement} \times \text{Messdauer} \quad (5.4)$$

Aufgrund der Einteilung der Photonenpaarereignisse in endlich kleine Intervalle, wie sie eine Histogrammdarstellung erfordert, muss die Normierung dem Digitalisierungsschritt in diskrete Zeitinkremente Rechnung tragen, von denen das TCSPC-Modul insgesamt 2^{16} unterscheiden kann. Der Wert eines solchen Inkrements kann dabei ein Vielfaches der Auflösungsgrenze betragen, die bei einer Pikosekunde liegt.^[257] Entsprechend lässt sich der Umfang des zu untersuchenden Verzögerungsbereichs anpassen. Die beiden Zählraten werden während der Messung in stets aktualisierter Form angezeigt. Gerade bei längeren Messdauern sind sie Schwankungen unterworfen und nehmen durch Bleicheffekte ab, was bei Annahme konstanter Raten zu fehlerhaften Ergebnissen führt. Alternativ lässt sich der Normierungsfaktor auch händisch anpassen, unter der Annahme, dass der Wert der Korrelationsfunktion $g^{(2)}(\tau)$ für $\tau \rightarrow \infty$ eins ergeben muss.^[35] Da die korrekte Interpretation von Photonenkorrelationsexperimenten nicht notwendigerweise einer Normierung bedarf, wird nicht selten auf sie verzichtet.^[266]

Wie Abbildung 5.6 veranschaulicht, führt die Kabelschleife nach der zweiten APD zu einem Zeitversatz. So kann bei $\tau \approx 96$ ns das Maximum des nullten Korrelationssignals beobachtet werden. Entsprechend bedeuten alle Datenpunkte bei kleineren Verzögerungszeiten, dass die Messzyklen im Stopkanal initiiert worden sind. Sinnvollerweise wird die Zeitachse in negativer Richtung verschoben, um den eigentlichen Nullpunkt kenntlich zu machen. Werden wie im TTTR-Modus die Zeitinformationen aller registrierten Photonen gespeichert, kann vor Berechnung der Korrelationsfunktion eine softwareseitige Verzögerung eingestellt werden. Sie liegt hier bei 500 ns und wird zu dem auf elektronischem Weg hervorgerufenen Wert addiert. Letztlich bietet die intensitätsbasierte Vorgehensweise den Vorteil, den Photonenfluss ohne größeren Aufwand symmetrisch um den zeitlichen Ursprung abbilden zu können. Im Histogrammmodus würde dies aufgrund der Ausbreitungsgeschwindigkeit elektrischer Signale Kabel mit Längenunterschieden von 100 m und mehr erfordern. Demgegenüber steht der erhöhte

Speicherplatzbedarf sowie der für die Berechnung der Korrelationsfunktion zusätzliche Zeitaufwand, ohne den Auswertungsfortschritt graphisch verfolgen zu können.

Im Falle der mit niedriger Elektronendosis bestrahlten SiC-Proben würde man die Abnahme des zentralen Korrelationssignals in Abbildung 5.6 erwarten, falls es sich bei den Einzeldefektzentren tatsächlich auch um Einzelphotonenemitter handelt. Die Korrelationsmessungen lassen dies jedoch nicht erkennen. Castelletto *et al.* stellen in bestrahlten Siliziumcarbidsubstraten des gleichen Polytyps Photonantibunching fest, allerdings an Defektstellen mit substituierten Gitterplätzen. Für den V_{Si} -Fehlstellendefekt beobachten auch sie das Ausbleiben nicht-klassischer Resultate.^[267]

5.2.3 Messungen an Referenzproben

Um mögliche Unwägbarkeiten bei der Durchführung der Korrelationsmessungen auszuschließen, erscheint ein Kontrollexperiment angeraten. Wie in Abbildung 2.20 skizziert, können Transmissionsverluste im Detektionskanal zu einer Beeinflussung der Photonstatistik führen und einen geordneten Photonfluss unkorreliert wirken lassen. Entsprechend gilt es an einem Referenzsystem zu demonstrieren, dass der experimentelle Aufbau Photonantibunching, sofern es denn vorliegt, nachzuweisen vermag. Hochverdünnte Farbstofflösungen haben sich dabei als zweckdienlich erwiesen.^[44] Im Einklang mit Tabelle 2.2 wird hierfür ein kurzbrennweitiges Objektiv (CFI Planapochromat VC, 100x, NA 1.40, Nikon) zusammen mit einer den Durchmesser des Anregungsstrahls vergrößernden Galileischen Strahlaufweitung (BE05, Thorlabs) verwendet. Auf diese Weise soll sicher gestellt werden, dass das an den APDs registrierte Fluoreszenzsignal von einem einzigen Emitter herrührt. Abbildung 5.7 fasst die Ergebnisse zusammen:

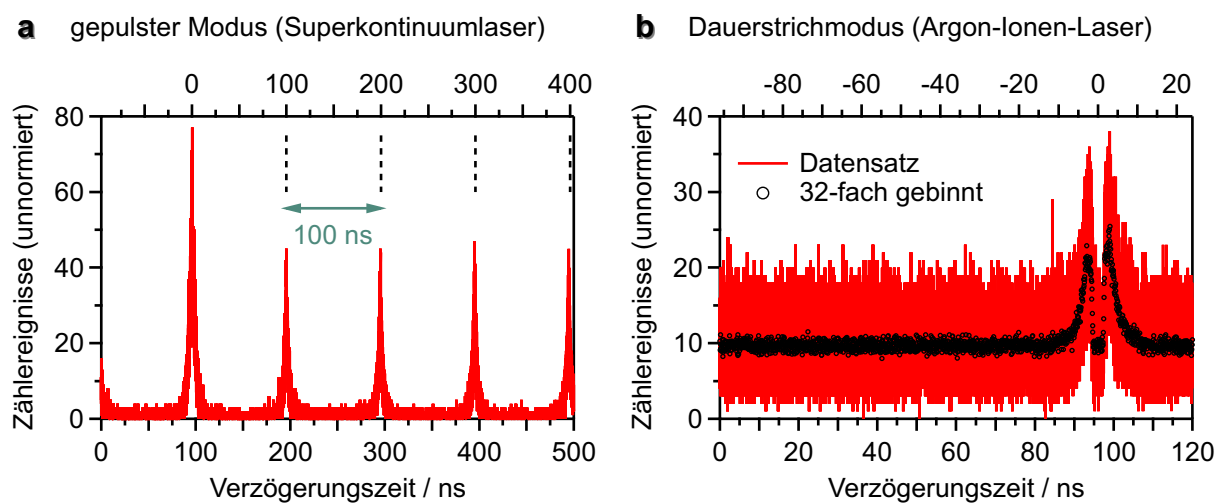


ABB. 5.7: Untersuchung des Photonenflusses einer nanomolaren Rhodamin 6G-Lösung mit a) gepulster und b) CW-Anregung in Histogrammform. Der Zeitversatz beträgt 96 ns.

5 Untersuchung elektronenbestrahlter Siliziumcarbidproben

Beide Referenzmessungen zeigen jenseits des um den konstanten Zeitversatz korrigierten Koordinatenursprungs ein Anwachsen der Korrelationsfunktion zweiter Ordnung, was auf den Interkombinationsübergang des Farbstoffs zurückzuführen ist. Erst nach Abregung des Triplettzustands – entweder durch Phosphoreszenz oder durch thermisch induzierte Rückkehr in den Singulettzustand mit anschließender Fluoreszenz – kann ein erneuter Anregungs- und Emissionszyklus stattfinden. Dem Ausmaß des ISC-Prozesses entsprechend wächst damit die Wahrscheinlichkeit, zwei emittierte Photonen innerhalb einer kurzen zeitlichen Abfolge zu registrieren, was sich in der Korrelation als Photonbunching bemerkbar macht. Das erste Lichtquant entstammt dabei aus der Population des metastabilen Zustands abweichender Spinmultiplizität, das zweite aus dem primär angeregten Zustand. Das Mehrniveausystem kann demnach mit einem optomechanischen Verschluss verglichen werden, dessen Wirkung auf den Photonenfluss chaotischer Lichtquellen sich in ähnlicher Weise manifestieren würde.^[268]

Der im Falle der CW-Messung zum Vorschein tretende Signalabfall am zeitlichen Nullpunkt deutet daraufhin, dass das Emissionssignal von einem einzigen Rhodamin 6G-Fluorophor herrührt. Die Wahrscheinlichkeit zwei Photonen gleichzeitig detektieren zu können ist somit verringert. Die Gestalt der Korrelationsfunktion folgt dabei der in Abbildung 2.23 dargestellten Form hoher Leistungsdichte. Letztere ist im vorliegenden Fall unumgänglich, da sich anderenfalls die Zählraten verringern, was zu einer Verschlechterung des Signal-Rausch-Verhältnisses und damit zu einer Zunahme der Messzeiten führt. Bei der mit gepulster Anregung durchgeführten Kontrollmessung würde bei Vorliegen eines Einzelphotonenemitters das zentrale Korrelationssignal gemäß Abbildung 2.22 ausbleiben. An seine Stelle tritt hier jedoch das dem Interkombinationsübergang geschuldete globale Maximum, weswegen das Histogramm an Aussagekraft verliert. Für reine Zweiniveausysteme schränkt dies die Leistungsfähigkeit des vorgestellten Korrelationsaufbaus nicht ein. Dennoch gilt es bei der Detektion im Nahinfrarotbereich zu berücksichtigen, dass die Quanteneffizienz der hier zum Einsatz kommenden Lawinenphotodioden auf Werte unterhalb von 10 % abfällt.^[256]

6 Zusammenfassung

Die vorliegende Dissertation leistet einen Beitrag zur spektroskopischen Messmethodik nanoskaliger Strukturen. Im Mittelpunkt der Arbeit steht die Entwicklung und Erprobung eines spektrofluorimetrischen Aufbaus, mit dessen Hilfe ein aus Kohlenstoffnanoröhren und DNA-Oligomeren bestehendes supramolekulares Modellsystem einer optischen Untersuchung zugänglich gemacht wird. Die Vielseitigkeit der Messeinheit aus Mikroskop und Spektrometer wird an einer weiteren Substanzklasse untermauert. So wird das Emissionsverhalten von in Siliziumcarbidkristallen induzierten Defektzentren einer räumlich, spektral und zeitlich aufgelösten Charakterisierung unterzogen.

Die zentrale Komponente des Spektrofluorimetrieaufbaus stellt eine Superkontinuumlichtquelle dar. In Verbindung mit einem elektronisch geregelten Filtermodul zur Wellenlängenselektion erlaubt sie die Durchführung von Photolumineszenz-Anregungsexperimenten. Im Gegensatz zu kommerziell erhältlichen Systemen, die überwiegend auf eine spektroskopische Charakterisierung gelöster oder kolloidal stabilisierter Substanzen abzielen, erlaubt der hier realisierte Aufbau auch die PL-mikroskopische Untersuchung kondensierter Proben, was durch die Epi-Bauweise auch opake Substrate einschließt. Der Einsatz von InGaAs-Sensoren weitet das Detektionsfenster auf den Nahinfrarotbereich aus, sowohl hinsichtlich des Kamera- als auch des Spektroskopiekanals.

Das von der Superkontinuumquelle emittierte und das Filtermodul passierende Anregungslicht wird einer umfassenden Charakterisierung unterzogen. Dadurch lassen sich Hintergrundsignalbeiträge im NIR-Bereich, die durch den Pumplaser einerseits und durch den Entstehungsprozess des Weißlichts andererseits hervorgerufen werden, der Detektion entziehen. Darüber hinaus erfolgt eine Validierung der Anregungsbedingungen, aus der ein Richtwert für das einzustellende Wellenlängeninkrement hervorgeht. Auf Seite der Detektionseinheit werden die relevanten Parameter wie die Brennweite der Abbildungsoptik und die Eintrittsspaltbreite des Spektrographen rechnerisch ermittelt, um dem Auflösungskriterium nach Rayleigh und Nyquist gerecht zu werden – bei gleichzeitig größtmöglichem Signal-Rausch-Verhältnis. Bei der Programmierung der Ansteuerungssoftware wird auf die Umsetzung einer intuitiv zu bedienenden Benutzeroberfläche Wert gelegt, die automatisiert die Aufnahme von PLE-Daten gestattet und den Fortschritt der Messung in Echtzeit verfolgen lässt, was gerade bei längeren Belich-

tungszeiten nützlich erscheint. In gleicher Weise erlaubt auch das eigens erstellte Lade- und Visualisierungsprogramm eine unkomplizierte Auswertung der PLE-Messungen. Es enthält ferner alle notwendigen Korrekturparameter, um anregungs- und detektionsseitige Artefakte korrigieren zu können.

Anhand verschiedenartiger Kohlenstoffnanorohrproben, die entweder in flüssiger Phase dispergiert oder in festem Zustand als Film abgeschieden vorliegen, wird die Leistungsfähigkeit des PLE-Experiments unter Beweis gestellt. Neben der Zuordnung der Chiralitäten in polydispersen SWNT-Suspensionen wird dies auch durch die Untersuchung von Energietransferprozessen und die Studie von Umgebungseinflüssen demonstriert.

Die Charakterisierung des DNA-SWNT-Modellsystems in mikrofluidischer Umgebung macht von der fluoreszenzmikroskopischen Detektionseinheit Gebrauch. Während die intrinsische Photolumineszenz der Nanoröhren sicherstellen soll, dass Letztere in ausreichender Anzahl auf den mikrostrukturierten Substraten vorhanden sind, wird die extrinsische Photolumineszenz der funktionalisierten Oligonukleotide als spektroskopisches Maß für die DNA-Konzentration herangezogen. Das hierbei beobachtete Agglomerationsverhalten der farbstoffmarkierten Oligomere geht mit einer lokal erhöhten Fluoreszenzintensität einher und erlaubt damit die quantitative Auswertung der auf PL-Einzelbildern basierenden Zeitserien. Zugleich wird damit eine Abschätzung der DNA-Belegung auf den Nanoröhren möglich. Im Falle der aus 16 alternierenden Guanin-Thymin-Einheiten bestehenden Basensequenz lösen sich nach Initiieren des Desorptionsvorgangs ein Großteil der Oligomere von der Nanorohroberfläche ab. Lediglich ein Fünftel bleibt in adsorbierter Form zurück, was sich jedoch für die Hybridstabilität als ausreichend erweist.^[71,188] Die Freisetzung weiterer Oligomere bleibt bei der Versuchstemperatur von 20 °C trotz der hohen Verdünnung aus, da aufgrund des größeren Interadsorbatabstands und der damit verbundenen Abnahme repulsiver Wechselwirkungen die Aktivierungsbarriere für ihre Desorption steigt. Die Stabilität der DNA-SWNT-Konjugate liegt demnach in ihrer kinetischen Inertheit begründet, die sie vor einer Reaggregation bewahrt. Der Grundstein für weiterführende Sorptionsstudien ist damit gelegt. Insbesondere erscheinen in diesem Zusammenhang Experimente unter erhöhten Temperaturbedingungen interessant, die für eine Bestimmung isosterer Adsorptionenthalpien geeignet sind.

Die Studie der in Siliziumcarbid induzierten Fehlstellendefekte kann als Beleg für die breite Anwendbarkeit des spektrofluorimetrischen Aufbaus gelten. PL-Mikroskopaufnahmen zeigen hierbei, dass die Anzahl der Defektzentren mit der Bestrahlungsintensität kontrolliert werden kann – von einer kontinuierlichen Verteilung bei hohen Strahlungsintensitäten über heterogene Defektansammlungen bis hin zu Einzeldefektstellen bei niedrigen Strahlungsdosen. Letztere resultieren in beugungsbegrenzten Signaturen und erlauben damit eine Charakterisierung des abbildenden Systems sowie des Anre-

gungsfokus. Anhand der PLE-Analyse lässt sich das Absorptionsmaximum abschätzen. Aussagen zur zeitlichen Entwicklung des Emissionsverhaltens werden durch TCSPC-Messungen erhalten. Die abschließende Untersuchung des Photonenflusses mit Hilfe von Korrelationsexperimenten nach Hanbury Brown–Twiss zeigt bei Raumtemperatur kein Auftreten von Photonantibunching.

Was die Weiterentwicklung der Messmethodik anbelangt, erscheint im Hinblick auf künftige Projektvorhaben vor allem die Ausdehnung des Anregungsfensters Richtung UV-Bereich wünschenswert. Die Einbindung der Ultraviolettanregung ließe sich nachträglich mit einem auf die verwendete Superkontinuumlichtquelle abgestimmten SHG-Modul umsetzen.^[269] Der fluoreszenzmikroskopisch und -spektroskopisch untersuchbare Probenraum würde sich damit auf Polymere wie beispielsweise Fluorenylderivate erstrecken. Deren vergleichsweise hohe Dispergierselektivität wird den Reinheitsanforderungen nanorohrbasierter Elektronikbauteile wie etwa Feldeffekttransistoren gerecht.^[270] Mit Hilfe des spektrofluorimetrischen Aufbaus könnten die Wechselwirkungen innerhalb der Polymer-SWNT-Matrix studiert und besser verstanden werden. Die Aufklärung ihrer geometrischen Struktur kann dabei durch polarisationsabhängige Messungen erfolgen, die lediglich des Einbaus eines Glan-Taylor-Prismas bedürfen.

7 Summary

Within the scope of this dissertation, a contribution towards the spectroscopic investigation of nanomaterials has been made. The approach applied here is a spectrofluorometric one, which allows the optical characterization of an oligonucleotide/single-wall carbon nanotube comprised supramolecular model system. The flexibility of the developed setup is demonstrated by studying another class of nanoscale samples, that is defect centers in silicon carbide crystals. Their emission behavior is subject to a spacial, spectral and temporal analysis.

The key role in the combined microscope and spectrograph assembly is held by a supercontinuum light source. With the help of this device, excitation measurements can be conducted by shifting the wavelength with an electronically driven filter accessory. In contrast to commercially available systems, which predominantly focus on a spectroscopic characterization of substances in solution or in colloidal suspension, it is also possible to carry out PL microscopic studies of condensed matter. Because of an epifluorescence configuration, the samples to be measured imply opaque substrates as well. Using complementary sensor materials including InGaAs arrays enlarges the accessible range of emission for both imaging and spectroscopy.

A comprehensive characterization of the spectrally filtered supercontinuum emission helps to suppress interfering background signals originating from the pump laser and the subsequent white light generation. Moreover, the ideal excitation conditions are evaluated, among these the increment of the wavelength intervals. With regard to the detection path, crucial parameters like the focal length of the front lens or the width of the spectrograph's entrance slit are determined to match resolution power according to Rayleigh and Nyquist as well as signal-to-noise ratio. Programming of the control software is intended to yield a user-friendly graphical interface, so that PLE experiments can be run with ease and monitored in real time, which is particularly useful for long-term measurements. In addition, a routine that has been written for further data handling, takes into account correction procedures for each instrumental artifact.

Differently processed carbon nanotube samples, occurring in either dispersed or deposited form, serve as a benchmark in assessing the capability of the PLE setup established here. For instance, it can be used to assign chiralities in heterogeneous SWNT suspensi-

ons or to analyze energy transfer as well as the impact of varying colloidal conditions.

The studies of the DNA-SWNT model system are accomplished through the use of fluorescence microscopy under microfluidic control. The intrinsic photoluminescence of carbon nanotubes can be exploited to estimate, to what extent they cover the lithographically treated silicon wafers. The extrinsic photoluminescence of functionalized oligonucleotides is used as a spectroscopic probe for DNA concentration measurements. Bright spots with distinct shape are observed and attributed to an agglomeration of dye-labeled oligomers. By recording time series of PL images, the locally enhanced emission signal in these discrete sites can be quantitatively analyzed, representing the progress of DNA adsorption on SWNTs. Based on a DNA sequence consisting of 16 alternating guanine-thymine moieties, the present experiments reveal the release of most of the oligonucleotides, when starting off the desorption process. Only one fifth of the initially adsorbed amount remains attached to the nanotube surface, without the modified environment affecting hybrid stability.^[71,188] Remarkably, an ongoing desorption does not take place at the test temperature of 20 °C in spite of the vast dilution applied. This circumstance can be explained by an increased distance between the residually adsorbed oligonucleotides, resulting in less pronounced repulsive forces between them. Consequently, the activation energy barrier for inducing further detachment is raised. In case of sufficiently long base compositions, this suggests that the stability of conjugates is founded in their kinetic inertness. The absence of continued desorption eventually prevents these DNA-SWNT hybrids from reaggregating. The presented results constitute a suitable starting point for more thorough sorption studies, which could also take temperature dependencies into account. With the help of such measurements, isosteric enthalpies of adsorption could be achieved.

The investigation of vacancy defects in silicon carbide proves the broad applicability of the spectrofluorimetric setup. PL microscopic studies show that the amount of defect sites can be controlled by tuning electron irradiance. The corresponding defect pattern evolves from a continuous distribution towards discrete clusters. By lowering the exposure dose even more, single defects emerge showing diffraction-limited signatures, which can help to elucidate the imaging system as well as the excitation focus in more detail. PLE mapping and time-correlated single photon counting of the fluorescence decay provide insight in photophysical parameters, including the absorption maximum and the lifetime of the excited state. Studying the photon flux by means of correlation measurements according to Hanbury Brown–Twiss does not give rise to photon antibunching under ambient conditions.

With regard to possible future projects, the expansion of the excitation window towards UV irradiation should be pursued. This task can be realized by installing a SHG-based add-on, supplied by the manufacturer of the supercontinuum source.^[269] The range of

nanoscale materials for microscopic and spectroscopic PL measurements is thus extended. One topic of interest to be mentioned is the investigation of polymer compounds, for instance fluorene derivatives. These play an important role as a commonly used dispersing agent for carbon nanotubes, as they possess a comparatively high selectivity in debundling and enriching specific chiralities. This benefit is one of the main prerequisites in constructing SWNT-based electronics such as field-effect transistors.^[270] A spectrofluorimetric setup that provides ultraviolet excitation, facilitates the study of interactions within the polymer-nanotube-matrix. To clarify its geometrical structure, one could also carry out polarization-dependent experiments, requiring simply the implementation of a Glan-Taylor prism.

Anhang

Im Folgenden werden die Programmstrukturen der in Abschnitt 3.3 vorgestellten Routinen zur Datenaufnahme und -auswertung im Rahmen des PLE-Experiments erläutert.

A.1 Datenaufnahme mit LabVIEW

Der grundlegende Aufbau des Blockdiagramms, anhand dessen der Datenfluss definiert wird, ist in Abbildung A.2 skizziert. Seine Gestalt wird dabei maßgeblich durch die von Seiten der Gerätehersteller bereitgestellten LabVIEW-Bibliotheken beeinflusst. Während im Falle des Spektrographen und der Detektoren für nahezu jeden Arbeitsschritt ein spezifisches SubVI zur Verfügung steht, erfolgt die Ansteuerung der Lichtquelle und des Filtermoduls über ein einziges virtuelles Instrument, dem „NGSerialPort“. Abbildung A.1 stellt die darauf beruhende Ein- und Ausgabe der Geräteparameter dar:

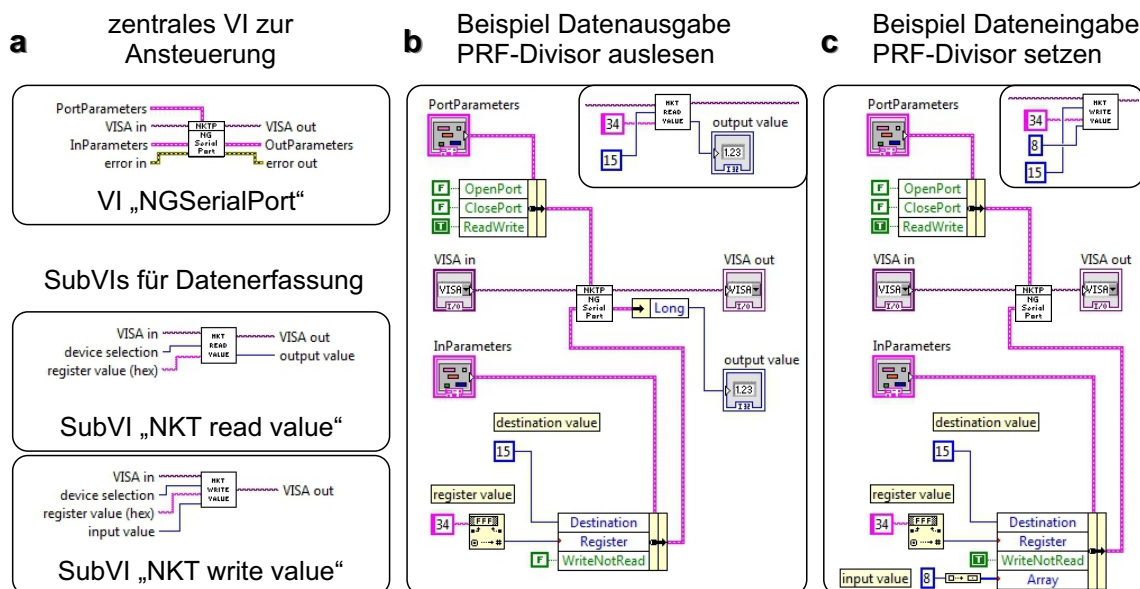


ABB. A.1: Virtuelles Instrument zur Implementierung der Superkontinuumquelle und Filtereinheit in die LabVIEW-Umgebung. a) Das von Seiten des Herstellers bereitgestellte VI wird der Übersichtlichkeit halber in zwei SubVIs integriert, die der Datenausgabe bzw. der Dateneingabe dienen. Für das b) Auslesen und c) Setzen eines Geräteparameters wird dies exemplarisch anhand des Divisors der Repetitionsrate demonstriert.

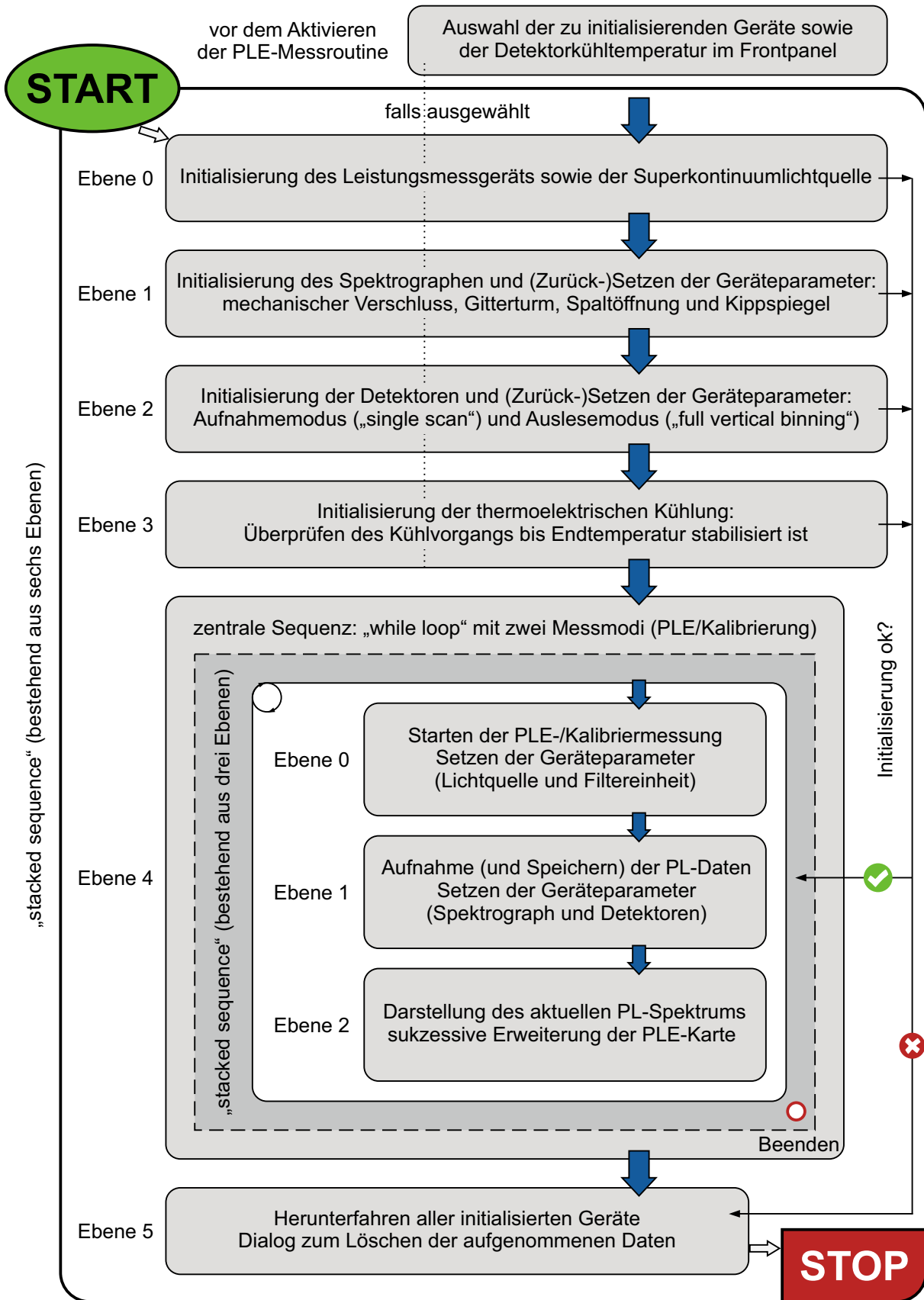


ABB. A.2: Vereinfachtes Flussdiagramm der PLE-Messroutine. Es fasst die wesentlichen Schritte des in LabVIEW programmierten Blockdiagramms zusammen. Der Detailablauf in der zentralen Sequenz unterscheidet sich entsprechend des gewählten Messmodus.

Anhand verschiedener Registerwerte, welche je einen bestimmten Geräteparameter repräsentieren, lassen sich die für die Aufnahme von Photolumineszenz-Anregungskarten notwendigen Einstellungen abfragen bzw. setzen. Mit Hilfe des Destinationswerts wird dabei festgelegt, ob der Superkontinuumlaser oder das Filtermodul angesprochen werden soll. Tabelle A.1 zeigt eine Übersicht der im vorliegenden Fall verwendeten Werte:

Register (hexadezimal)	anzusteuender Parameter	Lesen/Schreiben
LICHTQUELLE \Rightarrow Destination = 15		
11	Temperatur / 0.1 °C	L
66	Status anhand Kennziffer... z.B.	L
0 \equiv emission LED on 1 \equiv interlock off 2 \equiv interlock power failure 4 \equiv external disable		
30	Emissionsverhalten des Oszillators	L/S
0 \equiv ausschalten 3 \equiv einschalten		
34	Divisor für Impulsfolgefrequenz	L/S
23 diskrete Werte: 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 12 14 16 18 20 22 25 27 29 32 34 37 40		
31	Betriebsmodus	L/S
0 \equiv current mode ($I = \text{const.}$) 1 \equiv power mode ($P = \text{const.}$)		
37	Emission ($P = \text{const.}$) / 0.1 %	L/S
38	Emission ($I = \text{const.}$) / 0.1 %	L/S
FILTERMODUL \Rightarrow Destination = 16		
33	Wellenlänge lang / 0.1 nm	L/S
34	Wellenlänge kurz / 0.1 nm	L/S

TAB. A.1: Registerwerte zur Ansteuerung der Parameter der Superkontinuumsquelle und Filtereinheit, welche im Rahmen der hier erstellten PLE-Messroutine Verwendung finden.

A.2 Datenauswertung mit IGOR Pro

Die zur weiteren Datenverarbeitung dienende Lade- und Auswertungsroutine soll an dieser Stelle explizit in Form ihres Programmcodes wiedergegeben werden. Neben der Bereinigung von messtechnisch bedingten Artefakten lassen sich mit ihr, wie in Abbildung 3.22 veranschaulicht, auch zwei PLE-Karten zu einer zusammenfügen. Alle nachfolgend mit **NVar** bzw. **SVar** bezeichneten Variablen müssen zunächst global erzeugt werden. Korrekturdaten, welche nicht im Rahmen einer PLE-Messung jedes Mal neu

Anhang

aufgezeichnet werden, lassen sich durch Hinterlegen ihres Dateipfads vor Ausführung der Prozedur automatisch laden. Abhängig von der Anzahl und Benennung der Korrekturdatensätze bedarf der Quelltext unter Umständen einer geringfügigen Anpassung.

```
Menu "Procedures" //create menu bar entry
  "PLEMapDisplayer"
End

Function ButtonProc_set_PLE_path(ctrlName) : ButtonControl //set path to PLE data
  String ctrlName
  SVar file_path
  GetFileFolderInfo/Q/D
  file_path=S_path
End

Function ButtonProc_load_PLE_data(ctrlName) : ButtonControl //load PLE data
  String ctrlName
  SVar file_path
  SVar file_extension
  SVar file_name
  NVar background
  NVar start_wl
  NVar end_wl
  NVar increment
  String wave_name
  Variable c
  c=0
  do
    wave_name=file_name+"_"+num2str(c)+"_"
    LoadWave/Q/D/G/O/N=$wave_name file_path+file_name+"_"+num2str(c)+"."+file_extension
    Duplicate/O $wave_name+"0", $"wavelength_"+file_name
    KillWaves/Z $wave_name+"0", $file_name+"_"+num2str(c)
    Rename $wave_name+"1" $file_name+"_"+num2str(c)
    c=c+1
  while(c<(end_wl-start_wl)/increment)
End

Function ButtonProc_load_bg_data(ctrlName) : ButtonControl //load background data
  String ctrlName
  SVar file_path
  SVar file_extension
  SVar file_name
  NVar start_wl
  NVar end_wl
  NVar increment
  NVar background
  NVar multiple
  NVar single
  String wave_name
  Variable c
  c=0
  if(multiple==1) //load multiple background data
    do
      wave_name=file_name+"_bg_"+num2str(c)+"_"
      LoadWave/Q/D/G/O/N=$wave_name file_path+file_name+"_bg_"+num2str(c)+"."+file_extension
      Duplicate/O $wave_name+"0", $"wavelength_"+file_name
      KillWaves/Z $wave_name+"0", $file_name+"_bg_"+num2str(c), $file_name+"_corr_m_"+num2str(c)
      Rename $wave_name+"1" $file_name+"_bg_"+num2str(c)
      Duplicate/O $file_name+"_bg_"+num2str(c), $file_name+"_corr_m_"+num2str(c)
      Wave f=$file_name+"_corr_m_"+num2str(c)
      Wave g=$file_name+"_bg_"+num2str(c)
      Wave h=$file_name+"_"+num2str(c)
      f=h-g
      c=c+1
    while(c<(end_wl-start_wl)/increment)
  elseif(single==1) //load single background data
    wave_name=file_name+"_bgr_"
    LoadWave/Q/D/G/O/N=$wave_name file_path+file_name+"_bg_0."+file_extension
    Duplicate/O $wave_name+"0", $"wavelength_"+file_name
    KillWaves/Z $wave_name+"0", $file_name+"_bgr"
    Rename $wave_name+"1" $file_name+"_bgr"
    do
      KillWaves/Z $file_name+"_corr_s_"+num2str(c)
      Duplicate/O $file_name+"_bgr", $file_name+"_corr_s_"+num2str(c)
      Wave f=$file_name+"_corr_s_"+num2str(c)
      Wave g=$file_name+"_bgr"
```

```

    Wave h=$file_name+"_"+num2str(c)
    f=h-g
    c=c+1
    while(c<(end_wl-start_wl)/increment)
endif
End

Function multiple_bg(ctrlName, checked) : CheckBoxControl //select multiple background correction
String ctrlName
Variable checked
NVar multiple
NVar single
if(multiple==1)
    single=0
endif
if(multiple==0)
    single=1
endif
End

Function single_bg(ctrlName, checked) : CheckBoxControl //select single background correction
String ctrlName
Variable checked
NVar multiple
NVar single
if(single==1)
    multiple=0
endif
if(single==0)
    multiple=1
endif
End

Function load_power(ctrlName) : ButtonControl //load correction data for light source dependence
String ctrlName
SVar file_path
SVar file_name
SVar file_extension
String wave_name
wave_name=file_name+"_power"
if(WaveExists($file_name+"_power")==0)
    LoadWave/Q/D/G/O/N=$wave_name file_path+file_name+"_power."+file_extension
    Rename $file_name+"_power0" $file_name+"_power"
    Rename $file_name+"_power1" $file_name+"_photon"
endif
End

Function power_corr(ctrlName, checked) : CheckBoxControl //select power correction
String ctrlName
Variable checked
NVar power
NVar photon
if(power==1)
    photon=0
endif
if(power==0)
    photon=1
endif
End

Function photon_corr(ctrlName, checked) : CheckBoxControl //select photon correction
String ctrlName
Variable checked
NVar power
NVar photon
if(photon==1)
    power=0
endif
if(photon==0)
    power=1
endif
End

Function ButtonProc_create_PLE_array(ctrlName) : ButtonControl //create and update PLE map
String ctrlName
SVar file_name
NVar background
NVar start_wl
NVar end_wl
NVar increment
NVar single

```

```

NVar multiple
NVar grating_detector
NVar chroma_abs
NVar chroma_em
NVar nkt
NVar power
NVar photon
Make/D/O/N=(numpts("$wavelength_"+file_name), (end_wl-start_wl)/increment) $"PLE_map_"+file_name
Variable a, b, c, i
b=0
Wave f=$"PLE_map_"+file_name
Wave correction_x, correction_y
Wave chroma_x_abs, chroma_y_abs
Wave chroma_x_em, chroma_y_em
do
  if(background==0) //ignore background correction
    Wave g=$file_name+"_"+num2str(b)
  elseif(background==1) //regard background correction
    if(multiple==1) //apply multiple background correction
      Wave g=$file_name+"_corr_m_"+num2str(b)
      KillWaves/Z $file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr"
      if(grating_detector==1) //apply grating & detector correction
        Interpolate2/T=1/l=3/Y=correction_y_L/X=$"wavelength_"+file_name correction_x, correction_y
        Duplicate/O $file_name+"_corr_m_"+num2str(b) $file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr"
        Wave h=$file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr"
        h/=correction_y_L
        KillWaves/Z correction_y_L
        Wave g=$file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr"
      endif
    endif
    if(chroma_em==1) //apply dichroic mirror correction for emission path
      if(WaveExists($file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr")==1)
        Wave h=$file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr"
      elseif(WaveExists($file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr")==0)
        Duplicate/O $file_name+"_corr_m_"+num2str(b) $file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr"
        Wave h=$file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr"
      endif
      Interpolate2/T=1/l=3/Y=chroma_y_em_L/X=$"wavelength_"+file_name chroma_x_em, chroma_y_em
      h/=chroma_y_em_L
      KillWaves/Z chroma_y_em_L
      Wave g=$file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr"
    endif
    if(chroma_abs==1) //apply dichroic mirror correction for absorption path
      Make/D/O/N=((end_wl-start_wl)/increment) excitation_wave
      i=0
      do
        excitation_wave[i]=start_wl+(increment/2)+increment*i
        i=i+1
      while(i<=(end_wl-start_wl)/increment)
      Interpolate2/T=1/l=3/Y=chroma_y_abs_L/X=excitation_wave chroma_x_abs, chroma_y_abs
      if(WaveExists($file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr")==1)
        Wave h=$file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr"
      elseif(WaveExists($file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr")==0)
        Duplicate/O $file_name+"_corr_m_"+num2str(b) $file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr"
        Wave h=$file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr"
      endif
      h/=chroma_y_abs_L[b]
      KillWaves/Z chroma_y_abs_L, excitation_wave
      Wave g=$file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr"
    endif
    if(nkt==1) //apply light source correction
      if(WaveExists($file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr")==1)
        Wave h=$file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr"
      elseif(WaveExists($file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr")==0)
        Duplicate/O $file_name+"_corr_m_"+num2str(b) $file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr"
        Wave h=$file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr"
      endif
      if(power==1) //apply power correction
        Wave j=$file_name+"_power"
      elseif(photon==1) //apply photon correction
        Wave j=$file_name+"_photon"
      endif
      h/=j[b]
      Wave g=$file_name+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr"
    endif
  elseif(single==1) //apply single background correction
    Wave g=$file_name+"_corr_s_"+num2str(b)
  endif
enddo

```



```

KillWaves/Z $file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr"
if(grating_detector==1) //apply grating & detector correction
  Interpolate2/T=1/l=3/Y=correction_y_L/X="$wavelength_"+file_name correction_x, correction_y
  Duplicate/O $file_name+"_corr_s_"+num2str(b) $file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr"
  Wave h=$file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr"
  h/=correction_y_L
  KillWaves/Z correction_y_L
  Wave g=$file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr"
endif
if(chroma_em==1) //apply dichroic mirror correction for emission path
  if(WaveExists($file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr")==1)
    Wave h=$file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr"
  elseif(WaveExists($file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr")==0)
    Duplicate/O $file_name+"_corr_s_"+num2str(b) $file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr"
    Wave h=$file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr"
  endif
  Interpolate2/T=1/l=3/Y=chroma_y_em_L/X="$wavelength_"+file_name chroma_x_em, chroma_y_em
  h/=chroma_y_em_L
  KillWaves/Z chroma_y_em_L
  Wave g=$file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr"
endif
if(chroma_abs==1) //apply dichroic mirror correction for absorption path
  Make/D/O/N=((end_wl-start_wl)/increment) excitation_wave
  i=0
  do
    excitation_wave[i]=start_wl+(increment/2)+increment*i
    i=i+1
  while(i<(end_wl-start_wl)/increment)
  Interpolate2/T=1/l=3/Y=chroma_y_abs_L/X=excitation_wave chroma_x_abs, chroma_y_abs
  if(WaveExists($file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr")==1)
    Wave h=$file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr"
  elseif(WaveExists($file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr")==0)
    Duplicate/O $file_name+"_corr_s_"+num2str(b) $file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr"
    Wave h=$file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr"
  endif
  h/=chroma_y_abs_L[b]
  KillWaves/Z chroma_y_abs_L, excitation_wave
  Wave g=$file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr"
endif
if(nkt==1) //apply light source correction
  if(WaveExists($file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr")==1)
    Wave h=$file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr"
  elseif(WaveExists($file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr")==0)
    Duplicate/O $file_name+"_corr_s_"+num2str(b) $file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr"
    Wave h=$file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr"
  endif
  if(power==1) //apply power correction
    Wave j=$file_name+"_power"
  elseif(photon==1) //apply photon correction
    Wave j=$file_name+"_photon"
  endif
  h/=j[b]
  Wave g=$file_name+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr"
endif
endif
endif
a=0
do //write PLE data to 2D wave
  f[a][b]=g[a]
  a=a+1
  while(a<numpts("$wavelength_"+file_name))
    b=b+1
  while(b<(end_wl-start_wl)/increment)
  Wave wl="$wavelength_"+file_name
  SetScale/l x wl[0], wl[numpts(wl)-1], "", "$PLE_map_"+file_name
  SetScale/l y start_wl+increment/2, end_wl-increment/2, "", "$PLE_map_"+file_name
  String window_name="win_PLE_map_"+file_name
  if(ItemsInList(WinList(window_name, ";", ""), ";")==0) //set properties of contour plot
    Display; AppendImage "$PLE_map_"+file_name
    DoWindow/C/T "$win_PLE_map_"+file_name, "PLE_map_"+file_name
    ModifyImage/W="$win_PLE_map_"+file_name "$PLE_map_"+file_name ctab={*, *, Terrain256, 0}
    ModifyGraph/W="$win_PLE_map_"+file_name standoff=0
    SetAxis/W="$win_PLE_map_"+file_name/A/R left
    Label/W="$win_PLE_map_"+file_name left "excitation wavelength / nm"
    Label/W="$win_PLE_map_"+file_name bottom "emission wavelength / nm"
  endif
endif
End

```

Anhang

```
Function fermi(a, b, c) //define Fermi function for merging adjacent PLE maps
  Variable a, b, c
  Return 1/(1+exp((a-b)/c))
End

Function ButtonProc_merge_PLE(ctrlName) : ButtonControl //merge adjacent PLE maps
  String ctrlName
  SVar left_PLE
  SVar right_PLE
  String left=left_PLE
  String right=right_PLE
  String PLE_list=WaveList("PLE_*", ";", "")
  Prompt left, "select PLE data: left side", popup PLE_list
  Prompt right, "select PLE data: right side", popup PLE_list
  DoPrompt "merge adjacent PLE maps", left, right
  left_PLE=left
  right_PLE=right
  left=ReplaceString("PLE_map_", left, "")
  right=ReplaceString("PLE_map_", right, "")
  NVar background
  NVar single
  NVar multiple
  NVar start_wl
  NVar end_wl
  NVar increment
  Variable a=0
  Variable b=0
  do //retrieve background correction
    if(background==0)
      Wave l=$left+"_"+num2str(b)
      Wave r=$right+"_"+num2str(b)
    elseif(background==1)
      if(multiple==1)
        if(WaveExists($left+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr")==1)
          Wave l=$left+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr"
        else
          Wave l=$left+"_corr_m_"+num2str(b)
        endif
        if(WaveExists($right+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr")==1)
          Wave r=$right+"_corr_m_"+num2str(b)+"_corr"
        else
          Wave r=$right+"_corr_m_"+num2str(b)
        endif
      elseif(single==1)
        if(WaveExists($left+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr")==1)
          Wave l=$left+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr"
        else
          Wave l=$left+"_corr_s_"+num2str(b)
        endif
        if(WaveExists($right+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr")==1)
          Wave r=$right+"_corr_s_"+num2str(b)+"_corr"
        else
          Wave r=$right+"_corr_s_"+num2str(b)
        endif
      endif
    endif
    Wave wl_left=$"wavelength_"+left
    Wave wl_right=$"wavelength_"+right
    Variable start=wl_left[0]
    Variable delta=(wl_left[numpts(wl_left)-1]-wl_left[0])/(numpts(wl_left)-1)
    Duplicate/O l $NameOfWave(l)+"_dmy"
    Duplicate/O r $NameOfWave(r)+"_dmy"
    Wave l_dmy=$NameOfWave(l)+"_dmy"
    Wave r_dmy=$NameOfWave(r)+"_dmy"
    Wave l=l_dmy
    Wave r=r_dmy
    InsertPoints numpts(wl_left), round((wl_right[0]-wl_left[0])/delta), l
    InsertPoints 0, round((wl_right[0]-wl_left[0])/delta), r
    SetScale/P x start, delta, "", l
    SetScale/P x start, delta, "", r
    String bgr
    if(background==0)
      bgr=""
    elseif(background==1)
      if(multiple==1)
        bgr="m"
      elseif(single==1)
        bgr="s"
      endif
    endif
  do
endFunction
```

```

    endif
  endif
  Duplicate/O l $left+"_" +right+"_" +bgr+"_" +num2str(b)
  Wave fermi_fit=$left+"_" +right+"_" +bgr+"_" +num2str(b)
  NVar fermi_parameter
  Variable fermi_offset
  fermi_offset=start+((numpts(wl_left)-1)+round((wl_right[0]-wl_left[0])/delta))*delta/2
  fermi_fit=fermi(x, fermi_offset, fermi_parameter)*l(x)+(1-fermi(x, fermi_offset, fermi_parameter))*r(x)
  if(b==0)
    Make/D/O/N=(numpts(fermi_fit), (end_wl-start_wl)/increment) $"PLE_map_" +left+"_" +right
    Wave f=$"PLE_map_" +left+"_" +right
  endif
  do //write merged PLE data to 2D wave
    f[a][b]=fermi_fit[a]
    a=a+1
    while(a<numpts(fermi_fit))
      KillWaves/Z l, r, fermi_fit
      b=b+1
      a=0
    while(b<(end_wl-start_wl)/increment)
      SetScale/P x start, delta, "", $"PLE_map_" +left+"_" +right
      SetScale/I y start_wl+increment/2, end_wl-increment/2, "", $"PLE_map_" +left+"_" +right
      String window_name="win_PLE_map_" +left+"_" +right
      if(ItemsInList(WinList(window_name, ";", ""))=0) //set properties of merged contour plot
        Display; AppendImage $"PLE_map_" +left+"_" +right
        DoWindow/C/T $"win_PLE_map_" +left+"_" +right, "PLE_map_" +left+"_" +right
        ModifyImage/W=$"win_PLE_map_" +left+"_" +right $"PLE_map_" +left+"_" +right ctab={*, *, Terrain256, 0}
        ModifyGraph/W=$"win_PLE_map_" +left+"_" +right standoff=0
        SetAxis/W=$"win_PLE_map_" +left+"_" +right/A/R left
        Label/W=$"win_PLE_map_" +left+"_" +right left "excitation wavelength / nm"
        Label/W=$"win_PLE_map_" +left+"_" +right bottom "emission wavelength / nm"
      endif
    endwhile
  endwhile
End

Function Check_box_a(ctrlName, checked) : CheckBoxControl //select grating & detector correction data (a)
String ctrlName
Variable checked
NVar checked_a, checked_b, checked_c, checked_d, checked_e, mode
if (checked_a==1)
  checked_b=0
  checked_c=0
  checked_d=0
  checked_e=0
  mode=1
  Duplicate/O WL_1200_InGaAs_minus90 correction_x
  Duplicate/O E_1200_InGaAs_minus90 correction_y
  correction_y/=100
endif
if(checked_a==0)
  checked_a=1
endif
End

Function Check_box_b(ctrlName, checked) : CheckBoxControl //select grating & detector correction data (b)
String ctrlName
Variable checked
NVar checked_a, checked_b, checked_c, checked_d, checked_e, mode
if(checked_b==1)
  checked_a=0
  checked_c=0
  checked_d=0
  checked_e=0
  mode=2
  Duplicate/O WL_1200_CCD_minus90 correction_x
  Duplicate/O E_1200_CCD_minus90 correction_y
  correction_y/=100
endif
if(checked_b==0)
  checked_b=1
endif
End

//define analogous functions for each grating & detector correction data (c-e)

```


Literaturverzeichnis

- [1] <http://admin-apps.webofknowledge.com/JCR/JCR> (Stand vom 23.01.2015)
- [2] <http://www.uni-wuerzburg.de/fuer/studierende/angebot/faecher/nano>
(Stand vom 23.01.2015)
- [3] <http://www.lgl.bayern.de/lebensmittel/technologien/nanotechnologie>
(Stand vom 23.01.2015)
- [4] A. Elsaesser, C. V. Howard: Toxicology of nanoparticles. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2012**, 64 (2), 129–137, DOI:10.1016/j.addr.2011.09.001
- [5] H. J. Johnston, G. R. Hutchison, F. M. Christensen, S. Peters, S. Hankin, K. Aschberger, V. Stone: A critical review of the biological mechanisms underlying the *in vivo* and *in vitro* toxicity of carbon nanotubes: The contribution of physico-chemical characteristics. *Nanotoxicology* **2010**, 4 (2), 207–246, DOI:10.3109/17435390903569639
- [6] A. Rössler, G. Skillas, S. E. Pratsinis: Nanopartikel – Materialien der Zukunft: Maßgeschneiderte Werkstoffe. *Chem. Unserer Zeit* **2001**, 35 (1), 32–41, DOI:10.1002/1521-3781(200101)35:1<32::aid-ciuz32>3.0.co;2-j
- [7] T. Hertel, F. Brunecker, N. Rühl, D. Schilling, F. Späth: Grenzflächenphänomene an Kohlenstoffnanoröhren. *Nachr. Chem.* **2013**, 61 (6), 632–635, DOI:10.1002/nadc.201390201
- [8] M. Holzinger, A. Le Goff, S. Cosnier: Nanomaterials for biosensing applications: a review. *Front. Chem.* **2014**, 2 (63), 1–10, DOI:10.3389/fchem.2014.00063
- [9] S. Castelletto, B. C. Johnson, A. Boretti: Quantum Effects in Silicon Carbide Hold Promise for Novel Integrated Devices and Sensors. *Adv. Opt. Mater.* **2013**, 1 (9), 609–625, DOI:10.1002/adom.201300246
- [10] M. Fernández-Suárez, A. Y. Ting: Fluorescent probes for super-resolution imaging in living cells. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2008**, 9 (12), 929–943, DOI:10.1038/nrm2531

- [11] K. Welter: Faszinierende Blicke in die Nanowelt. *Chem. Unserer Zeit* **2014**, 48 (6), 418–421, DOI:10.1002/ciuz.201400699
- [12] http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/2005/glauber-lecture.pdf (Stand vom 23.01.2015)
- [13] R. J. Glauber: The Quantum Theory of Optical Coherence. *Phys. Rev.* **1963**, 130 (6), 2529–2539, DOI:10.1103/physrev.130.2529
- [14] Dudenredaktion (Hrsg.): Das Herkunftswörterbuch – Etymologie der deutschen Sprache, Duden, Bd. 7. Bibliographisches Institut, Mannheim, 3. Aufl., **2001**
- [15] E. Hecht: Optics. Addison-Wesley/Pearson Education, San Francisco, CA, 4. Aufl., **2002**
- [16] F. Träger (Hrsg.): Springer Handbook of Lasers and Optics. Springer Science + Business Media, New York, NY, 1. Aufl., **2007**, DOI:10.1007/978-0-387-30420-5
- [17] M. Mulisch, U. Welsch (Hrsg.): Romeis Mikroskopische Technik. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 18. Aufl., **2010**, DOI:10.1007/978-3-8274-2254-5
- [18] <http://www.microscopyu.com/articles/optics/cfintro.html> (Stand vom 23.01.2015)
- [19] F. J. W.-M. Leong, M. Brady, J. O'D. McGee: Correction of uneven illumination (vignetting) in digital microscopy images. *J. Clin. Pathol.* **2003**, 56 (8), 619–621, DOI:10.1136/jcp.56.8.619
- [20] W. Demtröder: Experimentalphysik – Elektrizität und Optik, Bd. 2. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, 6. Aufl., **2013**, DOI:10.1007/978-3-642-29944-5
- [21] <http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/print/basics/resolution-print.html> (Stand vom 23.01.2015)
- [22] D. Meschede: Optik, Licht und Laser. Vieweg + Teubner Verlag | GWV Fachverlage, Wiesbaden, 3. Aufl., **2008**, DOI:10.1007/978-3-8348-9288-1
- [23] L. Novotny, B. Hecht: Principles of Nano-Optics. Cambridge University Press, New York, NY, 2. Aufl., **2012**, DOI:10.1017/cbo9780511794193
- [24] J. R. Albani: Principles and Applications of Fluorescence Spectroscopy. Blackwell Publishing, Oxford, 1. Aufl., **2007**, DOI:10.1002/9780470692059
- [25] J. R. Lakowicz: Principles of Fluorescence Spectroscopy. Springer Science + Business Media, New York, NY, 3. Aufl., **2006**, DOI:10.1007/978-0-387-46312-4

- [26] J. Hesse, M. Sonnleitner, A. Sonnleitner, G. Freudenthaler, J. Jacak, O. Höglinger, H. Schindler, G. J. Schütz: Single-Molecule Reader for High-Throughput Bioanalysis. *Anal. Chem.* **2004**, 76 (19), 5960–5964, DOI:10.1021/ac049300f
- [27] W. Demtröder: Laserspektroskopie – Grundlagen, Bd. 1. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, 6. Aufl., 2011, DOI:10.1007/978-3-642-21306-9
- [28] W. Demtröder: Laserspektroskopie – Experimentelle Techniken, Bd. 2. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, 6. Aufl., 2013, DOI:10.1007/978-3-642-21447-9
- [29] J. M. Hollas: Modern Spectroscopy. John Wiley & Sons, Chichester, 4. Aufl., 2004
- [30] http://www.lot-qd.de/files/downloads/andor/en/spectrographs/Reflexion_von_Al_MgF2_Ag_MgF2_Au_LOT.pdf (Stand vom 23.01.2015)
- [31] http://www.andor.com/pdfs/specifications/andor_shamrock_303_specifications.pdf (Stand vom 23.01.2015)
- [32] http://www.andor.com/pdfs/literature/andor_spectroscopy_brochure.pdf (Stand vom 23.01.2015 bzw. persönliche Mitteilung von Dr. T. Pieper, LOT-QuantumDesign, Email vom 22.08.2012)
- [33] E. Hering, R. Martin (Hrsg.): Photonik – Grundlagen, Technologie und Anwendung. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, 1. Aufl., 2006, DOI:10.1007/3-540-29708-1
- [34] <http://www.ropersscientific.de/dynamicrange.html> (Stand vom 23.01.2015)
- [35] M. Fox: Quantum Optics – An Introduction, Oxford Master Series in Physics, Bd. 15. Oxford University Press, New York, NY, 1. Aufl., 2006
- [36] L. Mandel: Sub-Poissonian photon statistics in resonance fluorescence. *Opt. Lett.* **1979**, 4 (7), 205–207, DOI:10.1364/ol.4.000205
- [37] N. Gisin, G. Ribordy, W. Tittel, H. Zbinden: Quantum cryptography. *Rev. Mod. Phys.* **2002**, 74 (1), 145–195, DOI:10.1103/revmodphys.74.145
- [38] H. J. Kimble, M. Dagenais, L. Mandel: Photon Antibunching in Resonance Fluorescence. *Phys. Rev. Lett.* **1977**, 39 (11), 691–695, DOI:10.1103/physrevlett.39.691
- [39] R. Hanbury Brown, R. Q. Twiss: A Test of a New Type of Stellar Interferometer on Sirius. *Nature* **1956**, 178 (4541), 1046–1048, DOI:10.1038/1781046a0
- [40] R. Hanbury Brown, R. Q. Twiss: Correlation between Photons in two Coherent Beams of Light. *Nature* **1956**, 177 (4497), 27–29, DOI:10.1038/177027a0

- [41] H. J. Carmichael, P. Drummond, P. Meystre, D. F. Walls: Intensity correlations in resonance fluorescence with atomic number fluctuations. *J. Phys. A: Math. Gen.* **1978**, *11* (5), L121–L126, DOI:10.1088/0305-4470/11/5/007
- [42] B. C. Wilson, V. V. Tuchin, S. Tanev (Hrsg.): Advances in Biophotonics, NATO Science Series, Bd. 369. IOS Press, Amsterdam, 1. Aufl., **2005**
- [43] M. Haase: Einzelmolekülspektroskopie an einer homologen Reihe von Rylendiimidin und an einem bichromophoren Modellsystem für elektronischen Energietransfer. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2010**, urn:nbn:de:hebis:77-27944
- [44] S. Fore, T. A. Laurence, C. W. Hollars, T. Huser: Counting Constituents in Molecular Complexes by Fluorescence Photon Antibunching. *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.* **2007**, *13* (4), 996–1005, DOI:10.1109/jstqe.2007.903193
- [45] A. Beveratos, R. Brouri, J.-P. Poizat, P. Grangier: Bunching and antibunching from single NV color centers in diamond, **2000**, arXiv:quant-ph/0010044
- [46] F. Jelezko, J. Wrachtrup: Single defect centres in diamond: A review. *Phys. Status Solidi A* **2006**, *203* (13), 3207–3225, DOI:10.1002/pssa.200671403
- [47] S. Singh: Antibunching, sub-poissonian photon statistics and finite bandwidth effects in resonance fluorescence. *Opt. Commun.* **1983**, *44* (4), 254–258, DOI:10.1016/0030-4018(83)90132-3
- [48] X. T. Zou, L. Mandel: Photon-antibunching and sub-Poissonian photon statistics. *Phys. Rev. A* **1990**, *41* (1), 475–476, DOI:10.1103/physreva.41.475
- [49] A. Krüger: Neue Kohlenstoffmaterialien. B. G. Teubner Verlag | GWV Fachverlage, Wiesbaden, 1. Aufl., **2007**, DOI:10.1007/978-3-8351-9098-6
- [50] J. J. Crochet: Charge and Energy Transfer Dynamics in Single-Wall Carbon Nanotube Ensembles. Dissertation, Vanderbilt University Nashville, TN, **2007**, etd-12072007-112550
- [51] D. Stich: Zur Exziton- und Ladungsträgerdynamik in einwandigen Kohlenstoffnanoröhren. Dissertation, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, **2012**, urn:nbn:de:bvb:20-opus-70193
- [52] F. E. Schöppler: Photolumineszenzmikroskopie und -spektroskopie halbleitender Kohlenstoffnanoröhren. Dissertation, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, **2012**, urn:nbn:de:bvb:20-opus-73329

- [53] K. Kröker: DNA-Kohlenstoffnanorohr-Konjugate – Biokompatibilität, *ex vivo*-Verhalten, Funktionalisierung. Dissertation, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, 2012, [urn:nbn:de:bvb:20-opus-74552](https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:bvb:20-opus-74552)
- [54] T. Hefner: Einfluss von Dispergierungsmethode und Rohmaterialaufreinigung auf die Beschaffenheit einwandiger Kohlenstoffnanorohrsuspensionen. Dissertation, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, 2014, [urn:nbn:de:bvb:20-opus-105839](https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:bvb:20-opus-105839)
- [55] Á. Andrade-Eiroa, M. Canle, V. Cerdá: Environmental Applications of Excitation-Emission Spectrofluorimetry: An In-Depth Review II. *Appl. Spectrosc. Rev.* 2013, 48 (2), 77–141, [DOI:10.1080/05704928.2012.692105](https://doi.org/10.1080/05704928.2012.692105)
- [56] G. D. Scholes: Controlling the Optical Properties of Inorganic Nanoparticles. *Adv. Funct. Mater.* 2008, 18 (8), 1157–1172, [DOI:10.1002/adfm.200800151](https://doi.org/10.1002/adfm.200800151)
- [57] S. M. Bachilo, M. S. Strano, C. Kittrell, R. H. Hauge, R. E. Smalley, R. B. Weisman: Structure-Assigned Optical Spectra of Single-Walled Carbon Nanotubes. *Science* 2002, 298 (5602), 2361–2366, [DOI:10.1126/science.1078727](https://doi.org/10.1126/science.1078727)
- [58] M. J. O’Connell, S. M. Bachilo, C. B. Huffman, V. C. Moore, M. S. Strano, E. H. Haroz, K. L. Rialon, P. J. Boul, W. H. Noon, C. Kittrell, J. Ma, R. H. Hauge, R. B. Weisman, R. E. Smalley: Band Gap Fluorescence from Individual Single-Walled Carbon Nanotubes. *Science* 2002, 297 (5581), 593–596, [DOI:10.1126/science.1072631](https://doi.org/10.1126/science.1072631)
- [59] M. Kasha: Characterization of electronic transitions in complex molecules. *Discuss. Faraday Soc.* 1950, 9, 14–19, [DOI:10.1039/df9500900014](https://doi.org/10.1039/df9500900014)
- [60] T. Hertel, V. Perebeinos, J. Crochet, K. Arnold, M. Kappes, P. Avouris: Intersubband Decay of 1-D Exciton Resonances in Carbon Nanotubes. *Nano Lett.* 2007, 8 (1), 87–91, [DOI:10.1021/nl0720915](https://doi.org/10.1021/nl0720915)
- [61] T. Hertel: Photophysics, *erschienen in Carbon Nanotubes and Related Structures*, D. M. Guldi, N. Martín (Hrsg.), Kap. 4, 77–101. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 1. Aufl., 2010, [DOI:10.1002/9783527629930.ch4](https://doi.org/10.1002/9783527629930.ch4)
- [62] Y. Miyauchi: Photoluminescence studies on exciton photophysics in carbon nanotubes. *J. Mater. Chem. C* 2013, 1 (40), 6499–6521, [DOI:10.1039/c3tc00947e](https://doi.org/10.1039/c3tc00947e)
- [63] M. S. Arnold, J. L. Blackburn, J. J. Crochet, S. K. Doorn, J. G. Duque, A. Mohite, H. Telg: Recent developments in the photophysics of single-walled carbon

- nanotubes for their use as active and passive material elements in thin film photovoltaics. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2013**, *15* (36), 14896–14918, DOI:10.1039/c3cp52752b
- [64] S. Maruyama, R. Kojima, Y. Miyauchi, S. Chiashi, M. Kohno: Low-temperature synthesis of high-purity single-walled carbon nanotubes from alcohol. *Chem. Phys. Lett.* **2002**, *360* (3–4), 229–234, DOI:10.1016/s0009-2614(02)00838-2
- [65] J.-D. R. Rocha, S. M. Bachilo, S. Ghosh, S. Arepalli, R. B. Weisman: Efficient Spectrofluorimetric Analysis of Single-Walled Carbon Nanotube Samples. *Anal. Chem.* **2011**, *83* (19), 7431–7437, DOI:10.1021/ac2014788
- [66] R. B. Weisman, S. M. Bachilo: Dependence of Optical Transition Energies on Structure for Single-Walled Carbon Nanotubes in Aqueous Suspension: An Empirical Kataura Plot. *Nano Lett.* **2003**, *3* (9), 1235–1238, DOI:10.1021/nl034428i
- [67] H. Kataura, Y. Kumazawa, Y. Maniwa, I. Umezū, S. Suzuki, Y. Ohtsuka, Y. Achiba: Optical properties of single-wall carbon nanotubes. *Synth. Met.* **1999**, *103* (1–3), 2555–2558, DOI:10.1016/s0379-6779(98)00278-1
- [68] J. Crochet, M. Clemens, T. Hertel: Quantum Yield Heterogeneities of Aqueous Single-Wall Carbon Nanotube Suspensions. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (26), 8058–8059, DOI:10.1021/ja071553d
- [69] J. Crochet, M. Clemens, T. Hertel: Optical properties of structurally sorted single-wall carbon nanotube ensembles. *Phys. Status Solidi B* **2007**, *244* (11), 3964–3968, DOI:10.1002/pssb.200776195
- [70] S. Heeg, J. T. Abrahamson, M. S. Strano, S. Reich: Analysing the photoluminescence intensities of single-walled carbon nanotubes. *Phys. Status Solidi B* **2012**, *249* (12), 2473–2478, DOI:10.1002/pssb.201200283
- [71] F. Schöppler, C. Mann, T. C. Hain, F. M. Neubauer, G. Privitera, F. Bonaccorso, D. Chu, A. C. Ferrari, T. Hertel: Molar Extinction Coefficient of Single-Wall Carbon Nanotubes. *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115* (30), 14682–14686, DOI:10.1021/jp205289h
- [72] F. Plentz, H. B. Ribeiro, A. Jorio, M. S. Strano, M. A. Pimenta: Direct Experimental Evidence of Exciton-Phonon Bound States in Carbon Nanotubes. *Phys. Rev. Lett.* **2005**, *95* (24), 247401, DOI:10.1103/physrevlett.95.247401
- [73] P. H. Tan, A. G. Rozhin, T. Hasan, P. Hu, V. Scardaci, W. I. Milne, A. C. Ferrari: Photoluminescence Spectroscopy of Carbon Nanotube Bundles: Evidence for Exciton

- Energy Transfer. *Phys. Rev. Lett.* **2007**, 99 (13), 137402, DOI:10.1103/physrevlett.99.137402
- [74] J. H. Choi, M. S. Strano: Solvatochromism in single-walled carbon nanotubes. *Appl. Phys. Lett.* **2007**, 90 (22), 223114, DOI:10.1063/1.2745228
- [75] Y. Ohno, S. Iwasaki, Y. Murakami, S. Kishimoto, S. Maruyama, T. Mizutani: Chirality-dependent environmental effects in photoluminescence of single-walled carbon nanotubes. *Phys. Rev. B* **2006**, 73 (23), 235427, DOI:10.1103/physrevb.73.235427
- [76] A. Gilmore, S. Cohen: Using nanophotonics to extract structural information on single-walled carbon nanotubes. *SPIE Newsroom* **2006**, DOI:10.1117/2.1200607.0326
- [77] R. B. Weisman, S. M. Bachilo, D. Tsyboulski: Fluorescence spectroscopy of single-walled carbon nanotubes in aqueous suspension. *Appl. Phys. A: Mater. Sci. Process.* **2004**, 78 (8), 1111–1116, DOI:10.1007/s00339-003-2461-5
- [78] M. Jones, C. Engtrakul, W. K. Metzger, R. J. Ellingson, A. J. Nozik, M. J. Heben, G. Rumbles: Analysis of photoluminescence from solubilized single-walled carbon nanotubes. *Phys. Rev. B* **2005**, 71 (11), 115426, DOI:10.1103/physrevb.71.115426
- [79] Z. Luo, L. D. Pfefferle, G. L. Haller, F. Papadimitrakopoulos: (n,m) Abundance Evaluation of Single-Walled Carbon Nanotubes by Fluorescence and Absorption Spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128 (48), 15511–15516, DOI:10.1021/ja0657096
- [80] P. H. Tan, T. Hasan, F. Bonaccorso, V. Scardaci, A. G. Rozhin, W. I. Milne, A. C. Ferrari: Optical properties of nanotube bundles by photoluminescence excitation and absorption spectroscopy. *Phys. E* **2008**, 40 (7), 2352–2359, DOI:10.1016/j.physe.2007.10.058
- [81] S. Heeg, E. Malić, C. Casiraghi, S. Reich: Quantitative composition of a single-walled carbon nanotube sample: Raman scattering versus photoluminescence. *Phys. Status Solidi B* **2009**, 246 (11–12), 2740–2743, DOI:10.1002/pssb.200982352
- [82] F. Schöppler, N. Rühl, T. Hertel: Photoluminescence microscopy and spectroscopy of individualized and aggregated single-wall carbon nanotubes. *Chem. Phys.* **2013**, 413, 112–115, DOI:10.1016/j.chemphys.2012.08.011

- [83] N. Savage: Supercontinuum sources. *Nat. Photonics* **2009**, 3 (2), 114–115, DOI:10.1038/nphoton.2008.286
- [84] A. M. Zheltikov: Let there be white light: supercontinuum generation by ultrashort laser pulses. *Phys.-Usp.* **2006**, 49 (6), 605–628, DOI:10.1070/pu2006v049n06abeh005975
- [85] C. F. Kaminski, R. S. Watt, A. D. Elder, J. H. Frank, J. Hult: Supercontinuum radiation for applications in chemical sensing and microscopy. *Appl. Phys. B: Lasers Opt.* **2008**, 92 (3), 367–378, DOI:10.1007/s00340-008-3132-1
- [86] R. R. Alfano, S. L. Shapiro: Emission in the Region 4000 to 7000 Å Via Four-Photon Coupling in Glass. *Phys. Rev. Lett.* **1970**, 24 (11), 584–587, DOI:10.1103/physrevlett.24.584
- [87] R. R. Alfano, S. L. Shapiro: Observation of Self-Phase Modulation and Small-Scale Filaments in Crystals and Glasses. *Phys. Rev. Lett.* **1970**, 24 (11), 592–594, DOI:10.1103/physrevlett.24.592
- [88] M. Seefeldt, A. Heuer, R. Menzel: Compact white-light source with an average output power of 2.4 W and 900 nm spectral bandwidth. *Opt. Commun.* **2003**, 216 (1–3), 199–202, DOI:10.1016/s0030-4018(02)02329-5
- [89] J. Herrmann, U. Griebner, N. Zhavoronkov, A. Husakou, D. Nickel, J. C. Knight, W. J. Wadsworth, P. St. J. Russell, G. Korn: Experimental Evidence for Supercontinuum Generation by Fission of Higher-Order Solitons in Photonic Fibers. *Phys. Rev. Lett.* **2002**, 88 (17), 173901, DOI:10.1103/physrevlett.88.173901
- [90] P. Russell: Photonic Crystal Fibers. *Science* **2003**, 299 (5605), 358–362, DOI:10.1126/science.1079280
- [91] J. C. Knight: Photonic crystal fibres. *Nature* **2003**, 424 (6950), 847–851, DOI:10.1038/nature01940
- [92] P. Russell: Eingesperartes Licht. Photonische Kristallfasern. *Phys. Unserer Zeit* **2008**, 39 (4), 168–174, DOI:10.1002/piuz.200801166
- [93] J. K. Ranka, R. S. Windeler, A. J. Stentz: Visible continuum generation in air-silica microstructure optical fibers with anomalous dispersion at 800 nm. *Opt. Lett.* **2000**, 25 (1), 25–27, DOI:10.1364/ol.25.000025
- [94] W. J. Wadsworth, N. Joly, J. C. Knight, T. A. Birks, F. Biancalana, P. St. J. Russell: Supercontinuum and four-wave mixing with Q-switched pulses in endlessly single-mode photonic crystal fibres. *Opt. Express* **2004**, 12 (2), 299–309, DOI:10.1364/opex.12.000299

- [95] J. C. Travers: Blue extension of optical fibre supercontinuum generation. *J. Opt.* **2010**, 12 (11), 113001, DOI:10.1088/2040-8978/12/11/113001
- [96] S. P. Stark, J. C. Travers, P. St. J. Russell: Extreme supercontinuum generation to the deep UV. *Opt. Lett.* **2012**, 37 (5), 770–772, DOI:10.1364/ol.37.000770
- [97] F. Gebert, M. H. Frosz, T. Weiss, Y. Wan, A. Ermolov, N. Y. Joly, P. O. Schmidt, P. St. J. Russell: Damage-free single-mode transmission of deep-UV light in hollow-core PCF. *Opt. Express* **2014**, 22 (13), 15388–15396, DOI:10.1364/oe.22.015388
- [98] Y. Colombe, D. H. Slichter, A. C. Wilson, D. Leibfried, D. J. Wineland: Single-mode optical fiber for high-power, low-loss UV transmission. *Opt. Express* **2014**, 22 (16), 19783–19793, DOI:10.1364/oe.22.019783
- [99] J. M. Dudley, G. Genty, S. Coen: Supercontinuum generation in photonic crystal fiber. *Rev. Mod. Phys.* **2006**, 78 (4), 1135–1184, DOI:10.1103/revmodphys.78.1135
- [100] J. M. Dudley, J. R. Taylor: Ten years of nonlinear optics in photonic crystal fibre. *Nat. Photonics* **2009**, 3 (2), 85–90, DOI:10.1038/nphoton.2008.285
- [101] N. Anscombe: Photonic crystal pioneer. *Nat. Photonics* **2011**, 5 (8), 464–465, DOI:10.1038/nphoton.2011.156
- [102] T. Hertel, S. Himmelein, T. Ackermann, D. Stich, J. Crochet: Diffusion Limited Photoluminescence Quantum Yields in 1-D Semiconductors: Single-Wall Carbon Nanotubes. *ACS Nano* **2010**, 4 (12), 7161–7168, DOI:10.1021/nn101612b
- [103] http://www.nktphotonics.com/files/files/superk_extreme.pdf
(Stand vom 23.01.2015)
- [104] http://www.nktphotonics.com/files/files/superk_varia.pdf
(Stand vom 23.01.2015)
- [105] T. Okazaki, T. Saito, K. Matsuura, S. Ohshima, M. Yumura, S. Iijima: Photoluminescence Mapping of “As-Grown” Single-Walled Carbon Nanotubes: A Comparison with Micelle-Encapsulated Nanotube Solutions. *Nano Lett.* **2005**, 5 (12), 2618–2623, DOI:10.1021/nl051888y
- [106] J. A. Fagan, B. J. Landi, I. Mandelbaum, J. R. Simpson, V. Bajpai, B. J. Bauer, K. Migler, A. R. Hight Walker, R. Raffaele, E. K. Hobbie: Comparative Measures of Single-Wall Carbon Nanotube Dispersion. *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110 (47), 23801–23805, DOI:10.1021/jp0647434

- [107] M. Bradler, F. D. Nielsen, C. E. Eckert, E. Riedle: A broad and tunable 250- to 430-nm source for microscopy and lifetime measurements by frequency doubling of a 78-MHz-picosecond white-light laser. *Appl. Phys. B: Lasers Opt.* **2014**, 116 (4), 875–882, DOI:10.1007/s00340-014-5774-5
- [108] <http://www.laserfocusworld.com/articles/2013/05/tunable-deep-uv-supercontinuum-nkt.html> (Stand vom 23.01.2015)
- [109] http://www.gratinglab.com/products/product_tables/t2.aspx (Stand vom 23.01.2015)
- [110] <http://www.newport.com/grating-physics/383720/1033/content.aspx> (Stand vom 23.01.2015)
- [111] <http://www.andor.com/resolutioncalculator.aspx> (Stand vom 23.01.2015)
- [112] <http://www.swentnano.com/single-wall-cnts.html> (Stand vom 23.01.2015)
- [113] J. G. Duque, M. Pasquali, L. Cagnet, B. Lounis: Environmental and Synthesis-Dependent Luminescence Properties of Individual Single-Walled Carbon Nanotubes. *ACS Nano* **2009**, 3 (8), 2153–2156, DOI:10.1021/nn9003956
- [114] Z. Zhu, J. Crochet, M. S. Arnold, M. C. Hersam, H. Ulbricht, D. Resasco, T. Hertel: Pump-Probe Spectroscopy of Exciton Dynamics in (6,5) Carbon Nanotubes. *J. Phys. Chem. C* **2007**, 111 (10), 3831–3835, DOI:10.1021/jp0669411
- [115] L. Lürer, S. Hoseinkhani, D. Polli, J. Crochet, T. Hertel, G. Lanzani: Size and mobility of excitons in (6,5) carbon nanotubes. *Nat. Phys.* **2009**, 5 (1), 54–58, DOI:10.1038/nphys1149
- [116] L. Lürer, J. Crochet, T. Hertel, D. Polli, G. Lanzani: Evidence for electron correlation in (6,5) carbon nanotubes from pump-probe spectroscopy with broadband pulses, *erschienen in* Ultrafast Phenomena XVI, P. Corkum, S. de Silvestri, K. A. Nelson, E. Riedle, R. W. Schoenlein (Hrsg.), Springer Series in Chemical Physics, Bd. 92, Kap. 4, 262–264. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, **2009**, DOI:10.1007/978-3-540-95946-5_85
- [117] C. Sciascia, J. Crochet, T. Hertel, G. Lanzani: Long lived photo excitations in (6,5) carbon nanotubes. *Eur. Phys. J. B* **2010**, 75 (2), 115–120, DOI:10.1140/epjb/e2009-00374-1
- [118] <http://www.andor.com/spectrograph/shamrock-spectrograph-series/shamrock-303i> (Stand vom 23.01.2015)

- [119] <http://www.andor.com/scientific-cameras/idus-spectroscopy-cameras/17µm-ingaas> (Stand vom 23.01.2015)
- [120] <http://www.andor.com/scientific-cameras/newton-ccd-and-emccd-cameras/newton-920> (Stand vom 23.01.2015)
- [121] J. Reader: Optimizing Czerny-Turner Spectrographs: A Comparison between Analytic Theory and Ray Tracing. *J. Opt. Soc. Am.* **1969**, 59 (9), 1189–1196, DOI:10.1364/josa.59.001189
- [122] C. Liu, R. W. Berg: Determining the Spectral Resolution of a Charge-Coupled Device (CCD) Raman Instrument. *Appl. Spectrosc.* **2012**, 66 (9), 1034–1043, DOI:10.1366/11-06508
- [123] J. B. Pawley: Points, Pixels, and Gray Levels: Digitizing Image Data, *erschienen in Handbook Of Biological Confocal Microscopy*, J. B. Pawley (Hrsg.), Kap. 4, 59–79. Springer Science + Business Media, New York, NY, 3. Aufl., **2006**, DOI:10.1007/978-0-387-45524-2_4
- [124] J. R. Allen, S. T. Ross, M. W. Davidson: Single molecule localization microscopy for superresolution. *J. Opt.* **2013**, 15 (9), 094001, DOI:10.1088/2040-8978/15/9/094001
- [125] R. Heintzmann, G. Ficzig: Breaking the resolution limit in light microscopy. *Briefings Funct. Genomics Proteomics* **2006**, 5 (4), 289–301, DOI:10.1093/bfpg/ell036
- [126] <http://www.roperscientific.de/matchingresolution.html> (Stand vom 23.01.2015)
- [127] J. T. Caulfield, J. A. Wilson, N. K. Dhar: Spatial oversampling in imaging sensors: Benefits in sensitivity and detection, *erschienen im Konferenzband Applied Image-ry Pattern Recognition Workshop (AIPR)*, Washington, DC, 2012, 1–6. Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE), New York, NY, **2012**, DOI:10.1109/aipr.2012.6528210
- [128] J. Eichler, L. Dünkel, B. Eppich: Die Strahlqualität von Lasern – Wie bestimmt man Beugungsmaßzahl und Strahldurchmesser in der Praxis? *Laser Tech. J.* **2004**, 1 (2), 63–66, DOI:10.1002/latj.200790019
- [129] D. M. Carey, G. M. Korenowski: Measurement of the Raman spectrum of liquid water. *J. Chem. Phys.* **1998**, 108 (7), 2669–2675, DOI:10.1063/1.475659
- [130] <http://www.wavemetrics.net/doc/igorman/II-09 Data Import Export.pdf> (Stand vom 23.01.2015)

- [131] L. Prodi, A. Credi: Spectrofluorimetry, *erschienen in The Exploration of Supramolecular Systems and Nanostructures by Photochemical Techniques*, P. Ceroni (Hrsg.), *Lecture Notes in Chemistry*, Bd. 78, Kap. 5, 97–129. Springer Science + Business Media, Dordrecht, 2012, DOI:10.1007/978-94-007-2042-8_5
- [132] Á. Andrade-Eiroa, M. Canle, V. Cerdá: Environmental Applications of Excitation-Emission Spectrofluorimetry: An In-Depth Review I. *Appl. Spectrosc. Rev.* 2013, 48 (1), 1–49, DOI:10.1080/05704928.2012.692104
- [133] <http://rename.lupasfreeware.org/lupasrename.php> (Stand vom 23.01.2015)
- [134] <http://www.irfanview.de> (Stand vom 23.01.2015)
- [135] D. A. Tsyboulski, J.-D. R. Rocha, S. M. Bachilo, L. Cagnet, R. B. Weisman: Structure-Dependent Fluorescence Efficiencies of Individual Single-Walled Carbon Nanotubes. *Nano Lett.* 2007, 7 (10), 3080–3085, DOI:10.1021/nl071561s
- [136] B. Nagy, L. Nemes, M. Kubinyi: Spectroscopy of laser-induced carbon plasma with nanosecond time resolution. *Period. Polytech., Chem. Eng.* 2009, 53 (2), 61–66, DOI:10.3311/pp.ch.2009-2.05
- [137] S. Chaturvedi, S. Biswas: Fermi-Dirac Statistics: Derivation and Consequences. *Resonance* 2014, 19 (1), 45–61, DOI:10.1007/s12045-014-0006-1
- [138] M. J. Bronikowski, P. A. Willis, D. T. Colbert, K. A. Smith, R. E. Smalley: Gas-phase production of carbon single-walled nanotubes from carbon monoxide via the HiPco process: A parametric study. *J. Vac. Sci. Technol. A* 2001, 19 (4), 1800–1805, DOI:10.1116/1.1380721
- [139] D. E. Resasco, W. E. Alvarez, F. Pompeo, L. Balzano, J. E. Herrera, B. Kitiyanan, A. Borgna: A Scalable Process for Production of Single-walled Carbon Nanotubes (SWNTs) by Catalytic Disproportionation of CO on a Solid Catalyst. *J. Nanopart. Res.* 2002, 4 (1–2), 131–136, DOI:10.1023/a:1020174126542
- [140] C. Backes, U. Mundloch, A. Ebel, F. Hauke, A. Hirsch: Dispersion of HiPco[®] and CoMoCAT[®] Single-Walled Nanotubes (SWNTs) by Water Soluble Pyrene Derivatives – Depletion of Small Diameter SWNTs. *Chem. Eur. J.* 2010, 16 (11), 3314–3317, DOI:10.1002/chem.200903420
- [141] J. Park, H. Yang, M.-J. Seong: Comparative study on raman and photoluminescence spectra of carbon nanotubes dispersed in different surfactant solutions. *J. Korean Phys. Soc.* 2012, 60 (8), 1301–1304, DOI:10.3938/jkps.60.1301

- [142] J. Zhang, H. Gui, B. Liu, J. Liu, C. Zhou: Comparative study of gel-based separated arcdischarge, HiPCO, and CoMoCAT carbon nanotubes for macroelectronic applications. *Nano. Res.* **2013**, 6 (12), 906–920, DOI:10.1007/s12274-013-0368-9
- [143] M. Kumar, Y. Ando: Chemical Vapor Deposition of Carbon Nanotubes: A Review on Growth Mechanism and Mass Production. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2010**, 10 (6), 3739–3758, DOI:10.1166/jnn.2010.2939
- [144] J.-P. Tessonier, D. S. Su: Recent Progress on the Growth Mechanism of Carbon Nanotubes: A Review. *ChemSusChem* **2011**, 4 (7), 824–847, DOI:10.1002/cssc.201100175
- [145] S. Lin, D. Blankschtein: Role of the Bile Salt Surfactant Sodium Cholate in Enhancing the Aqueous Dispersion Stability of Single-Walled Carbon Nanotubes: A Molecular Dynamics Simulation Study. *J. Phys. Chem. B* **2010**, 114 (47), 15616–15625, DOI:10.1021/jp1076406
- [146] H. Wang, G. I. Koleilat, P. Liu, G. Jiménez-Osés, Y.-C. Lai, M. Vosgueritchian, Y. Fang, S. Park, K. N. Houk, Z. Bao: High-Yield Sorting of Small-Diameter Carbon Nanotubes for Solar Cells and Transistors. *ACS Nano* **2014**, 8 (3), 2609–2617, DOI:10.1021/nn406256y
- [147] M. F. L. De Volder, S. H. Tawfick, R. H. Baughman, A. J. Hart: Carbon Nanotubes: Present and Future Commercial Applications. *Science* **2013**, 339 (6119), 535–539, DOI:10.1126/science.1222453
- [148] T. Maruyama, H. Kondo, N. Fukuoka, S. Naritsuka: Growth of Single-Walled Carbon Nanotubes from Pt catalysts by the Alcohol Gas Source Method under Low Ethanol Pressure: Growth Temperature Dependence. *Trans. Mater. Res. Soc. Jpn.* **2013**, 38 (4), 585–588, DOI:10.14723/tmrsj.38.585
- [149] Y. Homma: Gold Nanoparticles as the Catalyst of Single-Walled Carbon Nanotube Synthesis. *Catalysts* **2014**, 4 (1), 38–48, DOI:10.3390/catal4010038
- [150] S. Ghosh, S. M. Bachilo, R. B. Weisman: Advanced sorting of single-walled carbon nanotubes by nonlinear density-gradient ultracentrifugation. *Nat. Nanotechnol.* **2010**, 5 (6), 443–450, DOI:10.1038/nnano.2010.68
- [151] J.-W. T. Seo, N. L. Yoder, T. A. Shastry, J. J. Humes, J. E. Johns, A. A. Green, M. C. Hersam: Diameter Refinement of Semiconducting Arc Discharge Single-Walled Carbon Nanotubes via Density Gradient Ultracentrifugation. *J. Phys. Chem. Lett.* **2013**, 4 (17), 2805–2810, DOI:10.1021/jz4013596

- [152] S. Ghosh, S. M. Bachilo, R. B. Weisman: Removing Aggregates from Single-Walled Carbon Nanotube Samples by Magnetic Purification. *J. Phys. Chem. C* **2014**, *118* (8), 4489–4494, DOI:10.1021/jp411941k
- [153] A. A. Green, M. C. Duch, M. C. Hersam: Isolation of single-walled carbon nanotube enantiomers by density differentiation. *Nano Res.* **2009**, *2* (1), 69–77, DOI:10.1007/s12274-009-9006-y
- [154] S. Kuwahara, Y. Kuwahara, H. Shinohara: Quantitative Analysis of Isolated Single-Wall Carbon Nanotubes with Their Molar Absorbance Coefficients. *J. Nanomater.* **2014**, *2014*, 262940, DOI:10.1155/2014/262940
- [155] F. Violla, C. Roquelet, B. Langlois, G. Delport, S. M. Santos, E. Deleporte, P. Rousignol, C. Delalande, C. Voisin, J.-S. Lauret: Chirality Dependence of the Absorption Cross Section of Carbon Nanotubes. *Phys. Rev. Lett.* **2013**, *111* (13), 137402, DOI:10.1103/physrevlett.111.137402
- [156] S. Berciaud, L. Cognet, B. Lounis: Luminescence Decay and the Absorption Cross Section of Individual Single-Walled Carbon Nanotubes. *Phys. Rev. Lett.* **2008**, *101* (7), 077402, DOI:10.1103/physrevlett.101.077402
- [157] L. Oudjedi, A. N. G. Parra-Vasquez, A. G. Godin, L. Cognet, B. Lounis: Metrological Investigation of the (6,5) Carbon Nanotube Absorption Cross Section. *J. Phys. Chem. Lett.* **2013**, *4* (9), 1460–1464, DOI:10.1021/jz4003372
- [158] A. Rajan, M. S. Strano, D. A. Heller, T. Hertel, K. Schulten: Length-Dependent Optical Effects in Single Walled Carbon Nanotubes. *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112* (19), 6211–6213, DOI:10.1021/jp077144l
- [159] D. M. Harrah, A. K. Swan: The Role of Length and Defects on Optical Quantum Efficiency and Exciton Decay Dynamics in Single-Walled Carbon Nanotubes. *ACS Nano* **2011**, *5* (1), 647–655, DOI:10.1021/nn1031214
- [160] A. V. Naumov, D. A. Tsybouski, S. M. Bachilo, R. B. Weisman: Length-dependent optical properties of single-walled carbon nanotube samples. *Chem. Phys.* **2013**, *422*, 255–263, DOI:10.1016/j.chemphys.2012.12.033
- [161] D. Qian, G. J. Wagner, W. K. Liu, M.-F. Yu, R. S. Ruoff: Mechanics of carbon nanotubes. *Appl. Mech. Rev.* **2002**, *55* (6), 495–533, DOI:10.1115/1.1490129
- [162] G. Pagani, M. J. Green, P. Poulin, M. Pasquali: Competing mechanisms and scaling laws for carbon nanotube scission by ultrasonication. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2012**, *109* (29), 11599–11604, DOI:10.1073/pnas.1200013109

- [163] R. D. Mehlenbacher, M.-Y. Wu, M. Grechko, J. E. Laaser, M. S. Arnold, M. T. Zanni: Photoexcitation Dynamics of Coupled Semiconducting Carbon Nanotube Thin Films. *Nano Lett.* **2013**, *13* (4), 1495–1501, DOI:10.1021/nl304591w
- [164] M. Klein: Untersuchungen zur Exzitonendynamik in gekoppelten Kohlenstoffnanorohrsystemen. Bachelorarbeit, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, **2014**
- [165] Y. Murakami, B. Lu, S. Kazaoui, N. Minami, T. Okubo, S. Maruyama: Photoluminescence sidebands of carbon nanotubes below the bright singlet excitonic levels. *Phys. Rev. B* **2009**, *79* (19), 195407, DOI:10.1103/physrevb.79.195407
- [166] C. Manzoni, A. Gambetta, E. Menna, M. Meneghetti, G. Lanzani, G. Cerullo: Inter-subband Exciton Relaxation Dynamics in Single-Walled Carbon Nanotubes. *Phys. Rev. Lett.* **2005**, *94* (20), 207401, DOI:10.1103/physrevlett.94.207401
- [167] L. Lüer, J. Crochet, T. Hertel, G. Cerullo, G. Lanzani: Ultrafast Excitation Energy Transfer in Small Semiconducting Carbon Nanotube Aggregates. *ACS Nano* **2010**, *4* (7), 4265–4273, DOI:10.1021/nn100674h
- [168] G. D. Scholes: Long-Range Resonance Energy Transfer in Molecular Systems. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2003**, *54*, 57–87, DOI:10.1146/annurev.physchem.54.011002.103746
- [169] M. Grechko, Y. Ye, R. D. Mehlenbacher, T. J. McDonough, M.-Y. Wu, R. M. Jacobberger, M. S. Arnold, M. T. Zanni: Diffusion-Assisted Photoexcitation Transfer in Coupled Semiconducting Carbon Nanotube Thin Films. *ACS Nano* **2014**, *8* (6), 5383–5394, DOI:10.1021/nn4041798
- [170] D. J. Bindl, M. J. Shea, M. S. Arnold: Enhancing extraction of photogenerated excitons from semiconducting carbon nanotube films as photocurrent. *Chem. Phys.* **2013**, *413*, 29–34, DOI:10.1016/j.chemphys.2012.08.001
- [171] X. Li, C. Wang, J. Shao, Y. Ding, H. Tian, X. Li, L. Wang: Periodic Parallel Array of Nanopillars and Nanoholes Resulting from Colloidal Stripes Patterned by Geometrically Confined Evaporative Self-Assembly for Unique Anisotropic Wetting. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, *6* (22), 20300–20308, DOI:10.1021/am505835z
- [172] M. Engel, J. P. Small, M. Steiner, M. Freitag, A. A. Green, M. C. Hersam, P. Avouris: Thin Film Nanotube Transistors Based on Self-Assembled, Aligned, Semiconducting Carbon Nanotube Arrays. *ACS Nano* **2008**, *2* (12), 2445–2452, DOI:10.1021/nn800708w

- [173] H. Li, T. C. Hain, A. Muzha, F. Schöppler, T. Hertel: Dynamical Contact Line Pinning and Zipping during Carbon Nanotube Coffee Stain Formation. *ACS Nano* **2014**, 8 (6), 6417–6424, DOI:10.1021/nn501957y
- [174] U. Feldkamp, C. M. Niemeyer: Rational Design of DNA Nanoarchitectures. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45 (12), 1856–1876, DOI:10.1002/anie.200502358 und U. Feldkamp, C. M. Niemeyer: Rationaler Entwurf von DNA-Nanoarchitekturen. *Angew. Chem.* **2006**, 118 (12), 1888–1910, DOI:10.1002/ange.200502358
- [175] H. Song, R. F. Ismagilov: Millisecond Kinetics on a Microfluidic Chip Using Nanoliters of Reagents. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125 (47), 14613–14619, DOI:10.1021/ja0354566
- [176] S. R. Vogel, M. M. Kappes, F. Hennrich, C. Richert: An Unexpected New Optimum in the Structure Space of DNA Solubilizing Single-Walled Carbon Nanotubes. *Chem. Eur. J.* **2007**, 13 (6), 1815–1820, DOI:10.1002/chem.200600988
- [177] R. Haggmueller, S. S. Rahatekar, J. A. Fagan, J. Chun, M. L. Becker, R. R. Naik, T. Krauss, L. Carlson, J. F. Kadla, P. C. Trulove, D. F. Fox, H. C. DeLong, Z. Fang, S. O. Kelley, J. W. Gilman: Comparison of the Quality of Aqueous Dispersions of Single Wall Carbon Nanotubes Using Surfactants and Biomolecules. *Langmuir* **2008**, 24 (9), 5070–5078, DOI:10.1021/la703008r
- [178] X. Tu, S. Manohar, A. Jagota, M. Zheng: DNA sequence motifs for structure-specific recognition and separation of carbon nanotubes. *Nature* **2009**, 460 (7252), 250–253, DOI:10.1038/nature08116
- [179] J. A. Fagan, M. Zheng, V. Rastogi, J. R. Simpson, C. Y. Khripin, C. A. Silvera Batista, A. R. Hight Walker: Analyzing Surfactant Structures on Length and Chirality Resolved (6,5) Single-Wall Carbon Nanotubes by Analytical Ultracentrifugation. *ACS Nano* **2013**, 7 (4), 3373–3387, DOI:10.1021/nn4002165
- [180] F. Albertorio, M. E. Hughes, J. A. Golovchenko, D. Branton: Base dependent DNA–carbon nanotube interactions: activation enthalpies and assembly–disassembly control. *Nanotechnology* **2009**, 20 (39), 395101, DOI:10.1088/0957-4484/20/39/395101
- [181] Y. Kato, Y. Niidome, N. Nakashima: Thermodynamics of the Exchange of Solubilizers on Single-walled Carbon Nanotubes. *Chem. Lett.* **2011**, 40 (7), 730–732, DOI:10.1246/cl.2011.730
- [182] Y. Kato, A. Inoue, Y. Niidome, N. Nakashima: Thermodynamics on Soluble Carbon Nanotubes: How Do DNA Molecules Replace Surfactants on Carbon Nanotubes? *Sci. Rep.* **2012**, 2 (733), 1–7, DOI:10.1038/srep00733

- [183] Y. Kato, Y. Niidome, N. Nakashima: Spectroscopic Analysis of Two Distinct Equilibrium States for the Exchange Reaction of Sodium Cholate and Oligo-DNA on Single-Walled Carbon Nanotubes. *ChemPhysChem* **2013**, *14* (8), 1652–1655, DOI:10.1002/cphc.201300020
- [184] H. Oh, J. Sim, S.-Y. Ju: Binding Affinities and Thermodynamics of Noncovalent Functionalization of Carbon Nanotubes with Surfactants. *Langmuir* **2013**, *29* (35), 11154–11162, DOI:10.1021/la4022933
- [185] H. Gao, Y. Kong: Simulation of DNA-Nanotube Interactions. *Annu. Rev. Mater. Res.* **2004**, *34*, 123–150, DOI:10.1146/annurev.matsci.34.040203.120402
- [186] H. Brauer: Die Adsorptionstechnik – ein Gebiet mit Zukunft. *Chem. Ing. Tech.* **1985**, *57* (8), 650–663, DOI:10.1002/cite.330570803
- [187] I. I. Salame, T. J. Bandosz: Experimental Study of Water Adsorption on Activated Carbons. *Langmuir* **1999**, *15* (2), 587–593, DOI:10.1021/la980492h
- [188] T. C. Hain, K. Kröker, D. G. Stich, T. Hertel: Influence of DNA conformation on the dispersion of SWNTs: single-strand DNA vs. hairpin DNA. *Soft Matter* **2012**, *8* (10), 2820–2823, DOI:10.1039/c2sm07148g
- [189] C. T. Middleton, K. de La Harpe, C. Su, Y. K. Law, C. E. Crespo-Hernández, B. Kohler: DNA Excited-State Dynamics: From Single Bases to the Double Helix. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2009**, *60*, 217–239, DOI:10.1146/annurev.physchem.59.032607.093719
- [190] Y. Murakami, S. Maruyama: Effect of dielectric environment on the ultraviolet optical absorption of single-walled carbon nanotubes. *Phys. Rev. B* **2009**, *79* (15), 155445, DOI:10.1103/physrevb.79.155445
- [191] R. Prakash, S. Washburn, R. Superfine, R. E. Cheney, M. R. Falvo: Visualization of individual carbon nanotubes with fluorescence microscopy using conventional fluorophores. *Appl. Phys. Lett.* **2003**, *83* (6), 1219–1221, DOI:10.1063/1.1599042
- [192] V. V. Didenko, V. C. Moore, D. S. Baskin, R. E. Smalley: Visualization of Individual Single-Walled Carbon Nanotubes by Fluorescent Polymer Wrapping. *Nano Lett.* **2005**, *5* (8), 1563–1567, DOI:10.1021/nl050840h
- [193] S. H. Yoshimura, S. Khan, H. Maruyama, Y. Nakayama, K. Takeyasu: Fluorescence Labeling of Carbon Nanotubes and Visualization of a Nanotube–Protein Hybrid under Fluorescence Microscope. *Biomacromolecules* **2011**, *12* (4), 1200–1204, DOI:10.1021/bm101491s

- [194] E. Dolgih, A. E. Roitberg, J. L. Krause: Fluorescence resonance energy transfer in dye-labeled DNA. *J. Photochem. Photobiol. A* **2007**, 190 (2–3), 321–327, DOI:10.1016/j.jphotochem.2006.11.009
- [195] Z. Zhu, R. Yang, M. You, X. Zhang, Y. Wu, W. Tan: Single-walled carbon nanotube as an effective quencher. *Anal. Bioanal. Chem.* **2010**, 396 (1), 73–83, DOI:10.1007/s00216-009-3192-z
- [196] D. K. Singh, P. K. Giri, P. K. Iyer: Evidence for Defect-Enhanced Photoluminescence Quenching of Fluorescein by Carbon Nanotubes. *J. Phys. Chem. C* **2011**, 115 (49), 24067–24072, DOI:10.1021/jp207392d
- [197] D. K. Singh, P. K. Iyer, P. K. Giri: Role of molecular interactions and structural defects in the efficient fluorescence quenching by carbon nanotubes. *Carbon* **2012**, 50 (12), 4495–4505, DOI:10.1016/j.carbon.2012.05.030
- [198] S. J. Sowerby, C. A. Cohn, W. M. Heckl, N. G. Holm: Differential adsorption of nucleic acid bases: Relevance to the origin of life. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2001**, 98 (3), 820–822, DOI:10.1073/pnas.98.3.820
- [199] S. J. Sowerby, C.-M. Mörth, N. G. Holm: Effect of Temperature on the Adsorption of Adenine. *Astrobiology* **2001**, 1 (4), 481–487, DOI:10.1089/153110701753593883
- [200] C. A. Hunter, J. K. M. Sanders: The Nature of π - π Interactions. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112 (14), 5525–5534, DOI:10.1021/ja00170a016
- [201] C. R. Martinez, B. L. Iverson: Rethinking the term “pi-stacking”. *Chem. Sci.* **2012**, 3 (7), 2191–2201, DOI:10.1039/c2sc20045g
- [202] R. R. Johnson, A. T. C. Johnson, M. L. Klein: The Nature of DNA-Base–Carbon-Nanotube Interactions. *Small* **2010**, 6 (1), 31–34, DOI:10.1002/smll.200901481
- [203] A. Shankar, J. Mittal, A. Jagota: Binding between DNA and Carbon Nanotubes Strongly Depends upon Sequence and Chirality. *Langmuir* **2014**, 30 (11), 3176–3183, DOI:10.1021/la500013c
- [204] M. Zheng, A. Jagota, E. D. Semke, B. A. Diner, R. S. Mclean, S. R. Lustig, R. E. Richardson, N. G. Tassi: DNA-assisted dispersion and separation of carbon nanotubes. *Nat. Mater.* **2003**, 2 (5), 338–342, DOI:10.1038/nmat877
- [205] I. Johnson: Review: Fluorescent probes for living cells. *Histochem. J.* **1998**, 30 (3), 123–140, DOI:10.1023/a:1003287101868

- [206] <http://www.andor.com/scientific-cameras/clara-interline-ccd-series/clara>
(Stand vom 23.01.2015)
- [207] <http://www.xenics.com/en/xeva-17-320-0> (Stand vom 23.01.2015)
- [208] G. M. Whitesides: The origins and the future of microfluidics. *Nature* **2006**, 442 (7101), 368–373, DOI:10.1038/nature05058
- [209] T. C. Hain: Dispersion von Kohlenstoffnanoröhren mit DNA-Oligomeren. Diplomarbeit, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, **2010**
- [210] Y. Wu, J. A. Phillips, H. Liu, R. Yang, W. Tan: Carbon Nanotubes Protect DNA Strands during Cellular Delivery. *ACS Nano* **2008**, 2 (10), 2023–2028, DOI:10.1021/nn800325a
- [211] F. F. Bergler: Photolumineszenzstudien an Kohlenstoffnanoröhren in mikrofluidischer Umgebung. Diplomarbeit, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, **2010**
- [212] T. K. G. Stocker: Entwicklung eines Mikrofluidikchips zur Photolumineszenzspektroskopie an Kohlenstoffnanoröhren. Diplomarbeit, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, **2012**
- [213] J. Cooper McDonald, D. C. Duffy, J. R. Anderson, D. T. Chiu, H. Wu, O. J. A. Schueller, G. M. Whitesides: Fabrication of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane). *Electrophoresis* **2000**, 21 (1), 27–40, DOI:10.1002/(sici)1522-2683(20000101)21:1<27::aid-elps27>3.0.co;2-c
- [214] J. C. Lötters, W. Olthuis, P. H. Veltink, P. Bergveld: The mechanical properties of the rubber elastic polymer polydimethylsiloxane for sensor applications. *J. Micro-mech. Microeng.* **1997**, 7 (3), 145–147, DOI:10.1088/0960-1317/7/3/017
- [215] M. W. Toepke, D. J. Beebe: PDMS absorption of small molecules and consequences in microfluidic applications. *Lab Chip* **2006**, 6 (12), 1484–1486, DOI:10.1039/b612140c
- [216] Y.-H. Lin, S.-W. Kang, T.-Y. Wu: Fabrication of polydimethylsiloxane (PDMS) pulsating heat pipe. *Appl. Therm. Eng.* **2009**, 29 (2–3), 573–580, DOI:10.1016/j.applthermaleng.2008.03.028
- [217] T. Pennell, T. Suchyna, J. Wang, J. Heo, J. D. Felske, F. Sachs, S. Z. Hua: Microfluidic Chip to Produce Temperature Jumps for Electrophysiology. *Anal. Chem.* **2008**, 80 (7), 2447–2451, DOI:10.1021/ac702169t

- [218] M. N. Slyadnev, Y. Tanaka, M. Tokeshi, T. Kitamori: Photothermal Temperature Control of a Chemical Reaction on a Microchip Using an Infrared Diode Laser. *Anal. Chem.* **2001**, 73 (16), 4037–4044, DOI:10.1021/ac010318p
- [219] <http://www.gesim.de/en/microfluidics/miccell> (Stand vom 23.01.2015)
- [220] F.-U. Gast, P. S. Dittrich, P. Schwille, M. Weigel, M. Mertig, J. Opitz, U. Queitsch, S. Diez, B. Lincoln, F. Wottawah, S. Schinkinger, J. Guck, J. Käs, J. Smolinski, K. Salchert, C. Werner, C. Duschl, M. S. Jäger, K. Uhlig, P. Geggier, S. Howitz: The microscopy cell (MicCell), a versatile modular flowthrough system for cell biology, biomaterial research, and nanotechnology. *Microfluid. Nanofluid.* **2006**, 2 (1), 21–36, DOI:10.1007/s10404-005-0047-6
- [221] Y. Xia, G. M. Whitesides: Soft Lithography. *Annu. Rev. Mater. Sci.* **1998**, 28, 153–184, DOI:10.1146/annurev.matsci.28.1.153
- [222] Y. Xia, G. M. Whitesides: Soft Lithography. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37 (5), 550–575, DOI:10.1002/(sici)1521-3773(19980316)37:5<550::aid-anie550>3.0.co;2-g und Y. Xia, G. M. Whitesides: Softlithographie. *Angew. Chem.* **1998**, 110 (5), 568–594, DOI:10.1002/(sici)1521-3757(19980302)110:5<568::aid-ange568>3.0.co;2-x
- [223] L. J. Guérin, M. Bossel, M. Demierre, S. Calmes, P. Renaud: Simple and low cost fabrication of embedded micro-channels by using a new thick-film photoplastic, erschienen im Konferenzband Solid State Sensors and Actuators – Transducers, Chicago, IL, 1997, Bd. 2, 1419–1422. Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE), New York, NY, **1997**, DOI:10.1109/sensor.1997.635730
- [224] V. C. Pinto, P. J. Sousa, V. F. Cardoso, G. Minas: Optimized SU-8 Processing for Low-Cost Microstructures Fabrication without Cleanroom Facilities. *Micromachines* **2014**, 5 (3), 738–755, DOI:10.3390/mi5030738
- [225] W. W. Flack, D. S. Soong, A. T. Bell, D. W. Hess: A mathematical model for spin coating of polymer resists. *J. Appl. Phys.* **1984**, 56 (4), 1199–1206, DOI:10.1063/1.334049
- [226] K. V. Sharp, R. J. Adrian: Transition from laminar to turbulent flow in liquid filled microtubes. *Exp. Fluids* **2004**, 36 (5), 741–747, DOI:10.1007/s00348-003-0753-3
- [227] F. F. Bergler, F. Schöppler, F. K. Brunecker, M. Hailman, T. Hertel: Fluorescence Spectroscopy of Gel-Immobilized Single-Wall Carbon Nanotubes with Microfluidic Control of the Surfactant Environment. *J. Phys. Chem. C* **2013**, 117 (25), 13318–13323, DOI:10.1021/jp403711e

- [228] D. Poelman, P. F. Smet: Methods for the determination of the optical constants of thin films from single transmission measurements: a critical review. *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2003**, 36 (15), 1850–1857, DOI:10.1088/0022-3727/36/15/316
- [229] R. Swanepoel: Determination of the thickness and optical constants of amorphous silicon. *J. Phys. E: Sci. Instrum.* **1983**, 16 (12), 1214–1222, DOI:10.1088/0022-3735/16/12/023
- [230] E. R. Shaaban, I. S. Yahia, E. G. El-Metwally: Validity of Swanepoel's Method for Calculating the Optical Constants of Thick Films. *Acta. Phys. Pol. A* **2012**, 121 (3), 628–635, DOI nicht verfügbar
- [231] J. Sánchez-González, A. Díaz-Parralejo, A. L. Ortiz, F. Guiberteau: Determination of optical properties in nanostructured thin films using the Swanepoel method. *Appl. Surf. Sci.* **2006**, 252 (17), 6013–6017, DOI:10.1016/j.apsusc.2005.11.009
- [232] J. Li, S.-T. Wu, S. Brugioni, R. Meucci, S. Faetti: Infrared refractive indices of liquid crystals. *J. Appl. Phys.* **2005**, 97 (7), 073501, DOI:10.1063/1.1877815
- [233] O. Prakash Parida, N. Bhat: Characterization of Optical Properties of SU-8 and Fabrication of Optical Components, *erschienen im Konferenzband International Conference on Optics and Photonics (ICOP)*, Chandigarh, 2009. Central Scientific Instruments Organisation (CSIO), Chandigarh, **2009**, DOI nicht verfügbar
- [234] V. Mizeikis, K. K. Seet, S. Juodkazis, H. Misawa: Three-dimensional woodpile photonic crystal templates for the infrared spectral range. *Opt. Lett.* **2004**, 29 (17), 2061–2063, DOI:10.1364/ol.29.002061
- [235] X. Wang, J. Sun, L. Jin, J. Meng, Y. Yan, C. Chen, F. Wang, D. Zhang: Fabrication of SU-8 Based Electro-Optic Switch Using All-Wet Etching Technique. *Mod. Phys. Lett. B* **2013**, 27 (4), 1350024, DOI:10.1142/s0217984913500243
- [236] D. Dorrnian, L. Dejam, G. Mosayebian: Optical characterization of Cu₃N thin film with Swanepoel method. *J. Theor. Appl. Phys.* **2012**, 6 (13), 1–9, DOI:10.1186/2251-7235-6-13
- [237] T. Tanaka, H. Jin, Y. Miyata, H. Kataura: High-Yield Separation of Metallic and Semiconducting Single-Wall Carbon Nanotubes by Agarose Gel Electrophoresis. *Appl. Phys. Express* **2008**, 1 (11), 114001, DOI:10.1143/apex.1.114001
- [238] B. Gigliotti, B. Sakizzie, D. S. Bethune, R. M. Shelby, J. N. Cha: Sequence-Independent Helical Wrapping of Single-Walled Carbon Nanotubes by Long Genomic DNA. *Nano Lett.* **2006**, 6 (2), 159–164, DOI:10.1021/nl0518775

- [239] Y. Homma, S. Chiashi, Y. Kobayashi: Suspended single-wall carbon nanotubes: synthesis and optical properties. *Rep. Prog. Phys.* **2009**, 72 (6), 066502, DOI:10.1088/0034-4885/72/6/066502
- [240] A. Jungen, S. Hofmann, J. C. Meyer, C. Stampfer, S. Roth, J. Robertson, C. Hierold: Synthesis of individual single-walled carbon nanotube bridges controlled by support micromachining. *J. Micromech. Microeng.* **2007**, 17 (3), 603–608, DOI:10.1088/0960-1317/17/3/024
- [241] J.-P. Lee, B. M. Bang, S. Choi, T. Kim, S. Park: Patterning of various silicon structures via polymer lithography and catalytic chemical etching. *Nanotechnology* **2011**, 22 (27), 275305, DOI:10.1088/0957-4484/22/27/275305
- [242] M. E. Warkiani, A. A. S. Bhagat, B. L. Khoo, J. Han, C. T. Lim, H. Q. Gong, A. G. Fane: Isoporous Micro/Nanoengineered Membranes. *ACS Nano* **2013**, 7 (3), 1882–1904, DOI:10.1021/nl305616k
- [243] B. W. Smith, D. E. Luzzi: Electron irradiation effects in single wall carbon nanotubes. *J. Appl. Phys.* **2001**, 90 (7), 3509–3515, DOI:10.1063/1.1383020
- [244] S. Suzuki: Low-Energy Irradiation Damage in Single-Walled Carbon Nanotubes, *erschienen in Electronic Properties of Carbon Nanotubes*, J. M. Marulanda (Hrsg.), Kap. 15, 329–352. InTech, Rijeka, **2011**, DOI:10.5772/18140
- [245] L. Marks: Viewpoint: What Are the Resolution Limits in Electron Microscopes? *Physics* **2013**, 6, 82, DOI:10.1103/physics.6.82
- [246] M. Zheng, A. Jagota, M. S. Strano, A. P. Santos, P. Barone, S. G. Chou, B. A. Dinner, M. S. Dresselhaus, R. S. Mclean, G. B. Onoa, G. G. Samsonidze, E. D. Semke, M. Usrey, D. J. Walls: Structure-Based Carbon Nanotube Sorting by Sequence-Dependent DNA Assembly. *Science* **2003**, 302 (5650), 1545–1548, DOI:10.1126/science.1091911
- [247] C. Y. Khripin, S. Manohar, M. Zheng, A. Jagota: Measurement of Electrostatic Properties of DNA-Carbon Nanotube Hybrids by Capillary Electrophoresis. *J. Phys. Chem. C* **2009**, 113 (31), 13616–13621, DOI:10.1021/jp903197d
- [248] M. S. Arnold, S. I. Stupp, M. C. Hersam: Enrichment of Single-Walled Carbon Nanotubes by Diameter in Density Gradients. *Nano Lett.* **2005**, 5 (4), 713–718, DOI:10.1021/nl050133o
- [249] K. Müller, S. Malik, C. Richert: Sequence-Specifically Addressable Hairpin DNA–Single-Walled Carbon Nanotube Complexes for Nanoconstruction. *ACS Nano* **2010**, 4 (2), 649–656, DOI:10.1021/nn900886q

- [250] F. Brunecker: Kohlenstoffnanorohr-Komplexe – Adsorption und Desorption von (Bio-)Polymeren. Dissertation, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, 2015
- [251] J. Lefebvre, D. G. Austing, J. Bond, P. Finnie: Photoluminescence Imaging of Suspended Single-Walled Carbon Nanotubes. *Nano Lett.* **2006**, 6 (8), 1603–1608, DOI: [10.1021/nl060530e](https://doi.org/10.1021/nl060530e)
- [252] J. Lefebvre, J. M. Fraser, Y. Homma, P. Finnie: Photoluminescence from single-walled carbon nanotubes: a comparison between suspended and micelle-encapsulated nanotubes. *Appl. Phys. A: Mater. Sci. Process.* **2004**, 78 (8), 1107–1110, DOI: [10.1007/s00339-003-2460-6](https://doi.org/10.1007/s00339-003-2460-6)
- [253] J. Schneider, K. Maier: Point defects in silicon carbide. *Phys. B* **1993**, 185 (1–4), 199–206, DOI:[10.1016/0921-4526\(93\)90237-z](https://doi.org/10.1016/0921-4526(93)90237-z)
- [254] J. R. Weber, W. F. Koehl, J. B. Varley, A. Janotti, B. B. Buckley, C. G. Van de Walle, D. D. Awschalom: Quantum computing with defects. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2010**, 107 (19), 8513–8518, DOI:[10.1073/pnas.1003052107](https://doi.org/10.1073/pnas.1003052107)
- [255] H. Kraus, V. A. Soltamov, D. Riedel, S. Väh, F. Fuchs, A. Sperlich, P. G. Baranov, V. Dyakonov, G. V. Astakhov: Room-temperature quantum microwave emitters based on spin defects in silicon carbide. *Nat. Phys.* **2014**, 10 (2), 157–162, DOI:[10.1038/nphys2826](https://doi.org/10.1038/nphys2826)
- [256] <http://www.micro-photon-devices.com/products/photon-counters/pdm>
(Stand vom 23.01.2015)
- [257] <http://www.picoquant.com/products/category/tcspc-and-time-tagging-modules/hydraharp-400-multichannel-picosecond-event-timer-tcspc-module>
(Stand vom 23.01.2015)
- [258] C. J. Schuler, M. Hirsch, S. Harmeling, B. Schölkopf: Non-stationary correction of optical aberrations, *erschienen im Konferenzband International Conference on Computer Vision (ICCV)*, Barcelona, 2011, 659-666. Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE), New York, NY, **2011**, DOI:[10.1109/iccv.2011.6126301](https://doi.org/10.1109/iccv.2011.6126301)
- [259] <http://www.olympusmicro.com/primer/java/aberrations/spherical>
(Stand vom 23.01.2015)
- [260] F. Quercioli: Fundamentals of Optical Microscopy, *erschienen in Optical Fluorescence Microscopy: From the Spectral to the Nano Dimension*, A. Diaspro (Hrsg.), Kap. 1, 1–36. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, 1. Aufl., **2011**, DOI:[10.1007/978-3-642-15175-0_1](https://doi.org/10.1007/978-3-642-15175-0_1)

- [261] D. Riedel, F. Fuchs, H. Kraus, S. Vath, A. Sperlich, V. Dyakonov, A. A. Soltamova, P. G. Baranov, V. A. Ilyin, G. V. Astakhov: Resonant Addressing and Manipulation of Silicon Vacancy Qubits in Silicon Carbide. *Phys. Rev. Lett.* **2012**, *109* (22), 226402, DOI:10.1103/physrevlett.109.226402
- [262] T. C. Hain, F. Fuchs, V. A. Soltamov, P. G. Baranov, G. V. Astakhov, T. Hertel, V. Dyakonov: Excitation and recombination dynamics of vacancy-related spin centers in silicon carbide. *J. Appl. Phys.* **2014**, *115* (13), 133508, DOI:10.1063/1.4870456
- [263] M. Wahl, H.-J. Rahn, I. Gregor, R. Erdmann, J. Enderlein: Dead-time optimized time-correlated photon counting instrument with synchronized, independent timing channels. *Rev. Sci. Instrum.* **2007**, *78* (3), 033106, DOI:10.1063/1.2715948
- [264] http://www.picoquant.com/images/uploads/page/files/14528/technote_tttr.pdf (Stand vom 23.01.2015)
- [265] C. Kurtsiefer, S. Mayer, P. Zarda, H. Weinfurter: Stable Solid-State Source of Single Photons. *Phys. Rev. Lett.* **2000**, *85* (2), 290–293, DOI:10.1103/physrevlett.85.290
- [266] A. Hogele, C. Galland, M. Winger, A. Imamođlu: Photon Antibunching in the Photoluminescence Spectra of a Single Carbon Nanotube. *Phys. Rev. Lett.* **2008**, *100* (21), 217401, DOI:10.1103/physrevlett.100.217401
- [267] S. Castelletto, B. C. Johnson, V. Ivady, N. Stavrias, T. Umeda, A. Gali, T. Ohshima: A silicon carbide room-temperature single-photon source. *Nat. Mater.* **2014**, *13* (2), 151–156, DOI:10.1038/nmat3806
- [268] J. Bernard, L. Fleury, H. Talon, M. Orrit: Photon bunching in the fluorescence from single molecules: A probe for intersystem crossing. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98* (2), 850–859, DOI:10.1063/1.464249
- [269] http://www.nktphotonics.com/files/files/superk_extend-uv.pdf (Stand vom 23.01.2015)
- [270] G. J. Brady, Y. Joo, S. Singha Roy, P. Gopalan, M. S. Arnold: High performance transistors via aligned polyfluorene-sorted carbon nanotubes. *Appl. Phys. Lett.* **2014**, *104* (8), 083107, DOI:10.1063/1.4866577

Abbildungsverzeichnis

1.1	Übersicht nanoskaliger Grenzflächenphänomene und ihre Entsprechung in Form thermodynamischer und kinetischer Parameter	2
2.1	Optischer Strahlengang in der Endlich- und Unendlichoptik	6
2.2	Optischer Strahlengang eines Mikroskops mit Tubuslinsenwechsler	8
2.3	Beschneidung des Gesichtsfelds mit zunehmender Länge des Unendlichstrahlengangs	9
2.4	Funktionsweise des Okulars und Definition der Winkelvergrößerung	10
2.5	Einfluss der Objektivvergrößerung auf Bildhelligkeit und Detailreichtum	11
2.6	Beugungsscheibchen bei optischen Abbildungen und Auftreten von Interferenzerscheinungen	12
2.7	Rayleigh-Kriterium und Auflösungsvermögen eines Lichtmikroskops mit Unendlichoptik	13
2.8	Abhängigkeit der Numerischen Apertur von Objektivparametern und Brechungsindex sowie ihre Korrelation mit dem Abbildungsmaßstab	14
2.9	Behandlung der Fokussierung im Rahmen der Gaußschen Strahlenoptik	17
2.10	Absorptions- und Emissionsspektren von Rhodamin 6G und 6-Carboxyfluorescein	18
2.11	Schematischer Aufbau eines Fluoreszenzmikroskops und spektrale Eigenschaften seiner Filterkomponenten	19
2.12	Prinzip der defokussierten Anregung in Auflichtmikroskopen	20
2.13	Unterschiedliche Spektrometervarianten und deren Funktionsweise	22
2.14	Gangunterschied am Reflexionsgitter, Herleitung des Blaze-Winkels und Definition der Littrow-Anordnung	25
2.15	Reflektivitäten verschiedener Spiegelmaterialien und Beugungsgitter	28
2.16	Einfluss der Kühltemperatur auf den Verlauf der Quanteneffizienz	29
2.17	Definition des Strahlsegments und seine Unterteilung in Subsegmente zur Herleitung der Photonenstatistik	35
2.18	Histogrammdarstellung der Wahrscheinlichkeitsverteilung von Photonen-zählexperimenten	36

2.19 Zusammenhang zwischen der Breite der Photonenstatistik und der Regelmäßigkeit des Photonenflusses	37
2.20 Quantenmodell der Abschwächung eines Lichtstrahls und deren Auswirkung auf die Photonenstatistik	39
2.21 Schematischer Aufbau des Hanbury Brown–Twiss-Experiments	40
2.22 Graphische Darstellung der Korrelationsfunktion zweiter Ordnung für unterschiedliche Photonenflüsse und Betriebsmodi	43
2.23 Leistungsabhängigkeit der Korrelationsfunktion zweiter Ordnung	44
3.1 Photolumineszenz-Anregungskarte einer polydispersen CVD-Nanorohr-suspension	48
3.2 Schematische Skizze des experimentellen Aufbaus zur Aufnahme von Photolumineszenz-Anregungskarten	50
3.3 Transmissionsverlauf des für PLE-Messungen und Abbildungsexperimente geeigneten Multiphotonenstrahlenteilers	52
3.4 Überlagerung des Anregungslichts mit der Photolumineszenz von SWNTs	53
3.5 Leistungsprofil und -stabilität des Superkontinuums Lasers sowie dessen Anpassung an die vorliegenden experimentellen Erfordernisse	54
3.6 Zunehmende Asymmetrie der Intensitätsprofile bei größeren Bandbreiten	55
3.7 Gauß-Anpassung der Intensitätsprofile für unterschiedliche Einstellungen des Filtermoduls	56
3.8 Leistungskontrollfunktion und ihre Visualisierung auf dem Anzeigefeld	57
3.9 Frequenzverdopplung durch die IR-Emission der Superkontinuumquelle	58
3.10 Geometrischer Zusammenhang der Winkelbeziehungen am Gitter	60
3.11 Vorzeichenkonvention der am Beugungsgitter auftretenden Winkel	61
3.12 Winkelverhältnisse, reziproke lineare Dispersion und spektraler Bandpass in Abhängigkeit von Wellenlänge und Linienzahl des Gitters	67
3.13 Herleitung des Grenzgitterwinkels anhand geometrischer Überlegungen	69
3.14 Eintrittsspaltbreite und Öffnungsverhältnis als Rahmenbedingungen für eine vollständige Gitterausleuchtung bei größtmöglicher Lichtstärke	69
3.15 Graphisches Bedienfeld der mit LabVIEW programmierten Messroutine .	71
3.16 Ausschnitt eines mit der PLE-Messroutine aufgenommenen Datensatzes .	72
3.17 Wirkung des Spektrographenverschlusses auf die Hintergrundmessung .	73
3.18 Eingabefeld der auf IGOR Pro basierenden Lade- und Korrekturprozedur	75
3.19 Einfluss der Hintergrundkorrektur auf die Beschaffenheit der PLE-Karte	76
3.20 Korrektur der PLE-Messungen hinsichtlich Leistung bzw. Photonenzahl .	77
3.21 Finale PLE-Darstellung durch Zusammenwirken aller Korrekturterme . .	78
3.22 Anpassung des Überlappungsbereichs spektral benachbarter PLE-Karten mit Hilfe zweier Fermi-Funktionen	79

3.23 Vergleich der PLE-Karten zweier verschiedener SWNT-Rohmaterialien: CoMoCAT und HiPCO	81
3.24 PLE-spektroskopische Untersuchung des Energietransfers in Kohlenstoff- nanorohrnetzwerken	83
3.25 PLE-Signatur eines durch Selbstassemblierung erhaltenen SWNT-Films .	85
4.1 Konzept zur Untersuchung der DNA-SWNT-Adsorption mit Hilfe farb- stoffmarkierter Oligomere	88
4.2 Gestalt der auf dem MicCell-System beruhenden Mikrofluidikzelle	91
4.3 Entwurf und lithographische Herstellung der MF-Mastervorlage	92
4.4 Bestimmung der MF-Kanaltiefe durch mikroskopische Vermessung der Mastervorlage	93
4.5 Bestimmung der SU-8-Photolackdicke nach der Interferenzmethode von Swanepoel	95
4.6 SEM-Studien der zur Untersuchung von freihängenden Nanoröhren in Frage kommenden Substrate	97
4.7 CCD-Aufnahmen der mikrostrukturierten Lochmembran	99
4.8 Zeitprofile und Hintergrundabzug der Mikrofluidikstudien in Gelmatrix	100
4.9 CCD-Aufnahmen des lithographisch behandelten Wafers mit Gräben und Stegen	101
4.10 Ergebnisse der mit dem mikrostrukturierten Wafer durchgeführten De- sorptionmessungen	102
4.11 Fluoreszenzmikroskopaufnahmen freihängender Nanoröhren	103
4.12 PLE-spektroskopische Charakterisierung einer freihängenden Nanoröhre	104
5.1 PL-Mikroskopaufnahmen von mit unterschiedlichen Elektronendosen be- strahlten Siliziumcarbidproben	107
5.2 Ergebnisse der axialen und lateralen Analyse des abbildenden Systems .	108
5.3 PLE-Analyse der mit der höchsten Elektronendosis bestrahlten SiC-Probe	109
5.4 Korrelation zwischen PL-Intensität und eingestrahelter Leistung	110
5.5 Bestimmung der Lebensdauer angeregter SiC-Defektzustände durch zeit- korreliertes Einzelphotonenzählen	111
5.6 Photonenpaarhistogramm und Intensitätskorrelogramm der Siliziumcar- bidprobe mit kontinuierlicher Defektzentrenverteilung	113
5.7 Untersuchung des Photonenflusses einer nanomolaren Rhodamin 6G-Lö- sung zur Validierung des Hanbury Brown–Twiss-Korrelationsaufbaus . .	115
A.1 Virtuelles Instrument zur Implementierung der Superkontinuumquelle und Filtereinheit in die LabVIEW-Umgebung	125
A.2 Vereinfachtes Flussdiagramm der programmierten PLE-Messroutine . . .	126

Tabellenverzeichnis

2.1	Herstellerspezifische Parameter unendlich korrigierter Objektive	9
2.2	Einfluss unterschiedlicher Parameter auf die Fokussierung im Rahmen der Gaußschen Strahlenoptik	16
2.3	Unterscheidung der möglichen Photonenstatistiken anhand ihrer Standardabweichung	37
2.4	Korrelationsfunktion zweiter Ordnung zur Kategorisierung von Lichtquellen und Beschreibung ihres Photonenflusses	44
3.1	Übersicht der in der CVD-Nanorohrprobe enthaltenen Chiralitäten . . .	49
3.2	Hauptbestandteile des PLE-Aufbaus mit Typenangabe und Bezugsquelle	51
3.3	Spezifikationen der im Spektrographen eingesetzten Beugungsgitter . . .	59
3.4	Berechnung von Auflösungsvermögen und spektralem Bandpass	63
3.5	Spektrales Gewicht der in CoMoCAT- und HiPCO-Suspensionen identifizierten Nanorohrchiralitäten	81
A.1	Registerwerte zur Ansteuerung der wichtigsten Parameter der Superkontinuumquelle und Filtereinheit	127

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich all denen meinen Dank aussprechen, die zum Gelingen dieser Arbeit auf unterschiedlichste Art und Weise beigetragen haben. Ohne Eure Unterstützung wäre für mich die Promotion so nicht möglich gewesen!

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater **Prof. Dr. Tobias Hertel** für das in mich gesetzte Vertrauen bei der Umsetzung meines Promotionsthemas und die mir dabei gewährte wissenschaftliche Freiheit. Dies ist für mich keine Selbstverständlichkeit! Die letzten Jahre waren sehr lehrreich für mich, und das nicht nur in fachlicher Hinsicht. Auch persönlich konnte ich mich während des Promotionsstudiums durch die vielfältigen Herausforderungen, denen man als Doktorand begegnet, weiterentwickeln. Neben dem Einsatz in der Lehre, sei es als Assistent im Praktikum oder als Übungsleiter, stellte auch die Mitwirkung an Großgeräteanträgen eine wichtige Erfahrung für mich dar. Ebenfalls möchte ich mich für die finanzielle Unterstützung bedanken, die auch die Teilnahme an Konferenzen und Tagungen ermöglichte.

Dr. Friedrich Schöppler danke ich für die zahlreichen konstruktiven Diskussionen und seinen Rat bei experimentellen Fragestellungen. Die ihm innewohnende ansteckend gute Laune soll an dieser Stelle nicht unerwähnt bleiben. Danke für die gemeinsame Zeit seit Anbeginn meiner Diplomarbeit!

Bei **Prof. Dr. Vladimir Dyakonov** und **Dr. Georgy Astakhov** möchte ich mich für das gelungene Kooperationsprojekt bedanken, welches nicht nur eine Publikation hervorbrachte, sondern mich auch auf das spannende Forschungs- und Anwendungsfeld nicht-klassischer Lichtquellen aufmerksam machte.

Felix Bergler danke ich für seine Hilfestellung hinsichtlich der Erprobung der Mikrofluidikzelle, **Han Li** für die Durchführung von SEM-Messungen. **Matthias Kastner** und **Daniel Schilling** danke ich für die Bereitstellung von Proben, die eine Evaluierung des PLE-Aufbaus zuließen. **Frank Brunecker** sei für das gewissenhafte Korrekturlesen der Arbeit gedankt.

Den Arbeitskreiskollegen von einst und jetzt bin ich für die gegenseitige Rücksichtnahme im alltäglichen Miteinander sehr verbunden. Insbesondere möchte ich mich für das herausragende Arbeitsklima bedanken, welches auch abseits der Universität zu Freund-

schaften geführt hat. Ein großer Dank gilt **Dr. Kristin Kröker, Holger Hartleb, Dr. Timo Hefner** und **Daniel Schilling** für die wunderbare Zeit in Büro 115 bzw. 229. **Frank Brunecker, Florian Späth, Felix Bergler** und **Sabine Stahl** danke ich für die vielen Gespräche über die Dinge des Lebens und unsere gemeinsamen Aktivitäten. **Dr. Dominik Stich, Christoph Mann, Han Li, Imge Namal** und **Nicolas Rühl** danke ich ebenfalls für die gemeinsame Zeit im AK Hertel. Der neuen Generation an Arbeitskreismitgliedern **Matthias Kastner, Klaus Eckstein, Melanie Achsnich** und **Kerstin Müller** wünsche ich viel Erfolg bei ihren Projekten und eine schöne Zeit am Lehrstuhl.

Sabine Walther sei für ihre unkomplizierte und schnelle Hilfe in bürokratischen Fragen gedankt. Wir können uns glücklich schätzen, dass wir durch ihren Einsatz nicht den Überblick im Dickicht von Anträgen und Formularen verlieren. Den Angestellten des Lehrstuhls **Belinda Böhm, Sabine Fuchs** und **Sabine Stahl** gilt ebenfalls mein Dank. Auf ihr offenes Ohr bei Problemen jedweder Art war stets Verlass.

Den aktuellen und ehemaligen Mitarbeitern der Elektronik- und Feinmechanikwerkstatt **Reiner Eck, Jürgen Zimmermann, Ralf Kohrmann, Wolfgang Liebler, Katharina Schreckling, Gerhard Bömmel** und **Peter Lang** danke ich für ihre schnelle Hilfe in technischen Belangen. Ohne ihre Ideen und deren Umsetzung wäre so manches Projekt nicht zu realisieren gewesen.

Für ihre engagierte Mitarbeit in Praktika und Bachelorarbeiten danke ich **Leon Schneider, Jirco Schuster** und **Daniel Zuleeg**.

Meinen Mitstreitern aus dem ersten Semester **Steffen Heyer** und **Philipp Maier**, mit denen ich vor knapp zehn Jahren das Chemiestudium begonnen habe, danke ich für die unvergesslichen Momente zusammen und die, die noch vor uns liegen!

Mein zutiefst empfundener Dank gebührt schließlich meinen Eltern **Hannelore Hain** und **Eugen Hain**, die mich nicht nur finanziell unterstützt haben, sondern immer auch hinter mir und meinen Entscheidungen standen. Meiner Schwester **Ines Hain** danke ich für das zuverlässige Korrekturlesen der Dissertation und die letzten 29 Jahre. Auch möchte ich mich bei meiner Freundin **Tabitha Groß** bedanken, die gerade auf der Schlussetappe meiner Arbeit ein großer Rückhalt war.

Vollständige Publikationsliste

- **Resonance-Enhanced Multiphoton Ionisation of Purine**
M. Schneider, T. Hain, I. Fischer
ChemPhysChem **2009**, *10* (4), 634–636
[DOI:10.1002/cphc.200800728](https://doi.org/10.1002/cphc.200800728)
- **Molar Extinction Coefficient of Single-Wall Carbon Nanotubes**
F. Schöppler, C. Mann, T. C. Hain, F. M. Neubauer, G. Privitera, F. Bonaccorso, D. Chu, A. C. Ferrari, T. Hertel
J. Phys. Chem. C **2011**, *115* (30), 14682–14686
[DOI:10.1021/jp205289h](https://doi.org/10.1021/jp205289h)
- **Influence of DNA conformation on the dispersion of SWNTs: single-strand DNA vs. hairpin DNA**
T. C. Hain, K. Kröker, D. G. Stich, T. Hertel
Soft Matter **2012**, *8* (10), 2820–2823
[DOI:10.1039/c2sm07148g](https://doi.org/10.1039/c2sm07148g)
- **Excitation and recombination dynamics of vacancy-related spin centers in silicon carbide**
T. C. Hain, F. Fuchs, V. A. Soltamov, P. G. Baranov, G. V. Astakhov, T. Hertel, V. Dyakonov
J. Appl. Phys. **2014**, *115* (13), 133508
[DOI:10.1063/1.4870456](https://doi.org/10.1063/1.4870456), [arXiv:1403.2399](https://arxiv.org/abs/1403.2399)
- **Dynamical Contact Line Pinning and Zipping during Carbon Nanotube Coffee Stain Formation**
H. Li, T. C. Hain, A. Muzha, F. Schöppler, T. Hertel
ACS Nano **2014**, *8* (6), 6417–6424
[DOI:10.1021/nm501957y](https://doi.org/10.1021/nm501957y)